

Investigación e implementación de procesos para mejorar eficiencia y calidad en la industria azucarera guatemalteca

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



Investigación e implementación de procesos para mejorar
eficiencia y calidad en la industria azucarera guatemalteca

Trabajo de graduación en modalidad de Megaproyecto presentado por:

Victoria Aycinena Crowe

Ana Lucía Rodríguez Bran

para optar al grado académico de Licenciadas en Ingeniería en Ciencias de Alimentos

Marijose Bregni Zelaya

María Cristinne Fabián González

Karen Paola Morales Paz

para optar al grado académico de Licenciadas en Bioquímica y Microbiología

Marcel Dacaret Román

para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Industrial

Pamela Varinia Ruano Bocaletti

Robin Andrés Martínez Beltetón

para optar al grado académico de Licenciados en Ingeniería Química

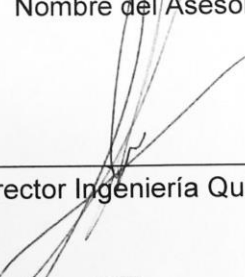
Guatemala,
2013

Vo. Bo.:

(f)  _____

Tribunal examinador:

(f) Luis Roberto de León Fajardo
Nombre del Asesor

(f)  _____
Director Ingeniería Química

(f) Maria Vitoch
Directora Licenciatura en Bioquímica y Microbiología

(f) Ana Silvia Calderon
Directora Ingeniería en Ciencias de Alimentos

(f) Esteban J. J. J.
Director Ingeniería Industrial

Fecha de aprobación: Guatemala 14/11/2013

Índice

LISTADO DE GRÁFICAS.....	vi
LISTADO DE CUADROS.....	x
RESUMEN.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	2
III. ANTECEDENTES.....	3
IV. MARCO TEÓRICO.....	4
A. Historia de la caña de azúcar.....	4
B. Industria azucarera en América.....	5
C. Industria azucarera en Guatemala.....	5
D. Producción anual de azúcar en Guatemala.....	5
1. Ingresos por la exportación del azúcar en Guatemala.....	6
E. Herramientas de Ingeniería Industrial.....	7
1. Análisis Beneficio/Costo.....	1
2. Coeficiente de correlación lineal de Pearson.....	8
F. Componentes de la caña de azúcar.....	9
1. Azúcares:.....	9
2. Sacarosa.....	10
a. La inversión de la sacarosa.....	10
b. Gomas naturales.....	10
c. Deterioro de la caña.....	10
G. Proceso de obtención de azúcar.....	11
1. Cosecha.....	11
a. Molienda.....	11
b. Sulfitación y clarificación.....	12
c. Clarificación.....	13
d. Filtros de cachaza.....	13
e. Evaporación.....	17
f. Cristalización.....	17
g. Secado del azúcar.....	19
H. Pérdidas de sacarosa en el proceso agroindustrial para la producción de azúcar de caña.....	22
1. Factores que generan pérdidas de sacarosa en el proceso azucarero.....	26
I. La industria azucarera y los microorganismos.....	25
1. Factores que afectan la actividad de los microorganismos.....	26
2. Clasificación general de los microorganismos.....	27
3. Microorganismos en los procesos de la azúcar.....	28
a. Glucólisis.....	29
b. Destinos del piruvato.....	31
c. Indicadores de actividad microbiana en jugo de caña.....	36

d.	Fermentación espontánea	37
e.	Capacidad buffer	38
f.	Resazurina	39
g.	Prueba Brix.....	41
h.	Cromatografía para medir sacarosa	41
i.	Elongación de cristales.....	42
j.	Factores asociados al crecimiento bacteriano en el laboratorio	45
V.	OBJETIVOS	47
VI.	METODOLOGÍA	48
A.	Identificación de bacterias por ADN	48
1.	Selección de bacterias mesófilas aerobias para aislar e identificar	48
2.	Extracción de ADN	49
3.	Amplificación del gen 16S.....	49
4.	Secuenciación del gen 16S	49
B.	Evaluación del comportamiento de indicadores de actividad microbiana.....	50
1.	Metodología para estudiar el comportamiento de la prueba de capacidad buffer	50
2.	Evaluación del comportamiento de las pruebas indicadoras de capacidad buffer y fermentación espontánea en jugos de caña.....	51
3.	Evaluación del comportamiento de las pruebas indicadoras tradicionales	51
a.	Análisis estadístico	52
C.	Recuento de microorganismos en proceso de extracción de azúcar	52
1.	Recuento de bacterias mesófilas aerobias de muestra de jugo	52
a.	Toma de muestra.....	52
b.	Recuento de bacterias mesófilas aerobias	53
c.	Recuento de bacterias termófilas, hongos y levaduras en muestras de jugo ..	53
d.	Análisis estadístico	54
2.	Prueba de resistencia a biocidas	55
3.	Recuento de bacterias dextranogénicas y no dextranogénicas (microbiota total) en los filtros de cachaza	56
a.	Análisis estadístico	56
D.	Estudio de la actividad microbiana en los filtros de cachaza.....	57
1.	Determinación de la correlación del coeficiente microbiológico entre el jugo diluido y sulfitado	57
2.	Evaluación de la relación entre la velocidad de sedimentación y la actividad microbiológica en jugo sulfitado	57
3.	Monitoreo de efectos de la actividad microbiológica en los filtros de cachaza.....	58
4.	Procedimiento de toma de muestra y análisis de productos en filtros de cachaza.....	58
a.	Toma y análisis de muestra de lodos de filtros de cachaza	58
b.	Toma y análisis de muestra de aguas de desecho	59
c.	Desarrollo de modelo a escala laboratorio del proceso de clarificación y evaporación	60

E.	Evaluación de la relación entre un jugo con alta actividad microbiológica, su requerimiento de cantidad de cal y el aumento en incrustaciones en evaporadores	61
F.	Diseño de método para medir la deformación por elongación de cristales de masas cocidas	61
1.	Medición del tamaño de los cristales en las diferentes masas cocidas A, B y c de los tachos o cristalizadores.....	61
2.	Desarrollo de método aplicable en la medición de cristales	64
3.	Comparación de cristales de las masas A, B y C de cada ingenios individualmente por fecha de muestra.	64
G.	Identificación y método para evaluación de pérdidas de cristales de azúcar crudo y refino	65
1.	Desarrolló de un método de caracterización de azúcar como producto final...	65
a.	Determinación de curva de cristales	65
b.	Medición de humedad relativa en azúcar refino	65
c.	Determinación de elongación de cristales en azúcar crudo y refino	65
2.	Evaluación de condiciones de almacenamiento para reducir posibles pérdidas de azúcar	66
3.	Desarrollo de propuesta para mejorar el proceso y almacenamiento.....	66
H.	Determinación del precio promedio del azúcar durante la zafra 2012-2013....	66
I.	Estimación de las pérdidas en los procesos azucareros seleccionados	69
1.	Desarrollo de propuesta para mejorar el proceso y almacenamiento.....	69
2.	Estimación del azúcar perdida en el proceso completo debido al consumo de sacarosa por parte de los microorganismos.....	69
3.	Determinación de la calidad de azúcar rechazada por aterronamiento y su impacto económico.....	70
VII.	RESULTADOS.....	71
A.	Identificación de bacterias mesófilas aerobias en jugos mezclados	71
B.	Evaluación preliminar de fiabilidad de pruebas como parámetro de comparación con pruebas tradicionales de sacarosa por cromatografía.	73
C.	Recuento de microorganismos en diferentes procesos de fábrica	77
1.	Área de molinos.....	77
2.	Productos intermedios	80
3.	Área de filtros	80
D.	Aspectos fisicoquímicos de filtros en los ingenios pantaleón y concepción.....	81
1.	Ingenio Pantaleón.....	81
2.	Ingenio Concepción.....	87
E.	Efecto de la actividad microbiana en clarificación y evaporación en ingenio pantaleón.....	91
F.	Diseño del método de elongación de cristales.....	94
G.	Aterronamiento en proceso finales en fábrica del ingenio concepción	97
H.	Evaluación económica.....	104
1.	Pérdidas de azúcar por sacarosa en cachaza	104
2.	Costo prueba resazurina	105
3.	Pérdidas de azúcar por aterronamiento en el azúcar refinado.....	106

4.	Identificación de procesos operativos por incremento de la actividad microbiológica.....	107
VIII.	DISCUSIÓN.....	107
A.	Identificación de bacterias en jugo de ingenios.....	108
1.	Indicadores para medir la actividad microbiana.....	113
2.	Recuento de microorganismos en proceso.....	113
a.	Bacterias mesófilas en tandems.....	113
b.	Efectos de biocidas.....	114
c.	Termófilos, hongos y levaduras en tandems.....	115
B.	Caracterizar las etapas intermedias del proceso de producción de azúcar a través de los grupos de microorganismos de estudio.....	117
d.	Filtros de cachaza.....	118
e.	Termófilos, hongos y levaduras en filtros.....	123
C.	Comparar los resultados de caracterización en cada uno de las unidades y partes de los filtros de lodo de la microbiota termófila.....	125
D.	Análisis estadístico.....	125
E.	Estudio de la actividad microbiana de los filtros desde el punto de vista tecnológico.....	126
1.	Sectorización y monitorear sobre la incidencia de actividad microbiológica en puntos críticos de los filtros de cachaza del ingenio Pantaleón.....	126
a.	Generalidades.....	127
b.	Temperaturas del área de tratamiento de lodos.....	127
c.	Fermentación espontanea.....	128
d.	Test de Resazurina.....	131
F.	Efecto de la actividad microbiana en clarificación y evaporación.....	133
a.	Determinación de la correlación del coeficiente microbiológico entre el jugo diluido y sulfitado.....	133
G.	Estimación de pérdidas de lodos debido a la actividad microbiana.....	135
H.	Relación entre la necesidad de cal para ajustar el pH y el aumento de incrustaciones en evaporadores.....	137
I.	Incrustaciones asociadas a incremento de la actividad microbiológica.....	137
J.	Diseño del método de elongación de cristales.....	138
K.	Pérdidas de azúcar por aterroamiento en azúcar refinado.....	143
L.	Economía.....	149
IX.	CONCLUSIONES.....	155
X.	RECOMENDACIONES.....	157
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	159
XII.	APÉNDICE.....	168
A.	Datos originales.....	168
B.	Cálculos de la muestra.....	220
C.	Análisis de error.....	220
D.	Datos calculados.....	222
E.	Anexos.....	238

LISTADO DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Línea del tiempo de la caña de azúcar (Azucarera)	4
Gráfica 2. Relación entre producto de azúcar exportado y para consumo interno de las últimas 12 zafas	6
Gráfica 3. Diagrama de la vista transversal de un filtro rotatorio	15
Gráfica 4. Filtros rotatorios utilizados para cachaza en ingenios azucareros	16
Gráfica 5. Diagrama de un Sistema moderno de Tres Masas Cocidas (Farine, 2000) ..	19
Gráfica 6. Esquema del proceso de fabricación de azúcar sin refinar a partir de caña de azúcar (Guía de Protección Ambiental Tomo II: Economía Agropecuaria, Minería y Energía, Actividades Industriales y Artesanales (GTZ/BMZ), 1996, Actividades industriales y artesanales, 56. Azúcar, 751 pages)	20
Gráfica 7. Fase Preparatoria de la Glucólisis	30
Gráfica 8. Fase de Recompensa de la Glucólisis. Obtención de energía (Tomado de Nelson y Cox, 2008)	30
Gráfica 9. Destinos catabólicos del piruvato	31
Gráfica 10. Inversión de sacarosa en fructosa y glucosa, seguida por la formación de dextrana	32
Gráfica 11: Reacción de la reducción de la resazurina	39
Gráfica 12. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras Definidas en Campos 3-4. (Aguirre, 2012)	43
Gráfica 13. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras Definidas en Campo 5. (Aguirre, 2012)	43
Gráfica 14. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras Definidas en Campo 6. (Aguirre, 2012)	44
Gráfica 15. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras Definidas en Campo 7 y posterior. (Aguirre, 2012)	44
Gráfica 16. Procedimiento de Tinción Gram	46
Gráfica 17. Variación del precio del azúcar durante la zafra 2012/2013	68
Gráfica 18. Estudio de comportamiento de la prueba indicadora capacidad buffer tradicional. $R^2 = 0.44$ aproximadamente, lo cual indica la confiabilidad de la prueba ...	73
Gráfica 19. Estudio de comportamiento de prueba indicadora de capacidad buffer optimizada. $R^2 = 0.44$ aproximadamente, lo cual indica la confiabilidad de la prueba. Denotada como optimizada debido a utilización de un volumen menor de muestra de jugo.	73
Gráfica 20. Estudio del comportamiento de la prueba Pol como indicador de la actividad microbiana, tradicionalmente utilizada en la industria azucarera	74
Gráfica 21. Estudio del comportamiento de la prueba de Pureza como indicador de la actividad microbiana, tradicionalmente utilizada en la industria azucarera	74
Gráfica 22. Estudio del comportamiento de la prueba de Determinación de Sacarosa como indicador de la actividad microbiana, tradicionalmente utilizada en la industria azucarera.	75

Gráfica 23 Estudio del comportamiento de la prueba experimental de Fermentación espontánea como indicador de la actividad microbiana en jugos de caña de azúcar....	75
Gráfica 24 Estudio del comportamiento de la prueba experimental de capacidad buffer como indicador de la actividad microbiana en jugos de caña de azúcar	76
Gráfica 25 Estudio del comportamiento de la prueba experimental de resazurina como indicador de la actividad microbiana en jugos de caña de azúcar	76
Gráfica 26. Recuento bacteriano aerobio mesófilo en pca de 11 tandems- jugos mezclados	77
Gráfica 27. Recuento de bacterias termófilas, levaduras y hongos presentes en jugos mezclados de los ingenios magdalena (mg), la unión (u) y santa ana (sa).	77
Gráfica 28. Susceptibilidad de especies bacterianas hacia biocidas.	78
Gráfica 29. Efecto de la concentración de biocidas en la susceptibilidad bacteriana....	79
Gráfica 30. Efecto del tipo de biocida en la susceptibilidad bacteriana	79
Gráfica 31. Recuento de microbiota termófila y hongos miceliares en los productos intermedios del ingenio magdalena.....	80
Gráfica 32. comparación de recuento de microorganismos aerobio en filtros de lodos de los ingenios magdalena, pantaleón y concepción.	80
Gráfica 33. Comparación de recuento de microorganismos aerobios en diferentes áreas de los filtros de lodos en los ingenios magdalena y pantaleón.	81
Gráfica 34. caída de ph promedio en los filtros de cachaza	83
Gráfica 35. Reducción de la caída de ph debido al efecto de una temperatura superior a los 57 °c.....	84
Gráfica 36. Puntuación acumulada para cada filtro	86
Gráfica 37. Velocidad porcentual de deposición de lodos (%v/s)	91
Gráfica 38. Relación de incremento en el porcentaje de lodos debido al incremento de cm diluido	91
Gráfica 39. Relación de incremento en el porcentaje de sacarato para ajustar el ph debido al incremento de cm diluido	92
Gráfica 40. Comparación de kilogramos incrustados en los tubos de los evaporadores en cada efecto debido al aumento de cm del jugo diluido.....	92
Gráfica 41. Incremento de las incrustaciones en kilogramos por día en los evaporadores debido a un incremento en el cm del jugo diluido.....	93
Gráfica 42. Incremento de las incrustaciones en kilogramos por día para cada efecto debido al decremento de cm diluido.....	94
Gráfica 43. Comparación de la distribución del promedio de elongación de cristales para muestras de masas a, b y c del ingenio santa ana.....	95
Gráfica 44. Comparación de la distribución del promedio de elongación de cristales para muestras de masas a, b y c del ingenio pantaleón.....	95
Gráfica 45. Comparación de la distribución del promedio de elongación de cristales para muestras de masas a, b y c del ingenio magdalena.....	96
Gráfica 46. Comparación de la distribución del promedio de elongación de cristales para muestras de masas a, b y c del ingenio madre tierra.	96

Gráfica 47. Comparación de la distribución del promedio de elongación de cristales para muestras de masas c de los ingenios santa ana, pantaleón, magdalena y madre tierra.	97
Gráfica 48. Caracterización gravimétrico de distribución por mesh de azúcar refino para turno 1	97
Gráfica 49. Caracterización gravimétrico de distribución por mesh de azúcar refino para turno 2	97
Gráfica 50. Caracterización gravimétrico de distribución por mesh de azúcar refino para turno 3	98
Gráfica 51. Porcentaje de humedad de azúcar refino por mesh y turno	99
Gráfica 52. Promedio de porcentaje de humedad de azúcar refino tomado en el punto de salida del centrifugdor	99
Gráfica 53. Promedio de porcentaje de humedad de azúcar refino tomado en el punto de salida del secador	100
Gráfica 54. Promedio de porcentaje de humedad de azúcar refino tomado en el punto de salida del enfriador.....	101
Gráfica 55. Promedio de porcentaje de humedad de azúcar refino tomando en la llenadora	102
Gráfica 56. Porcentaje de humedad para cada turno en los cuatro puntos indicativos	102
Gráfica 57. Promedio de porcentaje de humedad de azúcar tomado de sacos en diferentes puntos de estiba	103
Gráfica 58. Promedio de coeficiente de elongación para tacho 1 de azúcar crudo	103
Gráfica 59. Promedio de coeficiente de elongación para tacho 2 de azúcar crudo	103
Gráfica 60. Promedio de coeficiente de elongación para tacho 1 de azúcar refino	104
Gráfica 61. Promedio de coeficiente de elongación para tacho 2 de azúcar refino	104

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 1. Producción de azúcar en las últimas 3 zafras.....	6
Cuadro 2. Divisas generadas por exportaciones de azúcar desde el año 2010 hasta el 2012	7
Cuadro 3. Formación de destrana.....	34
Cuadro 4. Modo de acción de biocidas utilizados en los ingenios azucareros de Guatemala	35
Cuadro 5. Intervalos de Valores del Coeficiente Microbiológico con su respecto al nivel de Actividad Microbiológica que presenta la muestra analizada.	40
Cuadro 6. Rangos de concentración en jugo de caña.....	41
Cuadro 7. Cebadores par amplificación del gen 16s.....	49
Cuadro 8. Precio promedio del azúcar desde el año 1989 hasta el 2011.....	67
Cuadro 9. Precio promedio del azúcar durante la zafra 2012/2013.....	68
Cuadro 10. Tasa de cambio durante zafra 2012-2013.....	69
Cuadro 11. Especies bacterianas de los jugos mezclados identificadas por el gen 16S.....	71
Cuadro 12. Géneros bacterianos identificados en los jugos mezclados por gen 16S....	72
Cuadro 13. Temperatura (°c) promedio de cada sección del filtro del ingenio pantaleón.....	81
Cuadro 14. Observaciones y problemas en los filtros del ingenio pantaleón	82
Cuadro 15. Comparación de temperaturas de la zafra 2011-2012 y del 2012-2013.....	82
Cuadro 16. Caída de ph de los lodos de los filtros de cachaza en la prueba de fermentación espontanea a una temperatura promedio de 55°c.....	83
Cuadro 17. Medición de cm en los rebalses traseros.....	84
Cuadro 18. Efecto de la temperatura en el cm de los filtros de cachaza	85
Cuadro 19. Orden de nivel de contaminación por indicador utilizado	85
Cuadro 20. Puntuación acumulada para cada filtro.....	86
Cuadro 21. Temperatura promedio, máxima y mínima de la entrada de los lodos al filtro, lodos acumulados en el filtro y de los lodos de salida en	87
Cuadro 22. Puntos y filtros con temperaturas promedio menores a 60°c.....	87
Cuadro 23. Caída de ph de la entrada de los lodos al filtro, lodos acumulados en el filtro y de los lodos de salida en los cuatro filtros del ingenio concepción, después de estar cuatro horas en un horno a 55°c.....	88
Cuadro 24. Cantidad promedio de dextrana en los lodos acumulados en los cuatro filtros del ingenio concepción.	88
Cuadro 25. Áreas que presentaron puntos con trazas denominadas con “extra fuertes (xf)” de sacarosa en los efluentes de los tandems a, b y c y en el agua de desecho del ingenio magdalena.....	89
Cuadro 26. CM promedio a 37 ⁰ c y 55 ⁰ c en la entrada de los lodos al filtro, lodos acumulados en el filtro y de los lodos de salida en los cuatro filtros del ingenio concepción.	90
Cuadro 27. Relación promedio de cambio de cm de diluido a sulfitado en el periodo de diciembre 2012 a febrero 2013, de los datos reportados para el tándem a y b	90

Cuadro 28. Incremento en el flujo de lodos en los clarificadores sri debido a un incremento del cm del jugo diluido	92
Cuadro 29. Porcentaje de azúcar refino fuera de especificación gravimétrico	98
Cuadro 30. Promedio de temperatura y humedad relativa por turno en bodega de almacenamiento de sacos de azúcar refino	102
Cuadro 31. Pérdidas en el Ingenio Pantaleón en el jugo mezclado a causa de los microorganismos	105
Cuadro 32. Pérdida de sacarosa según el aumento de CM en el jugo mezclado.....	105

RESUMEN

La industria azucarera en Guatemala es parte importante de la economía del país por ser un país agrícola. Los ingenios a nivel mundial están en constante búsqueda de soluciones que ayuden a incrementar la eficiencia del proceso de producción azucarera y minimizar pérdidas de azúcar. La importancia del control del proceso y las condiciones de la misma en esta industria conlleva tanto a mejoras de producción como minimización de pérdidas.

Con el fin de cuantificar las pérdidas, mejorar procesos, minimizar contaminaciones e implementar nuevas medidas de control en el proceso y en el almacenamiento se inició una investigación en la zafra 2012-2013 donde se determinaron especies microbianas contaminantes, medidas de control, procesos de mejora, puntos de medición, posibles factores de pérdidas económicas, características iniciales del producto final y condiciones de almacenamiento.

El presente trabajo engloba el proceso general de la producción de azúcar en los siguientes seis ingenios: Concepción, Madre Tierra, Magdalena, Palo Gordo, Pantaleón, La Unión. Tomando estudios microbiológicos, económicos, industriales, de calidad y bioquímicos para así presentar resultados sobre análisis realizados, propuestas de mejora e información económica de la industria azucarera.

I. INTRODUCCIÓN

La industria azucarera en Guatemala es parte importante de la economía del país por ser un país agrícola. Los ingenios a nivel mundial están en constante búsqueda de soluciones que ayuden a incrementar la eficiencia del proceso de producción azucarera y minimizar pérdidas de azúcar. La importancia del control del proceso y las condiciones de la mista en ésta industria conlleva tanto a mejoras de producción como minimización de pérdidas

Con el fin de cuantificar las pérdidas, mejorar procesos, minimizar contaminaciones e implementar nuevas medidas de control en el proceso y en el almacenamiento se inició una investigación en la zafra 2012-2013 donde se determinaron especies microbianos contaminantes, medidas de control, procesos de mejora, puntos de medición, posibles factores de pérdidas económicas, características iniciales del producto final y condiciones de almacenamiento.

El presente trabajo engloba el proceso general de la producción de azúcar en los siguientes seis ingenios: Concepción, Madre Tierra, Magdalena, Palo Gordo, Pantaleón, La Unión. Tomando estudios microbiológicos, económicos, industriales, de calidad y bioquímicos para así presentar resultados sobre análisis realizados, propuestas de mejora e información económica de la industria azucarera.

II. JUSTIFICACIÓN

El proceso actual de producción de azúcar no ha tenido modificaciones en varios años y se han mantenido básicamente con las mismas metodologías. Sin embargo, se ha visto que si no se controla adecuadamente estos procedimientos puede haber pérdidas de azúcar. Estas pérdidas pueden comprometer la exportación, los ingresos y las ventas de los ingenios. La actividad microbiológica es una de las principales fuentes de pérdidas, principalmente por los microorganismos formadores de dextrana (LBDG), a los que no se les ha dedicado un estudio particular sobre su prevalencia en todo el proceso y la severidad de sus cepas. De esta manera, el poder monitorear, controlar y determinar la prevalencia de éstas, ayudaría enormemente a la industria azucarera. Esto debido a que incentivaría la toma de decisiones para poder controlar el crecimiento y actividad de las mismas. Actualmente los métodos empleados no son lo suficientemente eficientes y confiables para poder asegurar los aspectos mencionados anteriormente. Es por eso que el evaluar y, al mismo tiempo, optimizar dichos métodos sería de utilidad tanto para la predicción y análisis de producción de azúcar como para la calidad de producto obtenido durante un lapso de tiempo determinado. El Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar (Cengicaña) ha reconocido el problema que presentan los microorganismos para la industria, por lo que se ha trazado la meta para el año 2015 de generar información tecnológica para mejorar los procesos de extracción y recuperación de sacarosa tratando de disminuir las pérdidas indeterminadas controlando la actividad microbiana, según el informe anual 2011-2012 de esta institución.

III. ANTECEDENTES

Desde hace cinco años se han realizado estudios de la industria azucarera como parte de trabajo de graduación de los alumnos de la Universidad del Valle.

En las zafas de 2008-2009, 2009-2010, 2010-2011, 2011-2012 se han realizado trabajos en el ingenio Pantaleón, donde se avanza en la elaboración de procedimientos y se pone a punto el sistema para su implementación sistemática en caña y molinos (Pacheco, 2010). Durante este período se hacen los primeros estudios de tendencias con muestras puntuales y aleatorias y se elabora la base para la evaluación técnica del efecto de la actividad microbiológica sobre las etapas intermedias y finales del proceso de fabricación (Pinto, 2010)

Por el otro lado, una vez identificados los puntos críticos delimitados por Pinto (2010), Barrera (2011) inició las pruebas para cuantificar los efectos de la actividad microbiológica en el área de evaporadores encontrando que su método arrojó resultados congruentes a lo esperado y Aguirre (2012) determino un modelo a escala laboratorio para la evaluación de estos puntos, mientras tanto Castellanos (2012) realiza el levantamiento del área de tratamiento de lodos y evalúa la actividad microbiológica en los distintos filtros del ingenio Pantaleón. Para la determinación de la actividad microbiológica de los lodos de los filtros de vacío, utilizó fundamentalmente la prueba de la fermentación espontánea, y se apoyó de los resultados del test de resarzurina, también realizó un conteo de bacterias, mohos y levaduras mesófilas y termófilas a las muestras de lodos de cada filtro, para determinar presencia de microorganismos (Castellanos, 2012).

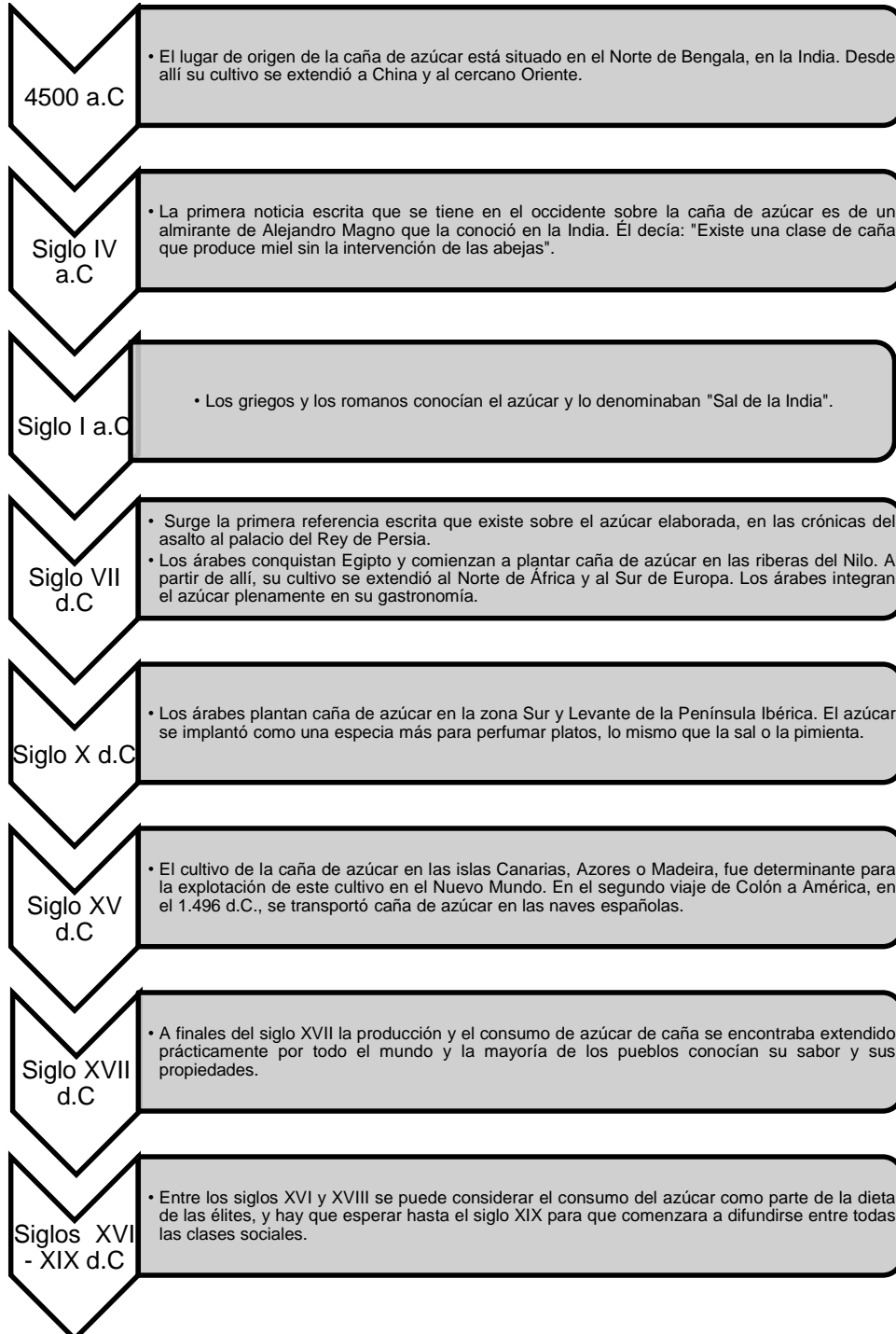
Se ha logrado formular un medio de cultivo que seleccione a bacterias del género *Leuconostoc*, las cuales tienen una alta tasa de degradación de sacarosa y producción de dextrana lo cual lleva a pérdidas económicas para los ingenios. Por otro lado han logrado determinar puntos críticos en el área de tándems donde la proliferación de microorganismos es mayor. (Álvarez *et al.* 2008; Balsells *et al.* 2009)

El presente trabajo forma parte de la continuación de estas investigaciones con el fin de ir mejorando el control microbiológico en los ingenios, así como propuestas para reducirlo, además del uso de indicadores para medir la actividad microbiológica y un análisis de beneficio/costo del proceso de la azúcar.

IV. MARCO TEÓRICO

A. Historia de la caña de azúcar

Gráfica 1. Línea del tiempo de la caña de azúcar (Azucarera)



B. Industria azucarera en América

En el año 1,600 la producción del azúcar crudo en América era la industria mayor del mundo y durante el siglo XVI en muchas colonias españolas. La producción de azúcar se desarrolló bajo la dinámica de la hacienda y en el contexto de mercados locales restringidos y poco dinámicos (Herrera, 1999).

C. Industria azucarera en Guatemala

Ya en el siglo XX, hacia 1945 el cultivo de la caña de azúcar en Guatemala, para la exportación estaba completamente desarrollado para lo cual contaba con 12 ingenios. Actualmente la industria azucarera en Guatemala cuenta con 15 ingenios (Herrera, 1999).

Debido al aumento en la productividad, hacia 1992 el cultivo de caña de azúcar ocupaba un total de 130,00 hectáreas (186,030 manzanas) (Herrera, 1999).

Los principales ingenios, de acuerdo con su producción total de azúcar por año, son: Pantaleón (356,000 t/año), Magdalena (311,000 t/año). El Pilar (220,000 t/año), La Unión (204,000 t/año), Santa Ana (197,000 t/año) y Madre Tierra (152,000 t/año) (Isaacs, 2006). Actualmente, la agroindustria azucarera se ha convertido en una de las principales fuentes de divisas para el país y generadora de abundantes empleos en la economía guatemalteca (Robles, 2012).

D. Producción anual de azúcar en Guatemala

El informe anual de la Asociación de Azucareros de Guatemala (Azasgua) afirmó que la exportación de azúcar aumentó un 22% en la zafra del 2011/12, en comparación con la del 2010/11. Por otra parte, hubo otro aumento del 11% en la producción de la zafra del 2012/13.

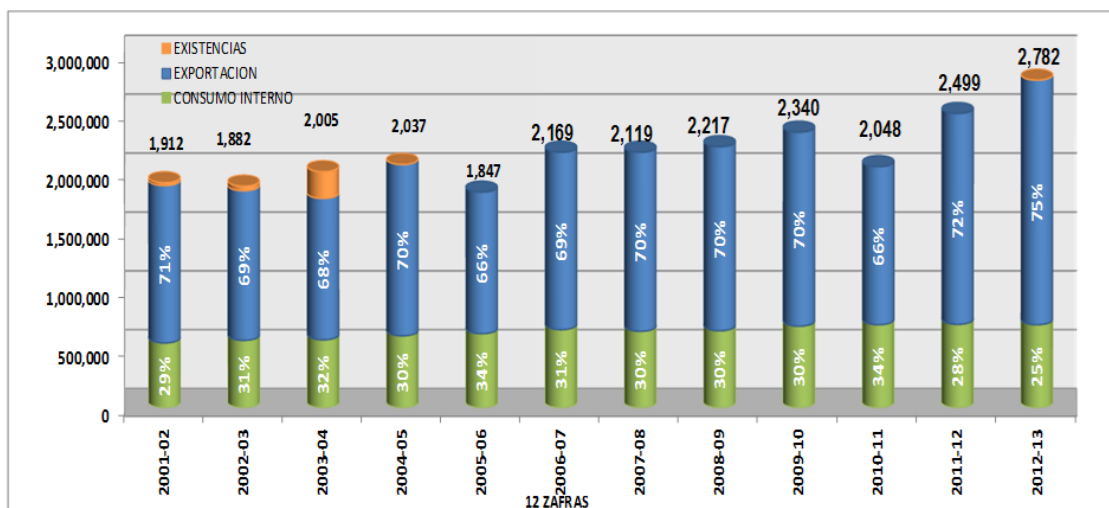
La información indica que la producción 2011/2012 sumó 53 millones 330 mil 445 quintales, mientras la anterior cosecha fue de 44 millones 525 mil 046 quintales. Por último, la cosecha del 2012/13 tuvo una producción de 60 millones 493 mil 398 quintales.

Cuadro 1. Producción de azúcar en las últimas 3 zafras

Zafra	Quintales	Toneladas métricas	% Porcentaje de aumento
2010/11	44,525,046	2,048,152	
2011/12	54,330,445	2,499,200	22%
2012/13	60,493,318	2,782,693	11%

Con respecto al porcentaje de producción para el consumo interno y la exportación, en la zafra 2011/2012, se consumió internamente un 28% y se exportó el 72% de la producción. Para la cosecha del 2012/13, la exportación aumentó al 75% y el consumo interno disminuyó a un 25%.

Gráfica 2. Relación entre producto de azúcar exportado y para consumo interno de las últimas 12 zafras



(Azasgua, 2013)

1. Ingresos por la exportación del azúcar en Guatemala. Según el Banco de Guatemala (Banguat), las divisas generadas por las exportaciones de azúcar en 2010 alcanzaron \$726 millones, mientras en 2011 llegó a \$648 millones.

Cuadro 2. Divisas generadas por exportaciones de azúcar desde el año 2010 hasta el 2012

Año	Exportación en dólares (\$)
2010	726,748,791
2011	648,757,791
2012	803,014,972

Mario Yarzebski, encargado de negociaciones comerciales internacionales de Azasgua, explicó que las exportaciones aumentaron por una mayor demanda ante un mercado que prefiere la calidad de los granos de azúcar producidos en Guatemala.

Guatemala tiene una buena competencia con otros surtidores de azúcar, sin embargo por la calidad, el costo de refinamiento es menor y eso mejora la competitividad. (Robles, 2012)

Hoy en día, la producción de azúcar de Guatemala ha tomado más importancia, debido a que en las cosechas recientes ha alcanzado los niveles de producción récord, y ha ocupado el tercer lugar como exportador más grande de América Latina y el sexto en importancia a nivel mundial. Este hecho representa beneficios económicos significativos para el país, especialmente, por la generación de divisas y por la cantidad de empleos que ésta industria provee. (Robles, 2012)

E. Herramientas de Ingeniería Industrial

1. **Análisis Beneficio/Costo.** La técnica de Beneficio/Costo tiene como objetivo proporcionar una medida de la rentabilidad de un proyecto. Esto se hace mediante la comparación de los costos previstos con los beneficios esperados en realización del mismo y ayudará en la toma de decisiones al comparar proyectos. Se puede utilizar antes de hacer un plan como comparación entre varios planes o después de haber elaborado el proyecto para determinar si se obtuvieron más beneficios que costos durante la transición. Por medio de esta técnica se puede seleccionar la alternativa más beneficiosa y estimar adecuadamente los recursos económicos necesarios que se necesitarán para la finalización del proyecto.

Para poder elaborar un análisis de beneficio/costo hay 6 pasos aconsejados que se pueden seguir para un mejor resultado:

- ✓ Se hace una lluvia de ideas y una recolección de datos de factores importantes que se puedan relacionar con cada una de las decisiones a tomar.

- ✓ Se elaboran dos listas, la primera con los requerimientos del proyecto y la segunda con los beneficios que se puedan tener de este. Hay que tener en cuenta que los costos son tangibles, mientras que los beneficios pueden o no serlo.
- ✓ Se determinan los costos relacionados con cada factor, pudiendo ser exactos o estimados.
- ✓ Se suman todos los costos para cada decisión propuesta
- ✓ Se determinan los beneficios para cada decisión y se suman
- ✓ Se colocan las cifras de costos y beneficios totales en una forma de relación en donde los beneficios son el numerador y los costos el denominador.

$$\frac{\text{Beneficios}}{\text{Costos}}$$

Al final la mejor solución, en términos financieros, será la que tenga la relación más alta entre beneficios y costos. (DGPLADES, 2008)

2. **Coeficiente de correlación lineal de Pearson.** El coeficiente de correlación de Pearson, que es pensado para variables cuantitativas, es un índice que mide el grado de covariación entre distintas variables relacionadas linealmente. En casos en donde la relación no es lineal, sino más bien exponencial u otras formas, no es aconsejable utilizar este tipo de índice.

Se dice que la correlación entre dos variables es perfecta positiva cuando en la medida que aumenta una de ellas, aumenta la otra. Por otra parte, se dice que la correlación es perfecta negativa cuando ocurre exactamente lo opuesto y a la medida que disminuye una, disminuye la otra.

En sentido estricto, correlación entre dos variables sólo significa que ambas variables que comparten información, comparten variabilidad. Determinar el origen de la información y la fuente de la variabilidad es una cuestión que no se puede resolver mediante recursos matemáticos.

Interpretación:

- ✓ Si $r = 1$, existe una correlación positiva perfecta
- ✓ Si $0 < r < 1$, existe una correlación positiva, mientras más cercana a 1, hay más correlación entre las variables analizadas

- ✓ Si $r = 0$, no existe relación lineal, sin embargo, no quiere decir que sean variables independientes, podría existir una relación no lineal entre las variables
- ✓ Si $-1 < r < 0$, existe una correlación negativa
- ✓ Si $r = -1$, existe una correlación negativa perfecta y el índice indica una dependencia total entre las dos variables, cuando una aumenta, la otra disminuye en proporción constante

F. Componentes de la caña de azúcar

1. **Azúcares:** El valor comercial del azúcar deriva de la preponderancia de la sacarosa como constituyente del jugo de la planta madura. Los otros azúcares importantes que se encuentran presentes en concentraciones sustanciales son la glucosa y la fructosa; los métodos cromatográficos no han revelado más que indicios de cetosa y no han indicado que en jugos frescos e inalterados ocurran naturalmente otros compuestos de esta clase. Los azúcares están clasificados químicamente como carbohidratos, grupo numeroso y ampliamente diseminado de sustancias naturales que se caracterizan por ser compuestos de carbono combinado con oxígeno e hidrógeno en las proporciones que se requieren para formar agua. No son hidratos en el sentido estricto de este término; estructuralmente, son compuestos de cadenas de carbono, más frecuentemente de 5 o 6 átomos de longitud o productos inferiores de condensación de tales compuestos. (Spencer, 1963)

La configuración del grupo hidróxilo y los átomos de hidrógeno en los azúcares es la que determina la propiedad de los azúcares, de ocasionar la rotación del plano de la luz polarizada; en esta propiedad se han basado los métodos más ampliamente empleados para la determinación de la presencia de azúcares en los jugos y los productos de la fabricación de azúcar.

2. **Sacarosa.** Este azúcar, que es el azúcar refinado del comercio, está ampliamente diseminado por todo el reino vegetal. Las fuentes comerciales, aparte de la caña de azúcar, son la remolacha azucarera y el árbol de arce, ciertas plantas y el sorgo dulce que se utiliza para la fabricación de jarabe. La sacarosa es un disacárido producido por la condensación de glucosa y fructosa, tiene la fórmula empírica de $C_{12}H_{22}O_{11}$. (Spencer, 1963)

Los cristales tienen una densidad aproximada de 1.5879 a $15^{\circ}C$ y muestran actividad óptica a lo largo de sus tres ejes. La sacarosa pura funde en $188^{\circ}C$. (Spencer, 1963)

a. La inversión de la sacarosa. La sacarosa se hidroliza con facilidad en soluciones ácidas a velocidades que aumentan notablemente según el aumento de la temperatura, la disminución del pH con liberación de los monosacáridos constituyentes según la reacción. (Spencer, 1963)

La sacarosa se hidroliza con facilidad en soluciones ácidas a velocidades que aumentan notablemente según el aumento de la temperatura, la disminución del pH con liberación de los monosacáridos constituyentes según la reacción. (Spencer, 1963)

b. Gomas naturales. La caracterización de gomas solubles que se dan naturalmente en la caña de azúcar, y son extraídas con el guarapo durante la molienda. El problema se complica por la presencia frecuentemente de dextrinas, así como la de otros productos de la contaminación microbiológica. Las gomas solubles en agua y claramente diferenciables de la dextrina son aisladas de las melazas. Los efectos indeseables surgen en la elaboración del jugo y la cristalización de los azúcares son a partir de los jarabes que dan viscosidades más elevadas. En la estructura de estos polisacáridos están presentes por lo menos cinco azúcares simples diferentes; la glucosa, la galactosa, la arabinosa y la xilosa, sustancias que fueron logradas por hidrólisis. (Spencer, 1963)

c. Deterioro de la caña. La caña recién cortada es superior a la que ha yacido en los campos o en un lugar determinado por un tiempo prolongado. La importancia que tiene que la caña sea molida recién cortada está en que las pérdidas se pueden dar por la inversión de sacarosa y deterioro, esto está relacionado con la pérdida de humedad. El deterioro de la caña se puede deber a la entrega de caña al molino que tiene como consecuencia el aumento de costos de transporte de la caña necesaria para producir el azúcar, los molinos tienen que moler más caña por unidad de azúcar producida, debido a la

mayor cantidad de impurezas que se tiene que manejar, el juego de caña deteriorada produce azúcar de inferior calidad. (Spencer, 1963)

G. Proceso de obtención de azúcar

1. **Cosecha.** Cuando se determina, que la planta de la caña de azúcar ha alcanzado su madurez óptima y eficiente, es cosecha ya se por medio de un levantamiento mecánico o manual, para luego ser transportada a los patios donde, depende de la producción y cantidad materia prima disponible, se almacenan un determinado periodo de tiempo o se descargan de forma inmediata desde el camión de traslado, a la recepción de caña para entrar directamente a proceso. El primer paso, es el transporte de dicha caña por medio de bandas hacia las picadoras, las cuales tienen como función principal cortar la caña de azúcar en pedazos más pequeños por medio de sus cuchillas giratorias, con el fin de obtener un tamaño más uniforme y aumentar la superficie de contacto para facilitar y hacer más eficiente la extracción del jugo en el siguiente paso con los molinos. (Cenicaña, 2004)

a. **Molienda.** Cuando ya se tiene la caña de azúcar cortada, este producto llega a una serie de molinos en serie. Estos molinos trabajan con turbinas de alta presión, que se usa para la mayor eficiencia a la hora de extraer el jugo. En el proceso de molienda, se va agregando agua en diferentes puntos definidos, generalmente a altas temperaturas, con el objetivo de extraer la máxima sacarosa posible de la caña que se esté moliendo. El proceso de extracción como tal, se conoce como maceración. El subproducto del proceso de maceración, es el bagazo. El bagazo es utilizado en el proceso de producción de azúcar como combustible, luego de haber sido secado en las bagaceras, ya que el vapor producido a altas presiones es utilizado para las mismas maquinarias de la industria, como son las turbinas de los mismos molinos de extracción. Ahora bien, el jugo que se obtuvo de esta serie de molinos, se almacena en diferentes equipos dependiendo de la calidad del mismo que se relaciona con la cantidad de sacarosa presente en el mismo. (Beta San Miguel, 2002)

b. **Sulfitación y clarificación.** El desempeño de un proceso de sulfitación depende de la eficiencia de generación del SO₂ y de la mezcla de este gas con el jugo de caña. Para mayor reducción del color, la mezcla debe ser rápida, completa y uniforme. Cuando en exceso o mal homogeneizado, el gas tiende a ser perdido para la atmósfera causando problemas ambientales y consumo innecesario de azufre. Por otro lado, se tiene la ocurrencia de zonas en el jugo con pH muy bajo que favorecen la inversión de la sacarosa y la corrosión localizada de tubería y equipos (Hugot, 1972).

La adición de cal al jugo neutraliza los ácidos libres, impidiendo la inversión de la sacarosa; su acción sobre los azúcares reductores depende de la concentración y de la

temperatura. La cal en soluciones diluidas no descompone los azúcares reductores, sino que los transforma en una mezcla de glucosa, fructosa, manosa y glutosa; pero a concentraciones mayores, a baja temperatura, los transforma en ácidos sacáridos y lácticos. La cal se combina con la albúmina que precipita en coágulos; con muchas sales inorgánicas como los fosfatos, formando compuestos insolubles; los iones de hierro, aluminio y silicatos presentes en los jugos precipitan con la cal, formando un precipitado gelatinoso, con gran cantidad de materia orgánica (Porta, 1955).

En este proceso la cantidad de cal empleada, la forma de añadirla y la temperatura varían según las regiones y las fábricas, aunque siempre se añade la cal suficiente para neutralizar los ácidos orgánicos presentes en el jugo y se calienta después a 95 °C o a mayor temperatura (Porta, 1955).

Se acostumbra a emplear la cal en forma de lechada de 15 a 20 °C y puede ser continua o intermitente. Es de máxima importancia añadir la cal con la mayor exactitud posible; si la lechada añadida es insuficiente, la precipitación de la albúmina y el ácido fosfórico es incompleta, y la decantación, lenta y dificultosa, dando jugos turbios y originándose pérdidas por inversión; si la cal que se añade es excesiva, el jugo decanta pronto y la cal actúa sobre los azúcares reductores a temperaturas elevadas, formando sales de coloración oscura y ácidos que invierten el azúcar; estas sales de cal retrasan la evaporación y la cristalización (Porta, 1955).

c. **Clarificación.** Como se mencionó anteriormente, dependiendo de la calidad de jugo que se tenga, así será la relación de concentración de sacarosa que se tenga. Esto se puede cuantificar por medio del porcentaje de sólidos solubles o grados Brix de los jugos. Esto también puede verse afectado por el procedimiento de maceración o extracción que se utilizó. Una característica importante del jugo extraído es su nivel de pH. El jugo proveniente del proceso de maceración tiene un pH ligeramente ácido. Por lo que, se trata con una base, cal en este caso, para lograr elevar el pH del mismo. Aparte de la función de elevar el pH, la cal también ayuda a la precipitación de ciertas impurezas del jugo, lo cual beneficia al proceso por aumentar la cristalización del jugo. Este proceso, que consiste en realizar la sedimentación de las impurezas, los cuales son sólidos cuya composición química es distinta a la del azúcar, se precipitan se conoce como clarificación.

Este material precipitado forma un lodo muy particular al fondo, que se llama cachaza, mientras que el jugo clarificado queda en la parte superior del tanque de clarificación. Este jugo libre de precipitado se transporta hacia los evaporadores, mientras que la cachaza sedimentada, pasa hacia un proceso de filtración para extraer la mayor cantidad de sacarosa que pueda tener todavía. Luego de este proceso de extracción, este desecho se utiliza como abono para los suelo por ser buena fuente de materia orgánica o como base para concentrados de animales. (Beta San Miguel, 2002)

d. **Filtros de cachaza.** El área de purificación del jugo tiene como función principal eliminar impurezas presentes en el jugo de caña con el mínimo de pérdidas de azúcar. En esta área, el jugo de caña es sometido a procesos de alcalización y calentamiento con el objeto de desechar del jugo las sustancias indeseables, tales como: bagacillo, tierra y no azúcares en forma de cachaza, y así, poder entregar al área de evaporación un jugo claro.

El desempeño en el proceso de la clarificación afecta directamente la calidad del azúcar, por lo que la extracción de cachaza debe hacerse de tal forma que se garantice la calidad de jugo y que en la estación de filtros se opere de la manera más eficiente. La filtración tiene como función principal, recuperar la máxima cantidad de jugo arrastrado con los lodos para que el contenido de azúcar en la cachaza sea el mínimo, además, remover la mayor cantidad de material insoluble con la cachaza de forma que el jugo filtrado sea de buena calidad (Avelar, et al, 2012).

En el filtro se aplica agua caliente con boquillas aspersoras para minimizar la cantidad de sacarosa residual en la cachaza. La materia sólida se conduce por bandas transportadoras a tolvas para recogerla en vagones o volquetas, pesarla y disponerla en el campo como estabilizador de suelos pobres en materia orgánica (Avelar, et al, 2012).

Según Hugot (1972) y Rein (1979) Es el proceso más necesario que se encuentra dado que sin él la pérdida de sacarosa en la cachaza sería significativa. Se lleva a cabo en filtros rotativos al vacío que separan el jugo del lodo, el jugo retorna a la fábrica al tanque de alcalizado (12% del total) y el lodo se manda a los campos como abono (3-4 % caña).

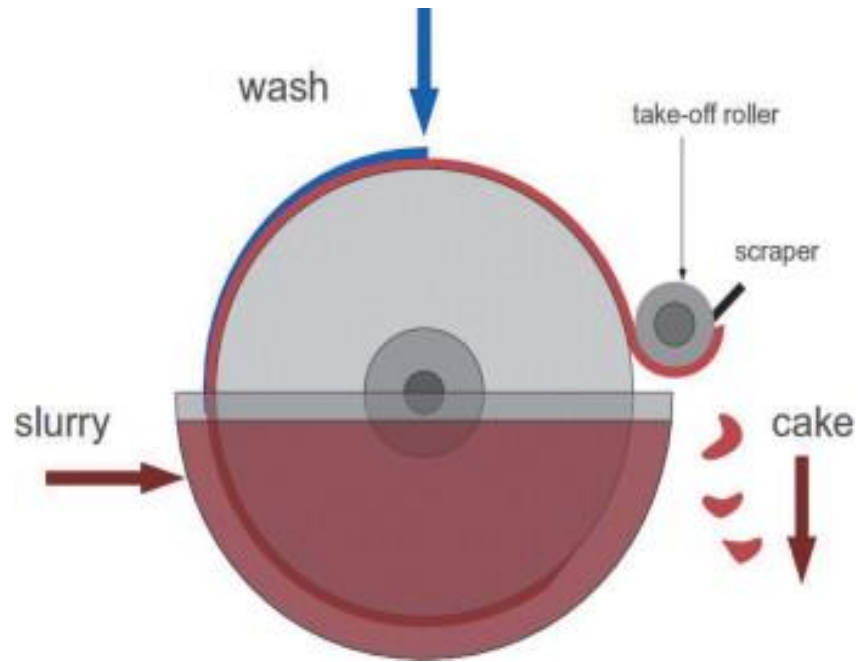
1) Filtro rotatorio de vacío. Este filtro consiste de un tambor rotatorio cubierto con un plato perforado de cobre o de otro metal, el cual se sumerge en un baño que contiene lodos. Conforme el tambor rota, se aplica succión a los diferentes segmentos del tambor, lo cual forma una capa delgada en la superficie del tambor. La capa formada pasa por un rocío de agua, el cual se seca por la succión, y se remueve por una pala que lleva esta capa a una banda que la desecha. La desventaja de e sistema de vacío es que raramente da un filtrado lo suficientemente claro como para ir directamente a los evaporadores. (Chen y Chou, 1993)

Estos filtros funcionan continuamente. La sustancia seca que queda tiene un contenido de 50% de agua. Otra desventaja de estos filtros es que no pueden producir capas con bajo contenido de humedad. Un filtro rotatorio consiste de un cilindro de 2 a 3m de diámetro (tambor) con agujeros, un canal para lodos, una pala para remover el lodo seco (la capa de lodo) del filtro, una bomba de vacío, y tuberías de conexión. El cilindro gira a 0.1 hasta 2RPM. También tiene un tambor externo a donde entra el lodo a tratar. El proceso se lleva a cabo de la siguiente manera: (Wiley, 2007)

- ✓ El lodo, de los clarificadores, es bombeado al tanque del filtro, el cual tiene una agitación lenta para prevenir asentamiento. (Wiley, 2007)
- ✓ Del tanque, el lodo entra al filtro.
- ✓ Cuando el tambor está sumergido en el lodo, se aplica vacío, resultando en filtración y en acumulación de una capa de lodo.
- ✓ Cuando el tambor sale del lodo, entra a la parte de lavado, donde de nuevo se aplica vacío (De una fuente diferente) para succionar el líquido que cae en la superficie.
- ✓ Cuando el lodo acumulado se ha secado, se apaga el vacío. Se aplica un poco de aire para romper el lodo acumulado y éste es removido por la pala.

- ✓ Cuando el lodo acumulado es descargado, el tambor ingresa de nuevo al lodo y un nuevo ciclo comienza. (Wiley, 2007)

Gráfica 3. Diagrama de la vista transversal de un filtro rotatorio



(Rotary drum filter, ND)

Gráfica 4. Filtros rotatorios utilizados para cachaza en ingenios azucareros



(Rotary drum filter, ND)

Existen filtros de múltiples componentes pero el filtro rotativo es mucho más barato y fácil de usar. Así mismo, los filtros prensa tienen gastos de instalación mayores. Muchas industrias prefieren los filtros prensa con membrana por las siguientes razones: (Wiley, 2007)

- ✓ Pérdida de azúcar: Las pérdidas de azúcar producidas por los filtros prensa son de aproximadamente 0.7% del azúcar entrando a la fábrica. Con los filtros de vacío, las pérdidas son de 0.9 a 1.4%. Se queda menos azúcar en el lodo acumulado producido por los filtros prensa porque tienen mejores mecanismos de prensamiento. (Wiley, 2007)
- ✓ Alto contenido de sustancias secas: Los filtros prensa producen una acumulación con sustancia seca del 70%, pero los filtros rotatorios producen una capa con cerca del 50% de sustancia seca. Entonces el producto necesita decantación para reducir su contenido de humedad, y este procedimiento tiene costos adicionales. (Wiley, 2007)
- ✓ Calidad del filtrado: Los filtros prensa producen jugos claros, pero el filtrado de los filtros rotativos aún contiene algunos sólidos suspendidos. (Wiley, 2007)

e. **Evaporación.** El jugo cristalizado previamente, pasa a esta etapa del proceso de producción de azúcar, que consiste en la eliminación del agua del mismo. El jugo que se recibe en esta etapa de evaporación contiene un porcentaje de sólidos solubles aproximadamente entre un rango de 10-20% y un 85% de agua. Pero luego de la evaporación de agua del jugo, se logra obtener una jarabe con una concentración de sólidos solubles entre el 55-60%. Para aumentar la eficiencia del proceso y siempre el enfoque al ahorro de costos se utiliza generalmente en la industria azucarera, evaporadores de múltiple efecto al vacío, los cuáles consisten en una serie de evaporadores conectados en serie. Para esto, primero el jugo entra a un pre-evaporador, se calienta hasta llegar a su punto de ebullición. Pero, al llegar a este punto, se genera cierta cantidad de vapores los cuáles se utilizan para calentar el jugo en el siguiente efecto. Esto se refiere en tomar varios evaporadores y conectarlos de tal manera que la evaporación producida en el primero sirva de vapor de calefacción al segundo evaporador y así sucesivamente. Por lo que, en este punto del proceso se obtiene una masa altamente viscosa que se conoce con el nombre de “Meladura”. (Castillo et. al, 2000)

f. **Cristalización.** Esta etapa del proceso, se realiza en lo que se conoce como “Tachos”, los cuáles son cristalizadores al vacío de un solo efecto. El producto resultante del proceso de cristalización es un material que es una mezcla de jarabe y cristales, que se denomina comúnmente como masa cocida que no es más que una mezcla de miel y azúcar. (Farine, 2000)

La mayoría de las industrias azucareras utilizan un sistema de tres cocimientos o templeas porque es más eficiente desde el punto de vista de lograr la mayor concentración de sacarosa. El objetivo principal de este sistema moderno de tres masas es dirigir la templa o masa al punto de saturación, donde se va a lograr la formación y desarrollo de los cristales de azúcar. Por lo que, en este paso se pueden obtener dos tipos de productos finales. El primero consiste en cristales de azúcar con ciertas características de calidad establecidas como los son un tamaño uniforme, color aceptado a nivel comercial, nivel de pureza alto y una humedad estandarizada. Pero también se produce el producto que se conoce como las mieles finales, que se considera realmente como un subproducto de la fabricación. (Farine, 2000)

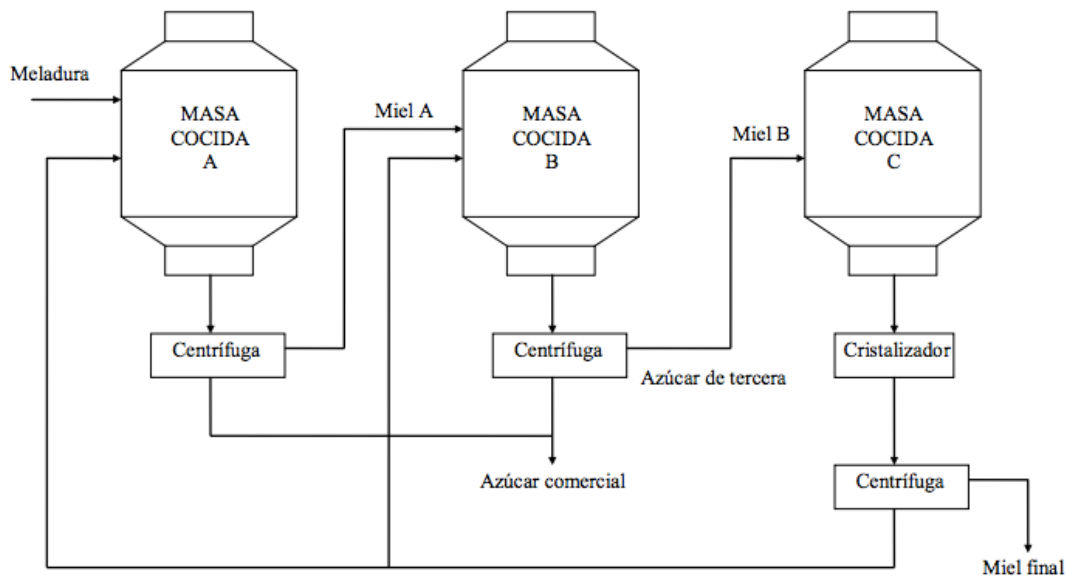
Las características de las mieles finales es que tiene un bajo contenido de sacarosa. Esto se clasifica como una pérdida de sacarosa en el proceso, pero por el alto costo de extracción de las mismas no se procesan industrialmente. Esto dependerá de la pureza del producto, obteniendo específicamente azúcar crudo, azúcar blanco o azúcar para refinación. Para esto los cristales de azúcar pasan a las centrifugadoras donde se separa la miel de los cristales de azúcar. Las centrifugas trabajan a altas velocidades y en varios ciclos, dependiendo del azúcar que estén purgando. Estos ciclos incluyen lavados con agua y/o vapor en intervalos de

tiempo determinados de acuerdo a la clase y calidad de la templa. La miel obtenida A, pasa por el segundo tacho para repetir el proceso de cristalización y forma la masa B, la cual se vuelve a separar en las centrífugas. La miel obtenida, denominada miel B, para a un tercer tacho y se forma la masa C, la cuál se vuelve a pasar por las centrífugas, obteniendo la miel final o melaza que se retira del proceso pero se comercializa y procesa para la producción de alcoholes, en alimentación animal o como insumo de la industria sucroquímica.

El azúcar allí separado puede ser ya el producto final o se puede devolver al proceso como semilla. Este es un polvillo de azúcar que se produce en el tacho de cristalización, que posteriormente es introducido o agregado al proceso conocido como “semillamiento”, en una zona específica para evitar la formación de granos falsos y conglomerados, que disminuyen la calidad del azúcar producido. (Farine, 2000)

El proceso de cristalización de azúcar que se realiza en los tachos al vacío, necesita básicamente de una medida eficaz de control de la sobresaturación de licor o masa madre. Esta medición de la sobresaturación en los tachos se puede realizar por análisis de diferentes variables y cálculos matemáticos establecidos. También existen diversos factores que están directamente relacionados con la sobresaturación en los tachos como los son: la elevación del punto de ebullición, viscosidad y consistencia de las masas, la conductividad eléctrica, densidad del material, entre otros. En general se puede clasificar las variables que afectan en el proceso de cristalización como fundamental y reguladora. En las variables fundamentales de este proceso se tiene la sobresaturación, consistencia, conductividad, presión absoluta y contenido de cristales en las masas. Ahora bien, en las variables reguladores se incluye el flujo de vapor, flujo de meladura y flujo de agua al condensador. (Farine, 2000)

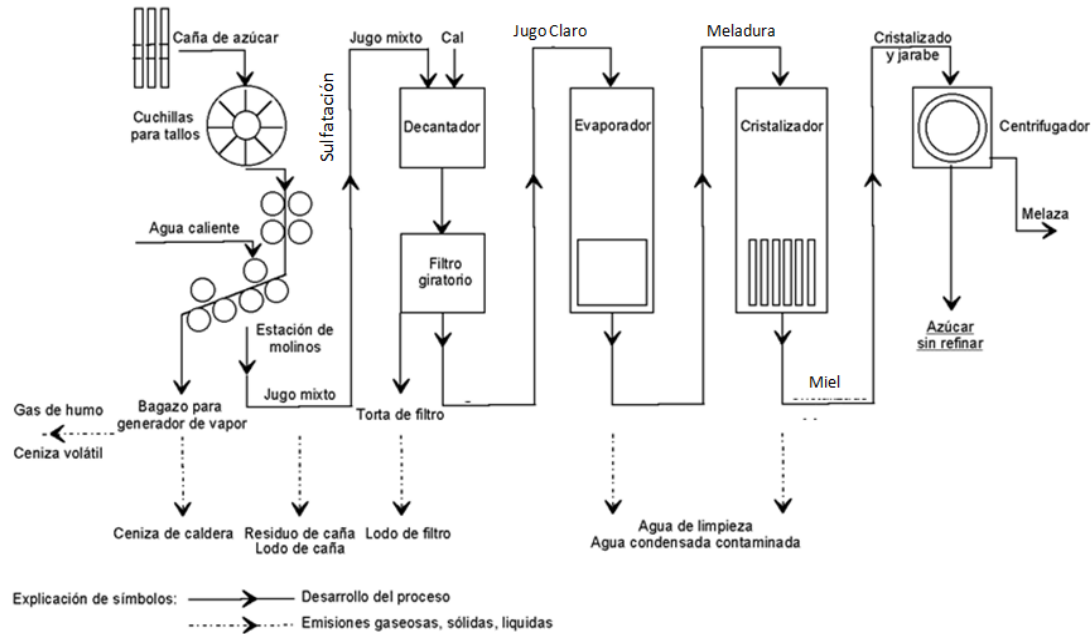
Gráfica 5. Diagrama de un Sistema moderno de Tres Masas Cocidas



(Farine, 2000)

g. Secado del azúcar. Los cristales de azúcar, obtenidos en la etapa de centrifugación, tienen una alta humedad. Por lo que se transportan por elevadores y bandas hacia secadoras que por medio de la circulación de aire caliente a contracorriente disminuyen la humedad del producto. Este es un aspecto sumamente importante para controlar la calidad del azúcar, ya que se debe tener un porcentaje de humedad aproximadamente de 0.05% para evitar formación de terrones en el azúcar. Para esto se debe alcanzar en los secadores temperaturas cercanas a 60°C. Luego se enfría en enfriadores rotatorios por circulación de aire frío a contracorriente, para disminuir su temperatura a 40-50°C aproximadamente. Luego de este procedimiento, se transporta al área de empaque dependiendo de las presentaciones finales. (James, 1996)

Gráfica 6. Esquema del proceso de fabricación de azúcar sin refinar a partir de caña de azúcar



(Guía de Protección Ambiental Tomo II: Economía Agropecuaria, Minería y Energía, Actividades Industriales y Artesanales (GTZ/BMZ), 1996, Actividades industriales y artesanales, 56. Azúcar, 751 pages)

1) Aterronamiento. Hay varios factores que pueden afectar el aterronamiento en el azúcar. Entre estos se encuentra el contenido de humedad, el equilibrio de humedad relativa, tamaño de partícula, forma de cristal, temperatura y función de flujo. Dependiendo de la estructura de la partícula del azúcar (cristalina o amorfa) se tienen una tendencia en la absorción de agua. Incluso en cristales de azúcar existen varios factores que afectan la absorción de agua y por consecuencia la estabilidad de almacenamiento. La presencia de una pequeña capa de solución saturada presente en la superficie del cristal, al igual que la distribución de tamaños de cristales, tienen un efecto directo en la humedad relativa del azúcar y por ende en la capacidad de aglomerarse. (Mathlouthi, 2010)

El aterronamiento de partículas alimenticias especialmente azúcar refino puede ser considerado un fenómeno de aglomeración espontánea. Normalmente es causado por una humedad encontrada en la superficie del cristal que causa una disolución e incluso una superficie pegajosa. Esto normalmente ocurre en superficies que contienen partículas amorfas. (Mathlouthi, 2010)

Existen cuatro etapas en donde puede ocurrir el fenómeno de aglomeración:

- ✓ La etapa péndula en donde las partículas fluyen normal,

- ✓ La etapa funicular en donde hay un contacto permanente entre las partículas,
- ✓ La etapa capilar en donde el contenido de humedad es suficientemente alta para provocar una ligación entre partículas
- ✓ La etapa de gota en donde la disolución de las partículas puede ocurrir. (Mathlouthi, 2010)

Temperatura, y actividad de agua juegan un rol muy importante en cuanto al proceso de disolución parcial el cual lleva a la aglomeración de partículas. La tendencia de azúcar refinado de diferentes tamaños de partículas a aglomerarse aumenta cuando las condiciones de almacenaje varían en cuanto a temperatura y humedad relativa. (Mathlouthi, 2010)

2) Control de almacenamiento. El almacenaje de grandes cantidades de azúcar debe de tomar en cuenta varios factores en cuanto al manejo adecuado del producto. Dado a que normalmente los ingenios se encuentran cerca de las costas, pueden presentar condiciones extremas incluyendo una variación de humedad relativa desde 30 hasta 100% en un período de 24 horas. (Woods, 1982)

Temperaturas y humedad constante dentro de las instalaciones de almacenamiento son de suma importancia para el manejo adecuada del azúcar. Se debe de poder mantener un cierto control sobre estas condiciones para asegurar la calidad del producto. (Woods, 1982)

La temperatura del azúcar al momento de almacenaje se debe de asegurar para así prevenir el hecho de aglomeración de cristales y el aterronamiento del mismo. Manteniendo una temperatura del azúcar cerca de la temperatura ambiente asegura que el cambio de temperatura no provoque una liberación de humedad interna del cristal hacia la superficie, asegurando así que no ocurra una aglomeración. (Woods, 1982)

3) Agua de desecho en un ingenio. El ingenio usa agua para lavar la caña, enfriar equipos, para lavar los lodos de cachaza, para la alimentación de los evaporadores, para lavar... Los usos específicos de agua en los ingenios son variados. Las pérdidas de azúcar en el agua de desecho es el doble que las pérdidas en la fábrica porque hay una gran cantidad de agua que se condensadores de los evaporadores. Cantidades insignificantes de azúcar distribuidas en millones de galones por día pueden representar grandes pérdidas de dinero. Todas las aguas de desecho deben ser muestreadas y analizadas periódicamente, al menos cada hora. Un arreglo ideal, que se hace en algunas plantas, es tener todas las aguas de desecho fluyendo hacia un drenaje principal en el cual se puede tomar muestras

fácilmente. Las muestras, como expresado anteriormente, deben ser tomadas cada hora y debe ser muestreada tan pronto como se recolecta. (Chen y Chou, 1993)

4) Prueba de á-Naftol para trazas de azúcar en agua. La prueba más comúnmente usada para determinar la presencia de azúcar en aguas de los ingenios es la prueba con á-Naftol. Es hasta cierto punto cuantitativa si se compara bajo condiciones similares y comparadas con pruebas con soluciones estándar. Es posible acostumbrarse a las variaciones de color. Esta prueba se llama Molisch. (Ward, 1984)

Esta prueba está diseñada para determinar la presencia de carbohidratos. Las sustancias coloradas son productos de la condensación entre los fenoles y los furfurales, así mismo de los productos formados de los azúcares por la acción de ácidos. La reacción se da por los azúcares simples, los oligosacáridos y varios polisacáridos. Los ácidos fuertes como el clorhídrico y sulfúrico convierten los carbohidratos en sustancias coloradas oscuras. Los colores producidos son ketosas, pentosas y ácidos urónicos en presencia de fenoles y ácidos. (Ward, 1984)

El reactivo de prueba deshidrata pentosas de forma furfural y deshidrata hexosas para formar 5-hidroxiacetil furfural. Los furfurales reaccionan adicionalmente con el naftol presente en el reactivo de ensayo para producir un producto púrpura. (Ward, 1984)

H. Pérdidas de sacarosa en el proceso agroindustrial para la producción de azúcar de caña

Como toda industria productora, el objetivo principal es lograr administrar lo más eficientemente el proceso que se elaborando con el fin de tener un alto rendimiento el cual está relacionada con las ganancias que se puedan generar con la venta final de cierto producto. Esta no es la excepción con la industria azucarera, tomando en cuenta aún variaciones en la economía en general, demanda social y comercial del azúcar, entre otros. Para cumplir con estas expectativas de demanda, los productores de azúcar se han visto en la necesidad de aumentar sus producciones, por medio del aumento de cantidad de cultivo que a su vez está relacionado con una mayor demanda de producción para cumplir con la demanda del azúcar, siempre tomando en cuenta la mayor posibilidad de disminución de costos. (Romeo, 2012)

Aparte del incremento en la demanda de este producto, la industria azucarera también se ha visto involucrada en normativas y reglamentos en base a exigencias medioambientales por

lo complejo de su proceso productivo donde se ven afectados muchos recursos naturales como tierra, agua, generación de gases, elevaciones de temperatura, entre otros. Por lo que, han tenido que adaptarse a la aplicación de nuevas tecnologías para mejorar y controlar estos factores impactantes en el medio ambiente para en parte cumplir con reglamentos establecidos y por otra, estar involucrados en la importancia de la concientización del cuidado del planeta. (Romeo, 2012)

Cuando se habla de pérdidas en la industria azucarera, se relaciona directamente con el rendimiento de azúcar obtenido en base al inicial en la caña de azúcar. Por lo que, esta suma de pérdidas en el proceso puede llegar a representar hasta un 35% del azúcar disponible en la materia prima o caña de azúcar al inicio del proceso. (Romeo, 2012)

1. Factores que generan pérdidas de sacarosa en el proceso azucarero.

Las pérdidas de sacarosa en el proceso agroindustrial para la producción final de azúcar comercial, se debe a la influencia de diferentes factores puntuales como se puede mencionar el tipo de caña que se esté trabajando, el manejo pre y post cosecha del cultivo, condiciones de proceso, controles de calidad en el mismo, entre otros.

Pero, en general estas causas se pueden clasificar en cinco factores principales que son los siguientes: enzimáticos, químicos, microbiológicos, térmicos y físicos. Es importante reconocer que cuando se tienen pérdidas de sacarosa la mayoría de veces es resultado de la combinación de varios factores a la vez en toda la cadena de producción del azúcar. (Romeo, 2012)

Para un mejor control en cualquier industria, es importante definir métodos que incluyan mediciones cuantificables de una forma confiable para llegar a concluir en base a ellos y tomar decisiones. Por lo que, en la industria Azucarera, ya se tiene definidos varios métodos establecidos y validados en base a estudios científicos, donde pueden cuantificar la pérdida de sacarosa y los resultados se pueden representar en el reporte de la planta procesadora al analizar los balances de materiales del proceso. Estas pérdidas pueden ser de tipo determinadas e indeterminadas. (Romeo, 2012)

Pérdidas determinadas son los valores o resultados que se reportan en puntos específicos definidos en el proceso de producción donde se tiene total conocimiento de la existencia significativa de pérdida de sacarosa. Estas pérdidas se pueden cuantificar con bastante exactitud ya sea por métodos analíticos o instrumentales. En este punto, juega un papel muy importante el laboratorio de control de calidad del ingenio, ya que son los

encargados y cuentan con personal especializado para realizar estas acciones de la mejor y manera más exacta posible para obtención de datos confiables y significativos. (Romeo, 2012)

En la industria azucarera estas pérdidas determinadas de sacarosa se realizan en el bagazo, cachaza y miel final. La razón del porqué se realiza en el bagazo este tipo de determinación, es que en este subproducto del proceso de producción de azúcar, se tiene cierta retención de jugo residual rico en sacarosa. Estas pérdidas de sacarosa presente en la cachaza depende de varios factores como la forma de preparación de la caña, uniformidad del colchón de caña en la molienda, ajustes y condiciones del proceso de molienda, estado físico de las masas en los molinos, condiciones en el proceso de maceración, entre otros.

Ahora bien, las causa del porqué se realiza análisis de pérdida de sacarosa en la cachaza, se debe a que se tiene cierto nivel de arrastre de sacarosa en los lodos que se generan luego del proceso de filtración. Esta pérdida es la menor, respecto a las pérdidas determinadas. Para evaluar y controlar las pérdidas en este punto, se debe analizar los factores que inciden en la presencia de sacarosa en la cachaza que son los siguientes: eficiencia en los procesos de clarificación, estado físico de las telas de los filtros rotatorios de cachaza y su velocidad de rotación, presión del agua de lavado en los lodos, porcentaje de bagacillo que se agrega a la cachaza, presiones al vacío que se usan en el proceso de filtrado de jugo y la compresibilidad de la torta de cachaza. (Romeo, 2012)

Por último la razón por la cual se analiza las pérdidas de sacarosa en la miel, es porque se tiene un arrastre significativo de azúcar en éstas por la incapacidad de alcanzar su punto de sobresaturación y formar el cristal. Esta sacarosa presente en las mieles no se puede reprocesar por la proceso convencional, por lo que se considera directamente como una pérdida en el proceso de producción y se utiliza como todas estas mediciones una forma de mejorar la eficiencia del proceso de fabricación en general. Esta pérdida de sacarosa en las mieles, representa la mayor pérdida en el proceso para la industria azucarera. Es por esto, que es sumamente importante identificar las partes del proceso de inferen con la presencia de sacarosa en las mieles para controlar y evitar dichas pérdidas. Estas partes incluyen operaciones y sistema de automatización en el área de tachos específicamente en la condiciones y propiedades de las masas cocidas que se obtengan, el grado y tiempo de la realización del proceso de semillamiento, nivel de pureza de las mieles, volumen y tamaño de los cristales formados, y operaciones tanto del calentamiento como del enfriamiento de los calentadores y cristalizadores de masa cocidas.

Pérdidas indeterminadas se refieren a pérdida que se analizan y forman parte de los reportes del proceso, pero no se pueden estimar con exactitud. Esto se debe, a que estas pérdidas de sacarosa, son el resultado de muchos factores (químicos, microbiológicos y

físicos) que interactúan básicamente en toda la cadena del proceso, siendo esta la razón por la cual sólo se puede realizar cuantificaciones globales y no específicas e individuales. Esto no significa que la industria, no establezca puntos críticos donde hay mayor generación de pérdidas indeterminadas en toda la cadena, pero su estimación se realiza por medio de un análisis global de sacarosa en base a las pérdidas determinadas de sacarosa. Entre los factores generalmente asociados con pérdidas indeterminadas de sacarosa son los siguientes:

- ✓ Arrastre de sacarosa en los condensadores de los evaporadores, filtros de cachaza y tachos.
- ✓ Pérdida por contaminación microbiológica durante las etapas de extracción y clarificación del jugo y en la estación de filtración de la cachaza.
- ✓ Lavado de equipos de proceso.
- ✓ Derrames de jugos, masas cocidas y azúcar. (Romeo, 2012)

I. La industria azucarera y los microorganismos

El procesamiento de la azúcar se ve muy propenso a ser afectado por la degradación de los componentes de la caña de azúcar, además de los microorganismos que pueden estar presentes dentro de cada proceso, ya sea por una contaminación física (maquinaria) o química (temperatura, presión, etc) (Larrahondo, 2009).

La pérdida en la producción de azúcar de manera química se debe a tres factores. Uno de ellos es la inversión química debida al pH y las temperaturas regulares en los jugos de caña el cual afecta en un 13%. En un segundo plano la pérdida de azúcar se ve afectada en un 25% por el factor enzimático, hay enzimas que logran generar alteraciones de manera que pueden ocasionar transformaciones químicas y a su vez energéticas, dando un cambio significativo que pueda alterar los procesos a los cuales el azúcar está expuesta (Eggleston, 2005). Finalmente, se ha estimado que la mayor pérdida de azúcar se debe al crecimiento de microorganismos en un 62%. Los microorganismos suelen activar ciertos mecanismos entre ellos la fermentación, formación de ácidos débiles, los cuales pueden afectar al jugo de caña y generar una pérdida indeseable por la generación de un producto con un pH no deseado. (Serrano, 2006) (Eggleston, 2001) (Parul, 2009)

1. Factores que afectan la actividad de los microorganismos

Oxígeno: Los microorganismos pueden ser clasificados por sus requerimientos de oxígeno. Los microbios aeróbicos requieren oxígeno libre para crecer. Las anaeróbicas no necesitan el oxígeno, y de hecho crecen mejor en su ausencia. Algunas especies son facultativas y crecen bien con y sin oxígeno. Las levaduras crecen mejor aeróbicamente, pero algunas especies pueden crecer en condiciones anaeróbicas. Los mohos requieren oxígeno, mientras que la bacteria varía en sus requerimientos de oxígeno. (Chen y Chou, 1993)

Humedad: Los microbiólogos prefieren describir el efecto de la humedad en microbios en términos de actividad de agua. Esto se define como el ratio de vapor de agua en una solución comparada con la presión de vapor en agua pura a la misma temperatura. Una solución muy diluída va a tener un ratio cerca de uno. Entre más bajo es el ratio, la mayor cantidad de concentración de sólidos tiene la solución. En general, al aumentar la concentración de una solución de azúcar, la presión osmótica también aumenta mientras que su actividad en agua disminuye. Estas condiciones harían que el crecimiento de microorganismos sea difícil. La especie de bacteria, mohos y levaduras requieren un valor de agua cercano o entre 0.9 -1, sin embargo las especies osmofílicas de levaduras y mohos pueden sobrevivir a valores de actividad de agua de 0.6-0.7. Es por esto que para licores con una densidad de 40 brix se va a restringir el crecimiento de todas las bacterias comunes en el proceso de refinamiento, con algunas levaduras y mohos que pueden crecer a densidades de más de 67 brix. (Chen y Chou, 1993)

Temperatura: Cada microorganismo tiene un rango de temperatura en el cual crecería de manera óptima. Los microbios psicrófilicos crecen entre los 20°C y los 30°C. Los que crecen arriba de 45°C y 65°C son llamados termofílicos. Las levaduras y mohos crecen bien solo entre ambas condiciones, mesofílica y psicrófilicas. Las bacterias, sin embargo, son capaces de crecer en un rango de temperatura entre 0°C-90°C. La mayor parte de levaduras y mohos mueren fácilmente a 60°C por 15 minutos. (Chen y Chou, 1993)

pH: La acidez de una solución de azúcar determina qué tipos de microorganismos podrían sobrevivir. Tanto las levaduras como los mohos crecen en un rango de pH de 2-8. Las bacterias son más sensibles a los cambios de pH, algunas bacterias pueden crecer entre 4 y 8 pH, pero varias especies solo crecerían entre 6.5-7.5 pH. Las bacterias patógenas son las más fastidiosas en su dependencia de pH. (Chen y Chou, 1993)

Biocidas: Algunos químicos son agentes fungicidas y bactericidas, los cuales mataría microbios. Sin embargo, la FDA tiene regulaciones estrictas que regulan la adición y uso de agentes químicos en procesos alimenticios, particularmente en productos alimenticios. La mejor manera de controlar los problemas microbiológicos es con limpiezas modelo, y uso de

calor, densidad y pH para inhibir el crecimiento microbiano en los procesos de refinamiento de azúcar. (Chen y Chou, 1993)

2. **Clasificación general de los microorganismos.** En el refinamiento de azúcar y el estudio de microorganismos es restringido a tres grupos importantes. Estas categorías son bacterias, levaduras y mohos. (Chen y Chou, 1993)

Bacterias son plantas microscópicas unicelulares de aproximadamente un micrón. La mayor parte de bacterias que sobreviven en el proceso de refinamiento se encuentran en la categoría de formadoras de esporas. Bacterias aeróbicas termofílicas crecen bien entre 45°C y 60°C. Las bacterias aeróbicas mesofílicas tienen una temperatura óptima de crecimiento entre 20°C y 45°C. Las bacterias termofílicas son conocidas por su olor a sulfuro y por ser formadoras de gas anaeróbico. (Chen y Chou, 1993)

Las levaduras son esféricas, ovales, con tamaños celulares de cerca de 10 micrones. Las levaduras son capaces de crecer sin oxígeno y pueden sobrevivir en concentraciones altas de azúcar. Muchas especies de levaduras tienen sistemas muy activos de enzimas, y bajo ciertas condiciones pueden producir grandes cantidades de invertasa, la cual puede provocar grandes cantidades de pérdidas de sucrosa. La mayor parte de esporas de levadura pueden resistir hasta 15 horas a 60°C, aunque la temperatura óptima está entre 20°C y 30°C. (Chen y Chou, 1993)

Mohos son parásitos filamentosos con tamaños entre 10 micrones hasta 1 milímetro. Requieren oxígeno para crecimiento y condiciones de temperatura entre 25°C y 30°C. Los mohos se caracterizan especialmente por su habilidad de alimentarse de varios materiales y en la presencia de cantidades muy pequeñas de materia orgánica. (Chen y Chou, 1993)

3. **Microorganismos en los procesos de la azúcar.** La detección de microorganismos en la producción de azúcar es uno de los procesos llevado a cabo desde hace muchos años atrás. La industria azucarera procesa un material de cualidades idóneas para el desarrollo de la actividad microbiana, que es el jugo de caña. En la composición del jugo de caña se encuentran compuestos como nutrientes, vitaminas, compuestos nitrogenados y fundamentalmente azúcares; los cuales son indispensables para el desarrollo de microorganismos.

El pH del jugo, al igual que la temperatura, también son ambientes adecuados, en su mayoría, para la proliferación de microorganismos. En algunos casos, las bacterias poseen características que les permite adaptarse a las temperaturas, particularmente altas, y logran su proliferación de manera adecuada durante el proceso azucarero. Un ejemplo de estos microorganismos son los mesófilos (Hernández et al. 1986). Los mesófilos, son los microorganismos más presentes en el proceso, estos tienen una temperatura óptima de crecimiento entre los 25°C y 40 °C, los cuales se pueden ver presentes en mayor concentración en la primera extracción.

Hay bacterias que son resistentes a las altas temperaturas y se pueden generar en procesos en los cuales baja la presión y la temperatura, tales como los termófilos, bacterias que logran soportar altos niveles de temperaturas, mayores a los 55°C. Los hongos o levaduras, las levaduras pueden desarrollarse en medios que se encuentren altamente concentrados, ya que resisten elevadas presiones osmóticas. Estas levaduras se pueden ver presentes en la etapa de la miel del proceso, mientras que los mohos se encuentran en menos proporción. (Zerega, 1996) (Serrano, 2006)

Desde que la caña es cortada y transportada hasta la fábrica, empieza la acción de los microorganismos debido a que la caña cortada pierde su barrera natural de protección y el ingreso del mismo hacia ella tiene mayor facilidad. Debido la pérdida de sacarosa causada por los microorganismos, la cual se estima que puede ser desde el 2% hasta un 11% los ingenios utilizan diferentes biocidas en el área de extracción. (Eggleston y Grisham, 2003).

La caña de azúcar pierde la sacarosa que tiene almacenada desde el momento en que es cortada, debido a que es un proceso bioquímico además de la inversión de la sacarosa. (Batta y Singh, 1986) La inversión de la sacarosa puede realizarse por altas temperaturas, degradación alcalina/acidez y por microorganismos con excepción de estos, las primeras causas pueden ser controladas mientras que los microorganismos tienen más implicaciones. La inversión es una reacción causada por la enzima invertasa en donde la sacarosa se convierte en glucosa y fructosa. La invertasa está presente naturalmente en la caña de azúcar

y en los microorganismos, ya que estos la utilizan para obtener la glucosa y fructosa, metabolitos principales para el inicio de la glucólisis ruta metabólica principal de todos los organismos para la obtención de energía. (Mora, 1994).

La glucosa es el sustrato esencial para llevar a cabo el metabolismo en las células y así producir energía en forma de ATP (adenosina trifosfato) (Dang, 2013). Cuando una molécula de glucosa es degradada, en presencia de oxígeno, por una serie de reacciones enzimáticas para obtener dos moléculas de piruvato, este proceso es llamado glicólisis o glucólisis. Los microorganismos presentes en el jugo de caña llevan a cabo la hidrólisis de sacarosa para obtener la glucosa. En este punto, comienza el catabolismo de la glucosa para la obtención de energía (Nelson y Cox, 2008).

a. **Glucólisis.** La glucólisis fue la primera ruta metabólica en ser completamente definida y probablemente es la más estudiada. Es considerada una ruta prácticamente universal de catabolismo de glucosa y se puede llevar a cabo tanto en presencia de oxígeno como en ausencia de éste. Cuando el proceso se lleva a cabo en un ambiente anaerobio, el proceso se llama Fermentación. De igual manera que la glucólisis, la fermentación consiste en degradar la molécula de glucosa, al igual que otros nutrientes orgánicos, para obtener energía en forma de ATP (Nelson y Cox, 2008).

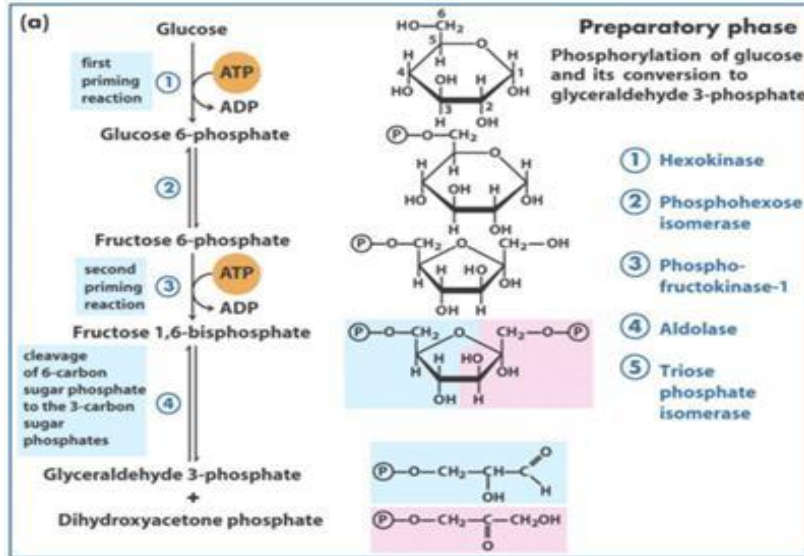
El catabolismo de la glucosa ocurre en una serie de 10 pasos, los cuales se dividen en dos fases importantes, la fase preparatoria ("preparatory") y la fase de recompensa ("payoff"). En la primera fase, preparatoria, la molécula de glucosa es fosforilada en el carbono 6 (siendo ATP el donador de fosfato) y luego convertida a fructosa 6-fosfato. Esta última es nuevamente fosforilada en el carbono 1, con ayuda de ATP, para formar fructosa 1,6-bisfosfato. Luego, ésta es dividida en dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído 3- fosfato. Como último paso de la primera fase, la molécula de dihidroxiacetona fosfato es isomerizada a una segunda molécula de gliceraldehído 3-fosfato, finalizando así la primera fase. En esta primera fase, se utilizan las moléculas de ATP para llevar a cabo los pasos. De esta manera, la obtención o adquisición de energía ocurre en la segunda fase (Nelson y Cox, 2008).

En la segunda fase, de recompensa, cada molécula de gliceraldehído 3-fosfato es oxidada y fosforilada, con un fosfato inorgánico proveniente de un cargador de electrones NADH, para formar 1,3- bifosfoglicerato. Luego, se libera la energía en forma de ATP y dos moléculas de 1,3- bifosfoglicerato son convertidas en dos moléculas de piruvato (Nelson y Cox, 2008).

En la siguiente figura, Figura 7, se observa la fase preparatoria descrita anteriormente. En donde cada reacción cuenta con una enzima específica para llevar a cabo el proceso de

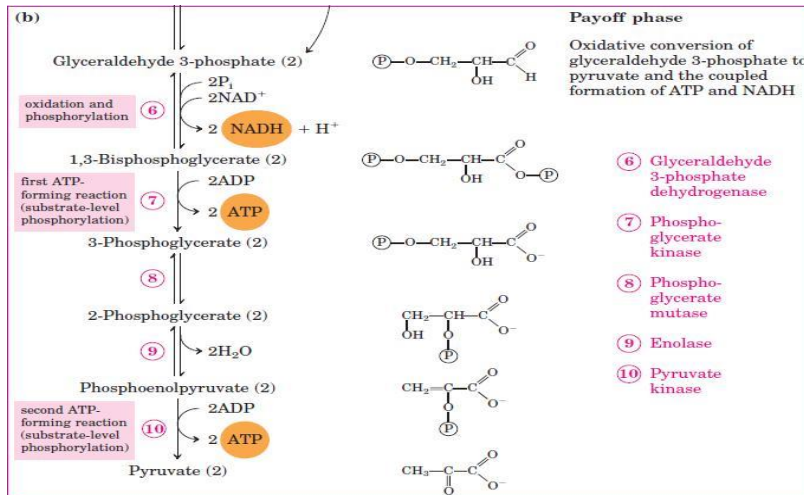
catabolismo. Además se presentan las estructuras de cada molécula intermedia. El donador de fosfatos en esta fase es el ATP. En la Figura 6, se presenta la fase de recompensa, en donde el cargador de electrones NADH es el donador de fosfatos para poder liberar la energía en forma de ATP. Por cada molécula de glucosa degradada a piruvato, dos moléculas de ATP son generadas y también dos moléculas de NADH son producidas a partir de la reducción de NAD⁺.

Gráfica 7. Fase Preparatoria de la Glucólisis



(Tomado de Nelson y Cox, 2008)

Gráfica 6. Fase de Recompensa de la Glucólisis. Obtención de energía



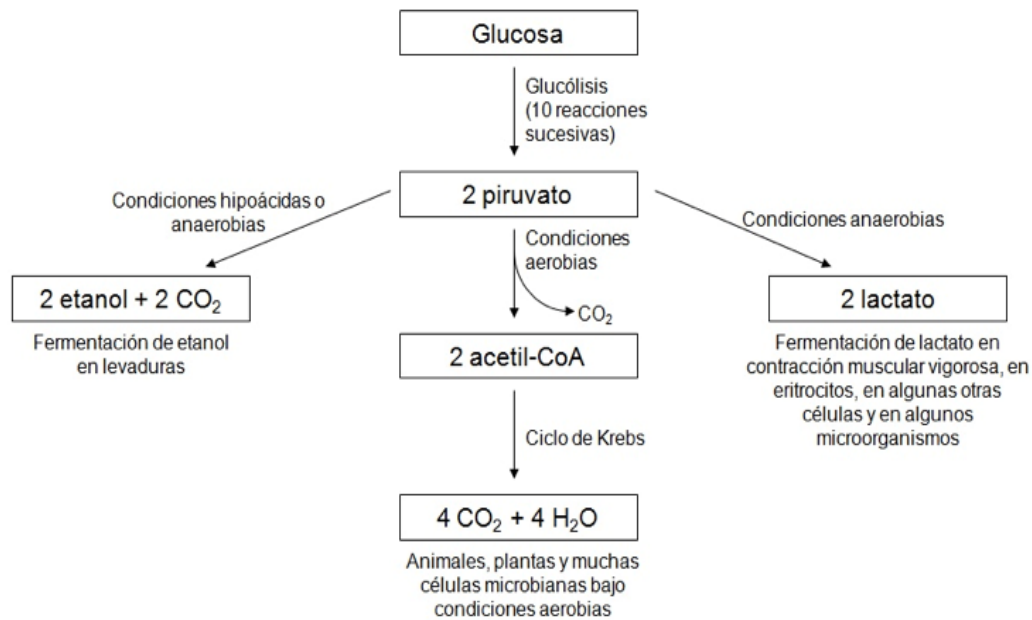
(Tomado de Nelson y Cox, 2008)

b. Destinos del piruvato. El piruvato posee tres destinos principales. En la primera ruta catabólica, el piruvato es oxidado (liberando CO₂) permitiendo así la unión de dos moléculas de Acetyl- coenzima A. Esta ruta se dirige al ciclo de ácido cítrico o ciclo de Crebs, en donde el grupo acilo es oxidado completamente a CO₂. Esta primera ruta se lleva a cabo en presencia de oxígeno (Nelson y Cox, 2008).

La segunda ruta es la vía de fermentación del ácido láctico; la cual se lleva a cabo en condiciones anaerobias y consiste en la reducción del piruvato a lactato. En algunos microorganismos, el producto de glicólisis, ante condiciones de ausencia de oxígeno, es el lactato (Nelson y Cox, 2008).

La tercera ruta del catabolismo del piruvato es la producción de etanol y CO₂ mediante el proceso llamado fermentación alcohólica. Dicha ruta se lleva a cabo en condiciones anaerobias y es utilizado por algunos invertebrados, tejidos vegetales, algunos microorganismos como levadura, entre otros (Nelson y Cox, 2008).

Gráfica 7. Destinos catabólicos del piruvato

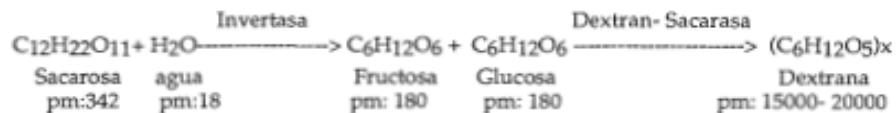


(Tomado de Nelson y Cox, 2008.)

La importancia de tener conocimiento sobre las distintas rutas, o destinos, que el metabolismo de la glucosa puede tomar recae en que dichos productos a formar, como consecuencia de obtención de energía, pueden ser potenciales indicadores de actividad microbiológica en el jugo de caña. La forma más eficiente y segura de determinar la presencia de actividad microbiana es mediante indicadores estandarizados.

El área de extracción en fábrica presenta las condiciones favorables para el desarrollo especies microbianas que se beneficien de la sacarosa. (Duarte, 1982). Además de la pérdida de sacarosa, los microorganismos también pueden causar problemas ya que al metabolizar la sacarosa producen etanol, ácido láctico, dióxido de carbono y dextranas, conocidas como “gomas” aumentando la viscosidad del jugo, impidiendo su movilidad. La reacción de inversión y formación de dextrana es la siguiente:

Gráfica 8. Inversión de sacarosa en fructosa y glucosa, seguida por la formación de dextrana



(Mora, 1994)

En el jugo de caña, la sucrosa es degradada para formar dextrosa y levulosa, particularmente por *L. mesenteroides*, la cual produce dextranasa para provocar polimerización de la dextrosa hacia polisacáridos llamados dextrana. La Dextrana tiene pesos moleculares de entre 15000-2000000 o mayores. La característica de la dextrana de ser dextrorrotatoria afecta la polarización del jugo, resultando en falsos contenidos de azúcar y falsa pureza del jugo.

Los rangos específicos de rotación de la dextrana se encuentran entre los rangos de +195 hasta +205, comparada con esa de la sucrosa, la cual es de +66.5. Teóricamente, 333ppm de dextrana en la caña aumenta los resultados de polimetría en 0.15. Además, un 0.1% de dextrana en el jugo produce un error de 1% en polarimetría, y cuando un 0.5% de dextrana se tiene un error de 7% de error en polarimetría. (Chen y Chou, 1993)

Las dextranas son cadenas poliméricas de unidades glucosil, sintetizadas por dextranasa (dextranasa) por la transferencia de unidades de D-glucosil desde la sacarosa hasta moléculas aceptoras. Esta polimerización resulta en la formación de dextrana, y unidades de fructosil son liberadas. Las dextranas también llamadas glucanos, junto a un número substancial de vínculos $\alpha(1,6)$ en su cadena principal, generalmente comprenden más del 50% del total de los vínculos. Estos α -D-glucanos también poseen cadenas laterales,

derivadas principalmente de $\alpha(1,3)$ - y en algunas ocasiones de vínculos $\alpha(1,4)$ - o vínculos $\alpha(1,2)$ -. Los diferentes tipos de dextranas de tamaño variable y estructura se sintetizan según el dextranasa producida por la cepa. (Majumder, 2007)

La dextrana contribuye a incrementar la viscosidad del jugo de caña, perjudicando el paso y fluidez de éste a lo largo de todo el proceso de extracción (Rodríguez, 2005). Los microorganismos que poseen la enzima dextranasacarasa son los capaces de formar dextrana como producto de consumir la sacarosa. Estos microorganismos son mayormente llamado dextranogénicos. Las bacterias de la familia Leuconostocaceae, donde están involucrados los géneros Leuconostoc, Oenococcus y Weissella, son las bacterias más abundantes en el jugo de caña y son las principalmente responsables de la producción de dextrana. (Larrahongo, 1995).

Siendo estos géneros los principales productores de dextrana y siendo de gran importancia en la producción de azúcar, se les denomina comúnmente como "Lactobacilos dextranogénicos" (LBDG). En este grupo están incluidas las bacterias ácido lácticas Gram positivas productoras de dextrana con un presencia significativa en los productos intermedios de la producción de azúcar. Se debe mencionar que a pesar de estudios de grandes avances para estudiar los LBDG y el conocimiento de su abundancia en el proceso azucarero, no se han reportado estudios sobre la incidencia de éstas bacterias en los productos intermedios, ni tampoco la proporción de estas bacterias en comparación la microbiota total presente en los productos.

Es importante delimitar que el deterioro del jugo de caña no solamente está asociado con la biosíntesis de dextrana, sino que están involucrados otros factores del proceso biológico de los microorganismos. Al utilizar la glucosa, estos liberan ácidos, por ejemplo láctico y acético, los cuales disminuyen el pH del jugo; disminuyendo así la pureza de éste (Ruiz, 2000).

Para mostrar las pérdidas que se deben a la formación de dextrana, se puede usar el siguiente cuadro (Chen y Chou, 1993)

Cuadro 3. Formación de dextrana

Dextrana (%)	Sucrosa perdida, (%) (lb/t azúcar)	Fructosa formada (lb/ t azúcar)	Ácidos formados (%)
0.05	0.20 (4.4lb)	2.2	0.07
0.1	0.40 (8.8lb)	4.4	0.14
0.5	2.0 (44lb)	22	0.7

La pérdida de sucrosa causada por la formación de dextrana puede ser calculada de la dextrana en el jugo. Considerando que un mol de sucrosa tiene peso molecular de 342 y provee un mol de glucosa, con peso molecular de 180, entonces se van a necesitar 222 moles de sucrosa para formar dextrana con un peso molecular aproximado de 40000. Por lo tanto $222 \times 342 / 40000 = 1.898$, lo que significa que la pérdida de sucrosa es aproximadamente 1.9 veces la dextrana formada. (Chen y Chou, 1993)

También ha sido reportado que una hora de retraso en el procesamiento de jugo, produce pérdidas de aproximadamente 6.47% del contenido de sucrosa. (Chen y Chou, 1993)

Uno de los problemas atribuidos a la dextrana es que disminuye la tasa de asentamiento de los lodos. Además, provoca dificultades para llevar a ebullición, por lo tanto se necesita más energía para llevar a ebullición. Sin embargo el efecto más dañino de la formación de dextrana es la elongación de los cristales.

La formación de dextrana y la elongación del cristal no solo reducen el crecimiento del cristal sino que aumenta la producción de falsos granos. Para producir azúcar de alta calidad se debe tener jugos con menos de 1400ppm de dextrana. (Chen y Chou, 1993)

La síntesis de dextrana a 35°C es dos o tres veces la tasa de síntesis que a 45°C, pero la síntesis es despreciable a 60°C. Esto sugiere que para almacenar jugos por grandes períodos de tiempo, las temperaturas no deberían estar debajo de 60°C.

En general, la mejor práctica es evitar desinfectantes y depender de temperaturas, pH y concentraciones apropiadas para prevenir deterioro. Al evitar residuos de fermentación y mantenimiento de limpieza disminuye el uso de preservantes químicos. (Chen y Chou, 1993)

Biocidas comerciales; los cuales poseen compuestos que pueden atacar a las enzimas invertasas o directamente al microorganismo. El uso de biocidas hasta el momento ha sido poco investigado, los ingenios utilizan las dosis que los proveedores les indiquen sin embargo se ha demostrado que estas concentraciones a nivel de laboratorio no causan el efecto

deseado en la disminución de microorganismos, además la aplicación de los mismos es constante lo que teóricamente podría causar resistencia en los microorganismos.

La utilización de biocidas en las concentraciones requeridas presenta un problema debido a que el producto final es para uso alimentario. Existen diferentes normas que regulan el uso del mismo para evitar que trazas en el producto final que pueda perjudicar la salud. Consecuentemente por el otro lado, también se realizan limpieza constantes de molinos para tratar de que no se conglomere bagazo y a que este es un sustrato ideal para el crecimiento bacteriano y se utiliza agua a temperaturas altas para ayudar a eliminar a los microorganismos que no soporten el calor.

Cuadro 4. Modo de acción de biocidas utilizados en los ingenios azucareros de Guatemala

Modo de acción de biocidas utilizados en los ingenios azucareros de Guatemala		
Compuesto activo	Modo de acción	Referencia
Ácido beta, extracto de lúpulo	Rompimiento de pared celular e inhibición del transporte de azúcares hacia la célula	Samaraweera, et. al 2011.
Aminas cuaternarias	Daño en membrana externa de bacterias gram positivas y negativas. Se combina con fosfolípidos y realiza cambios en ácidos grasos.	Russel, 2003 y Guerin-Mechil et. al 2000
Carbamatos	Inhibición de la biosíntesis de la pared celular	Francisco, G. et. Al 2003
Tiocianometiltio benzotiazol	Inhibición de topoisomera "girasa B", encargada de la hidrolisis de ATP como energía para el super enrollamiento del ADN circular.	Maxwell, 1997; Brvar, M et. al 2012
Polivinilrridona (Povidone)	No suficientemente conocido	Zarotech, Catálogo de productos.

c. Indicadores de actividad microbiana en jugo de caña. Existe una gama de indicadores tradicionales en jugo de caña que se han ido desarrollando a lo largo de los años. Estos pretenden establecer parámetros indirectos relacionados con factores de interés, como el deterioro del jugo y la pérdida de pureza con la acción de los microorganismos en el jugo.

Entre los más tradicionales está el determinar los grados Brix (%) mediante un refractómetro. Los grados Brix dan a conocer el porcentaje en peso de sólidos totales solubles en el jugo, o producto. Con esto, pretenden determinar el porcentaje de sacarosa (grados Brix) en la muestra a analizar y así atribuir la pérdida de sacarosa, en un tiempo determinado, a la actividad microbiana.

La desventaja de este indicador radica en que da a conocer la presencia de las diferentes clases de azúcares (sólidos solubles) y no específicamente de la sacarosa, que es lo que se pretende medir. Es evidente que la sacarosa es la más abundante en el jugo de caña, en comparación con el resto de sólidos solubles. La ventaja es el costo económico que este método requiere, ya que es relativamente económico y simple de manejar (Ramírez, 2011) (Larrahondo, 1995).

Otro indicador utilizado tradicionalmente es Pol (%) en el jugo, el cual se obtiene con un sacarímetro. El porcentaje de Pol indica la propiedad del jugo de caña de rotar la luz polarizada. Este valor está relacionado estrechamente con la concentración de sacarosa, por lo que sí existe una menor rotación de la luz polarizada significa que hubo pérdida de sacarosa. Sin embargo, dicho valor está influenciado por otros componentes presentes en el jugo capaces de rotar la luz polarizada, como por ejemplo la dextrana. Es por eso que, si se presenta una concentración elevada de dextrana, la cual es considerada un producto indeseable, dicha herramienta indicaría que hay presencia de una alta concentración de sacarosa, lo cual es falso. De esta manera, no es un indicador muy confiable. Es un método sencillo y relativamente económico, pero no lo suficientemente confiables para delimitar el deterioro del jugo por parte de la actividad microbiana (Ruiz, 2000) (Zossi et al, 2010) (Hernández et al, 1986).

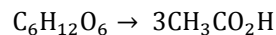
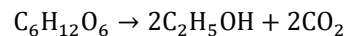
El indicador de pureza del jugo, el cual predice indirectamente el deterioro del jugo mediante una disminución de pureza, también es ampliamente utilizado en la industria azucarera. La pureza se define como la proporción de sacarosa en los sólidos solubles presentes en el jugo. De esta manera, se relaciona de la siguiente manera:

$$\text{Pureza} = \text{Sacarosa (Pol)} / \text{Sólidos solubles (grados Brix)} \times 100$$

Se observa que la pureza también se expresa en porcentaje, al igual de los grados Brix y el Pol. La pureza se puede denominar de varias formas: pureza aparente, pureza refractométrica, pureza real, entre otras variaciones (Hernández et al, 1986) (Larrahondo, 1995). Se establece que la pureza tampoco es un indicador de confianza, ya que para determinar ésta se utilizan resultados que no son confiables, por las razones indicadas anteriormente.

Es evidente que la presencia de microorganismos no es el único factor que deteriora el jugo; sin embargo, la idea de desarrollar indicadores indirectos de actividad microbiana viene desde hace años atrás.

d. Fermentación espontánea. El término fermentación fue definido por primera vez por Pasteur como "Vida en ausencia de oxígeno". En la actualidad el término fermentación se usa tanto en el sentido extenso de cualquier biotransformación, y en el sentido limitado como un proceso metabólico en el cual compuestos orgánicos sirve tanto como donadores de electrones como aceptores de electrones. La fermentación involucra el catabolismo de cualquier compuesto orgánico hacia compuestos cuyo estado de oxidación promedio es el mismo que el del sustrato inicial, pero cuyo contenido de energía es menor. Como consecuencia se tiene que tanto los productos reducidos y oxidados se forman. Dos ejemplos de fermentaciones conocidas son: (Vogel, 1983)



La producción fermentativa de etanol a partir de la glucosa se realiza por un número de organismos que incluyen la levadura *S. cerevisiae* y la bacteria *Z. mobilis*. En el segundo caso la fermentación de la glucosa produce ácido acético por la bacteria *C. thermoaceticum*. (Vogel, 1983)

El primer trabajo utilizando como indicador la fermentación espontánea fue realizado por Hernández (1986) y sus acompañantes. Dicho indicador o prueba sí está destinada a estimar las pérdidas de sacarosa en el jugo de caña por acción de la actividad microbiana o biota. Esta prueba se basa principalmente en la relación entre la cantidad de ácidos formados por los microorganismos y la sacarosa degradada. La caída de pH, debido a los ácidos formados durante el metabolismo de la glucosa, indica que existe una acción metabólica en el jugo de caña, siendo ésta por parte de los microorganismos. Hernández, et al determinó la concentración de sacarosa manualmente, con un fórmula específica (Hernández et al, 1986).

Sin embargo, hoy en día se cuenta con herramientas y equipos que facilitan dicho proceso. En este caso, se habla de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés). Tiene como propósito cuantificar, separar e identificar azúcares presentes en el jugo de caña, para este caso en particular (Casas *et al*, 2001).

La ventaja de realizar la prueba de fermentación espontánea utilizando HPLC recae en que se determina la concentración de sacarosa directamente, junto con el resto de azúcares reductores (glucosa y/o fructosa) y otros compuestos no interfieren en la medición de sacarosa. De esta manera, se puede relacionar la pérdida de sacarosa con la acción metabólica de los microorganismos (Hernández *et al*, 1986). La desventaja de la prueba es que al utilizar una herramienta como HPLC se debe contar con un gasto económico más elevado, y además personas o técnicos capacitados para utilizar el equipo y analizar los resultados obtenidos. Al comparar la técnica de HPLC con las técnicas convencionales utilizados en los ingenios, se observa que la relación costo/beneficio sí influye en la industria azucarera. (Eiguero, 2000).

e. Capacidad buffer. La capacidad buffer de los jugos de caña es considerado otro indicador potencial de actividad microbiana. El principio de esta prueba se basa en determinar cómo se ha alterado la capacidad buffer de los jugos debido a los ácidos liberados por los microorganismos presentes. De esta manera, es de esperarse que con el paso del tiempo, el jugo de acidifica más y por lo tanto la capacidad buffer del jugo se ve modificada.

Los ácidos identificados en la jugo de caña son los siguientes: cítrico, málico, succínico, fumárico, láctico, oxálico, acéticos, aconítico, entre otros. La mayoría están presentes en pocas cantidades y resultan como productos metabólicos. Todos estos ácidos liberados como productos metabólicos, alteran el pH y la capacidad buffer del jugo (Walford, 2002).

El término capacidad buffer o de taponamiento, según Skoog *et al* (2008), “es el número de moles de ácido fuerte o de base fuerte que ocasiona un cambio de una unidad en el pH en 1 litro de disolución”. De esta manera, la ecuación matemática consiste en el número de moles de base/ácido fuerte por litro, que se agregan a la disolución buffer, entre las unidades de cambio de pH. Según la definición, las unidades de pH es igual 1, por lo que la ecuación sí incluye el cambio de pH pero no altera el resultado (Skoog *et al*, 2008).

Capacidad buffer= (moles de base o ácido fuerte/ litro) Skoog *et al* 2008

Δ pH.

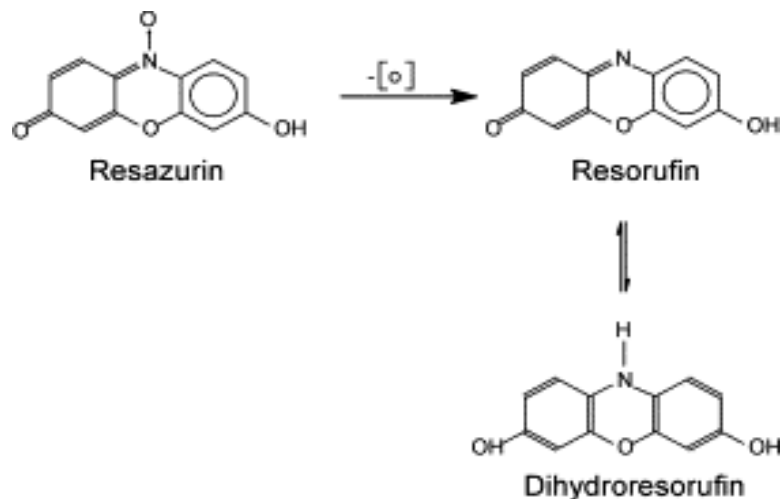
f. Resazurina. La resazurina es una oxazona que en solución tiene color azul. Por pérdida de oxígeno se reduce en dos etapas: La primera pasa por diversas tonalidades de violeta hasta rojo, éste color se atribuye a la formación de un compuesto denominado resorufina. A diferencia del azul de metileno, esta etapa de reducción es irreversible, es decir, en contacto con el oxígeno del aire el color azul original no se restituye. Si la pérdida de oxígeno continúa, la reducción pasa a una segunda etapa reversible, en la cual la resorufina se reduce a dihidro-resorufina, compuesto incoloro que por oxidación puede pasar de nuevo a resorufina (rojo-rosa) (Universidad de Zulia, 2003)

Varios autores introdujeron la prueba de resazurina en la industria azucarera de remolacha concluyendo que era posible su utilización como medio para estimar la actividad microbiológica en sus productos intermedios (Anderson, 1956)

La resazurina es un compuesto color azul brillante que cambia de color por el efecto que tiene la actividad microbiológica. El cambio de color es de azul intenso, pasando por rosado a incoloro. Mediante esta reacción se puede realizar una correlación directa entre la reducción de la resazurina en el medio y la actividad microbiológica de los organismos presentes en la muestra. (Magni, 2004)

Esta prueba se ha utilizado desde la década de 1950 para ver qué tanta contaminación existe en una muestra. (Magni, 2004)

Gráfica 9: Reacción de la reducción de la resazurina



(Magni, 2004)

- 1) Estimación de la actividad microbiológica por reducción de resazurina

Coeficiente Microbiológico (CM):

$$CM = \frac{5}{t_r}$$

Donde:

- ✓ CM es el coeficiente microbiológico
- ✓ t_r es el tiempo de reducción de la resazurina de la muestra analizada

El CM es una variable que es proporcional a la carga y actividad microbiana de la muestra analizada (Guzmán, 2011. Trabajo de Graduación)

Cuadro 5. Intervalos de Valores del Coeficiente Microbiológico con su respecto al nivel de Actividad Microbiológica que presenta la muestra analizada.

CM	Valoración
< 2.0	Bueno
2.0 a 2.5	Alerta
2.5 a 3.0	Malo
3.0 a 5.0	Crítico
>5.0	Muy Crítico

(Alvarez, *et al*, 2008)

En el tiempo de zafra 2006-2007 se determinaron rangos de crecimiento microbiano en el jugo primario y diluido. Se analizaron muestras de jugo primario y jugo diluido, con muestras de diferentes puntos del tándem. (Noack, 2008)

Se encontraron los siguientes rangos de concentración microbiana en jugo de caña de distintos puntos a lo largo del tándem: (Noack, 2008)

Cuadro 6. Rangos de concentración en jugo de caña

Tipo de jugo	Rango de concentración UFC/mL
1er molino	2.37E+06 – 7.70E+06
Diluido	1.40E+06 – 5.7E+06
2do molino	3.59E+05 – 1.21E+06
3er molino	2.72E+05 -- 7.30E+05
4to molino	4.27E+04 – 1.51E+05
5to molino	2.50E+04 – 7.60E+04
6to molino	7.50E+03 – 2.92E+04

(Noack, 2008)

g. Prueba Brix. Los grados Brix miden la cantidad de sólidos solubles presentes en un jugo o pulpa expresados en porcentaje de sacarosa. Los sólidos solubles están compuestos por los azúcares, ácidos, sales y otros compuestos solubles en agua presentes en los jugos de las células de una fruta. (Universidad Nacional de Colombia, 2006)

h. Cromatografía para medir sacarosa. La cromatografía es una técnica que permite la separación de los componentes de una mezcla debido a la influencia de dos efectos contrapuestos. El primero es la retención, que es producido sobre los componentes de mezcla por una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido. Por otra parte, también está el desplazamiento, que es el efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase móvil, que puede ser un líquido o un gas. De esta forma, los componentes a lo largo de la mezcla son impulsados por la fase móvil hasta la estacionaria.

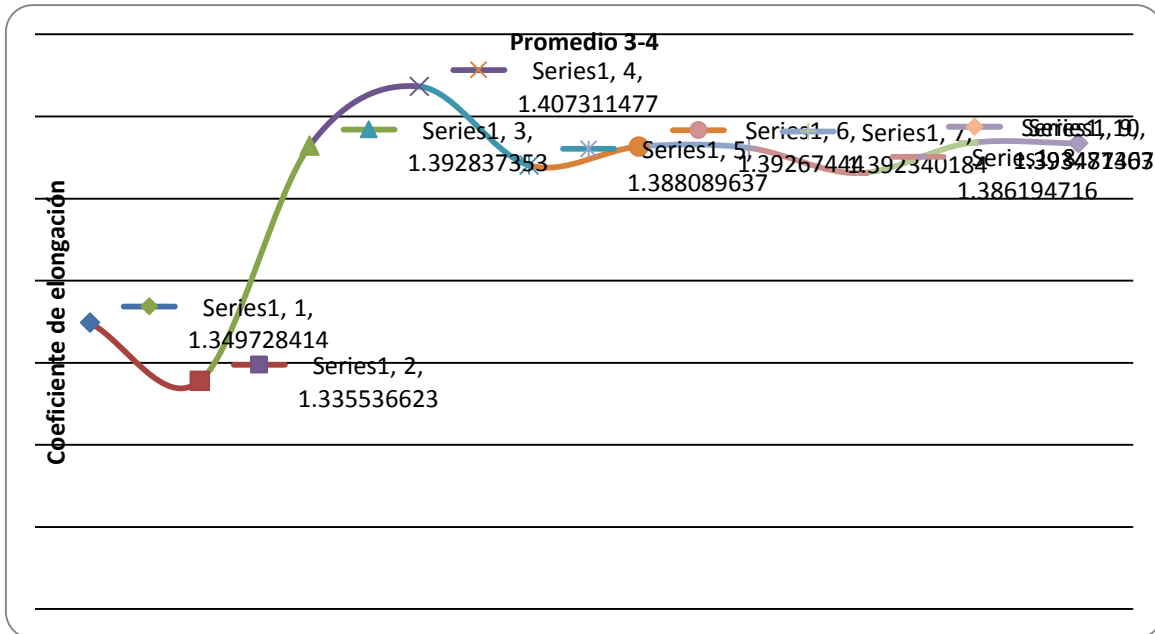
Los componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil, mientras que los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven más rápido. Debido a la distinta movilidad, los componentes se separan en zonas discretas que se pueden analizar posteriormente. (Universidad de Valencia, 2011)

i. Elongación de cristales. Este método, por medio de varios estudios anteriores, se ha definido como una manera directa de evaluar los efectos de la actividad microbiológica en el área de cristalización o tachos. Se ha observado por realización de pruebas que, a razón que aumenta la actividad microbiológica, los cristales formados incrementan su largo, disminuyendo por ende su ancho; dando como resultado un incremento de la pureza de la miel final, aumentando las pérdidas de azúcar en el mismo. (Aguirre, 2012)

Por medio de un estudio realizado recientemente, se trabajó en la obtención del número óptimo de campos a observar para determinar un coeficiente de elongación de cristales del área de tacho del Ingenio Pantaleón de Guatemala. Para esto, se tomaron 17 muestras de masas cocidas, de las cuáles se analizaron para obtención del coeficiente de elongación el cual se refiere específicamente a la relación entre el ancho y largo de los cristales analizados. De cada muestra se trabajó con un promedio acumulativo para luego graficar los mismos y observar en que campo se estabilizaban las mediciones. Para esto, se graficó una gráfica individual por campo analizado. Los resultados más significativos de este estudio fue que a partir del campo 5 se observó gráficamente un estabilización en el promedio del coeficiente de elongación, siendo una diferencia no mayor a 0.01. También se pudo observar que en el campo 6 se obtuvo una diferencia mucho menor en comparación con el campo 5. Se observó la tendencia que entre mayo era el número de campos que se analizaban, el valor del coeficiente tiene a estabilizarse aún más, esto se podía observar por su comportamiento lineal a la hora de graficar los mismo. Se observó que algunas causas de la tendencia de los primeros y últimos campos analizados de no observar un comportamiento lineal puede deberse a la presencia de cierto cristal que presentara mucha o poca elongación que sacó del rango al campo entero. (Aguirre, 2012)

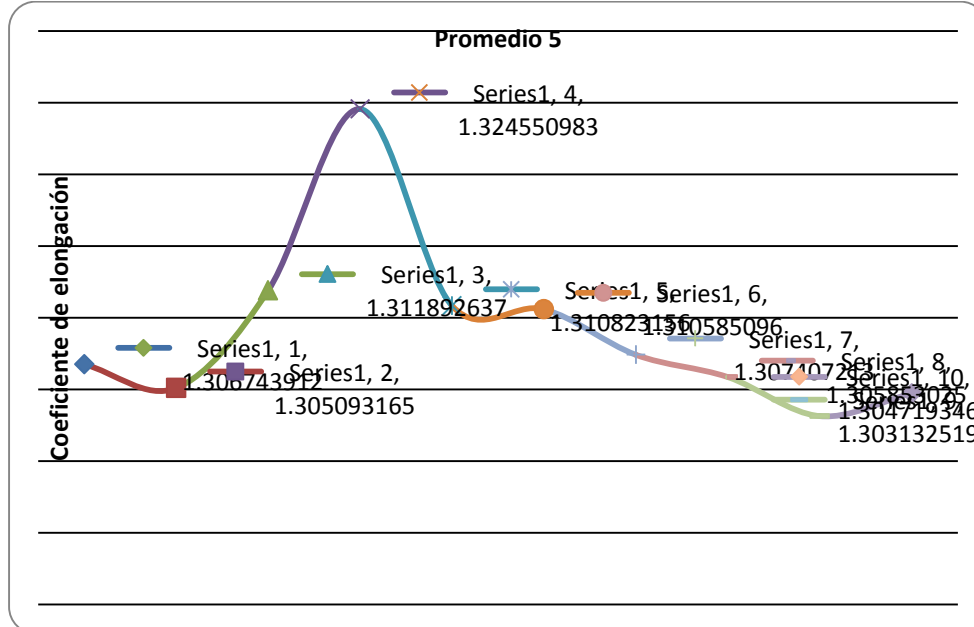
Por lo que, de acuerdo a este estudio se recomienda que por medio de este método de medición de la elongación de cristales como indicador de efecto de la actividad microbiológica en las masas cocidas se debe realizar la lectura del 6 campos para cada medición. Pero es importante mencionar que se recomienda realizar el estudio con mucho más muestras y análisis de campo. (Aguirre, 2012)

Gráfica 10. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras definidas en Campos 3-4.



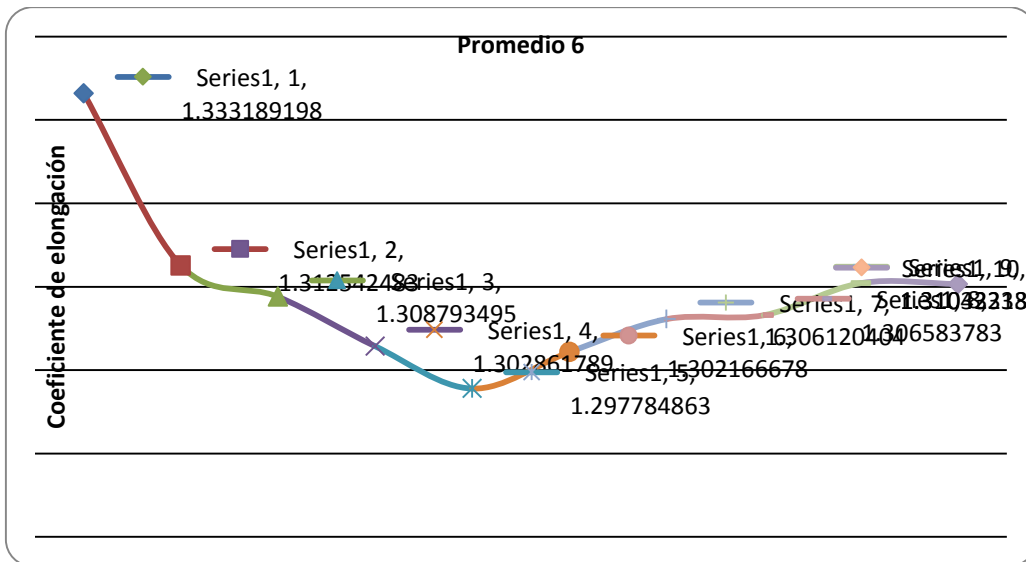
(Aguirre, 2012)

Gráfica 11. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras definidas en Campo 5.



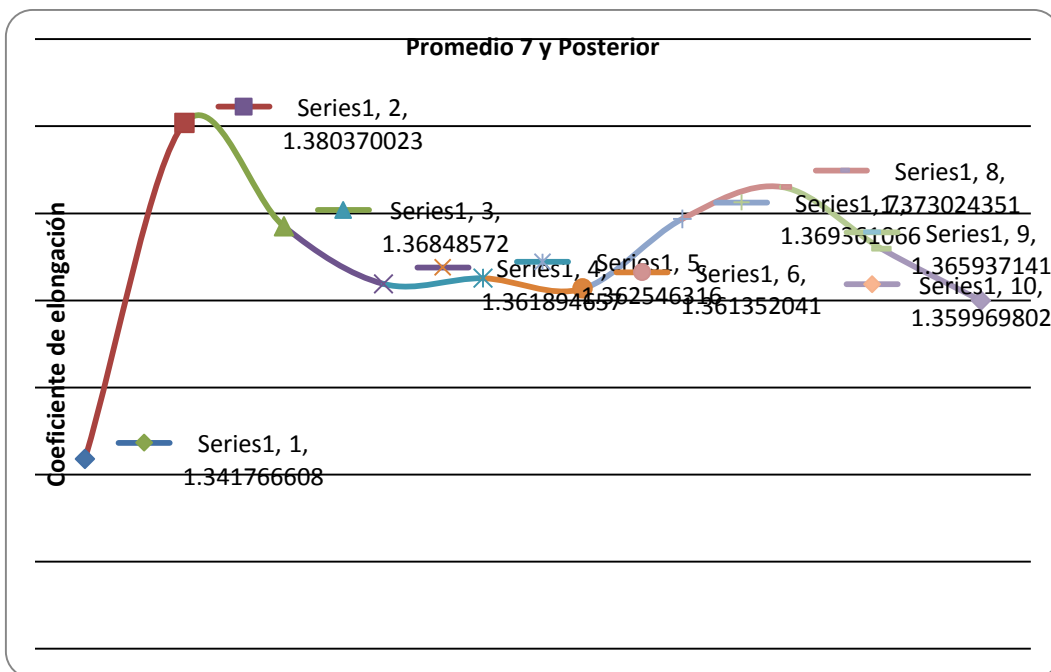
(Aguirre, 2012)

Gráfica 12. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras definidas en Campo 6.



(Aguirre, 2012)

Gráfica 13. Distribución del promedio de elongación de cristales para muestras definidas en Campo 7 y posterior.



(Aguirre, 2012)

j. Factores asociados al crecimiento bacteriano en el laboratorio. El crecimiento de las bacterias dependerá forzosamente del medio en el cual se encuentren y su composición. Los mesófilos e termófilos pueden crecer en medio Plate Count Agar (PCA), medio registrado por MERK, este medio es utilizado para generar el crecimiento de bacterias aerobias, sus componentes son la caseína peptona, extracto de levadura, dextrosa y el agar. En este medio el crecimiento de las bacterias se da en un período de 24 a 48 horas a una temperatura de 37°C para mesófilos y a 55°C para termófilos. (Scharlau Microbiology,

Las levaduras y hongos crecen en el medio Potato Dextrose Agar (PDA) registrado por MERCK, este medio es utilizado para el crecimiento de hongos y levaduras, aunque se puede obtener el crecimiento variado de otras bacterias, sin embargo, si se deseará únicamente el crecimiento de hongos, se puede acidificar el medio con Ácido Tartárico al 10%. Al momento que se acidifica el medio, crecerá la microbiota que logre tolerar un pH 4. Este medio está compuesto por dextrosa, agar y papa. El período de incubación es de 5 a 7 días a temperatura ambiente. (Neogen, 2011) (Silliker, 1980)

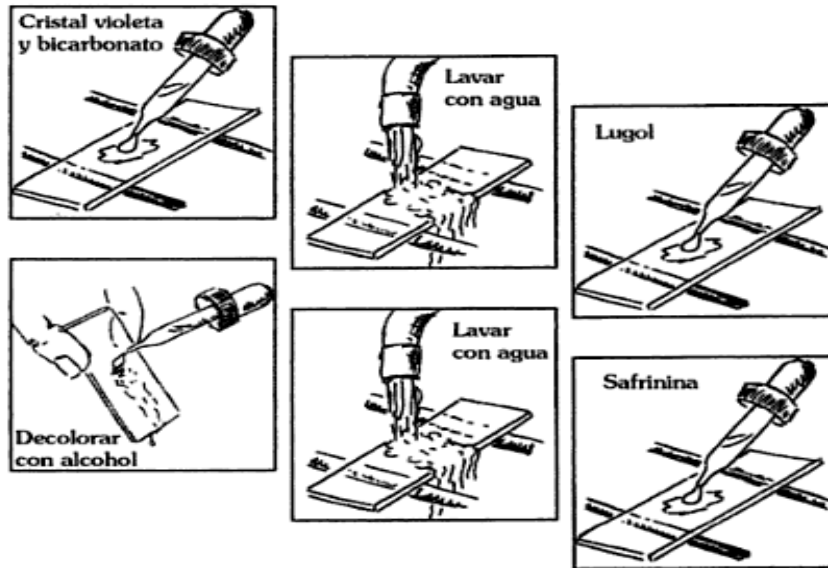
El determinar o estudiar la dextrana, estudios han logrado la selección y elaboración de medios de medio de cultivo experimental MP200 (Balsells et al, 2009), para conteo de LBDG", los cuales son selectivos para el crecimiento de estas bacterias productoras de dextrana. La eficiencia de estos medios elaborados experimentalmente recae en que el conteo de bacterias es entre las 4-6 horas, aproximadamente, por lo que el tiempo de incubación (25°C) es relativamente corto en comparación con otros medios. Durante éste tiempo de crecimiento, la bacteria está en la fase estacionaria, en la curva de crecimiento, fase en donde inicial la producción de dextrana (enzima dextranasacarasa). De esta manera, la producción de dextrana, la cual se observa en grandes cantidades, se lleva a cabo luego de la lectura de colonias. Es por eso que la producción de dicho polisacárido no interfiere con el conteo de colonias (Balsells et al, 2009).

Una vez que se ha obtenido un crecimiento microbiano, lo conveniente es realizar la caracterización de estos microorganismos. Esto se puede realizar mediante el método de Tinción Gram, la cual puede determinar la morfología de las bacterias permitiendo así lograr diferenciarlas unas de otros. Estas se pueden caracterizar como cocos, bacilos, esporulados o no, y en el caso de los hongos se caracterizan por medio de sus hifas. (Serrano, 2006)

Esta técnica se basa precisamente en teñir las bacterias en cuatro pasos fundamentales haciendo uso de cuatro soluciones diferentes. Primero se hace la tinción inicial, la cual involucra el uso de cristal violeta (primer colorante), este se encarga de teñir todas las células de morado. Seguidamente, se obtiene el cristal violeta-yoduro, agregando lugol, en este paso las células siguen teñidas de morado. Posterior a esto se realiza una decoloración con

Alcohol-acetona el cual se encarga de desteñir las bacterias Gram negativas. Finalmente, se realiza una contra-tinción con safranina, en la cual se tiñen las bacterias gram negativas de un color fucsia o rosado. (Cavallini, 2005)

Gráfica 14. Procedimiento de tinción Gram



(1) Se extiende el cultivo y se fija el mismo, (2) se cubre con cristal violeta el cultivo por un minuto. (3) Se lava con agua, y (4) se cubre con lugol por un tiempo promedio de dos minutos. (5) Se lava con suficiente agua y se deja escurrir, (6) se destiñe con alcohol-acetona, lavando rápidamente luego con agua para luego (7) se teñir con safranina. Por último, se lava con agua y se deja secar para luego observar las morfologías (Cavallini, 2005)

Una medida de cuantificación que se utiliza para determinar la proliferación de las bacterias en un medio de cultivo determinado es el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Este se lleva a cabo contando las colonias que crecieron en el medio luego de un determinado tiempo de incubación. Se puede realizar un conteo preciso si la placa contiene un número de colonias menor a 250, si la proliferación de colonias fuera mayor de esta cantidad, se aplica el conteo por cuadros. Este conteo consiste en realizar cuadros de un centímetro cubriendo toda la placa de manera que luego se haga un estimado del crecimiento bacteriano contando cuantas colonias se encuentran por cuadro. (Silliker, 1980)

V. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Contribuir a mejorar la eficiencia y calidad en la industria azucarera mediante la investigación en temas relacionados con la actividad microbiológica y sus efectos; y las pérdidas en el proceso por aterramiento del azúcar refino, proponiendo la implementación de nuevos procedimientos que se deriven de los estudios realizados.

B. Objetivos específicos

1. Identificar bacterias mesófilas aerobias con mayor prevalencia en los jugos de caña mezclado, en seis ingenios azucareros de Guatemala y evaluar su resistencia a biocidas comerciales.
2. Evaluar la fiabilidad de las pruebas de capacidad Buffer y fermentación Espontánea como indicadores de actividad microbiológica en la industria azucarera.
3. Caracterizar cuantitativamente la microbiota mesófila, termófila, hongo y levadura en los procesos intermedios de la azúcar de varios ingenios de Guatemala.
4. Evaluar la relación entre la temperatura y actividad microbiológica en los lodos de cachaza del ingenio Concepción y determinar efluentes en los tándems que podrían ser críticos en pérdidas de sacarosa del ingenio Magdalena.
5. Evaluar la incidencia y efectos directos o indirectos de la actividad microbiológica el área de tratamiento de clarificación y evaporación de jugos de caña.
6. Desarrollar un método para medir la deformación por elongación de cristales en masas cocidas de la producción azucarera. .
7. Desarrollar una investigación y metodología para la identificación de posibles puntos de pérdida de azúcar crudo y refino en Ingenio Concepción
8. Evaluar beneficios y costos en proyectos relacionados con la actividad microbiológica y pérdidas asociadas, así como las producidas por aterronamiento en el producto.

VI. METODOLOGÍA

A. Identificación de bacterias por ADN

Para la identificación bacteriana se utilizarán métodos moleculares en donde la secuencia de nucleótidos del ADN de genes de mantenimiento –housekeeping genes-, altamente conservados en cada especie será extraída, amplificada y secuenciada para su posterior identificación con herramientas bioinformáticas. El gen de mantenimiento en bacterias que se utiliza para su identificación es el denominado 16s rRNA, el cual codifica la subunidad pequeña del ribosoma. Este gen posee alrededor de 1550 pares de bases, que poseen regiones variables y conservadas; la región conservada se encuentra alrededor de las 540pb iniciales. (Woese, 1987; Stackebrandt, *et.al.* 2002; Clarridge, 2004)

1. Selección de bacterias mesófilas aerobias para aislar e identificar. Se contarán las bacterias de cada placa que parezcan tener mayor prevalencia y se obtendrá un porcentaje relacionando las unidades formadoras/ml colonia de esa bacteria con las unidades formadoras de colonia/ml total de la placa. También se tomarán en cuenta aquellas bacterias que parezcan estar presentes en más de cinco tándems aunque no tengan el mayor porcentaje de prevalencia. (Chittrepol *et al.* 2008) (López-Hontagas *et al.* 2007)

Luego de que hayan sido elegidas las bacterias serán aisladas nuevamente en placas de PCA y agar Leuco® dependiendo de dónde hayan sido seleccionadas. Posteriormente se se realizará una descripción macro y microscópica de las bacterias, se realizará una tinción Gram para irlas clasificando. Se elegirán aquellas bacterias que parezcan ser del género *Leuconostoc*, además se escogerán bacilos positivos esporulados y no esporulados, bacilos negativos y algunos cocos, tomando en cuenta su porcentaje de prevalencia, evitando que sean las mismas bacterias. En total se elegirán al menos 15 bacterias posibles para identificar por medio de ADN; estas serán almacenadas en tubos con un slant de 15ml de agar nutritivo y aceite mineral para sus posteriores pruebas y ensayos.

2. **Extracción de ADN.** De cada bacteria aislada, se tomará una colonia y se diluirá en 500ul de agua ultra pura en tubos eppendorf de 1.5 mL. Se dejará hervir por 10 min y luego se centrifugará por 10 min a 3,000 rpm. El precipitado se volverá a diluir en 500 ul de agua ultrapura. Se comprobará la presencia de ADN por electroforesis en gel de 1% agarosa teñido con Gelred a 85v-100v/min, con una muestra de 1ul de Loading Dye® y 2-5ul de ADN.

3. **Amplificación del gen 16S.** Se realizará la amplificación del gen 16S por medio de la reacción en cadena de la polimerasa, PCR. (Rodico y Mendoza, 2004)

Cuadro 7. Cebadores para amplificación del gen 16s

Nombre	Secuencia	Tamaño	Referencia
27F	5'- AGAGTTTGATCMTGGCTCAG - 3'	16S rrna región, 1.5kb	(Frank <i>et al.</i> 2008)
1492R	5'- TACGGYTACCTTGTTACGACTT - 3'	16S rrna región, 1.5kb	(Frank <i>et al.</i> 2008)

La receta para la reacción será Buffer de reacción 1X con MgCl₂ 10X de Novagen, 0.15mM de dNTP's, 0.3uM de cada cebador, 1.25 unidades de taq polimerasa de Novagen, para un volumen final de 30ul. El programa del termociclador será: iniciación por 5min a 94°C, elongación 94°C, 55°C, 72°C por 45s cada uno con 35 repeticiones y la finalización a 75°C por 5 min. El producto de PCR será cuantificado comparando con una escalera molecular (pcr markers®) y se comprobará la amplificación por medio de electroforesis en gel, con las mismas condiciones previamente descritas.

4. **Secuenciación del gen 16S.** El producto de PCR será enviado sin purificar al laboratorio Macrogen, en Maryland (USA) para su secuenciación. El producto será secuenciado utilizando los mismos cebadores de la amplificación. La secuencia obtenida se comparará con el software de acceso libre BLAST® y la base de datos de secuencias de genes de NCBI para la identificación de las bacterias.

B. Evaluación del comportamiento de indicadores de actividad microbiana

1. Metodología para estudiar el comportamiento de la prueba de capacidad buffer. Para estudiar y optimizar la prueba de capacidad buffer, se realizó la prueba tradicional descrita por Hernández et al, (1986), al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones (Temp. 37°C), se realizó la prueba modificada propuesta por el investigador. La tradicional consistía en utilizar un volumen de 100mL de jugo y medir el pH de ésta, tomado como pH inicial. Luego se agregaba un volumen (ml) de NaOH 0.1 N necesario para que el pH cambie una unidad; y se medía nuevamente el pH, tomado como pH final. Matemáticamente, según la ecuación de capacidad buffer reportada por Skoog et al (2008), se determinaría el volumen en mL de base (NaOH) utilizados para poder registrar la capacidad buffer.

$$CB = \frac{\frac{\text{moles de NaOH}}{0.1 \text{ litros de jugo}}}{1 \text{ unidad de pH}}$$

Tomado de Skoog et al, 2008

En cuanto a la prueba modificada, se utilizó un volumen de 10mL de jugo de caña, se midió pH inicial, se le agregó un volumen estándar de 0.5mL de NaOH 0.1N y finalmente se midió el pH final. La diferencia de pH fue el valor registrado. En este caso, se obtendría la capacidad buffer mediante considerar el cambio de pH como un número variable, entonces:

$$CB = \frac{\frac{0.1 \text{ moles de NaOH}}{0.0001 \text{ litros de jugo}}}{\Delta pH}$$

2. Evaluación del comportamiento de las pruebas indicadoras de capacidad buffer y fermentación espontánea en jugos de caña. La evaluación se basó principalmente en el monitoreo de resultados de las pruebas ante diferentes soluciones de trabajo. La primera solución de análisis consistió de una solución testigo, la cual solamente contenía un volumen de jugo de caña sin alteración alguna. A las siguientes dos soluciones se le adicionó al jugo un inóculo de bacterias, al cual se le dominó como soluciones con inóculo concentrado.

La primera tenía bacterias pertenecientes a la microbiota total del proceso y la segunda contenía un inóculo de LBDG, ambos considerados como concentrados. Luego, las siguientes dos soluciones se denominaron como soluciones con inóculo diluido. En estas, el inóculo original, concentrado, se diluyó 100 veces y se agregó al jugo de caña. Así, se llevó a cabo el

monitoreo de las cinco soluciones a lo largo de cuatro horas mediante utilizar las pruebas de capacidad buffer y fermentación espontánea. En cuando a la prueba de capacidad buffer, se utilizó un volumen de 10mL de las soluciones de análisis y se le midió el pH utilizando un potenciómetro, éste denominado como pH inicial. Luego, se le agregó 0.5mL de NaOH 0.1 N y se volvió a medir el pH, tomando éste como pH final. Se reportó la diferencia entre el pH inicial y el pH final; es decir el cambio de pH que sufrió la muestra al agregar el volumen de NaOH 0.1N. Dicho procedimiento se realizó cada hora, por cuatro horas, a todas las soluciones de trabajo. En cuanto a la fermentación espontánea, consistió en reportar el valor de pH a la hora determinada (cada hora por cuatro horas) para analizar la alteración de pH con el paso del tiempo.

Dicho procedimiento tenía el objetivo de estudiar el efecto en el jugo de diferentes poblaciones bacterias a distintas concentraciones. Todo el trabajo descrito se realizó en el laboratorio del Ingenio Magdalena, utilizando los equipos, cristalería y jugos procedentes de dicho ingenio.

3. Evaluación del comportamiento de las pruebas indicadoras tradicionales. Para llevar a cabo la comparación entre los resultados de las pruebas estudiadas y las tradicionales se siguió el mismo procedimiento descrito en la metodología “c” de ésta sección. Se utilizaron las mismas soluciones de trabajo, se analizaron durante las mismas horas que la metodología anterior y bajo las mismas condiciones (Temp. 37°C). Esto con la modificación que se aplicaban todas las pruebas a las soluciones de trabajo cada hora de análisis. De esta manera, las pruebas realizadas fueron: 1. Capacidad buffer, 2. Fermentación espontánea, 3. Resazurina, 4. Medición de pureza, 5. Pol (% sacarosa), 6. Grados Brix, 7. Medición de concentración de sacarosa, 8. Medición de Dextrana y 9. Medición de concentración de azúcares reductores.

Las pruebas 1,2 y 3 fueron las pruebas en experimentación, por lo que no se aplican en el análisis de actividad microbiológica actualmente en la industria. El resto de pruebas sí se aplican tradicionalmente para evaluar la presencia de actividad microbiológica en los productos de interés. La primera prueba, como se mencionó anteriormente, consistió en medir el pH de 10mL de la solución y se agregó NaOH 0.1N hasta observar el cambio de un grado de pH. Se registró el volumen utilizado de NaOH 0.1N. En la Fermentación espontánea se midió el pH de la solución con el paso del tiempo. En la prueba de Resazurina, se agregó un volumen aproximado de 3mL de jugo al reactivo de Resazurina y se tomó el tiempo hasta observar el cambio de color, de morado a prácticamente incoloro. En la determinación de pureza, se realizó el siguiente cálculo: Pol (% sacarosa)/Sólidos solubles (grados Brix). La Pol se midió mediante un sacarímetro y los sólidos solubles (%Brix) mediante un refractómetro. La

séptima prueba consistió en medir la concentración de la sacarosa mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La medición de dextrana y de azúcares reductores (fructosa y glucosa) también se realizó utilizando el equipo de HPLC. Finalmente, se compararon los resultados obtenidos para analizar la confiabilidad de cada uno de ellos y así poder asegurar qué pruebas indicadoras son las más eficientes.

Todo el trabajo descrito se realizó en el laboratorio del Ingenio Magdalena, utilizando los equipos, cristalería y jugos procedentes de dicho ingenio.

a. Análisis estadístico. Para poder comprar las curvas generadas con el estudio, se realizó una resta del valor determinado en cada hora (0, 1, 2, 3, 4) con el valor inicial (Rtx-Rto). De esta manera, todas las líneas de dispersión tenían un punto de inicio en el origen (0,0); así se logró realizar la comparación y los análisis descritos.

C. Recuento de microorganismos en proceso de extracción de azúcar

1. Recuento de bacterias mesófilas aerobias de muestra de jugo

a. Toma de muestra. Se tomarán en total tres muestras, cada una de ellas en días diferentes. Se realizará en un recipiente estéril de 250ml. Las muestras utilizadas deben de provenir del jugo mezclado al final de cada tándem. El lugar de recolección de muestra debe ser el mismo en cada ingenio cada vez que se realice, cada ingenio tiene ya establecido el punto en donde ellos recolectan sus muestras y se utilizará este mismo lugar.

Esta toma de muestra se realiza por medio de un surtidor, por lo que para tomar la muestra se deberá abrir la llave, que deja que el jugo fluya, se esperará al menos tres minutos que el jugo este fluyendo para luego llenar completamente el recipiente estéril. No importando si el jugo de caña en los molinos ha sido tratado con algún biocida o no, cualquiera de los dos se incluirá en las muestras. Las muestras recolectadas y colocadas en refrigeración pueden utilizarse durante las primeras 4 horas, luego estas deberán de congelarse si es necesario y no podrán utilizarse después de 4 meses. (Samaraweera, *et al.* 2011)

Se excluyen aquellas muestras que no hayan sido recolectadas en recipientes estériles. Las muestras de jugo mezclado recolectadas cuando alguno de los tándems este detenido por mantenimiento, reparación deben de ser excluidas. También se excluyen aquellas muestras de jugos que hayan sido recolectadas y no hayan sido utilizadas al menos 15

minutos después de su recolección. Luego se prosigue a realizar la siembra de cada muestra para determinar carga bacteriana de los jugos y realizar el aislamiento de bacterias.

b. Recuento de bacterias mesófilas aerobias. Se realizarán cuatro diluciones logarítmicas del jugo de caña mezclado (en agua peptonada al 0.1%. Luego se sembrarán por superficie 0.1ml de estas diluciones en placas petri de 90x15 mm con agar de recuento total de aerobios (PCA) para determinar la microbiota mesófila aerobia total y se realizará un duplicado en agar Leuco® para la selección de bacterias del género *Leuconostoc*. Para determinar la carga bacteriana en los jugos. Se dejarán crecer por 48hrs a 37°C. El conteo de unidades formadoras de colonia se realizará a 24h y 48h para determinar la carga bacteriana de cada jugo.

c. Recuento de bacterias termófilas, hongos y levaduras en muestras de jugo. Para la toma de muestra se realizó de la misma manera que el recuento de bacterias mesófilas aerobias. Se utilizaron dos tipos de medios de cultivo el Plate count agar (PCA, MERCK) para la determinación de termófilos y Potato dextrose agar (PDA, MERCK) para la determinación de hongo y levadura. Se realizaron diluciones de las muestras de 10⁻³ y 10⁻⁴.

Esto se realizó tomando un mililitro de la muestra y diluyéndolo en nueve mililitros de agua peptona (dependiendo de la concentración que se desee se pesó la cantidad deseada y se diluyó en agua destilada), para la primera dilución (10⁻¹), seguidamente se tomó un mililitro de ésta y se diluyó en nueve mililitros de agua peptona, siendo esta la segunda dilución (10⁻²). Se realizó el mismo procedimiento hasta obtener las diluciones indicadas. Las diluciones 10⁻³ y 10⁻⁴ fueron sembradas en ambos medios (PDA y PCA). Las siembras se realizaron tomando 0.1ml de cada una de las muestras de los jugos diluidos y se sembraron en ambos medios (PCA y PDA). Se homogenizó la muestra sobre la superficie del medio haciendo uso de un esparcidor de vidrio estéril. Se incubaron las placas a temperaturas de 25°C (hongos y levaduras) en un período de 5 días y 55°C (termófilos) por un período de 48 horas.

A las colonias obtenidas de las siembras de los jugos diluidos, se les realizó una tinción gram con el fin de teñir las bacterias y definir su morfología para su caracterización. Para ello se tomó con un asa (flameada) una pequeña colonia y se colocó en un portaobjetos mezclándolo con una gota de agua destilada (ya que la muestra será semi- sólida). Una vez seca la muestra se fijó con un mechero y se prosiguió con la tinción de gram, la cual consta de 4 pasos. (1) Se agregó sobre las láminas colorante cristal violeta y se dejó reposar por un minuto y luego se lavó con 6 gotas de agua destilada. Seguidamente, (2) se fijó con lugol y se dejó reposar por un minuto y se retiró con 6 gotas de agua destilada. (3) Finalmente, se decolarán las láminas con seis gotas de alcohol-cetona y se lavaron con agua destilada para

luego teñir nuevamente con safranina realizando el lavado como se describió anteriormente y se dejará secar.

Luego de la tinción de las bacterias, se prosiguió a caracterizarlas haciendo uso de un microscopio colocando la lámina. Para ello se vertió una gota de aceite de inmersión sobre la tinción y se cubrió con un cubreobjetos. Luego se observaron mediante el microscopio sus morfologías y se anotaron las características observadas de cada una de las tinciones.

d. Análisis estadístico

Hipótesis nula

- 1) No existe diferencia significativa entre los termófilos, hongo y levadura de los ingenios de Guatemala
- 2) No existe diferencia significativa entre los termófilos aerobios en los filtros de cachaza de los ingenios de Guatemala
- 3) No existe diferencia significativa entre los termófilos aerobios en las partes de los filtros de cachaza de los ingenios de Guatemala

Los resultados obtenidos de los crecimientos bacterianos serán a analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Esta es una prueba no paramétrica, también conocida como la prueba H, la ventaja de esta prueba es que basta con que el rango de datos sea mayor a tres o más muestras independientes con la finalidad de comprobar la hipótesis nula demostrando que las muestras provienen directamente de poblaciones con medianas iguales. (Anderson, 2008)

Se definió hacer uso de esta prueba, ya que cumple con los tres requisitos básicos (1) tener tres muestras independientes, (2) cada una de las muestras tomadas debe poseer al menos cinco observaciones diferentes y finalmente (3) no deben tener una distribución normal. (Anderson, 2008)

2. Prueba de resistencia a biocidas. Se utilizará como guía con modificaciones el “método estandarizado de prueba de susceptibilidad por disco, versión 8” de la Sociedad Británica de Quimioterapia Antimicrobiana, 2009. Los biocidas utilizados serán los que actualmente se utilizan en los ingenios, cada ingenio utiliza un biocida diferente, entre estos se utilizará cinco con los siguientes compuestos activos: carbamatos, aminos cuaternarios, benzotiazol, ácidos B de extracto de lúpulo y povidone. Se inoculará una colonia de cada bacteria en agua peptonada al 0.1% y se comparará con un estándar de McFarland 0.5 para que todas tengan aproximadamente la misma concentración.

Luego se tomará una alícuota de 100µL y se dispersará en la superficie de placas Petri con Agar Müller-Hinton, se dejará secar por al menos 15 min. Luego se colocará en cada caja discos conteniendo el biocida sin diluir y otros dos en una concentración de 10-1, 10-2, además de un disco con formaldehído 1:10 que servirá como control. Cada placa será incubada a 37°C por 24h, luego se medirá con una regla el radio del halo de inhibición desde la orilla del disco hasta donde empiece el crecimiento bacteriano.

Los resultados de la inhibición de crecimiento de las bacterias por los biocidas serán comparados con el resultado del formaldehído (ecuación 1) para luego realizar el análisis estadístico multifactorial y determinar si hay diferencia significativa. Se realizará el mismo procedimiento con muestras de microbiota total. (Ver Anexo 1).

$$Susceptibilidad = \frac{r^2}{r_1^2} \quad (\text{ecuación 1})$$

Donde,

r = radio de halo de inhibición de crecimiento bacteriano por biocida (mm)

r =radio de halo de inhibición de crecimiento bacteriano por formaldehído (mm)

3. Recuento de bacterias dextranogénicas y no dextranogénicas (microbiota total) en los filtros de cachaza. Los productos intermedios analizados fueron los jugos en los filtros de cachaza de tres ingenios: Magdalena, Pantaleón y Concepción. La toma y selección de muestras fue por conveniencia debido principalmente al factor tiempo. En el caso de Magdalena y Pantaleón, se tomaron muestras de tres sitios distintos del filtro. Estos eran: parte delantera o entrada, parte media o rebalse y parte trasera. En el caso de Concepción, se tomó una única muestra del jugo presente en estos filtros, asumiendo que dicha muestra se tomó de la parte media del filtro (rebalse). Se realizaron siembras de estas muestras en medio cultivo Plate Count Agar (PCA), para conteo de microbiota total, y en medio cultivo experimental MP200 (Balsells *et al*, 2009), para conteo de LBDG. Como primera metodología, se realizaron cuatro diluciones seriadas, en agua peptona, de la muestra y éstas fueron sembradas en medios de cultivo respectivos, mediante siembra superficial en placas. De acuerdo a estos resultados, se delimitó a sembrar la muestra pura y una sola dilución para una mayor representatividad de los resultados esperados. Se llevó a cabo el conteo de colonias, UFC/mL, a las 48 horas en el caso de microbiota total (30°C) y a las 6 horas, aproximadamente, en el caso de LBDG (25°C). Se afirma el aproximado de horas de incubación para LBDG ya que al analizar las muestras que estaban previamente en congelación, la aparición de colonias se llevaba a cabo aproximadamente a las 24 horas de incubación, este como tiempo máximo de incubación.

a. Análisis estadístico. El análisis de proporciones LBDG: MT se realizó mediante normalizar los datos de conteo de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) y así poder comprar mediante pruebas de razón de LBDG con MT.

Se utilizó la prueba de t-Student para determinar si existe diferencia significativa entre la prevalencia de LBDG entre los ingenios Magdalena y Pantaleón.

En el caso de Magdalena y Pantaleón, se asignó un valor relativo o ponderado a cada filtro y a cada sitio del filtro, según las UFC/ml detectadas para poder comparar dichos conteos. Además, se realizó pruebas de comparación, prueba t, para determinar si existía una diferencia significativa entre el filtro de menor conteo bacteriano con el de mayor conteo bacteriano. Lo mismo se realizó para cada una de las muestras de los sitios.

D. Estudio de la actividad microbiana en los filtros de cachaza

1. Determinación de la correlación del coeficiente microbiológico entre el jugo diluido y sulfitado. Para determinar la correlación del coeficiente microbiológico entre el jugo diluido y sulfitado se tomaron 10 muestras de jugo diluido y sulfitado separadas en un rango de un minuto, aproximadamente el tiempo que le toma al jugo pasar por las torres de sulfitación, luego se les realizó el test de la resazurina a una temperatura de 37 °C y se comparó la diferencia entre el CM del jugo diluido y el jugo sulfitado. Al mismo tiempo se analizaron los resultados obtenidos por las mediciones de los operarios del ingenio Pantaleón.

2. Evaluación de la relación entre la velocidad de sedimentación y la actividad microbiológica en jugo sulfitado. Para evaluar la relación entre velocidad de sedimentación y la actividad microbiológica, se utilizó jugo sulfitado y se dejó reposar para medir la velocidad de sedimentación a distintas horas, permitiendo el aumento de la actividad microbiológica. Para llevarlo a cabo, fue necesario elaborar un método a escala laboratorio que determine la velocidad de sedimentación.

Se tomaron 800mL de jugo sulfitado, luego se agregó sacarato hasta llevar el jugo a pH a neutro, y se calentó hasta el punto de ebullición en un beaker de 1000mL. Se vertió el jugo en una probeta de 1000mL para monitorear cada 20 segundos la movilización de lodos a lo largo de la probeta. Adicionalmente se determinó los parámetros de color, turbidez, pureza y CM del jugo clarificado. Por último, se realizó nuevamente este procedimiento después de 4 horas consecutivas para comparar la velocidad de sedimentación con el mismo jugo.

3. Monitoreo de efectos de la actividad microbiológica en los filtros de cachaza. Para la sectorización y monitoreo de los efectos de la actividad microbiológica, se midió la temperatura en distintos puntos de la canoa del filtro, en las laterales, en los rebases, en la parte trasera y delantera y puntos donde se observara estancamiento, utilizando un termómetro laser; luego se midió la fermentación espontánea en dichos puntos, tomando muestras de un volumen indefinido de lodo, al cual se le medirá el pH inicial y luego se colocó en baño maría a 55 °C donde se dejó reposar por 4 horas, luego se retiró del baño maría y se midió el pH nuevamente, una disminución del pH indicó una actividad microbiológica la cual se comprobó midiendo el coeficiente microbiológico, el cual se midió de la muestra tomada a la hora 0 y a la hora 4 y se le realizó la prueba de la resazurina a 37 °C y 55 °C.

4. Procedimiento de toma de muestra y análisis de productos en filtros de cachaza

a. Toma y análisis de muestra de lodos de filtros de cachaza. Se tomaron las muestras en frascos de 500mL. Se tomó lodo en la entrada de los filtros uno, dos y tres. Así mismo se tomó lodo de la acumulación y salida del filtro en cada uno de los cuatro filtros de cachaza y se colocó en un recipiente plástico resistente al calor. También se tomó como punto de muestreo el tornillo sin fin en el cual se unen los lodos que vienen del área de clarificadores con el bagacillo.

Para tomar una muestra se tomó el recipiente con un guante para protección. Se sumergió el recipiente en el lodo con una inclinación de 10 grados sobre la horizontal. Se dejó el recipiente en esa posición, sin soltarlo, hasta que el lodo llegara a la mitad, entonces se agitó y se desechó el lodo. Se volvió a sumergir el recipiente en el lodo con la misma inclinación hasta que éste estuvo lleno a $\frac{3}{4}$ de su volumen total. Al tener la muestra se cerró el recipiente con su respectiva tapadera. Para los puntos en los cuales no se tenía acceso directo a los lodos, se utilizó un tomador de muestras. Se sumergió el tomador de muestras y se vertió el lodo en el recipiente.

La entrada del filtro uno y tres se encuentra en la parte frontal del filtro, tomando como referencia para "frontal" la parte más externa del primer filtro. En el filtro dos y cuatro esta entrada se encuentra en la parte trasera del filtro. La acumulación de lodos será obtenida de la parte lateral izquierda cada uno de los cuatro filtros, en el espacio entre la parte rotatoria y la parte externa del filtro, manteniendo la suposición que la parte frontal es la parte más externa del filtro. La salida del filtro será tomada en el único afluente de la parte lateral derecha de cada filtro. Así mismo, se tomaron muestras del tornillo que lleva la mezcla de los lodos de cachaza que salieron del clarificador, mezclados con bagacillo.

Para determinar la temperatura promedio de los lodos de entrada, lodos acumulados y de salida en los cuatro filtros del ingenio Concepción se utilizó un termómetro infrarrojo en cada uno de los puntos.

Para realizar esta determinación se tomó la temperatura en los lodos de entrada, en la acumulación y salida de los cuatro filtros del ingenio Concepción. Para obtener una cantidad representativa de mediciones de temperatura se realizará un mínimo de 6 mediciones de temperatura en cada visita al ingenio, y de allí se calculará un promedio de las temperaturas en cada punto. Para determinar los puntos del filtro con temperaturas promedio menores a 60°C se utilizaron los datos de temperatura en los puntos de entrada, en la acumulación y en

la salida de los filtros de cachaza, usando un termómetro IR. Con los datos de temperatura promedio en cada uno de los puntos muestreados se seleccionó los que tuvieron promedio menor a 60°C.

Para evaluar la actividad microbiológica de la entrada de los lodos al filtro en los filtros del uno al tres, y de los lodos acumulados en el filtro y de los lodos de salida en los cuatro filtros del ingenio Concepción a través de la producción de ácidos débiles se utilizó la prueba de fermentación espontánea.

En el laboratorio de caña se realizaron las pruebas. Se colocó entre 30mL y 40mL de la muestra en un beaker de 100mL rotulado. A cada muestra se le midió el pH inicial utilizando un potenciómetro y se pusieron todas las muestras en un horno a 55°C durante 4 horas. Al finalizar las 4 horas se le midió el pH final y se realizó la resta del pH final menos el pH inicial. Al terminar de analizar las muestras se diluyeron y desecharon en el lavado.

Para evaluar la actividad microbiológica de la entrada de los lodos al filtro, lodos acumulados en el filtro y de los lodos de salida en los cuatro filtros del ingenio Concepción a través de la actividad enzimática de la deshidrogenasa se utilizará la prueba de resazurina. Cada muestra que se llevó al laboratorio de caña se agitó suavemente y se llenaron con muestra dos tubos plásticos que contienen un compuesto azul brillante llamado resazurina, fueron dos tubos por punto de muestreo. Para la evaluación de la presencia de dextrana en la entrada de los lodos al filtro en los filtros del uno al tres, y de los lodos acumulados en el filtro y de los lodos de salida en los cuatro filtros del ingenio Concepción se realizó la prueba de dextrana en los puntos cuya temperatura promedio sea menor a 60°C. Para realizar la prueba de dextrana se tomó una muestra de aproximadamente 500mL de los lodos en los puntos cuya temperatura promedio sea menor a 60°C. Se echa cada muestra en un tubo de ensayo para centrifugadora y se pone a centrifugar a 6000rpm por 15 minutos.

b. Toma y análisis de muestra de aguas de desecho. Se toman tubos de ensayo debidamente rotulados y se sumergen en la corriente de agua que se desea analizar. Se espera hasta que el tubo este lleno, y se vacía. Después se vuelve a llenar y se tapa. Desecho del ingenio Magdalena.

Para evaluar la pérdida de sacarosa en los principales efluentes de los tándems A, B y C y en el agua de desecho del ingenio Magdalena se hará un esquema del área que incluya los tres tándems, después se ubicará los efluentes principales de cada tándem y se hará la prueba de trazas de sacarosa.

Para realizar las trazas se toma una muestra de los efluentes principales en los tándems A, B y C en un tubo de ensayo de vidrio y se le agrega 1mL de Naftol, se agita y se le agrega

cuidadosamente 1mL de ácido sulfúrico. El ácido sulfúrico debe ser agregado lentamente y éste debe deslizarse por la orilla del tubo de ensayo, el cual debe estar inclinado unos 20 grados sobre la vertical. Después de agregar el ácido sulfúrico se debe esperar, sin mover ni agitar la muestra, a que se dé un cambio de color. Si no se presenta un cambio un anillo color rojo ladrillo en el tubo, la muestra no contiene trazas de sacarosa. Entre más notorio el anillo, mayores son las trazas de sacarosa en el efluente. Al terminar de analizar las muestras diluir y desechar en el lavado.

c. Desarrollo de modelo a escala laboratorio del proceso de clarificación y evaporación. Para el desarrollo de un modelo a escala laboratorio del proceso de clarificación y evaporación, se utilizó una muestra de 800 a 1000 mL jugo sulfitado y se midió la cantidad necesaria de sacarato (mezcla de jugo claro, meladura, cal y agua) para llevar el pH del jugo a un valor neutro.

Una vez se agregó el volumen requerido, se calentó el jugo en un beaker de metal a punto de ebullición para agregar floculante en proporción y se colocó en una probeta de 1000 mL para permitir la sedimentación de lodos. Se determinó los parámetros de color, la turbidez, pureza y CM según los métodos de ingenio Pantaleón, luego el jugo claro se decantó, en un beaker de metal de 650 mL con un tubo de acero inoxidable proveniente de la calandria de los evaporadores del ingenio.

Para simular el proceso de evaporación, se contó con 5 tubos, cada uno previamente pesado y luego se trasvasó el tubo al primer recipiente donde se sometió el jugo a calentamiento y se monitoreó periódicamente los grados brix, hasta llegar al rango de operación del primer efecto, donde se detuvo el calentamiento y se trasvasó el tubo al recipiente donde se encontraba el jugo y se continuó calentando y monitoreando los brix hasta llegar al rango de operación del segundo efecto, así sucesivamente, hasta llegar al último efecto y alcanzar la concentración deseada entre 60 y 65 brix.

Al lograr la concentración respectiva, se lavaron los tubos de cada efecto en agua destilada en un beaker de 500 mL, para ser pesados luego que se hayan secado para encontrar la cantidad de incrustación formada por diferencia de pesos.

Se realizó este procedimiento a 10 muestras con distinta actividad microbiológica, para comparar volúmenes de sacarato (cal) que se agregó y las incrustaciones que estas formaban.

E. Evaluación de la relación entre un jugo con alta actividad microbiológica, su requerimiento de cantidad de cal y el aumento en incrustaciones en evaporadores

Para la evaluación de la relación entre un jugo con alta actividad microbiológica, su requerimiento en cantidad de cal y el aumento en incrustaciones, se tomó jugo sulfitado, se apartara una muestra para la medición del coeficiente microbiológico, luego se agregó sacarato, tomando nota de este volumen, hasta llevar el jugo a pH neutro y se calentó hasta el punto de ebullición en un beaker de 1000 mL.

Seguidamente, se vertió el jugo en una probeta de 1000 mL para permitir la sedimentación de lodos, se decantó el jugo clarificado en un beaker de 1000 mL con un tubo de cobre, previamente pesado, proveniente de los evaporadores para simular el proceso de evaporación (descrito previamente en el punto i).

Se realizó este procedimiento a la hora 0 y a la hora 4, para comparar volúmenes de cal agregados con incrustaciones formadas, el coeficiente microbiológico será medido del jugo sulfitado y del jugo claro a la hora 0 y a la hora 4 y se le hizo la prueba de la resazurina a 37°C.

F. Diseño de método para medir la deformación por elongación de cristales de masas cocidas

1. Medición del tamaño de los cristales en las diferentes masas cocidas A, B y c de los tachos o cristalizadores. Para lograr seleccionar el número óptimo de campos que se deben de leer para obtener un coeficiente de elongación significativo, se tomaron las siguientes cantidades de muestra por Ingenio de la zafra 2012-2013:

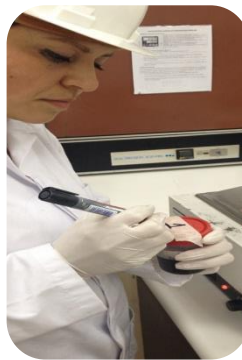
- ✓ Magdalena: 45
- ✓ Pantaleón: 25
- ✓ Madre Tierra: 8
- ✓ Santa Ana: 10

Luego, se realizó un homogenización de las muestras por medio de la aplicación de calor por medio de un baño María, para posteriormente tomar cierta cantidad de masa y colocarla en un portaobjetos y llevar a cabo las mediciones de los cristales tanto su ancho como largo por medio de la utilización de un microscopio con lente milímetro en una rango de 1-10. Se realizó una lectura de 20 campos por muestra, cada campo con una medición de aproximadamente 35-45 cristales o más.

Metodología utilizada en el laboratorio de microbiología para el análisis de las muestras recolectadas en la zafra 2012-2013 de los Ingenios Magdalena, Santa Ana, Pantaleón y Madre Tierra.



IDENTIFICACIÓN DE LOS DATOS DE LA MUESTRAS



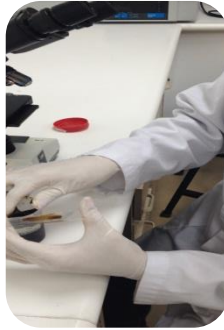
IDENTIFICACIÓN CON NÚMERO CORRELATIVO



COLOCACIÓN DE MUESTRA EN BAÑO DE MARÍA PARA HOMOGENIZAR



HOMOGENIZADA LA MUESTRA, PREPARARLA PARA COLOCARLA EN PORTAOBJETOS



COLOCAR UNA CANTIDAD SIGNIFICATIVA DE MUESTRA EN PORTAOBJETOS



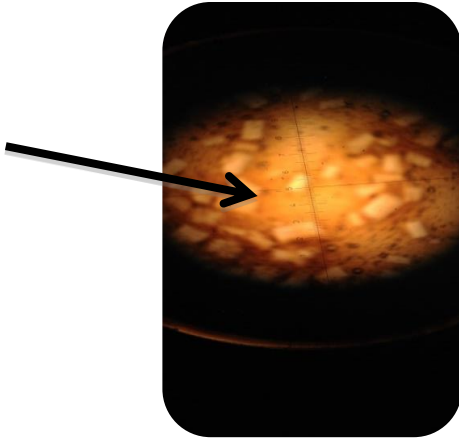
ENFOCALENTE, LEER TAMAÑO DE CRISTALES



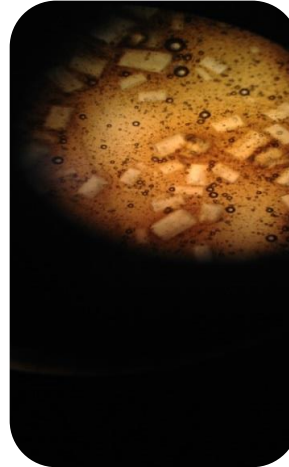
DOCUMENTAR LARGO Y ANCHO DE CRISTALES (mm)



CAMBIAR DE CAMPO Y REALIZAR NUEVAMENTE LA MEDICIÓN



ESCALA MILIMETRADA (1-10mm)
UTILIZADA



CRISTALES OBSERVADOS Y MEDIDOS

2. Desarrollo de método aplicable en la medición de cristales. Para este punto, será necesario tomar la mayor cantidad de muestras en el período de la zafra de las masas cocidas A, B y C, tanto del Ingenio Pantaleón como Magdalena, para que luego cada muestra se analice por campos. En cada campo se leerán las dimensiones de los cristales. Esto quiere decir su ancho y largo. En cada muestra se necesita leer un aproximado de 30-50 o más cristales. Luego, con los datos obtenidos, se aplicará un análisis estadístico de promedio acumulado para determinar la cantidad óptima de campos que sea representativo para el análisis de muestras, por medio de comparación gráfica de los resultados.

3. Comparación de cristales de las masas A, B y C de cada ingenio individualmente por fecha de muestra. Con la obtención del coeficiente de elongación, en el número de campo de lectura adecuado obtenido con la metodología mencionada anteriormente, estos valores se pueden comparar entre cada ingenio en el caso de la masa cocida C, así como las diferentes masas cocidas A, B y C individualmente por ingenio. Esto con el fin de analizar las posibles causas que pueden afectar este coeficiente, principalmente por alguna consecuencia de una actividad microbiológica no controlada en el proceso y corregirlo siempre en sistema de mejora continua del mismo.

G. Identificación y método para evaluación de pérdidas de cristales de azúcar crudo y refino

1. Desarrolló de un método de caracterización de azúcar como producto final

a. **Determinación de curva de cristales.** La determinación de la curva de cristales se basó en la evaluación del análisis gravimétrico que se realizó al azúcar refino. Con esta información se realizó un análisis de los datos para realizar un promedio de la curva de distribución que se maneja actualmente del azúcar refino. Esto se realizó con el objetivo de determinar el porcentaje del azúcar que se maneja fuera de los estándares establecidos de azúcar refino. Esta información se utilizó con el fin de determinar el efecto que tienen el tamaño de los cristales en las pérdidas del producto final.

b. **Medición de humedad relativa en azúcar refino.** Se realizaron por medio de la balanza marca RADWAG Serie Mac 50:

- Se enciende la balanza
- La balanza indica cuando se debe de introducir el plato
- Se tara la balanza
- Cuando la balanza indique, se introduce la muestra (2 g)
- Se cierra la balanza
- El proceso inicia solo, al finalizar el proceso, la humedad relativa es indicada en la pantalla

Este procedimiento se hizo para muestras de azúcar del análisis gravimétrico, azúcar refino obtenido durante el proceso (centrífuga, secador, enfriador, producto final), y en diferentes puntos de almacenamiento con el fin de identificar puntos de mayor humedad relativa en los cristales.

c. **Determinación de elongación de cristales en azúcar crudo y refino.** Para la selección del número óptimo de campos a observar en la determinación del coeficiente de la elongación de cristales del área de tachos se tomaron muestras de masas cocidas de azúcar refino y azúcar crudo. Se colocaron en un porta objetos añadiendo glicerina para una mejor visualización de cristales y en un microscopio con lente milimetrado, se separaron por campos las muestras y se leyeron el ancho y largo de cada cristal en cada campo hasta leer 10 o más cristales.

Luego se obtuvo el promedio acumulado del coeficiente de elongación de cristales en cada muestra y gráficamente se determinó la cantidad de cristales fuera de la especificación de tamaño de acuerdo al tipo de cristal.

2. Evaluación de condiciones de almacenamiento para reducir posibles pérdidas de azúcar. Para evaluar las condiciones de almacenamiento y producción se realizó el diagrama de proceso que se puede observar en la ilustración del capítulo de metodología para determinar posibles puntos indicativos de acondicionamiento. Esto se realizó con el fin de tener un punto en donde se pueda medir las condiciones del producto. Se tomó información acerca de la humedad relativa del azúcar, la humedad del ambiente, temperatura de ambiente. Estos datos se analizaron para determinar si algún proceso está afectando la calidad del azúcar o ser causa de atterronamiento. Esta información luego se tomó en conjunto con los datos de la caracterización del azúcar para así determinar puntos de mejora de proceso.

3. Desarrollo de propuesta para mejorar el proceso y almacenamiento. Para determinar una propuesta de mejora de proceso y almacenamiento en el Ingenio Concepción se realizó un estudio a fondo de todos los datos y muestras tomadas. De acuerdo con esta información se realizó un análisis de mejora y se propuso una propuesta de mejora de proceso y almacenamiento para la disminución de pérdidas de azúcar crudo y refino. Así mismo se presentó toda la información recolectada para la utilización propia o interpretación misma.

H. Determinación del precio promedio del azúcar durante la zafra 2012-2013

Se revisaron diferentes fuentes bibliográficas para poder tener suficiente información sobre la caña de azúcar y los diferentes procesos que se llevan a cabo para poder fabricarse. Por otra parte, se leyeron algunos trabajos de graduación de años anteriores para partir de ellos y no repetir los mismos estudios. Se realizó una observación a los procesos que son necesarios para fabricar azúcar a partir de la caña de azúcar. Se hizo un énfasis especial en los procesos de clarificación y cristalización en los ingenios Concepción, Magdalena y Pantaleón. Los precios de azúcar se obtienen a partir del promedio del precio del azúcar durante la zafra 2012-2013. Esto se logra por medio del contrato 11 de la bolsa de Nueva

York, tomando en cuenta el azúcar como una materia prima. A continuación un cuadro con los cambios del precio del azúcar desde 1989 al 2011:

Cuadro 8. Precio promedio del azúcar desde el año 1989 hasta el 2011

Año	Precio promedio Contrato 11 Nueva York (US cents/lb)	Precio promedio Contrato 11 Nueva York (Q./tonelada)
1989	12.76	2245.1732
1990	12.54	2206.6946
1991	8.83	1554.1291
1992	9.03	1589.3499
1993	10.22	1799.2583
1994	12.17	2141.1929
1995	12.13	2135.0778
1996	11.42	2009.6051
1997	11.36	1999.9275
1998	8.81	1550.8476
1999	6.16	1084.1787
2000	8.15	1434.3306
2001	8.35	1468.8716
2002	6.44	1133.6454
2003	6.75	1188.2192
2004	7.38	1299.0159
2005	9.99	1757.8249
2006	14.65	2578.0876
2007	9.91	1744.0886
2008	12.11	2130.8065
2009	17.78	3129.1348
2010	22.36	3934.5419
2011	27.14	4775.8572

(Ortiz, K. 2012. Trabajo de Graduación)

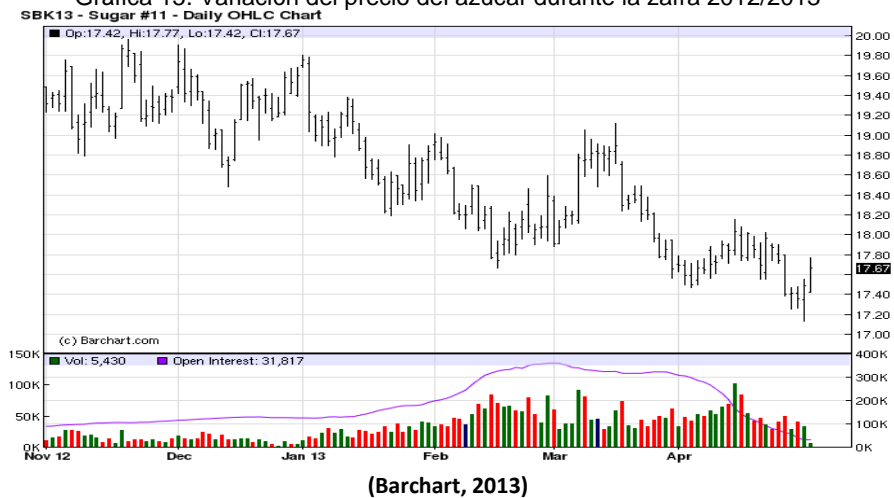
A continuación, un cuadro con los cambios del precio del azúcar desde el inicio de la zafra 2012/2013 hasta el final. El dato que se coloca en el mes corresponde al promedio entre el precio de apertura el primer día del mes y el precio de cierre el último día del mes.

Cuadro 9. Precio promedio del azúcar durante la zafra 2012/2013

Mes	Precio Nueva York (Centavos de dólar/lb)	Contrato 11 Nueva York (Quetzales/libra)	Precio Nueva York (Quetzales/tonelada)
Noviembre 2012	19.52	1.5382	3,391.15
Diciembre 2012	19.48	1.5233	3,358.30
Enero 2013	19.22	1.5107	3,330.52
Febrero 2013	18.63	1.4550	3,207.72
Marzo 2013	18.00	1.4022	3,091.32
Abril 2013	17.74	1.3802	3,042.82
Mayo 2013	17.67	1.3730	3,026.94

Basándose en los datos del Cuadro 3, se hizo un promedio del precio del azúcar durante toda la zafra 2012/2013 ya que se obtuvieron datos finales de la zafra 2012/2013 y no mensuales. Por ende el precio del azúcar que se utilizará en el trabajo será de 18.60 centavos de dólar por libra. De igual forma, en el cuadro 4 se tiene el valor mensual durante la zafra 2012/2013 y se obtuvo un valor promedio mensual de 7.82 quetzales por cada dólar.

Gráfica 15. Variación del precio del azúcar durante la zafra 2012/2013



Cuadro 10. Tasa de cambio durante zafra 2012-2013

Mes	Tasa de cambio promedio del mes (quetzales por dólares)
Noviembre 2012	7.88
Diciembre 2012	7.82
Enero 2013	7.86
Febrero 2013	7.81
Marzo 2013	7.79
Abril 2013	7.78
Mayo 2013	7.78

(Banguat, 2013)

I. Estimación de las pérdidas en los procesos azucareros seleccionados

1. Desarrollo de propuesta para mejorar el proceso y almacenamiento. Para determinar cuánta azúcar es perdida en este proceso, es necesario conocer cuántas toneladas de azúcar molida se procesaron, cuántas toneladas de cachaza surgieron, cuál fue la pol promedio del azúcar, cuál fue el incremento porcentual de lodos y cuál es el porcentaje de cachaza en los lodos. Se obtuvieron los datos de azúcar molida, toneladas de cachaza extraídas, pol promedio de cachaza, porcentaje de incremento de lodos y el porcentaje de cachaza en lodos para poder obtener las toneladas de azúcar perdidas en la cachaza en el Ingenio Pantaleón y de esta forma se obtuvo la pérdida monetaria.

2. Estimación de la azúcar perdida en el proceso completo debido al consumo de sacarosa por parte de los microorganismos. Para determinar cuánta azúcar se pierde por el consumo de sacarosa por parte de los microorganismos se realizó una serie de experimentos para validar cuál de todos los métodos era el más adecuado para medir la sacarosa perdida.

Los métodos que se evaluaron fueron los siguientes:

- Cromatografía de sacarosa
- Prueba de pol
- Prueba de Pureza
- Prueba de pH
- Capacidad Buffer
- Prueba de resazurina

Por medio de la obtención de una prueba adecuada, la cual demostró ser la de resazurina, se obtuvo una ecuación con la cual se puede determinar cuánta azúcar es perdida por medio de la ingestión de los microorganismos. Se utilizó como factor importante el coeficiente de correlación para determinación para conocer si las variables se relacionan entre si y así saber si el proceso es fiable para conocer la actividad microbiológica de los jugos de caña de azúcar. Para las mediciones se tomó en cuenta las variables de tiempo, pH y CM de las muestras. (Bregni, 2013).

3. Determinación de la calidad de azúcar rechazada por aterronamiento y su impacto económico. Se realizaron pruebas en distintas fases del proceso de producción de azúcar refinada para determinar en dónde se estaba aterronando el azúcar ya que cuando llega al punto de revisión de calidad para su venta es rechazada y se tiene que reprocesar, lo que representa una pérdida para los ingenios que tuvieron que invertir más en reprocesar un producto que, por temas de calidad, es rechazado.

Estas pruebas se realizaron en las siguientes partes del proceso:

- Centrifugado
- Secado
- Enfriado
- Envasado
- Almacenamiento

Este fenómeno se estudió únicamente en el Ingenio Concepción (Aycinena, 2013)

Se determinaron cuáles son los problemas operativos que surgen a causa del aumento microbiológico en la caña de azúcar. Esto se desarrolló en el área de la clarificación, de evaporación, de tachos y durante el transporte de los jugos de caña de azúcar.

VII. RESULTADOS

A. Identificación de bacterias mesófilas aerobias en jugos mezclados

Cuadro 11. Especies bacterianas de los jugos mezclados identificadas por el gen 16S.

Especie identificada	Ingenio	Similitud genética
<i>Weissella confusa</i>	Magdalena, tándem A	0.99
<i>Weissella confusa</i>	Santa Ana, tándem A	1.00
<i>Weissella confusa</i>	La Unión, tándem B	1.00
<i>Weissella confusa</i>	Pantaleón, tándem A	1.00
<i>Enterobacter cloacae</i>	Magdalena, tándem B	1.00
<i>Bacillus cereus</i>	Santa Ana, tándem B	0.98
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Concepción	1.00
<i>Bacillus pumilos</i>	Pantaleón, tándem B	1.00

Se identificaron cinco especies bacterianas con una similitud genética >98%, cada una aislada de diferentes tándems. Las especies *Weissella confusa* se aislaron de muestras en agar Leuco mientras que las especies restantes se aislaron del medio PCA.

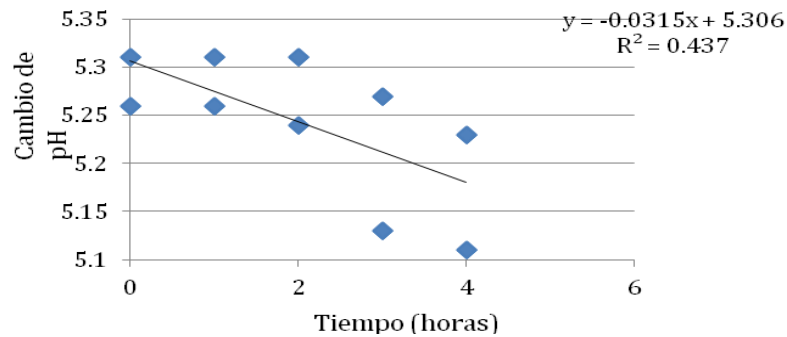
Cuadro 12. Géneros bacterianos identificados en los jugos mezclados por gen 16S.

Género identificado	Especie probable	Ingenio	Similitud genética
<i>Bacillus sp.</i>	<i>Subtilis o amyloliquefacies</i>	Magdalena C, Pantaleón A y B.	1.00 (para ambas)
<i>Bacillus sp</i>	<i>Thurigensis</i>	La Unión A	0.93
<i>Bacillus sp</i>	<i>Pumilus</i>	La Unión A	0.86
<i>Microbacterium sp.</i>	<i>paraoxydans</i>	Concepción	0.91
<i>Klebsiella sp.</i>	<i>pneumoniae o variicola</i>	Santa Ana A y Magdalena A	1.00 (para ambas)
<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Aeruginosa</i>	Magdalena A	0.70

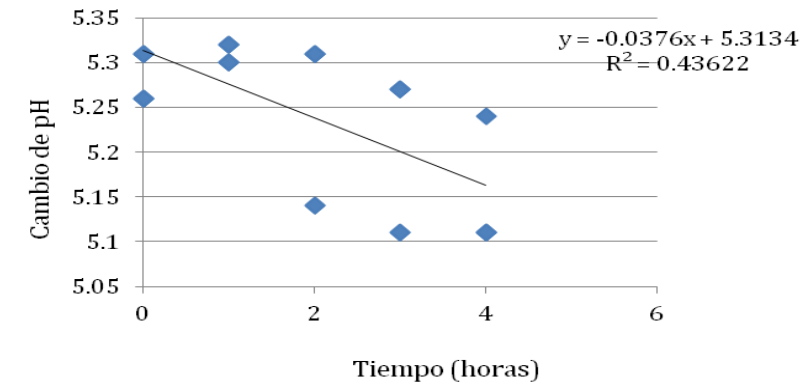
Cuatro géneros bacterianos pudieron identificarse, la especie bacteriana con mayor similitud fue determinada, en algunos casos existen más de una especie con la misma similitud genética.

B. Evaluación preliminar de fiabilidad de pruebas como parámetro de comparación con pruebas tradicionales de sacarosa por cromatografía.

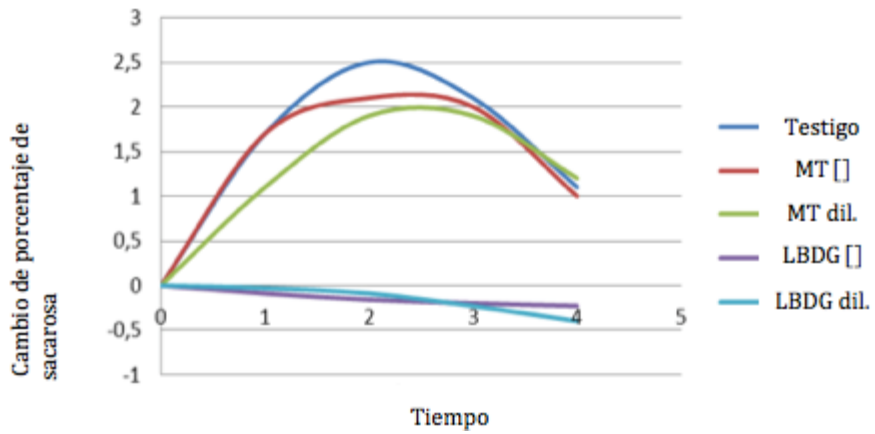
Gráfica 16. Estudio de comportamiento de la prueba indicadora capacidad buffer tradicional. $R^2= 0.44$ aproximadamente, lo cual indica la confiabilidad de la prueba



Gráfica 17. Estudio de comportamiento de prueba indicadora de capacidad buffer optimizada. $R^2= 0.44$ aproximadamente, lo cual indica la confiabilidad de la prueba. Denotada como optimizada debido a utilización de un volumen menor de muestra de jugo.

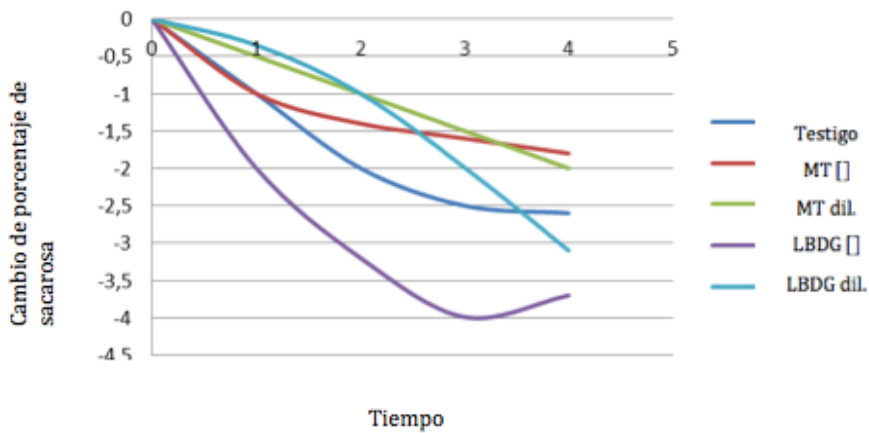


Gráfica 18. Estudio del comportamiento de la prueba Pol como indicador de la actividad microbiana, tradicionalmente utilizada en la industria azucarera.



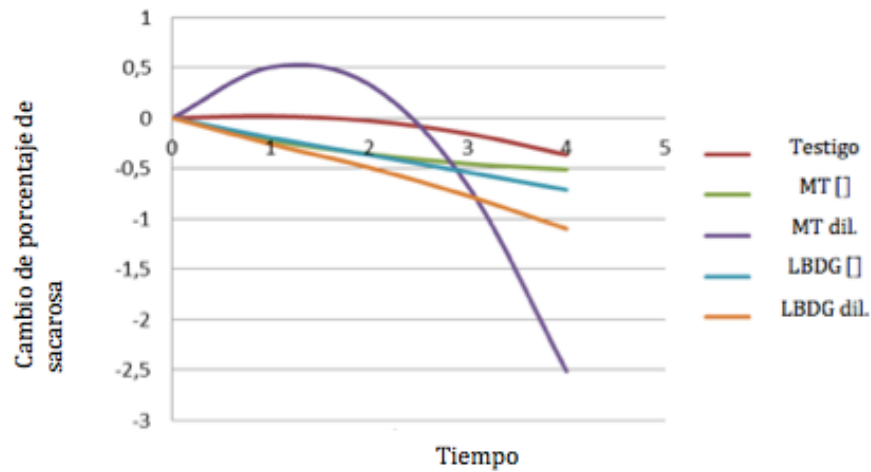
Cada curva de la gráfica representa las soluciones de trabajo analizadas durante el estudio. Los cambios de sacarosa se reportaron como porcentaje utilizando un sacarímetro.

Gráfica 19. Estudio del comportamiento de la prueba de pureza como indicador de la actividad microbiana, tradicionalmente utilizada en la industria azucarera.



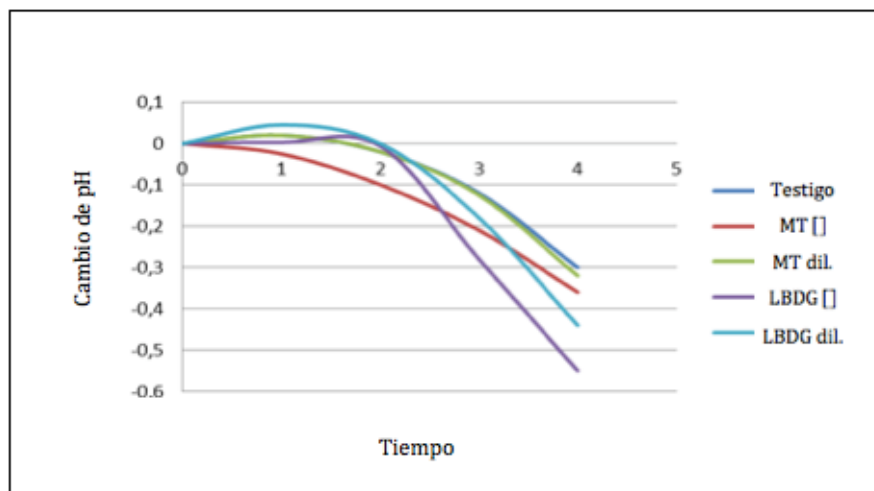
Cada curva de la gráfica representa las soluciones de trabajo analizadas durante el estudio. Los cambios de sacarosa se reportaron como porcentaje utilizando la siguiente razón: Pol/Grados Brix.

Gráfica 20. Estudio del comportamiento de la prueba de determinación de sacarosa como indicador de la actividad microbiana, tradicionalmente utilizada en la industria azucarera.



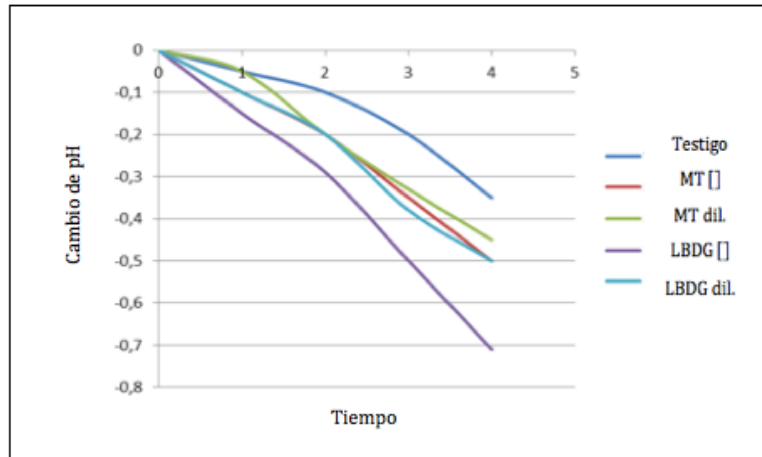
Cada curva de la gráfica representa las soluciones de trabajo analizadas durante el estudio. Los cambios de sacarosa se reportaron como porcentaje utilizando el equipo HPLC.

Gráfica 21 Estudio del comportamiento de la prueba experimental de fermentación espontánea como indicador de la actividad microbiana en jugos de caña de azúcar



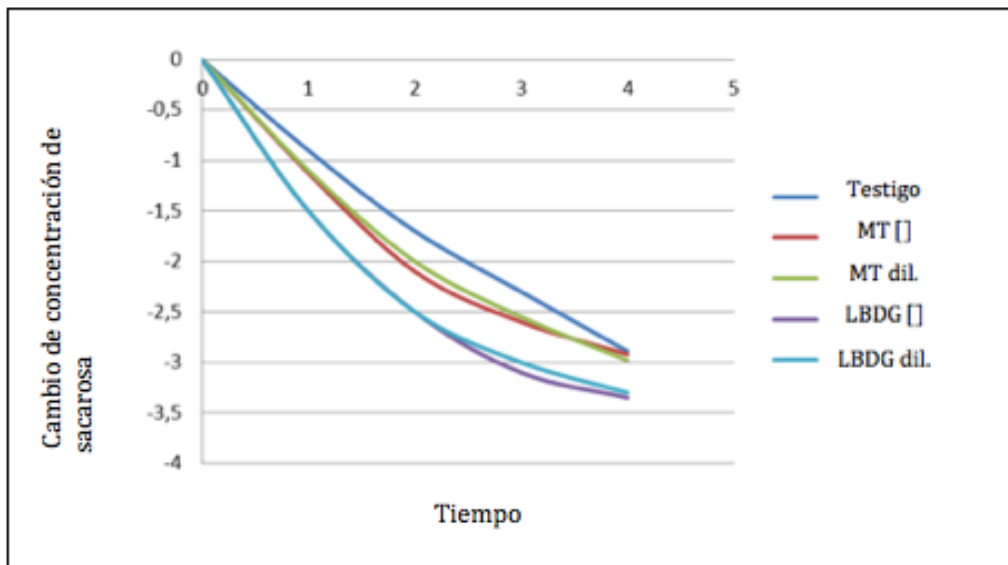
Cada curva de la gráfica representa las soluciones de trabajo analizadas durante el estudio. Los cambios de pH se reportaron como grados de pH utilizando un potenciómetro.

Gráfica 22 Estudio del comportamiento de la prueba experimental de capacidad buffer como indicador de la actividad microbiana en jugos de caña de azúcar



Cada curva de la gráfica representa las soluciones de trabajo analizadas durante el estudio. Los cambios de pH se reportaron de determinar la diferencia de pH luego de agregar 0.5 mL de NaOH 0.1N .

Gráfica 23 Estudio del comportamiento de la prueba experimental de resazurina como indicador de la actividad microbiana en jugos de caña de azúcar

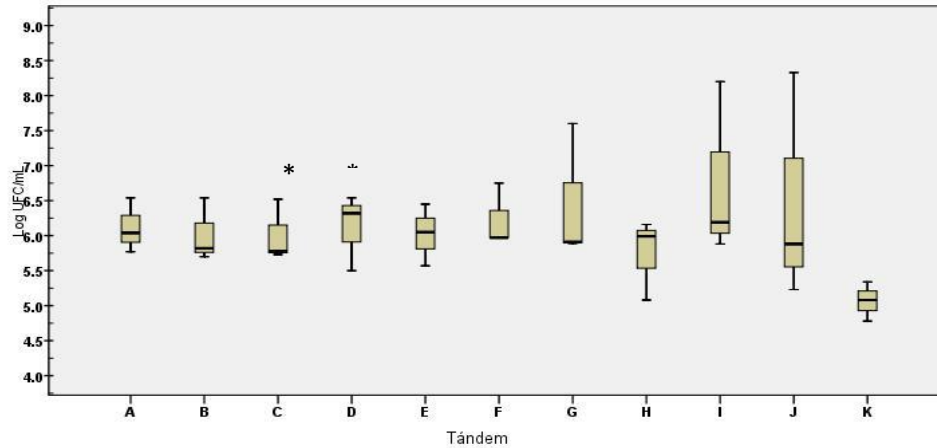


Cada curva de la gráfica representa las soluciones de trabajo analizadas durante el estudio. Los cambios en la concentración se reportaron utilizando el tiempo en del cambio de color, a incoloro, del reactivo de resazurina.

C. Recuento de microorganismos en diferentes procesos de fábrica

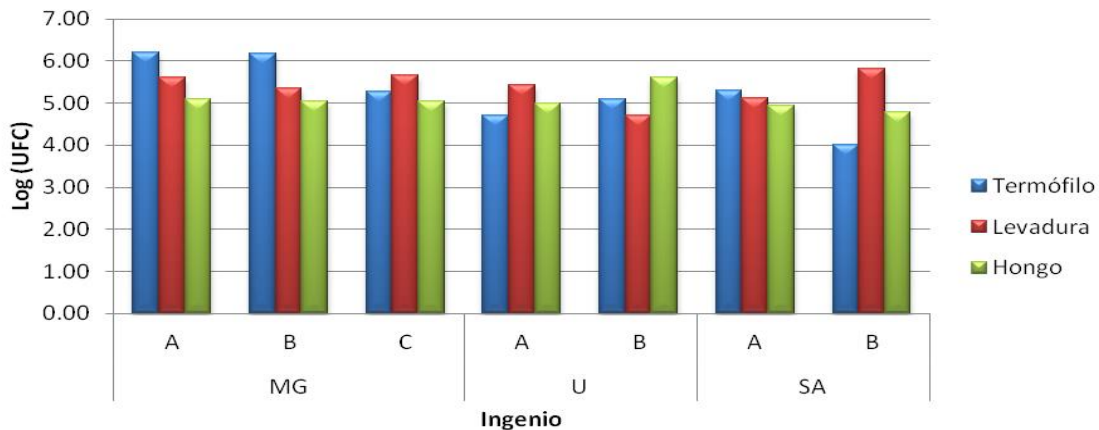
1. Área de molinos

Gráfica 24. RECUENTO BACTERIANO AEROBIO MESÓFILO EN PCA DE 11 TÁNDEM- JUGOS MEZCLADOS

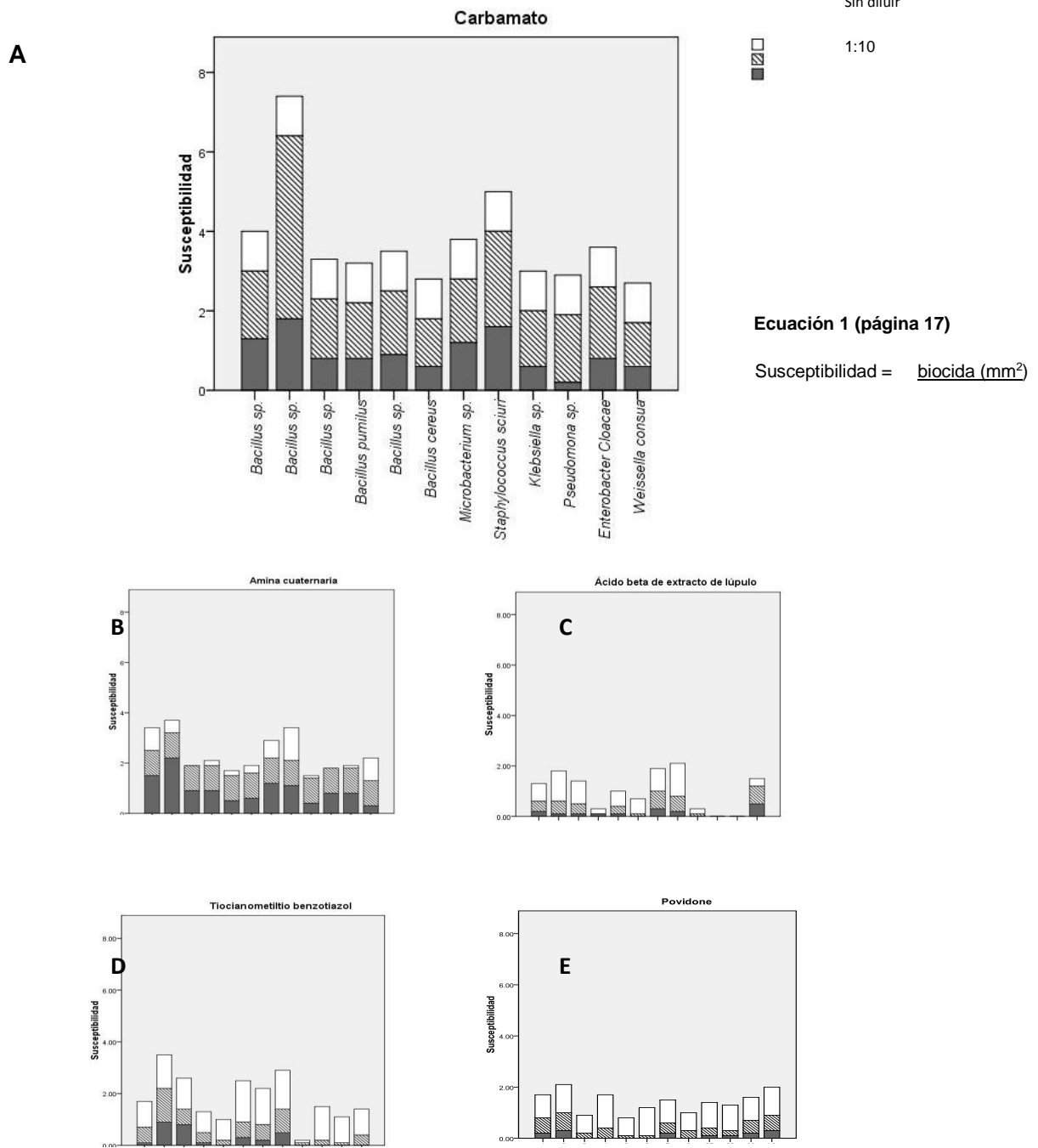


El recuento bacteriano se presenta como el logaritmo de las unidades formadoras de colonias por mililitro de los jugos mezclados. No existe diferencia significativa entre cada tándem $P_{0.27} > \alpha_{0.05}$. *Tándem al que no se le agrega biocida, sólo utilizan agua caliente para su limpieza.

Gráfica 25. RECUENTO DE BACTERIAS TERMÓFILAS, LEVADURAS Y HONGOS PRESENTES EN JUGOS MEZCLADOS DE LOS INGENIOS MAGDALENA (MG), LA UNIÓN (U) Y SANTA ANA (SA).

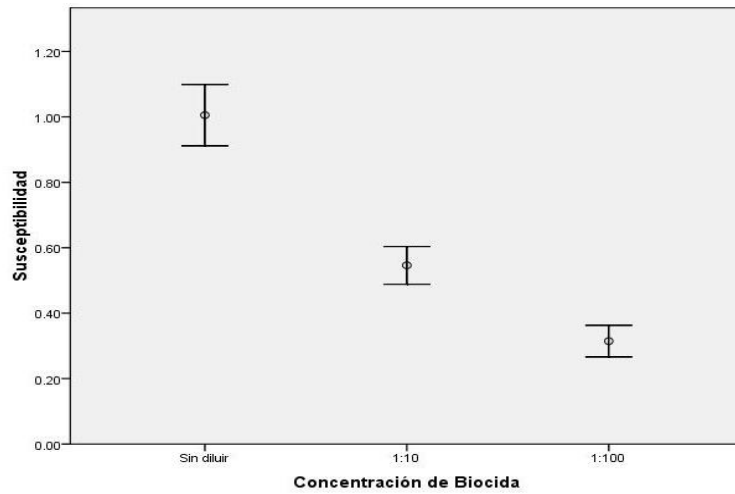


Gráfica 26. SUSCEPTIBILIDAD DE ESPECIES BACTERIANAS HACIA BIOCIDAS.



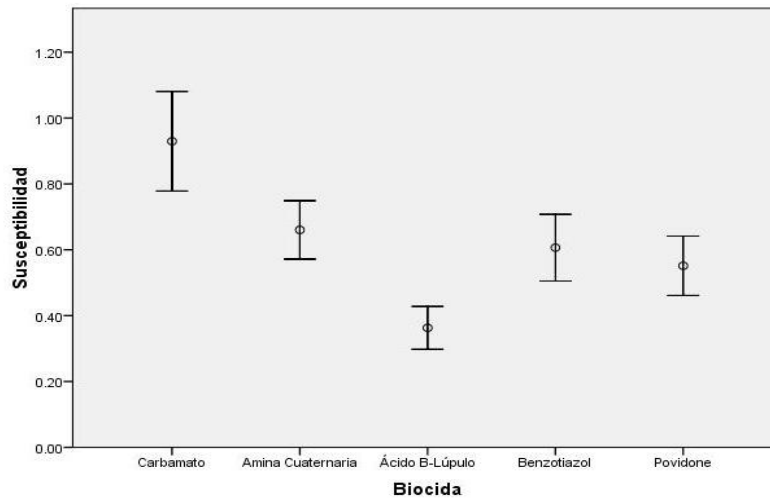
Las gráficas muestran la susceptibilidad de cada especie hacia cada desinfectante. El orden de las especies es el mismo para cada gráfica. La puntuación es directamente proporcional a la susceptibilidad. A) Carbamato B) Amína cuaternaria C) Ácido beta de extracto de lúpulo D) Tiocianometiltio benzotiazol E) Povidone

Gráfica 27. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE BIOCIDAS EN LA SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA.



La susceptibilidad bacteriana disminuye conforme la concentración decrece. Los resultados corresponden a ensayos de prueba de resistencia a biocidas de muestras de cada especie bacteriana identificada así como también a muestras de microbiota total proveniente de jugos mezclados.

Gráfica 28. EFECTO DEL TIPO DE BIOCIDA EN LA SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA



zdfg

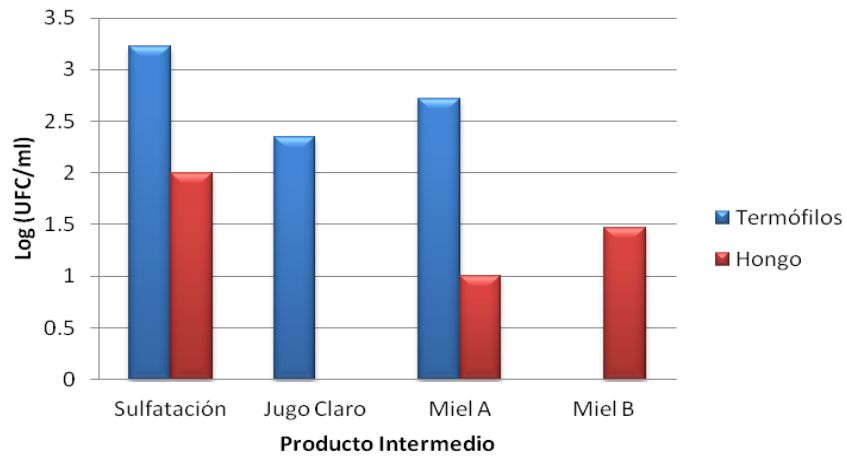
kl

El efecto del tipo de biocida en la susceptibilidad es significativamente diferente para el biocida carbamato y el ácido B-lúpulo, los tres biocidas restantes tiene un efecto similar. Los resultados corresponden a ensayos de prueba de resistencia a biocidas de muestras de cada

especie bacteriana así como también a muestras de microbiota total proveniente de jugos mezclados.

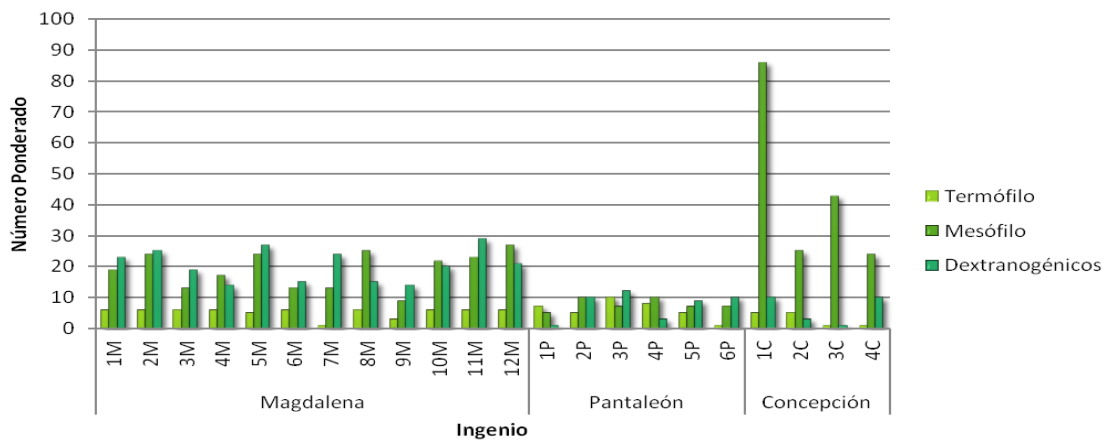
2. Productos intermedios

Gráfica 29. RECUENTO DE MICROBIOTA TERMÓFILA Y HONGOS MICELIARES EN LOS PRODUCTOS INTERMEDIOS DEL INGENIO MAGDALENA.

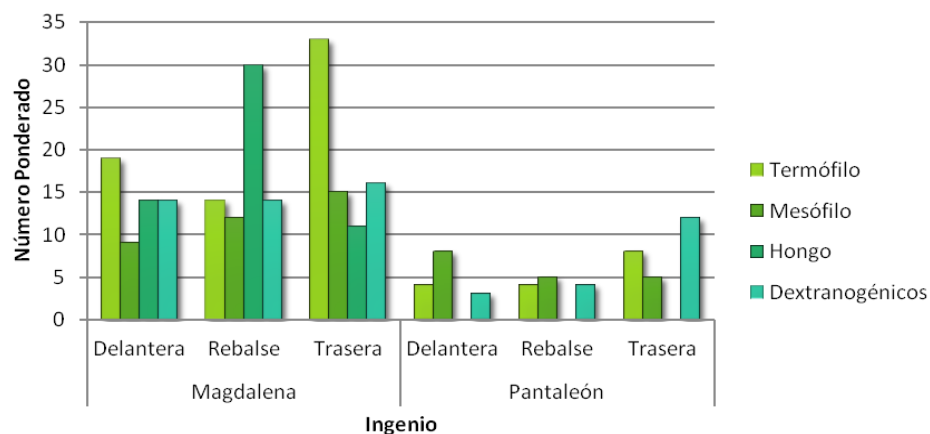


3. Área de filtros

Gráfica 30. COMPARACIÓN DE RECUENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIO EN FILTROS DE LODOS DE LOS INGENIOS MAGDALENA, PANTALEÓN Y CONCEPCIÓN.



Gráfica 31. COMPARACIÓN DE RECUEENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS EN DIFERENTES ÁREAS DE LOS FILTROS DE LODOS EN LOS INGENIOS MAGDALENA Y PANTALEÓN.



D. Aspectos fisicoquímicos de filtros en los ingenios Pantaleón y Concepción

1. Ingenio Pantaleón

Cuadro 13. TEMPERATURA (°C) PROMEDIO DE CADA SECCIÓN DEL FILTRO DEL INGENIO PANTALEÓN

Área en Filtro	1	2	3	4	5	6
Delantera	-	51.11±3.77	50.46±1.54	51.38±3.84	59.41±3.02	56.58±6.80
Trasera	-	54.56±4.44	55.68±8.51	52.50±3.83	64.29±1.80	53.53±4.27
Entrada	-	55.10±2.05	55.10±2.05	55.10±2.05	55.10±2.05	55.10±2.05
Rebalse	-	66.21±5.17	66.28±5.51	66.79±7.60	64.69±4.21	65.24±6.54

Cuadro 14. OBSERVACIONES Y PROBLEMAS EN LOS FILTROS DEL INGENIO PANTALEÓN

Filtro	Problema
2	Caída de agua condensada en la parte delantera
3	Caída de agua condensada en la parte trasera del filtro
4	Rebalse trasero: estancamiento, mal olor, baja temperatura.

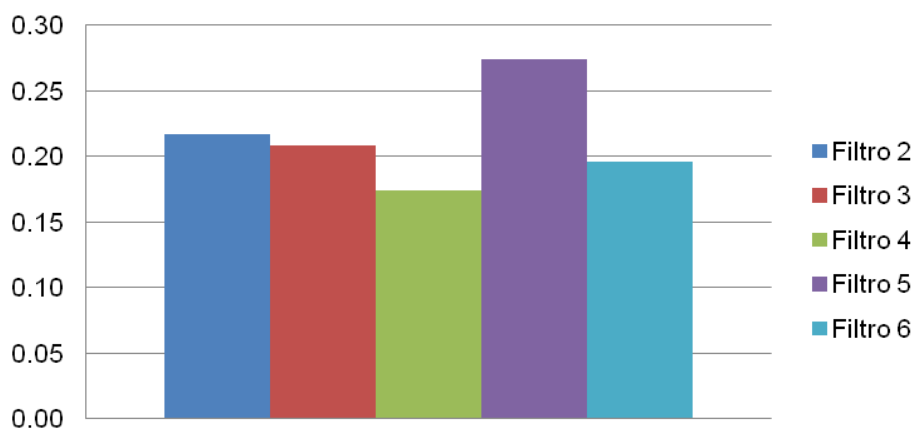
Cuadro 15. COMPARACIÓN DE TEMPERATURAS DE LA ZAFRA 2011-2012 Y LAS DEL 2012-2013

		Comparación con los resultados de (Castellanos, 2012)	Temperatura °C	
Filtro		Temperatura °C	entrada	salida
1	delantera	-	55.10	66.14
	trasera	-		
2	Delantera	-0.15	55.10	66.21
	Trasera	5.86		
3	Delantera	-5.54	55.10	66.28
	Trasera	2.08		
4	Delantera	-3.45	55.10	66.79
	Trasera	-1.43		
5	Delantera	-3.19	55.10	64.69
	Trasera	0.49		
6	Delantera	3.21	55.10	65.24
	Trasera	1.38		

Cuadro 16. CAÍDA DE PH DE LOS LODOS DE LOS FILTROS DE CACHAZA EN LA PRUEBA DE FERMENTACIÓN ESPONTÁNEA A UNA TEMPERATURA PROMEDIO DE 55°C

Filtro		Caída pH	T °C del filtro
1	delantera	-	-
	trasera	-	-
2	Delantera	0.19	51.11
	Trasera	0.24	54.56
3	Delantera	0.19	50.46
	Trasera	0.23	55.68
4	Delantera	0.10	52.63
	Trasera	0.25	52.50
5	Delantera	0.43	59.41
	Trasera	0.12	64.29
6	Delantera	0.20	56.58
	Trasera	0.20	53.53

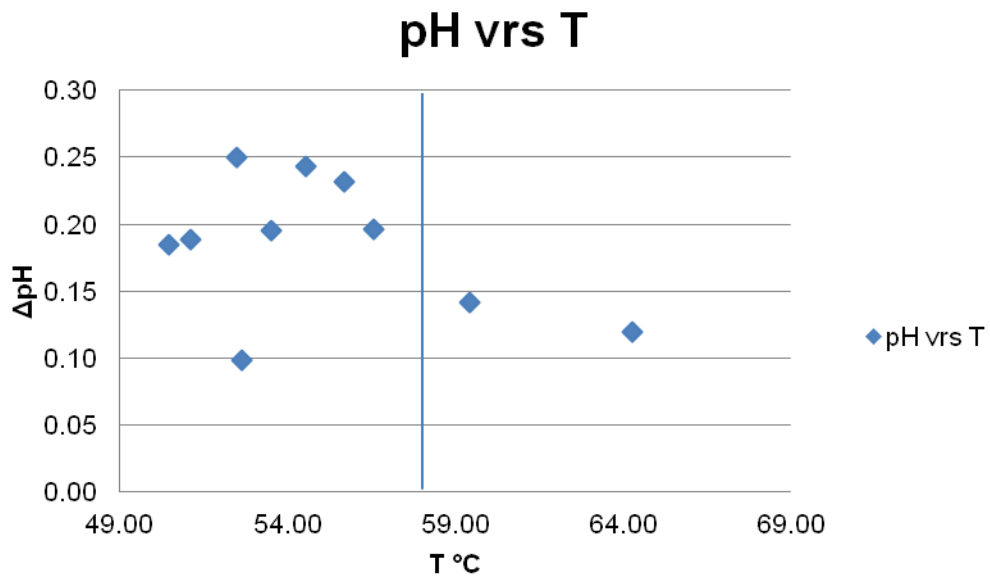
Gráfica 32. CAÍDA DE PH PROMEDIO EN LOS FILTROS DE CACHAZA



Cuadro 17. MEDICIÓN DE CM EN LOS REBALSES TRASEROS

	caída pH	T °C	CM(37)	CM(55)
Rebalse trasero 4	0.07	34.65	9.11	12.58
Rebalse trasero 5	-	60.94	-	-

Gráfica 33. REDUCCIÓN DE LA CAÍDA DE PH DEBIDO AL EFECTO DE UNA TEMPERATURA SUPERIOR A LOS 57 °C.



Cuadro 18. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL CM DE LOS FILTROS DE CACHAZA

Filtro		CM 37°C	CM 55°C
1	delantera	-	-
	trasera	-	-
2	Delantera	2.12	0.88
	Trasera	1.66	0.93
3	Delantera	2.63	1.02
	Trasera	1.69	1.15
4	Delantera	2.46	1.90
	Trasera	2.46	1.67
5	Delantera	1.08	1.26
	Trasera	1.38	0.83
6	Delantera	1.57	0.99
	Trasera	1.34	1.23

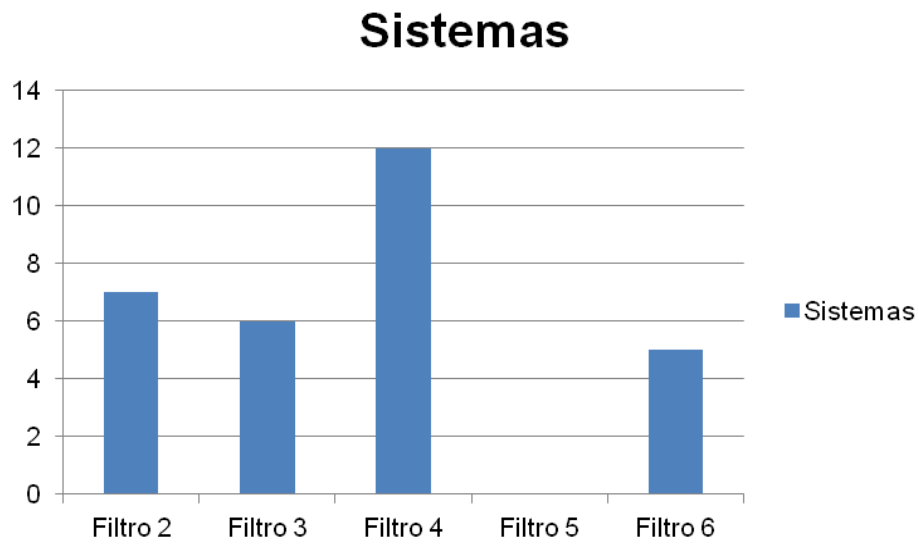
Cuadro 19. ORDEN DE NIVEL DE CONTAMINACIÓN POR INDICADOR UTILIZADO

Indicadores	Orden				
	1º	2º	3º	4º	5º
Caída pH	Filtro 4	Filtro 2	Filtro 3	Filtro 6	Filtro 5
Temperatura	Filtro 4	Filtro 2	Filtro 3	Filtro 6	Filtro 5
Coeficiente Microbiológico (CM)	Filtro 4	Filtro 6	Filtro 3	Filtro 2	Filtro 5
Recuento Microbiológico	--	--	--	--	--

Cuadro 20. PUNTUACIÓN ACUMULADA PARA CADA FILTRO

Factores e indicadores	Filtro 2	Filtro 3	Filtro 4	Filtro 5	Filtro 6
Temperatura	3	2	4	0	1
Caída pH	3	2	4	0	1
Coeficiente Microbiológico (CM)	1	2	4	0	3
Recuento Microbiológico	--	--	--	--	--
Total	7	6	12	0	5

Gráfica 34. PUNTUACIÓN ACUMULADA PARA CADA FILTRO



2. Ingenio Concepción.

Cuadro 21. TEMPERATURA PROMEDIO, MÁXIMA Y MÍNIMA DE LA ENTRADA DE LOS LODOS AL FILTRO, LODOS ACUMULADOS EN EL FILTRO Y DE LOS LODOS DE SALIDA EN

.Filtro	Punto	Temperatura mínima	Temperatura máxima	Temperatura promedio
1	Entrada	75±0.1°C	77.3±0.1°C	73.09±2.53°C
	Acumulación	44.7±0.1°C	67.1±0.1°C	54.55±6.37°C
	Salida	58.4±0.1°C	72.6±0.1°C	67.01±3.65°C
2	Entrada	72.1±0.1°C	82.1±0.1°C	77.10±3.52°C
	Acumulación	43.8±0.1°C	60.5±0.1°C	53.64±4.39°C
	Salida	55.6±0.1°C	74.1±0.1°C	64.76±4.82°C
3	Entrada	61.8±0.1°C	82.6±0.1°C	74.32±5.58°C
	Acumulación	49.6±0.1°C	74.4±0.1°C	59.08±7.17°C
	Salida	55±0.1°C	79.1±0.1°C	68.91±6.83°C
4	Entrada	56.2±0.1°C	74.2±0.1°C	65.54±5.33°C
	Acumulación	55.9±0.1°C	80±0.1°C	63.19±5.81°C
	Salida	59.4±0.1°C	75.8±0.1°C	67.06±5.39°C
Tornillo		65.9±0.1°C	78.8±0.1°C	72.20±3.72°C

Cuadro 22. PUNTOS Y FILTROS CON TEMPERATURAS PROMEDIO MENORES A 60°C

Filtro	Punto	Temperatura promedio
1	Acumulación	54.55±6.37°C
2	Acumulación	53.64±4.39°C
3	Acumulación	59.08±7.17°C

Cuadro 23. CAÍDA DE PH DE LA ENTRADA DE LOS LODOS AL FILTRO, LODOS ACUMULADOS EN EL FILTRO Y DE LOS LODOS DE SALIDA EN LOS CUATRO FILTROS DEL INGENIO CONCEPCIÓN, DESPUÉS DE ESTAR CUATRO HORAS EN UN horno a 55°C

Filtro	Punto	Caída promedio de pH
1	Entrada	0.2411±0.172
	Acumulación	1.081±0.436
	Salida	0.2903±0.127
2	Entrada	0.6285±0.56
	Acumulación	0.8093±0.658
	Salida	0.3604±0.195
3	Entrada	0.4213±0.706
	Acumulación	0.7891±0.795
	Salida	0.2905±0.129
4	Acumulación	0.5115±0.370
	Salida	0.2862±0.168
Tornillo		0.2292±0.014

Cuadro 24. CANTIDAD PROMEDIO DE DEXTRANA EN LOS LODOS ACUMULADOS EN LOS CUATRO FILTROS DEL INGENIO CONCEPCIÓN.

Filtro	Promedio
1	0.802±0.751g/l
2	0.880±0.851g/l
3	0.840±0.729g/l
4	0.287±0.135g/l

Cuadro 25. ÁREAS QUE PRESENTARON PUNTOS CON TRAZAS DENOMINADAS CON “EXTRA FUERTES (XF)” DE SACAROSA EN LOS EFLUENTES DE LOS TÁNDEM A, B Y C Y EN EL AGUA DE DESECHO DEL INGENIO MAGDALENA.

Área	Punto	A	B	C
Desechos	1	F	XF	R
	2	XF	XF	XF
	3	XF	--	F
	4	XF	F	XF
	6	XF	B	F
Tándem B	15	XF	XF	F
Tándem C	19	F	XF	XF

Donde:

XF: Extra fuerte. Cuando la muestra presenta mayor cantidad de sacarosa a nivel de traza.

F: Fuerte. Cuando la muestra presenta cantidad alta de sacarosa a nivel de traza

R: Regular. Cuando la muestra presenta una cantidad intermedia de sacarosa a nivel de traza

B: Bajo. Cuando la muestra presenta baja cantidad de sacarosa a nivel de traza

XB: Extra bajo: Cuando la muestra presenta una mínima cantidad de sacarosa a nivel de traza

Cuadro 26. CM PROMEDIO A 37°C Y 55°C EN LA ENTRADA DE LOS LODOS AL FILTRO, LODOS ACUMULADOS EN EL FILTRO Y DE LOS LODOS DE SALIDA EN LOS CUATRO FILTROS DEL INGENIO CONCEPCIÓN.

CM PROMEDIO EN FILTROS

	1		2		3		4	
	55°C	37°C	55°C	37°C	55°C	37°C	55°C	37°C
Entrada	1.31	0.65	1.16	0.63	1.14	0.64	0.86	0.76
Acumulación	1.26	0.74	1.22	0.74	0.76	0.51	1.12	0.61
Salida	1.19	0.65	1	0.62	1.14	0.68	1.03	0.69

Cuadro 27. RELACIÓN PROMEDIO DE CAMBIO DE CM DE DILUIDO A SULFITADO EN EL PERIODO DE DICIEMBRE 2012 A FEBRERO 2013, DE LOS DATOS REPORTADOS PARA EL TÁNDEM A Y B

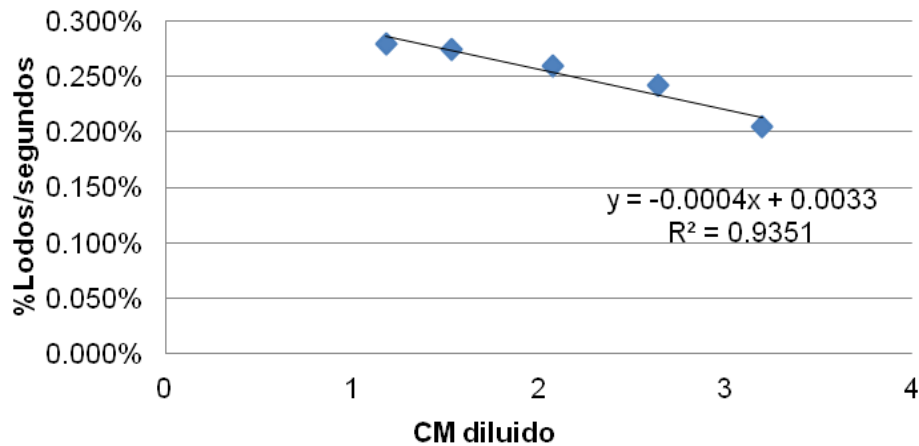
	DilA-Sul	DilB-Sulf	
Febrero	0.31±1.35	0.25±1.03	
Enero	0.63±0.63	0.39±0.44	
Diciembre	0.23±0.79	0.35±0.65	
promedio	0.39±0.21	0.33±0.07	0.36±0.045

E. Efecto de la actividad microbiana en clarificación y evaporación en ingenio Pantaleón

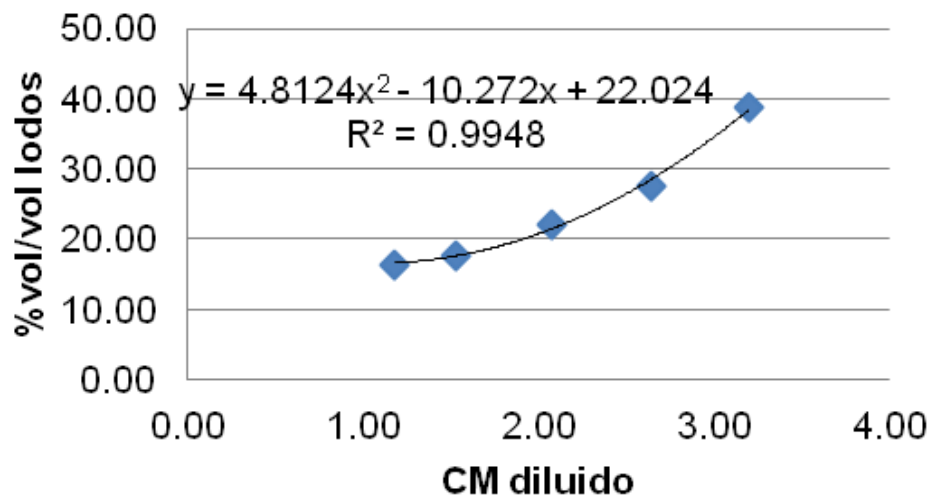
ECUACIÓN RELACIÓN PROMEDIO DE CAMBIO DE CM DE DILUIDO A SULFITADO EN EL PERIODO DE DICIEMBRE 2012 A FEBRERO 2013.

$$CM \text{ diluido} = 0.36 + CM \text{ sulfitado}$$

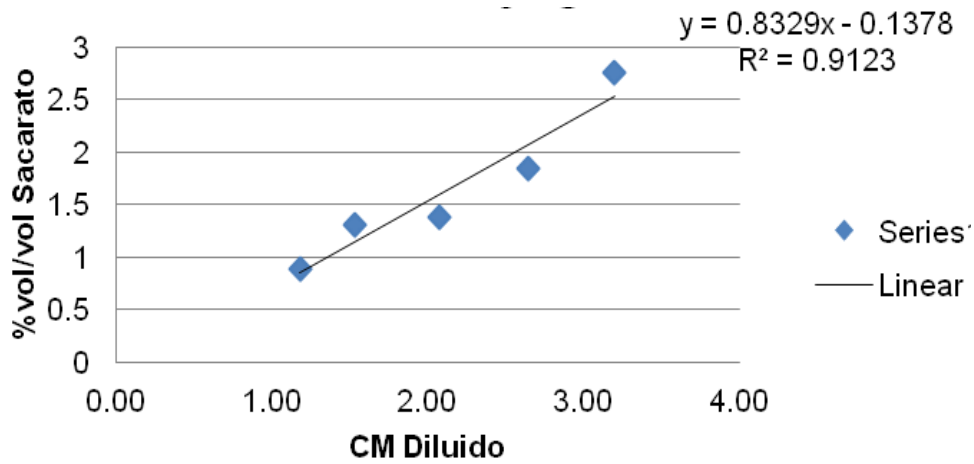
Gráfica 35. VELOCIDAD PORCENTUAL DE DEPOSICIÓN DE LODOS (%V/s)



Gráfica 36. RELACIÓN DE INCREMENTO EN EL PORCENTAJE DE LODOS DEBIDO AL INCREMENTO DE CM DILUIDO



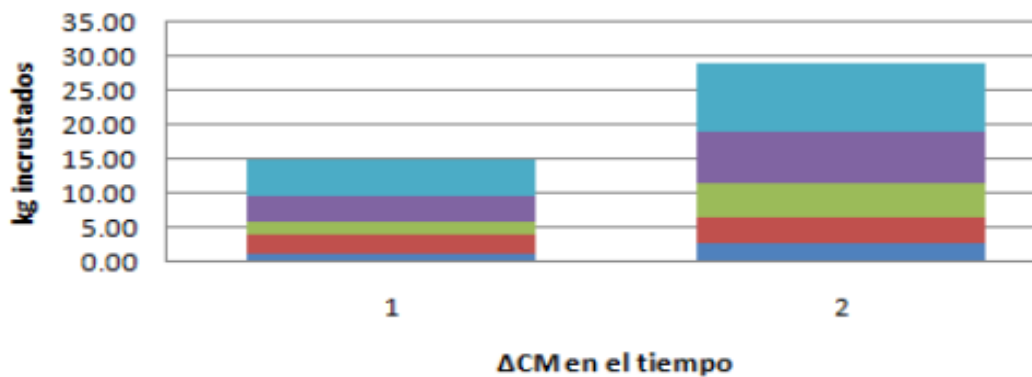
Gráfica 37. RELACIÓN DE INCREMENTO EN EL PORCENTAJE DE SACARATO PARA AJUSTAR EL PH DEBIDO AL INCREMENTO DE CM DILUIDO



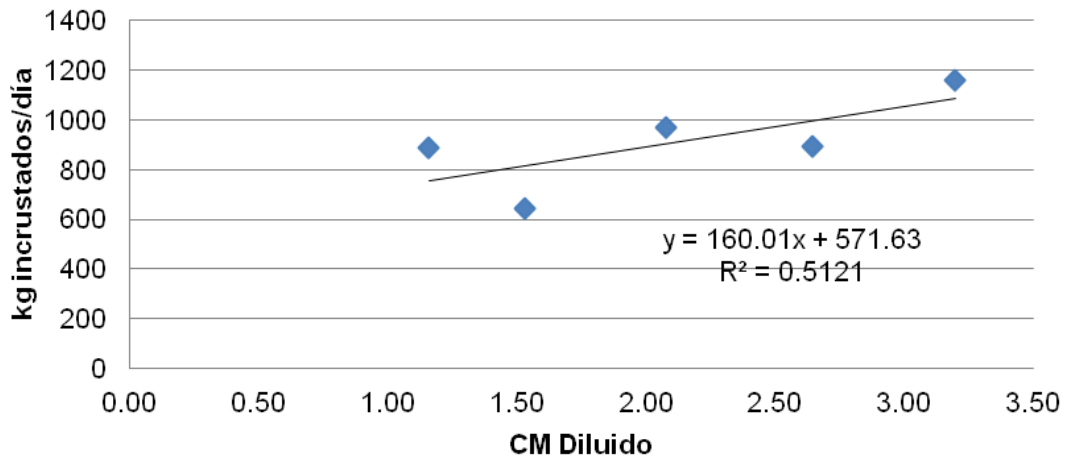
Cuadro 28. INCREMENTO EN EL FLUJO DE LODOS EN LOS CLARIFICADORES SRI DEBIDO A UN INCREMENTO DEL CM DEL JUGO DILUIDO

CM diluido	SRI 0.1514(m³/s)	SRI 0.1766(m³/s)
1.18	2.48	2.89
1.53	2.67	3.12
2.08	3.36	3.92
2.64	4.16	4.86
3.20	5.87	6.84

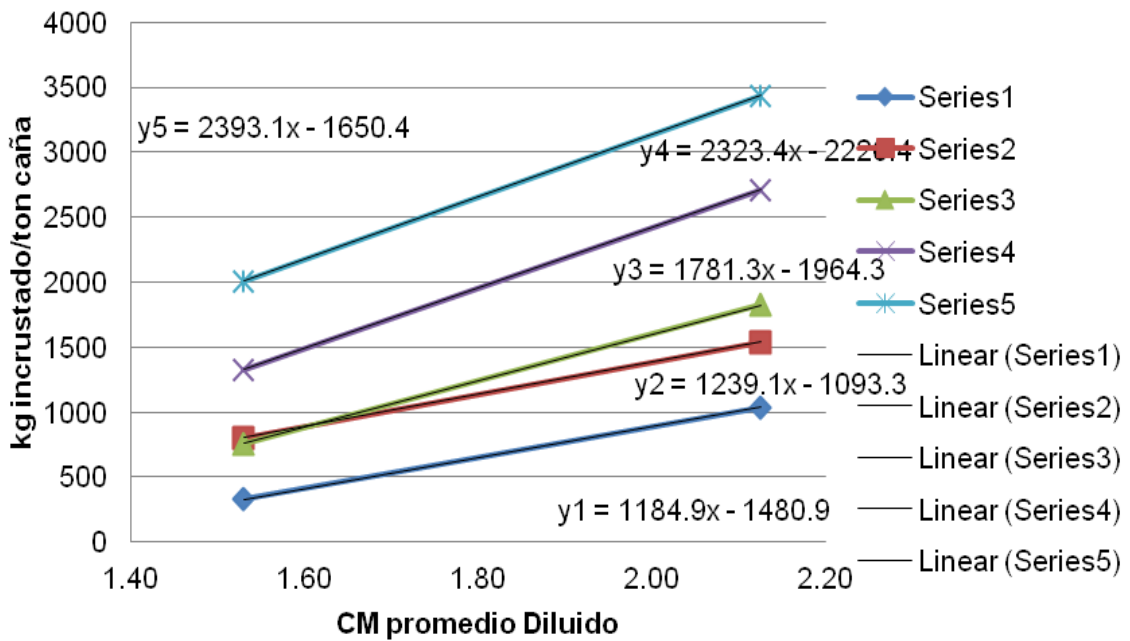
Gráfica 38. COMPARACIÓN DE KILOGRAMOS INCRUSTADOS EN LOS TUBOS DE LOS EVAPORADORES EN CADA EFECTO DEBIDO AL AUMENTO DE CM DEL JUGO DILUIDO



Gráfica 39. INCREMENTO DE LAS INCRUSTACIONES EN KILOGRAMOS POR DÍA EN LOS EVAPORADORES DEBIDO A UN INCREMENTO EN EL CM DEL JUGO DILUIDO.

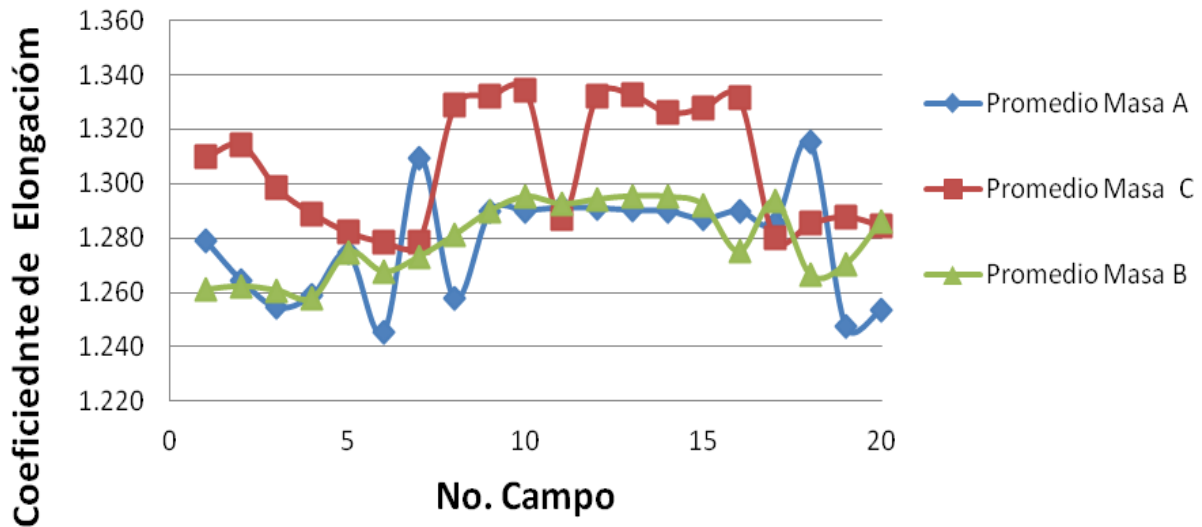


Gráfica 40. INCREMENTO DE LAS INCRUSTACIONES EN KILOGRAMOS POR DÍA PARA CADA EFECTO DEBIDO AL DECREMENTO DE CM DILUIDO

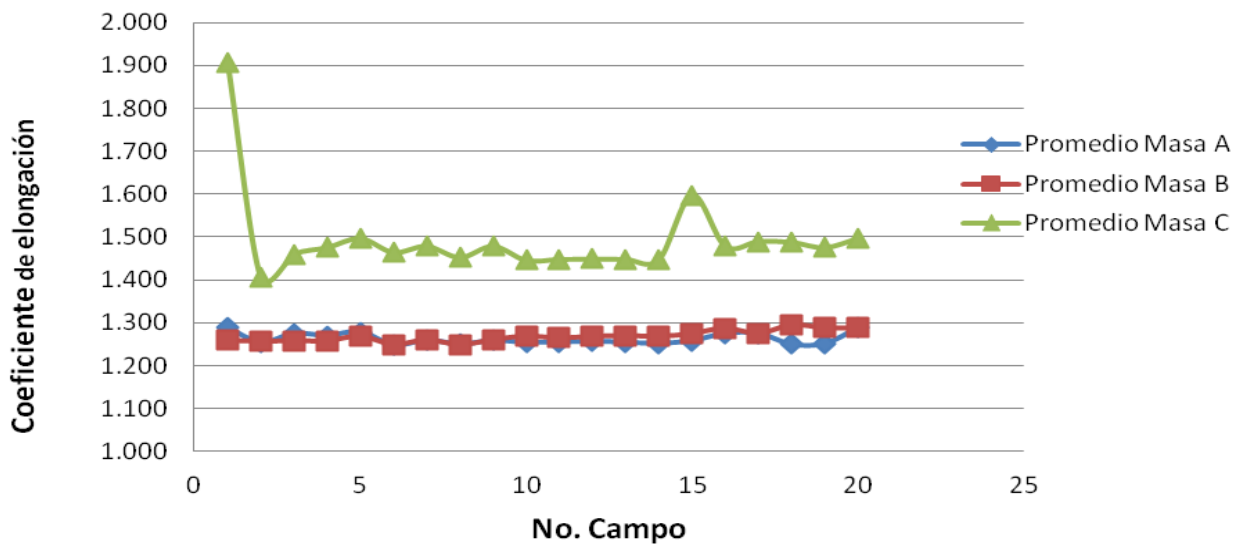


F. Diseño del método de elongación de cristales

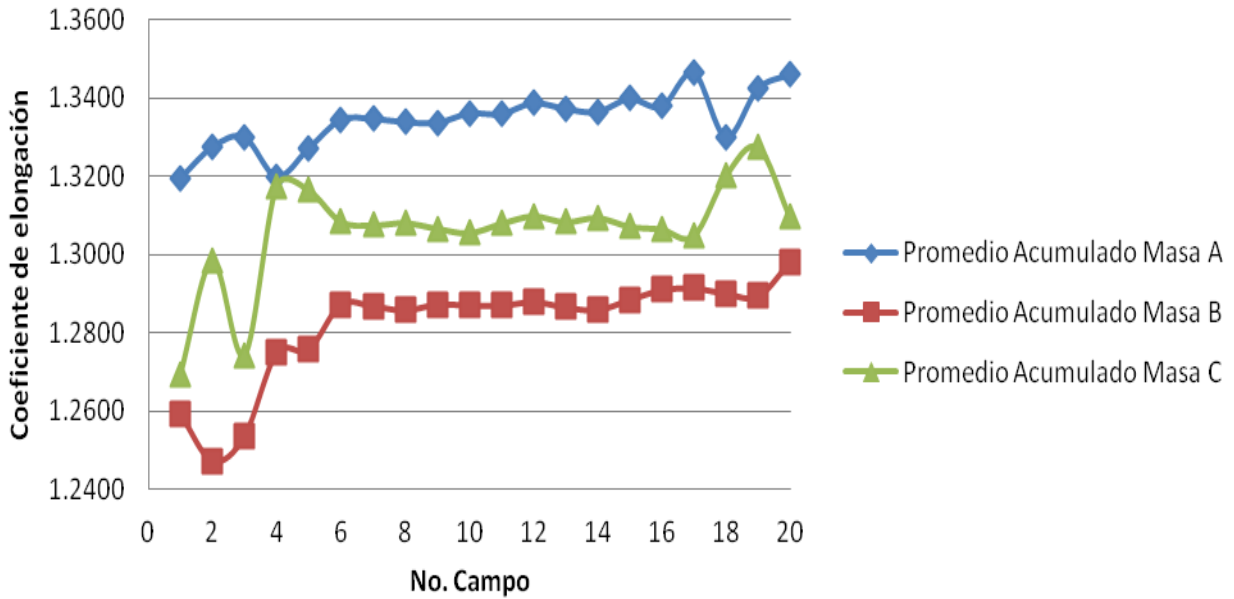
Gráfica 41. COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DEL PROMEDIO DE ELONGACIÓN DE CRISTALES PARA MUESTRAS DE MASAS A, B Y C DEL INGENIO SANTA ANA.



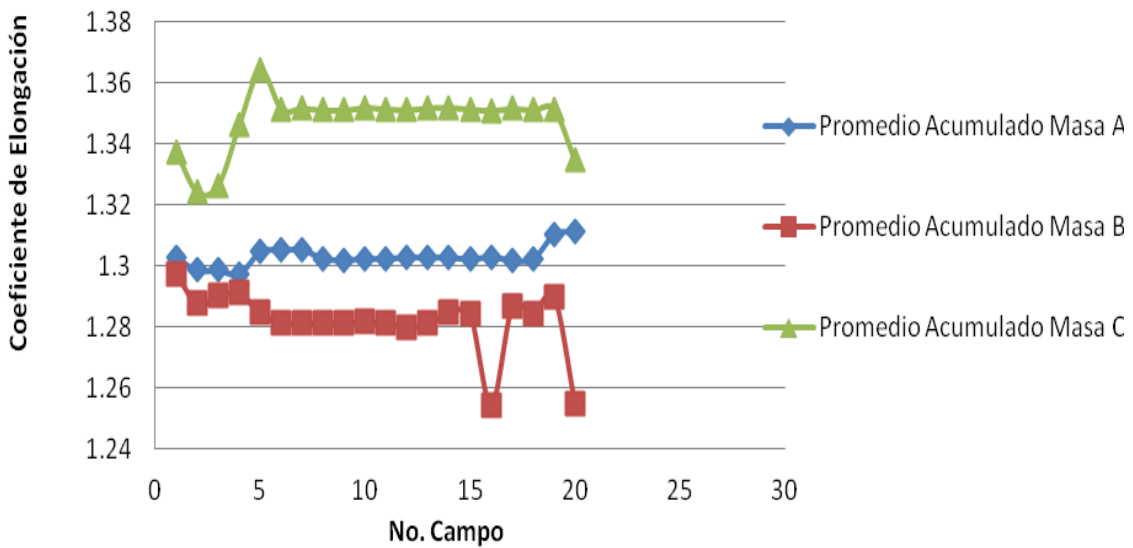
Gráfica 42. COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DEL PROMEDIO DE ELONGACIÓN DE CRISTALES PARA MUESTRAS DE MASAS A, B Y C DEL INGENIO PANTALEÓN.



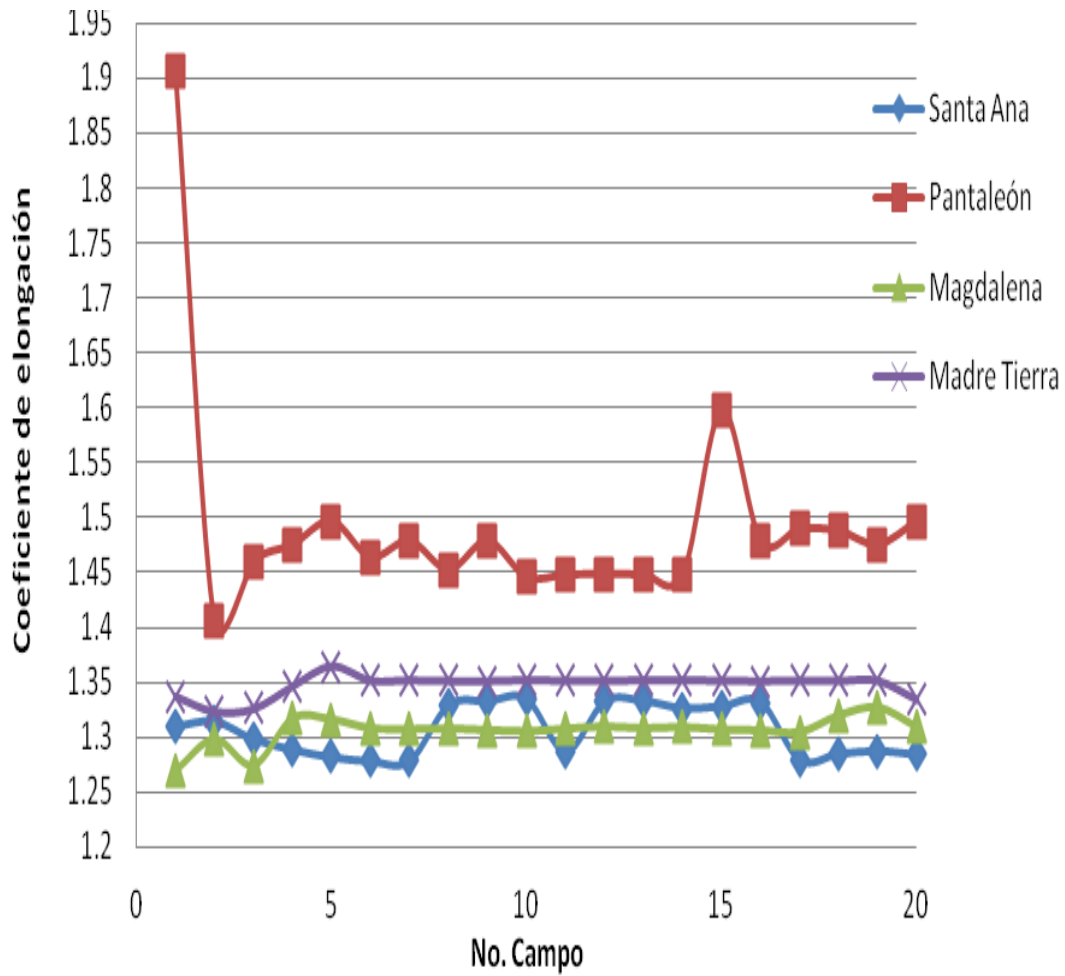
Gráfica 43. COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DEL PROMEDIO DE ELONGACIÓN DE CRISTALES PARA MUESTRAS DE MASAS A, B Y C DEL INGENIO MAGDALENA.



Gráfica 44. COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DEL PROMEDIO DE ELONGACIÓN DE CRISTALES PARA MUESTRAS DE MASAS A, B Y C DEL INGENIO MADRE TIERRA.

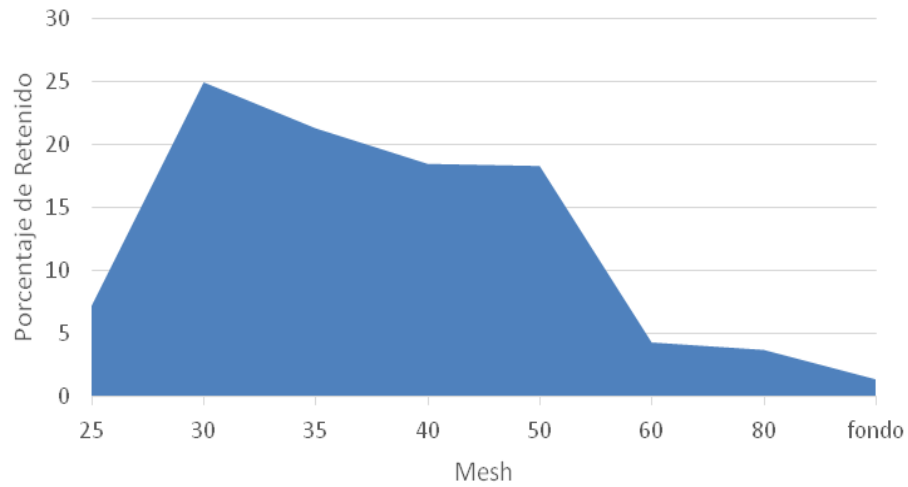


Gráfica 45. COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DEL PROMEDIO DE ELONGACIÓN DE CRISTALES PARA MUESTRAS DE MASAS C DE LOS INGENIOS SANTA ANA, PANTALEÓN, MAGDALENA Y MADRE TIERRA.

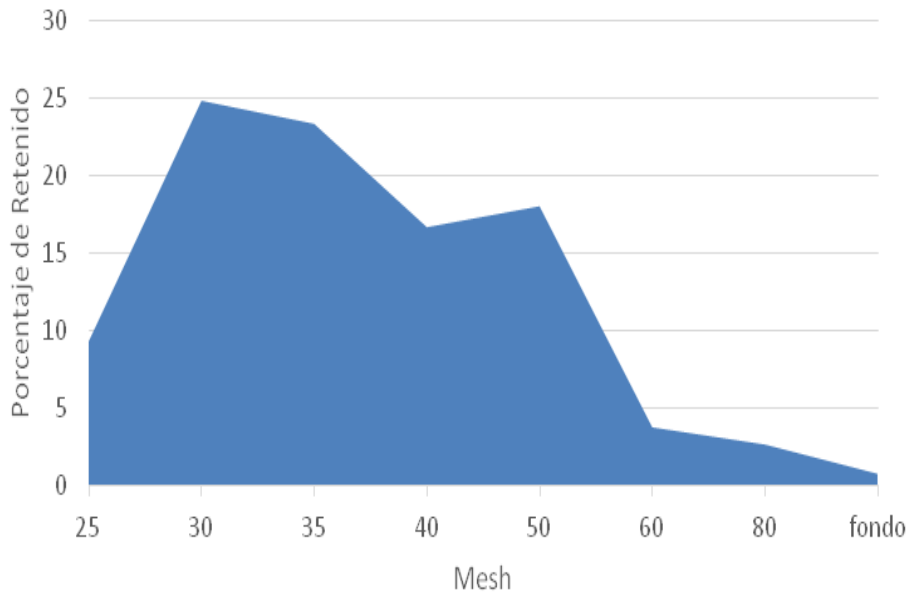


G. Aterronamiento en proceso finales en fábrica del ingenio concepción

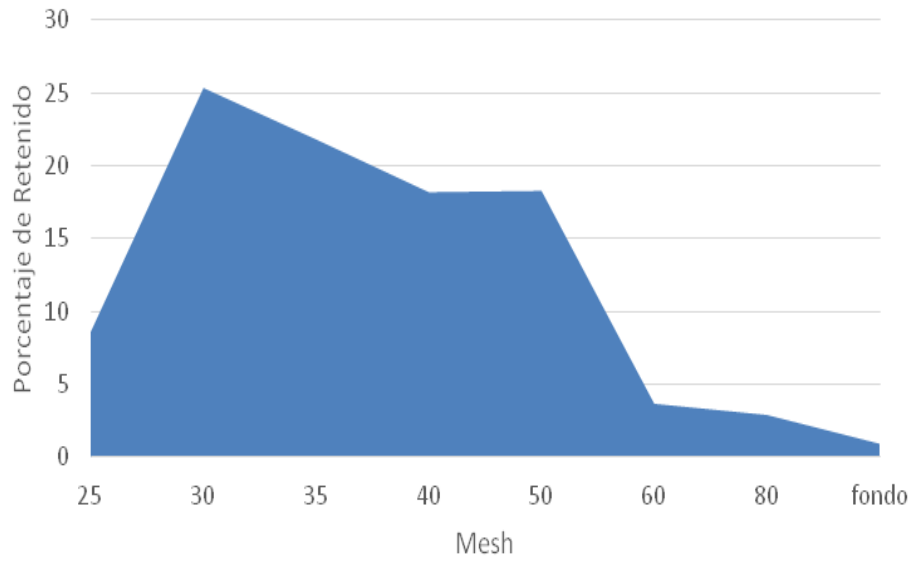
Gráfica 46. CARACTERIZACIÓN GRAVIMÉTRICO DE DISTRIBUCIÓN POR MESH DE AZÚCAR REFINO PARA TURNO 1



Gráfica 47. CARACTERIZACIÓN GRAVIMÉTRICO DE DISTRIBUCIÓN POR MESH DE AZÚCAR REFINO PARA TURNO 2



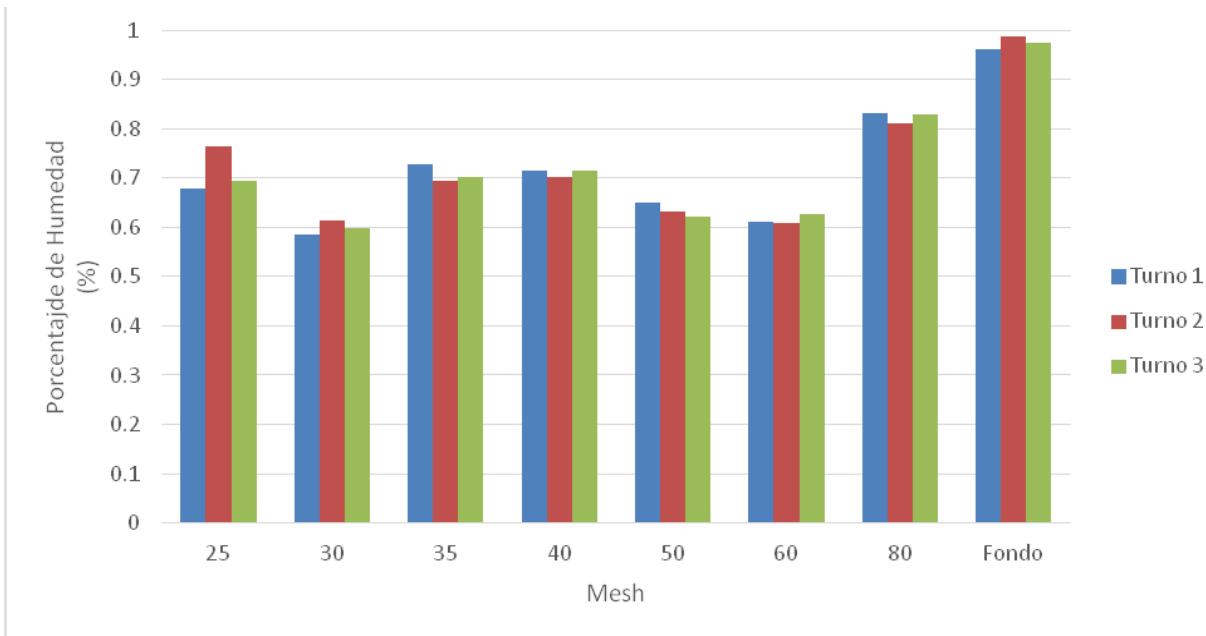
Gráfica 48. CARACTERIZACIÓN GRAVIMÉTRICO DE DISTRIBUCIÓN POR MESH DE AZÚCAR REFINO PARA TURNO 3



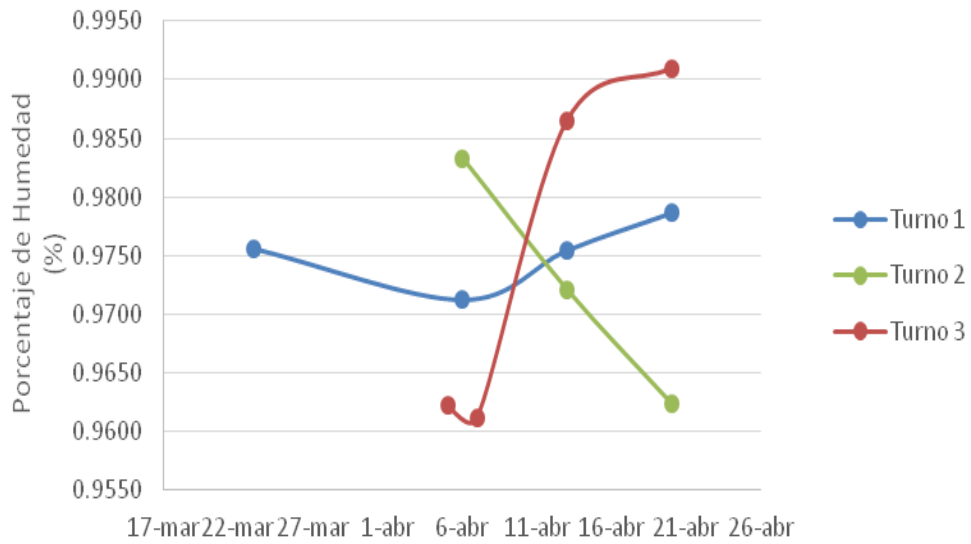
Cuadro 29. PORCENTAJE DE AZÚCAR REFINO FUERA DE ESPECIFICACIÓN GRAVIMÉTRICO

	Turno 1	Turno 2	Turno 3
Porcentaje de retenido fuera de aceptación. (%)	41.7	41.3	40.4

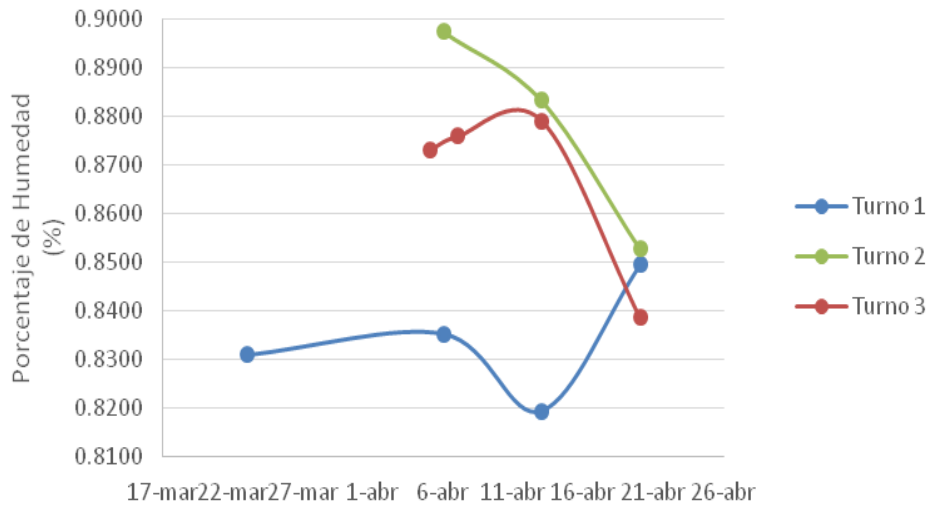
Gráfica 49. PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AZÚCAR REFINO POR MESH Y TURNO



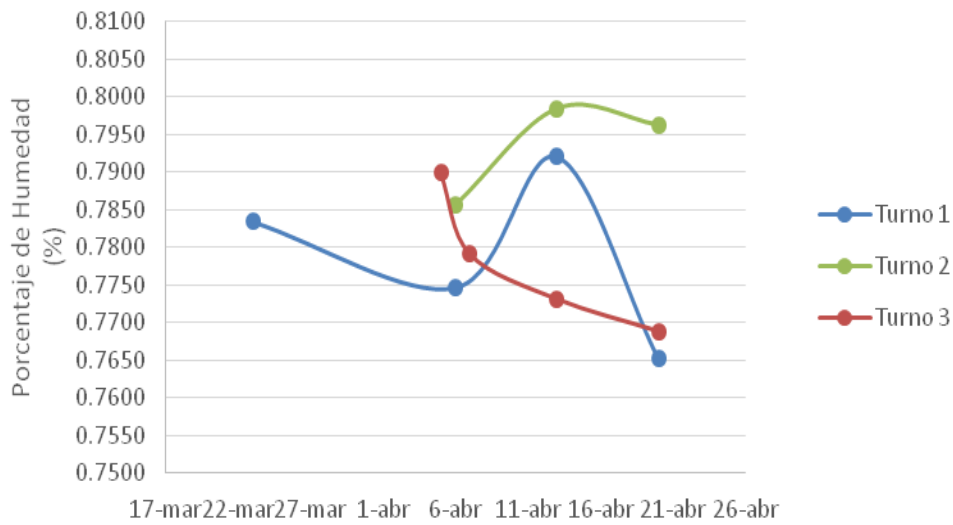
Gráfica 50. PROMEDIO DE PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AZÚCAR REFINO TOMADO EN EL PUNTO DE SALIDA DEL CENTRIFUGADOR



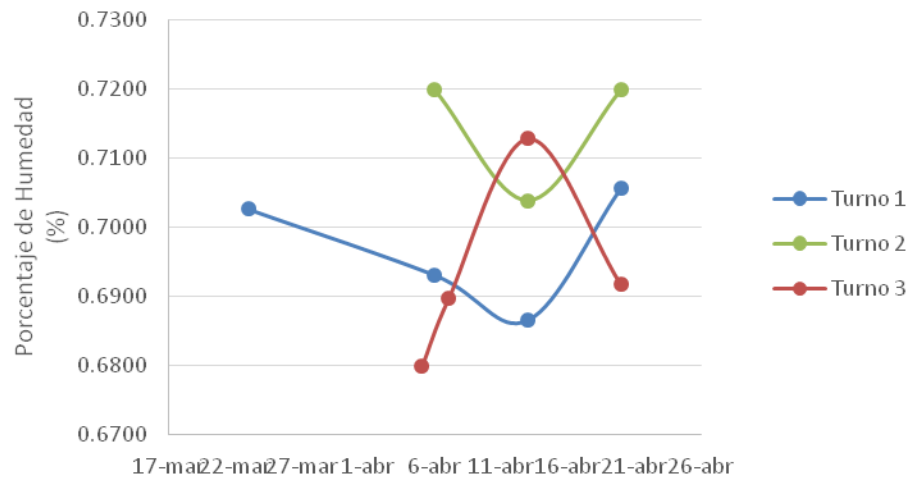
Gráfica 51. PROMEDIO DE PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AZÚCAR REFINO TOMADO EN EL PUNTO DE SALIDA DEL SECADOR



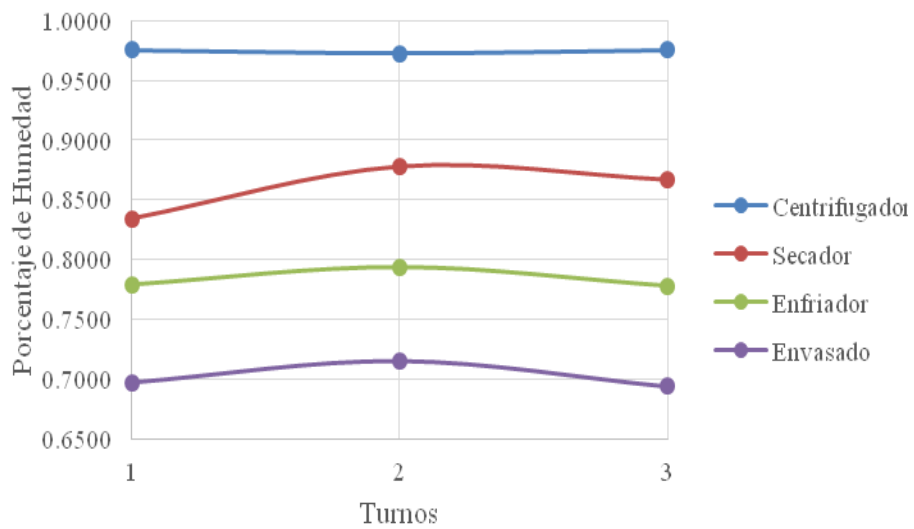
Gráfica 52. PROMEDIO DE PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AZÚCAR REFINO TOMADO EN EL PUNTO DE SALIDA DEL ENFRIADOR



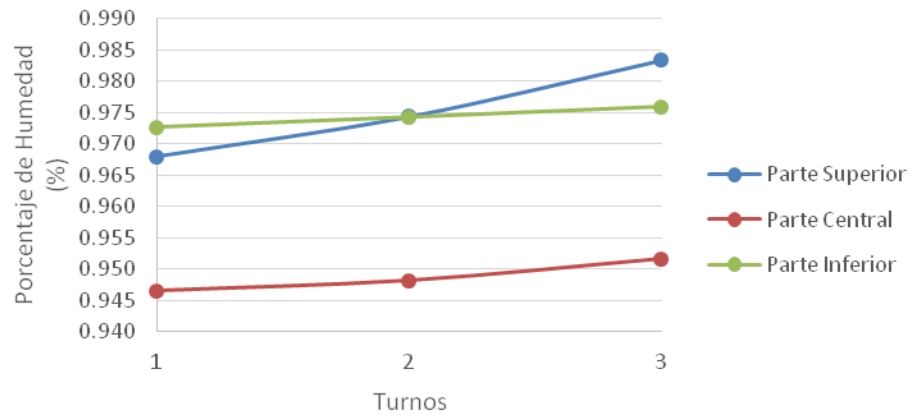
Gráfica 53. PROMEDIO DE PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AZÚCAR REFINO TOMANDO EN LA LLENADORA



Gráfica 54. PORCENTAJE DE HUMEDAD PARA CADA TURNO EN LOS CUATRO PUNTOS INDICATIVOS



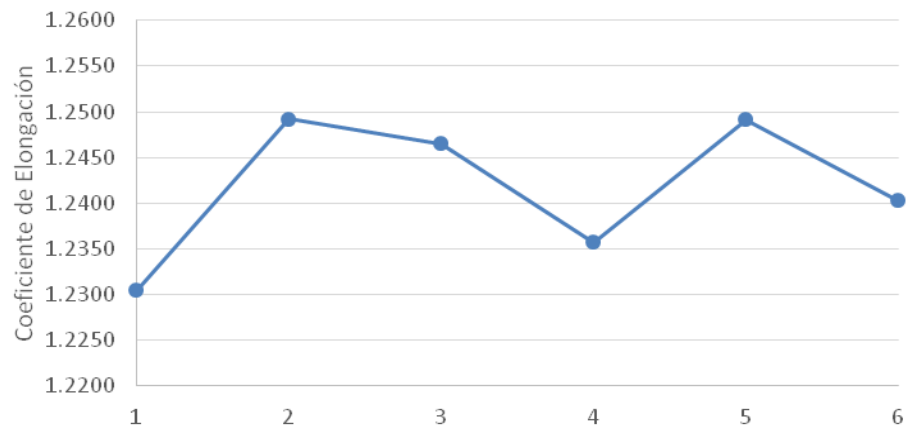
Gráfica 55. PROMEDIO DE PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AZÚCAR TOMADO DE SACOS EN DIFERENTES PUNTOS DE ESTIBA



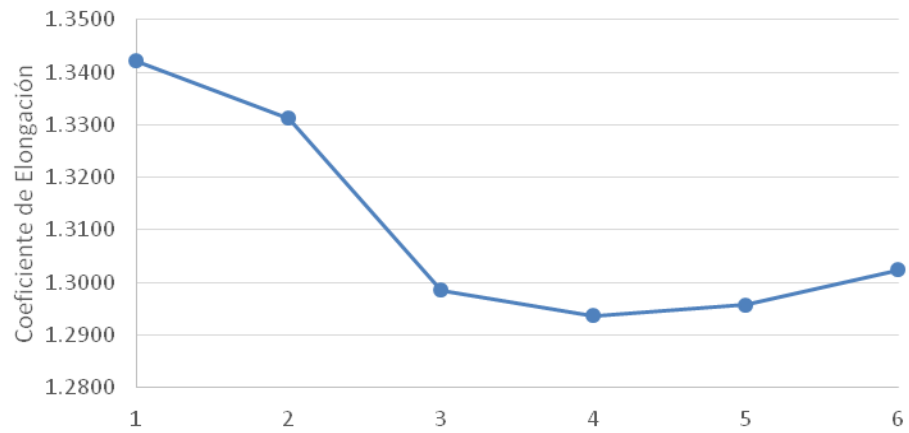
Cuadro 30. PROMEDIO DE TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA POR TURNO EN BODEGA DE ALMACENAMIENTO DE SACOS DE AZÚCAR REFINO

Turno	1	2	3
Parte Superior (°C)	35°	38°	32°
Parte Central (°C)	30°	34°	27°
Parte Inferior (°C)	28°	33°	25°
<u>HR (%)</u>	<u>66</u>	<u>53</u>	<u>83</u>

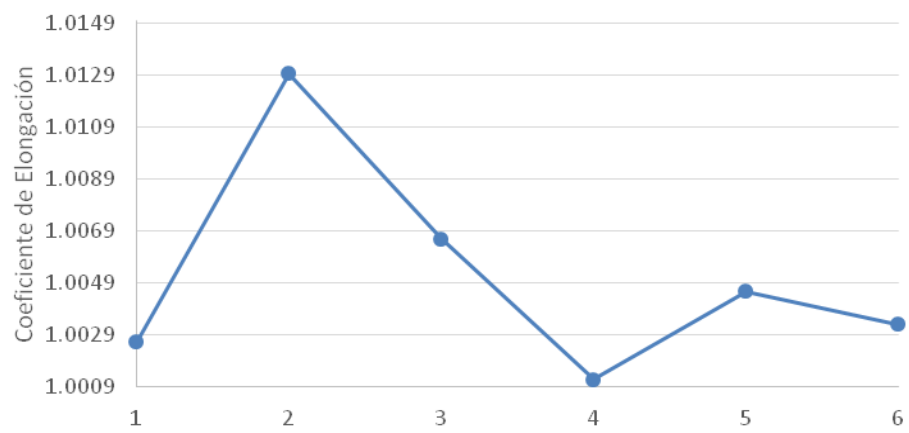
Gráfica 56. PROMEDIO DE COEFICIENTE DE ELONGACIÓN PARA TACHO 1 DE AZÚCAR CRUDO



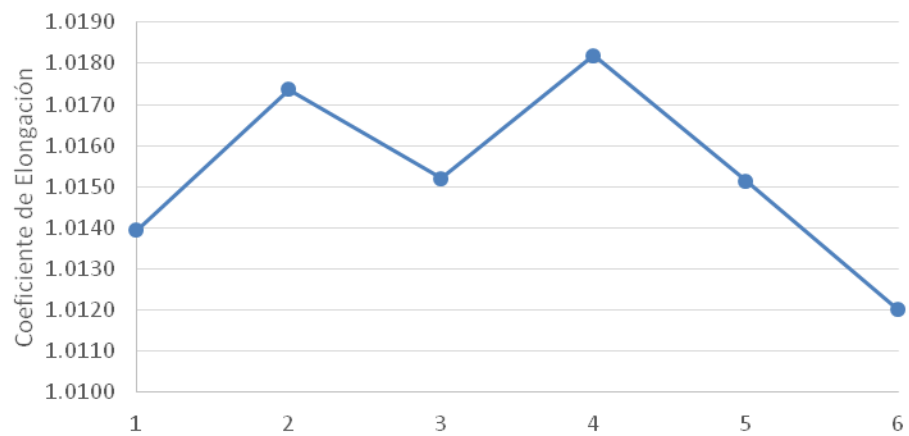
Gráfica 57. PROMEDIO DE COEFICIENTE DE ELONGACIÓN PARA TACHO 2 DE AZÚCAR CRUDO



Gráfica 58. PROMEDIO DE COEFICIENTE DE ELONGACIÓN PARA TACHO 1 DE AZÚCAR REFINO



Gráfica 59. PROMEDIO DE COEFICIENTE DE ELONGACIÓN PARA TACHO 2 DE AZÚCAR REFINO



H. Evaluación económica

1. Pérdidas de azúcar por sacarosa en cachaza. Los siguientes datos son todos durante la zafra 2012/2013 completa:

- Caña de azúcar molida = 4,727,902 toneladas
- Cachaza extraída = 4.35 toneladas por cada tonelada de caña molida
- Pol promedio en cachaza = 1.27
- Porcentaje de incremento de lodos = $1.07 \Delta CM + 1.60$
- Cachaza en lodos = 33.33%

(Martinez, 2013)

Por medio de las gráficas de sacarosa y resazurina (Sánchez, 2013) se llegó a dos ecuaciones lineares:

$$(i) CM = 0.51 t - 0.008$$

$$(ii) \Delta S = 0.19 t - 0.023$$

Donde:

- ✓ CM = Control microbiológico
- ✓ t = tiempo en horas
- ✓ ΔS = cambio en sacarosa

De esta forma se obtiene el cambio de sacarosa con diferentes aumentos de CM:

Gráfica 60. Cambio de sacarosa en el jugo mezclado

Aumento de CM	$\Delta S_2 - \Delta S_1$ (%)
0.5	0.2
0.1	0.04

Y se puede obtener cuántos kilogramos de sacarosa se pierden en el proceso de jugo mezclado a causa de los microorganismos.

Cuadro 31. Pérdidas en el Ingenio Pantaleón en el jugo mezclado a causa de los microorganismos

Aumento de CM	Pérdida de sacarosa en kg
0.5	0.03
0.1	0.01

Cuadro 32. Pérdida de sacarosa según el aumento de CM en el jugo mezclado

Aumento de CM	Pérdida de sacarosa (toneladas)	Pérdida en ingresos (Q.)	Ahorro potencial (Q.)
0.5	1,418.37	4,546,958.69	2,835,736.48
0.1	472.79	1,515,652.89	945,245.49

2. **Costo prueba resazurina.** El costo de hacer una de estas pruebas depende del ingenio ya que tienen precios distintos por kit de resazurina. En el Ingenio Pantaleón y Concepción pagan Q.1.05 por cada prueba, mientras que en el Ingenio Magdalena se paga Q.2.70 por kit.

Se utilizan:

- 5,000 kits de resazurina durante un mes
- Salario del laboratorista está en Q.3,000.00
- Otros gastos Q.2,000.00.

Resultando en:

- Ingenio Pantaleón y Magdalena tiene un costo mensual de Q.10,250.00
- Ingenio Magdalena tiene un costo mensual de Q.18,500.00.

3. Pérdidas de azúcar por aterronamiento en el azúcar refinado. Se obtuvo que el fenómeno del aterronamiento se da únicamente en el área de almacenando. Según todas las pruebas que se hicieron en el proceso de centrifugado, secado, enfriado y envasado, todas mostraron tener ausencia de aterronamiento de azúcar. En el área de almacenamiento fue en donde se encontró que el azúcar se empieza a aterronar. (Aycinena, 2013)

En concepción se produjeron 149,720 toneladas de azúcar durante toda la zafra y hubo un 0.1% de rechazo por el fenómeno del aterronamiento. Debido a esto, 149.72 toneladas se rechazaron durante toda la zafra 2012/2013 lo que equivale a Q. 479,966.70.

4. Identificación de procesos operativos por incremento de la actividad microbiológica. Se determinó que los procesos operativos que son afectados por el incremento de la actividad microbiológico son los siguientes:

- ✓ Proceso de clarificación: en el área de clarificación, sí existe un problema operativo ya que la cantidad de lodos dependerá de qué tan alto esté la actividad microbiológica de la caña de azúcar que entra. Si hay mucho lodo hay que parar la producción hasta que baje el nivel y se pueda seguir ingresando jugo de caña.
- ✓ Proceso de cristalización: en los tachos la alta actividad microbiológica causa mayor viscosidad, por lo que los tachos trabajan a menor velocidad y se atrasa el proceso de producción de caña de azúcar.
- ✓ A lo largo de todo el proceso de obtención de caña de azúcar: debido a la viscosidad, producto de la actividad económica, el flujo de fluidos a lo largo de todo el proceso de obtención de caña de azúcar se vuelve más lento y por ende se atrasa la producción.

VIII. DISCUSIÓN

A. Identificación de bacterias en jugo de ingenios

Como se observa en los cuadros 7 y 8, de las cepas aisladas y sometidas al proceso de amplificación de gen se lograron identificar en total 7 géneros y 5 especies. Lo más significativo de este resultado es que el lactobacilo dextranogénico encontrado en todos los casos y, por ende puede ser el más abundante, no es *Leuconostoc mesenteroides*, como han reportado la mayoría de los autores, sino *Weisella confusa***, bacteria de la misma familia Leuconostocaceae, que tiene la misma característica de producir dextrana. Estas cepas fueron aisladas del medio agar LEUCO. Esta especie en los últimos años ha sido objeto de diferentes estudios, en los cuales, ha sobresalido su capacidad para la formación de biofilms y de excreción de bacteriocinas inhibitoras de otras bacterias sin embargo parece que no ha sido reportada anteriormente en estudios en la industria azucarera (Marchal, *et. al*; Björkroth *et. al* 2006; Amari *et. al* 2012). En las fábricas azucareras se realiza un control mediante el recuento bacteriano en PCA sin embargo estos resultados sugieren que dicho medio no recupera lactobacilos dextranogénicos por lo que se desconoce si hay una correlación entre microbiota mesófila aerobia total y estas bacterias. Además utilizando únicamente PCA para recuento microbiológico también se eliminan aquellas bacterias que sean estrictamente anaeróbicas, entre otras. Por lo que utilizar únicamente el medio PCA para recuento bacteriano parece no ser lo más adecuado.

Las bacterias del género *Bacillus* y del grupo coliformes (*Klebsiella* y *Enterobacter***) han sido repetidamente incluidas en las relaciones descriptivas de la microbiota de los productos azucareros. El mayor número de bacterias identificadas pertenecen al género *Bacillus* lo cual era de esperarse debido a que comúnmente se pueden encontrarse en los suelos y tierra. La importancia de este género no se debe a que produzcan dextrana sino que tienen la capacidad de formar esporas lo que las hace resistentes a altas temperaturas y a agentes desinfectantes, dificultando su control no sólo en el área de molienda sino que también en los procesos posteriores. Además debe considerarse que *B. cereus*** y *B. subtilis* son consideradas contaminación en alimentos debido a su producción de toxinas por lo que podrían causar problemas en el producto final en fábrica. Se encontró un bacilo que es 100% genéticamente similar a dos especies *B. subtilis* y *B. amyloliquefacies*, esto se debe a en los años 40s se consideraban las misma especies, pero la segunda especie fue separada debido a su alta producción de amilasa –enzima que degrada almidón- en 1987. (Fergus, 1987).

El segundo género más abundante fue del grupo coliformes, esto puede deberse a contaminación desde la caña debido al agua que utilizan para regarla, la cual es principalmente extraída de ríos. La importancia de este género se debe a que existen especies dentro de él que son capaces de producir cápsula como *Klebsiella sp.*, la capsula puede inducir la formación de biofilms o “marinos” como son llamados comúnmente en la industria (Dzul et al. 2011). Los biofilms dan protección a las bacterias sin embargo causan problemas en fábrica debido a que quedan incrustados en los coladores de bagacillo, dificultando su mantenimiento (Villatoro, 2012). Para *Klebsiella* también se identificaron dos especies con la misma similitud genética, esto también se debe a que *K. variicola* fue separada de *K. pneumoniae* debido a que estas no fermentan adonitol (Roseblueth et al. 2004)

También se identificaron los géneros *Staphylococcus*, *Microbacterium* y *Pseudomonas*, del primero se puede mencionar que puede utilizar sacarosa como fuente de carbono (Kloos et al. 1976), del segundo su alta producción de ácidos por ser bacterias fermentadoras y del último su amplia capacidad de mutar que la hace muy resistente a los agentes bactericidas (Serrano, 2006).

1. Indicadores para medir la actividad microbiana. Para cumplir el objetivo de evaluación y optimización de la prueba de capacidad buffer, se llevaron a cabo la prueba tradicional (Hernández *et al*, 1986) con la prueba optimizada al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones. En la Figura 18, se observa la tendencia lineal de los resultados obtenidos con la prueba tradicional, detallada por la literatura (Hernández et al, 1986).

Se puede analizar que la diferencia de pH con el transcurso del tiempo fue disminuyendo, indicando que la capacidad buffer del jugo aumenta con el paso del tiempo; lo cual era lo esperado. Es decir, el cambio de pH disminuyó con el tiempo, por lo que si se aplica el principio observado en estos resultados a la ecuación matemática determinada por Skoog *et al* (2008), se observaría un aumento en la capacidad buffer al experimentar un número menor en el denominador. En cuando al enfoque bioquímico, conforme las bacterias obtiene su energía de la glucosa, se liberan ácidos débiles a distintas frecuencias y cantidades (Nelson *et al*, 2008). Dicho factor si posee un efecto sobre la capacidad buffer del de la dilución, en este caso el jugo de caña.

Se observa que el coeficiente de correlación es significativamente bajo, 0.44 aproximadamente, lo cual predice la confiabilidad de la prueba. Por otro lado, en la Figura 18, la cual representa la prueba optimizada, se observa la misma tendencia que la anterior, una disminución en la diferencia de pH con el paso del tiempo. Por lo que matemáticamente, se comprueba nuevamente que la capacidad buffer aumenta con el paso del tiempo (Skoog *et al*, 2008). Además, también se observa un coeficiente de correlación de 0.44 aproximadamente.

A pesar de no ser una prueba confiable para indicar actividad microbiológica, al igual que la tradicional, poseen el mismo coeficiente de correlación, 0.44. Esto influyó a determinar que la prueba optimizada cumple con el mismo propósito, a nivel estadístico, que la prueba tradicional; por lo que sí se considera apropiado establecer que la prueba mejoró su viabilidad. Esto se debe específicamente a que se utilizan menos recursos, en este caso volúmenes de muestra de jugo y solución base.

Para llevar a cabo un mejoramiento en la prueba de Fermentación espontánea (Hernández et al, 1986), se inició con observar los obstáculos que dicha prueba presentaba. El principal obstáculo era la utilización del equipo de HPLC. Dicha herramienta no está disponible en la mayoría de ingenios guatemaltecos y llevar a cabo una corrida cromatográfica representa una suma considerable de dinero. Además, también requiere de un personal capacitado capaz de maniobrar correctamente el equipo de realizar la interpretación de los resultados. El propósito de optimizar una prueba, también consiste en hacer viable ésta en la industria a ser aplicada. Por esta razón en particular, la prueba de Fermentación espontánea utilizando un equipo sofisticado, como HPLC, no era viable, eficiente y adecuada para ser implementada una industria de este tipo. Se consideró representar la prueba de Fermentación espontánea como un proceso de fermentación microbiológica, como lo dice su nombre, que lleva a cabo la liberación de ácidos débiles como producto final. Así, dicha prueba se realizó e implementó mediante determinar el cambio de pH con el paso del tiempo debido a la liberación de dichos ácidos. Con dicha modificación, es necesario únicamente un potenciómetro, siendo este de fácil acceso e interpretación. Por otro lado, luego de realizar una investigación preliminar de la prueba utilizando HPLC, se concluyó en reducir la prueba a 3 horas, cuando anteriormente eran 4 (resultados no mostrados). Esto, con la justificación que el cambio de la tercera hora a la cuarta era prácticamente insignificante o muy pequeño. Dicha reducción del tiempo de respuesta representa grandes ventajas para la obtención eficiente de resultados.

Para llevar a cabo la comparación entre los resultados de las pruebas de capacidad buffer y fermentación espontánea con las pruebas tradicionales, todas las pruebas fueron sometidas a un análisis bajo las mismas condiciones de trabajo. En estas condiciones se involucra: utilización del mismo jugo de caña, todas las mediciones se realizaron al mismo tiempo, se utilizaron las mismas soluciones de trabajo y se incubaron a 37°C durante el tiempo del análisis. En la Figura 20, se observan los resultados de la prueba tradicional de Pol; en dónde se estudió la pérdida de sacarosa, en porcentaje (sacarímetro), con el transcurso del tiempo. Se establece que la prueba no es eficiente ni confiable ya que los resultados fueron, en su mayoría, completamente incoherentes. Es evidente que no es posible bioquímica y biológicamente un aumento de la sacarosa con el paso del tiempo. Además, la consistencia

de los resultados está dividida; ya que tres de las soluciones se comportaron de una manera y las otras dos de otra manera. Estas últimas dos, solución con inóculo de LBDG concentrado y solución con inóculo de LBDG diluido, mostraron una tendencia parecida a lo que se esperaba, una disminución en el porcentaje de sacarosa con el transcurso del tiempo. Sin embargo, la disminución de sacarosa fue tan pequeña que se considera insignificante, por lo que ambas se observan prácticamente como líneas horizontales. Todos estos fenómenos se reflejaron en el rango de coeficiente de correlación, $0.11 < R^2 < 0.45$; por lo que se comprueba estadísticamente que la prueba no es confiable para medir o indicar actividad microbiológica.

En la Figura 21, se observa el análisis de prueba tradicional en donde se mide la pureza (%) del jugo en el transcurso del tiempo (pureza= Pol/grados Brix). En esta prueba se esperaba que la pureza disminuyera con el paso del tiempo. Al igual que la prueba anterior, los resultados fueron inconsistentes. Sin embargo, en esta figura sí se observa una tendencia de disminución de la pureza del jugo. Asimismo, es incoherente que la solución testigo haya presenciado una mayor disminución de sacarosa que la solución que contenía el inóculo concentrado con MT. Es evidente que los resultados de la pureza dependen de la Pol, por lo que los resultados incoherentes en la prueba de Pol se reflejaron en la pureza. El rango de coeficiente de correlación, $0.03 < R^2 < 0.48$, también denota una vez que la prueba no es confiable ni consistente como indicadores de actividad microbiológica.

Por otro lado, en la Figura 22, se midió la pérdida de sacarosa utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Dicha prueba se consideraba un parámetro de comparación y así poder evaluar, mediante éste método tan preciso, cada indicador. Previo al análisis, se creía que utilizando este equipo sofisticado sí se lograría detectar una disminución clara de la sacarosa y que los resultados serían consistentes. Al analizar esta figura, se observa que sí se observa una tendencia de disminución de sacarosa a grandes rasgos, excepto por la solución que contenía inóculo diluido de MT. Al estudiar detalladamente la gráfica, se observa que las soluciones con inóculos concentrados de LBDG sí se correlacionan y demuestran lo que se esperaba, que se consuma una mayor cantidad de sacarosa con el paso del tiempo en la muestra que contenía más inóculo (concentrado). Sin embargo, la muestra que contenía el inóculo diluido de MT (morada) presenta un comportamiento no esperado; sin embargo, dicho resultado, de observar un comportamiento de detección incoherente a la primera hora, se presentó y se observó en otras ocasiones durante la investigación. Probablemente, a la primera hora de análisis, pequeños oligosacáridos o fragmentos de éstos refuerzan la señal de la sacarosa. De esta manera, se reporta como un incremento de la sacarosa, sin embargo es evidente que esto no es posible que suceda. Además, el rango de coeficiente de correlación fue: $0.1 < R^2 < 0.5$. Dicho rango indica que la prueba no se puede considerar como confiable o recomendable. Es importante mencionar que la aplicación y utilización de

cromatografía líquida de alta resolución es complejo, costo económicamente y necesita de personal operativo para su utilización. De igual manera, cabe mencionar que parte de las fuentes de error pueden atribuirse al mal funcionamiento del equipo o incorrecta calibración de éste. Se recomienda realizar cambios analíticos en el programa del equipo de HPLC, como por ejemplo, la detección de otros fragmentos como pequeños oligosacáridos, para poder asegurar que lo que se está midiendo con el programa establecido sea solamente la sacarosa presente en la solución.

La prueba de determinar y cuantificar la dextrana viene siendo unas de las pruebas tradicionales llevadas a cabo por la industria azucarera. Cabe mencionar que, debido a la abundancia de bacterias dextranogénicas en el proceso de extracción de azúcar, esta prueba se ha considerado importante realizarse en la industria. En algunos ingenios se mide la dextrana mediante precipitar ésta utilizando alcoholes; por otro lado, en otros ingenios utilizan sistemas más sofisticados como HPLC para cuantificar la dextrana. Siendo la dextrana un producto particular de las bacterias dextranogénicas, al estudiar dicho producto solamente se estaría midiendo el efecto de estas bacterias en particular y no de la actividad microbiana total en la muestra. En este estudio, se utilizó la herramienta de HPLC para medir la dextrana (resultados no mostrados). Se llevó a la conclusión que esta prueba no es confiable ni cumple con el propósito de indicar la presencia de actividad microbiana. Esto debido que en el HPLC se detectan dextranas a pesos moleculares estándares, según sea la calibración utilizada en el equipo; y es evidente que muchas dextranas poseen diferentes pesos moleculares. De esta manera, no se están detectando todas las dextranas presentes en el jugo. Actualmente, no se ha logrado implementar una prueba más precisa para la detección de dextrana. Sería interesante, a futuro, el estudio de una prueba capaz de detectar la dextrana total presente en las muestras de jugo de caña.

En cuanto a la detección de azúcares reductores, específicamente glucosa y fructosa, se estudiaron la presencia de éstos mediante el equipo de HPLC y mediante la prueba volumétrica. En la mayoría de ingenios, principalmente los que no poseen acceso facilitado a un equipo como HPLC, utilizan una prueba volumétrica para detección de azúcares reductores utilizando ácidos como agentes de precipitación. Por otro lado, con el HPLC se utilizan estándares de calibración para detectar dichos azúcares. Cabe mencionar que el principio de esta prueba posee una base teórica incorrecta. Esto debido a que la presencia de azúcares reductores, glucosa y fructosa, en el jugo de caña solamente indica que se está llevando a cabo un paso intermedio en el metabolismo microbiano para adquirir energía (ATP). De esta manera, no es representativo y significativo tomar como indicador de actividad microbiana un producto intermediario del metabolismo. En los resultados obtenidos (no mostrados) se observó la presencia de azúcares reductores tanto por el método de cromatografía como por

el método volumétrico, que era evidente. Se observa un incremento de glucosa y fructosa principalmente a las cuatro horas de análisis. Esto probablemente se deba a que la sacarosa ya se había invertido, a glucosa y fructosa; sin embargo, no quiere decir que las bacterias hayan llevado a cabo el proceso de glucólisis para obtención de energía. Por lo tanto, la actividad microbiana no está representada en la presencia de ambos productos. De esta manera, no se consideran que los azúcares reductores son indicadores fiables para medir o indicar presencia de actividad microbiológica.

Luego que se analizaron todas las pruebas indicadoras tradicionales, se analizaron las pruebas experimentales bajo las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Estas fueron: fermentación espontánea, capacidad buffer y resazurina. En la Figura 23, se observa el estudio del comportamiento de la fermentación espontánea. Se analiza que sí existe una tendencia de disminución de pH con el paso del tiempo, lo cual era lo esperado. Sin embargo, se observa que las soluciones de trabajo estudiadas no se comportan como se predecía. Como por ejemplo, la solución que contenía un inóculo de LBDG concentrado demostró un leve incremento de pH en las primeras dos horas, lo cual no era de esperarse. Un fenómeno similar se observa en la solución que contenía un inóculo de LBDG diluido. Por otro lado, al observar el comportamiento de las soluciones de trabajo en la tercera y cuarta hora del análisis, algunas sí coinciden con lo esperado y se observa una tendencia de disminución. Se obtuvo un rango de coeficiente de correlación de $0.47 < R^2 < 0.81$. A pesar de los fenómenos mencionados, dicho rango de correlación representa una mayor confiabilidad en comparación en el resto de las pruebas. Esto se debe probablemente a que mediante determinar la disminución de pH, se puede correlacionar dicho factor con los ácidos orgánicos liberados por la utilización de la glucosa, componente de la sacarosa.

En cuanto a la prueba de Capacidad buffer, Figura 24, también se observa la tendencia esperada. Sin embargo, es evidente que se observan fenómenos parecidos del análisis de fermentación espontánea. Se toma como crédito observar que la solución testigo fue la que presenció un menor cambio en el pH y por lo tanto, al analizar dicho fenómeno con la ecuación de capacidad buffer derivada, se determina una mejor capacidad buffer. Por otro lado, la muestra con LBDG concentrado presentó un cambio de pH mucho mayor, representado un aumento en la capacidad buffer de mayor magnitud, que era lo esperado. Cabe mencionar que el resto de muestras se comportaron fuera de lo esperado, además, se el análisis se ve delimitado debido al comportamiento de estos. Dichos comportamientos se reflejaron en el rango de coeficiente de correlación, $0.2 < R^2 < 0.5$. En este caso, el rango de correlación se asimila a los rangos de las pruebas tradicionales; indicando fallas de la prueba que reflejan la fiabilidad de la prueba.

Finalmente, con la prueba de Resazurina sí se observó el comportamiento y los resultados esperados, Figura 25. Al analizar la figura se observa que sí posee la tendencia esperada, pérdida de sacarosa (eje y) con el paso del tiempo (eje x). Además, las soluciones de trabajo también concuerdan con lo esperado; como por ejemplo, la muestra testigo fue la que presentó menos pérdida de sacarosa y las soluciones con inóculo concentradas representan una mayor pérdida de sacarosa. Otro aspecto importante, es que las soluciones que estaban inoculadas con LBGD representan, en esta figura, una mayor pérdida de sacarosa, en comparación con las que tenían inóculo MT. Sin embargo, no es correcto establecer que las LBGD poseen un efecto mayor ante dicha pérdida, sino que se analizan las soluciones de LBDG y MT por separado. Además, el rango de R^2 concuerda correctamente con lo analizado anteriormente, $0.84 < R^2 < 0.93$. Se establece que esta prueba es la más indicada para determinar la presencia de actividad microbiana y se recomienda realizar otros estudios con diferentes poblaciones microbianas y a diferentes concentraciones para determinar la exactitud y viabilidad de la prueba.

2. Recuento de microorganismos en proceso

a. Bacterias mesófilas en tandems. Los resultados del recuento microbiológico en los 11 tandems estudiados se muestran en la gráfica 26. El recuento se reporta como logaritmo de la densidad microbiológica lo que significa que los recuentos obtenidos fluctúan entre magnitudes de 10^5 a 10^8 unidades formadoras de colonia.

Para el análisis estadístico del recuento bacteriano se realizó una prueba de varianza de una vía en la que se obtuvo el valor $P=0.64 > \alpha=0.05$, se utilizaron los valores no transformados para realizar la prueba a diferencia de los valores presentados en la Figura 1 que indican el logaritmo de UFC/ml. Esto significa que no existe una diferencia entre el número de unidades formadoras de colonias, indicando que la carga bacteriana entre cada tandem es similar. A pesar de ello es necesario considerar que por tratarse de sistemas microbiológicos algunas veces las pruebas estadísticas pueden ser o no representativas (Jarvis, 2008; Lennon 2011). Las diferencias entre poblaciones de millones de células bacterianas entre cada tandem si podría ser significativa pues la actividad microbiana aumenta significativamente debido a que en la industria azucarera se procesan hasta 10,000 toneladas de jugo mezclado por día en cada por tandem. Estos resultados se limitan debido a que fue un bajo número de muestras representativas, consecuentemente para lograr obtener datos más significativos es necesario aumentar el número de muestras tomadas por cada tandem durante toda la zafra, con esto se

lograría reducir el sesgo y se podría determinar si existe una diferencia o no entre los tándems del ingenio que no utilizan biocidas con lo que sí utilizan, como son los tándems C y D.

El hecho de que la carga bacteriana sea similar entre los tándems puede indicar que el uso del biocida no está teniendo un efecto positivo para el control microbiológico y que se logran los mismos resultados utilizando únicamente calor para la limpieza de los tándems. Esto podría implicar que utilizar biocidas no sea necesario y exista un ahorro para los ingenios. Para lograr tomar la decisión de dejar de utilizar los biocidas es necesario que los ingenios implementen técnicas de limpieza con calor y un control continuo de la carga microbiana en los jugos, además de seguir realizando estudios para determinar un sistema de control microbiológico que beneficie a los ingenios.

Por otro lado los tándems I y J tienen poblaciones bacterias más altas, existen factores como la forma y estructura de estos tándems que hacen que exista mayor retención de bagazo y que los jugos transcurran mayor tiempo en los molinos; éstas características podrían influir en la población bacteriana pues les proveen más tiempo para poder reproducirse e incrementar el número de células presentes en los jugos.

Otra observación interesante fue que todos los recuentos aumentaron hacia el final de la zafra (datos no mostrados), esto puede deberse a que las condiciones de campo han empezado a decaer con el inicio de la lluvia así como también la acumulación de caña en los patios de fábrica aumentando también el tiempo de retención.

b. Efectos de biocidas. Como se puede observar en la gráfica 28 se encontró diferentes susceptibilidades para las cepas aisladas diferenciadamente según el tipo de biocida. Es evidente que los productos químicos presentan una efectividad muy superior contra las bacterias aisladas y la disminución drástica de la susceptibilidad a menores concentraciones del biocida, resultando muy baja o nula en algunas cepas a la concentración de 1:100.

En las cepas aisladas es también evidente que el biocida a base de carbamato es superior al resto de los químicos, siguiéndole en ese orden la amina cuaternaria y el tiocianometiltio benzitiazol, povidone y ácido B-lúpulo. *S. sciuri* y *Microbacterium* sp. son las cepas más susceptibles. Las cepas del género *Bacillus* en general y *W. confusa* le siguen en la susceptibilidad.

Atendiendo a sus características tintoriales, aunque las bacterias Gram negativo aisladas e identificadas (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*) no son las más abundantes, son las más resistentes a los biocidas en uso. La poca susceptibilidad de las bacterias Gram

negativo era de esperarse por sus características morfológicas y fisiológicas, lo que indicaría - de confirmarse en estudios posteriores esta tendencia- la necesidad de buscar productos que sean efectivos contra este grupo.

Los resultados de susceptibilidad utilizando la microbiota mesófila total además de cada especie se representan en la Gráfica 28. De igual forma que con cada especie la susceptibilidad se reduce claramente y se anula en ocasiones a la concentración del 1:100 (Gráfica 29). Al mismo tiempo se puede observar en la Gráfica 30 que el biocida que tiene como agente activo el compuesto de carbamato es significativamente más efectivo que el resto, mientras que los que están compuestos por aminos cuaternarios, benzotiazol y povidone parecen tener el mismo efecto consecuentemente el del ácido B del extracto de lúpulo tiene menor efecto en la inhibición del crecimiento bacteriano.

Tomando en cuenta que los productos químicos más efectivos tienen severas restricciones en cuanto a la concentración en que pueden añadirse (por las normas alimenticias) mientras que los biológicos se pueden incrementar las dosis hasta los valores en que si puedan ser realmente eficaces, se sugiere que la industria piense seriamente en hacer el cambio requerido para reducir la actividad microbiológica en forma efectiva. Una forma de controlar la actividad microbiana podría ser aplicar mayores volúmenes a “shock” en los momentos y/o lugares en que se establezca necesario. Esto es mucho más significativo si los lactobacilos dextranogénicos como *W. confusa*, la más abundante y seguramente la más perjudicial de las cepas aisladas, es una de las más susceptibles a los biocidas de origen biológico.

Otra sugerencia de estos resultados aparece de la variación de susceptibilidad de cada cepa a cada biocida, lo que indicaría la necesidad de mantener monitoreos que indiquen a los ingenios el producto que es más conveniente aplicar de acuerdo a la identidad y severidad de los componentes de su microbiota. Es importante mencionar que estos resultados fueron obtenidos en escala de laboratorio y es necesario realizar pruebas a nivel industrial, donde existen factores que no pueden controlarse que pueden afectar y variar los resultados.

c. Termófilos, hongos y levaduras en tándems. En las Gráfica 31 se da a conocer el crecimiento que se obtuvo de la microbiota termófila en los tándems A y B. En estas gráficas se dan a conocer los tres ingenios trabajados Magdalena (MG), La Unión (U) y Santa Ana (SA). Para lograr determinar el crecimiento total de cada uno de los ingenios en los jugos mezclados se le calculó el logaritmo a las unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas, esto para obtener la distribución total en cada uno de los tándems.

Se logró notar que tanto en el tándem A como en el B, el Ingenio Magdalena fue el que dio una distribución más alta de microbiota termófila. Por su parte el Ingenio La Unión se puede notar que tiene una distribución mayor en el tándem B que en el tándem A, mientras que el Ingenio Santa Ana tiene un número mayor de UFC en el tándem A que en el B.

En la Gráfica 31 se realiza una comparación entre los tres tándems del Ingenio Magdalena, este demuestra que los tándems A y B tienen una distribución muy pareja, a comparación del tándem C.

La labor de los tándems es realizar la extracción de la sacarosa proveniente de la caña, en donde se exprime y se lava el colchón del bagazo. Existen microorganismos que permanecen en ciertos procesos debido a que logran sintetizar la sacarosa, es por ello que se pretendía obtener la presencia de microbiota termófila. Además de sintetizar la sacarosa, también existen factores que permiten la presencia de dichos microorganismos, tales como la temperatura, la cual en este proceso a pesar que es muy alta, no logra realizar la eliminación completa de estos microorganismos. En este caso los termófilos son microorganismos que logran soportar altas temperaturas.

Un factor que se debe tomar en cuenta es que en este proceso se pretende tener una mayor cantidad de microbiota presente, esto es debido a que el bagazo es procesado directamente de la caña por lo que este viene acompañado no solo de tierra sino que también de los posibles plaguicidas que pudieron ser utilizados durante el crecimiento de la caña.

Los datos del crecimiento de hongos miceliares obtenidos se dan a conocer en las Gráfica 31. En el caso de los hongos su crecimiento es diferente, ya que estos crecen en ambientes en donde la temperatura es ambiente o un ambiente húmedo. Es posible que al momento que los tándems procesan el bagacillo y el lavado del mismo se presente un ambiente húmedo o pueda que el área por el cual se tomaron las muestras se encuentren contaminadas de hongos.

Se puede notar que también existe una terdiversidad con los ingenios en cuanto a su distribución. En el tándem A el predominante continúa siendo el Ingenio Magdalena, seguido

por La Unión y por último Santa Ana. Sin embargo, en el tándem B las condiciones cambian y es el Ingenio La Unión la que prevalece. Se debe tomar en cuenta que los tándems son completamente independientes uno de otro, los jugos que estos procesan son agrupados luego para obtener el jugo mezclado final.

Pueda que los resultados obtenidos relacionados a los hongos, sea debido a que son particularmente microorganismos que se encuentran a una concentraciones elevadas. En el caso de la comparación entre los tándems A, B y C de Magdalena la diferencia en cuanto a la distribución de los hongos no es mucha, por lo que se puede determinar que los tres tándems se encuentran bajo las mismas condiciones (temperatura, humedad, presión osmótica, etc)

Según literatura citada de un ingenio de Colombia este demostró que se obtuvieron una mayor distribución de levaduras que de termófilos en los molinos. En este caso, se puede demostrar que esta tendencia no ocurrió a excepción del Ingenio Santa Ana en comparación con el tándem B, en donde se presenta una mayor distribución de levadura que de termófilo. Debido a este último dato no se puede descartar que se dé la posibilidad que la distribución de levaduras sea mayor, ya que en el caso del tándem A, la distribución de levaduras como de termófilos es muy parecida, ya que solo existe una diferencia mínima entre cada ingenio.

La presencia de levadura en los jugos mezclados es debido a que estos se dan en procesos en donde se tiende a tener una presión osmótica alta, además de ello se ve afectado, ya que en el primer molino recae directamente la caña, la cual ya trae una contaminación de estos microorganismos.

B. Caracterizar las etapas intermedias del proceso de producción de azúcar a través de los grupos de microorganismos de estudio

Las etapas intermedias del proceso de producción de azúcar son las mieles, la meladura, jugo sulfitado y el jugo claro. En estas etapas se logró determinar el crecimiento microbiano de los tres grupos en estudio. De estos se logró obtener como resultados que en todas las etapas no hubo presencia de levadura, tal y como se ha mencionado la levadura crece en procesos con una presión osmótica alta, ya que se encuentra a concentraciones altas.

En estas etapas es poco probable que haya levaduras, ya que han pasado por los diferentes procesos en los cuales factores como la temperatura y pH se ven involucrados a cambiar las condiciones, por lo que habrá microorganismos como las levaduras que se harán ausentes.

En cuanto a los termófilos y los hongos miceliales, los cuales si se hicieron presentes en estas etapas, a excepción de la meladura, vale recalcar que la distribución es totalmente diferente entre ellos. En estas etapas era fundamentalmente necesario saber si en la etapa de meladura y mieles aún existe presencia de microorganismos. Esto es debido a que la concentración de sólidos en estas etapas es ostensiblemente mayor, esto indicaría que la distribución de microorganismos debería de ser lo más mínima o nula, ya que estos son poco presenciales en medios sólidos, por lo que no logran soportar condiciones desfavorables para la mayoría de células. Debido a lo anterior mencionado era necesario conocer si aún persisten microorganismos termófilos, levaduras u hongos.

Según los resultados obtenidos, en la meladura no se obtuvo presencia de hongo miceliar, levadura y termófila, mientras que en las mieles (que la concentración sólida es menor), se obtuvo una distribución de hongo y termófila, pero vale recalcar que fue baja en comparación con las otras dos etapas.

En cuanto al jugo sulfitado y jugo claro, las cuales no son concentraciones sólidas, por lo que sí se pretendía obtener una microbiota, sin embargo, se notó que hay una mayor distribución en las soluciones que en el jugo claro. Lo anterior se puede deber a que el jugo claro es la obtención final antes de pasar a obtener las mieles, es decir, que es la última etapa en estado líquido y se ha visto expuesta a altas temperaturas, generando así la eliminación mayoritaria de microorganismos. A este punto del proceso se esperaría que los microorganismos estuvieran presentes pero en una distribución mucho menor.

d. Filtros de cachaza. Es importante mencionar que dicho análisis se realizó en los jugos procedentes de los filtros de cachaza de tres ingenios de Guatemala; estos son: Magdalena, Pantaleón y Concepción. El análisis de proporción LBDG: microbiota total se realizó en tres sitios de cada filtro, específicamente en el caso de Magdalena (12 filtros) y Pantaleón (6 filtros).

Los puntos de muestra, de cada filtro se dominaron: entrada, rebase (parte media) y trasero. La proporción LBDG: MT se analizó por separado en cada uno de los tres sitios del filtro. En el caso del Ingenio Concepción (4 filtros), se tomó una única muestra para el análisis, por lo que se asume que dicha muestra pertenece a la parte media o rebase del filtro. Cabe mencionar, que el propósito de estas figuras es describir qué es lo que sucede en el filtro específico y en los diferentes puntos del proceso de filtración.

En el Ingenio Concepción se analizó por separado en cada filtro para dicho único sitio. Esto debido a que la toma de muestras para este ingenio se realizó una única vez para cada filtro, y no de las secciones que componen éste, como en el caso de los otros dos ingenios. Al

observar la Figura 4, se observa una única barra en cada filtro, ya que como se mencionó anteriormente, solamente se analizó un único sitio del filtro. Es evidente que la proporción LBDG: MT en el filtro 4 es mucho mayor en comparación con los otros filtros determinando una presencia mayor de LBDG en comparación con el resto de la microbiota. De la misma manera, en el filtro 3 es en donde se detectó la menor cantidad de LBDG: MT. Probablemente, en el filtro 3 existe un factor significativo, como temperatura más elevada o adición de bactericidas, que beneficia considerablemente. Es importante mencionar que los filtros están colocados paralelamente, por lo que un filtro no tiene relación con el siguiente filtro. Lo contrario hubiera sido que los filtros estuvieran en serie o en tándem; en este caso si se relacionaría la proporción LBDG: MT según el paso del filtro. Esto debido a que, si estuvieran en tándem, lo que sale de un filtro entraría al siguiente filtro por lo que la carga microbiológica se vería relacionada de cierta manera.

En la Gráfica 32, se observa una fluctuación significativa de la presencia de LBDG, siempre en comparación la microbiota total. Analizando los resultados en ambas figuras, se observa que en algunos casos no se observa presencia de LBDG: MT, representado como la ausencia de la columna. Esto indica que no hubo presencia de LBDG en la muestra tomada particularmente en el tiempo específico. Por lo que no es correcto afirmar que no existe presencia de éstas bacterias, simplemente no fue posible la detección en la muestra tomada.

En la Gráfica 32, Ingenio Magdalena, se analiza que no existe una tendencia o patrón en la presencia de LBDG: MT. Sin embargo, se puede observar que en la mayoría de los filtros, específicamente 1, 2, 3, 8 y 10, en parte trasera es en la que existe una mayor presencia de LBDG. Se cree que esto sucede debido a que al pasar el jugo por el filtro, las bacterias poseen una ventaja de proliferación ya que transcurre más tiempo; y obviamente, dicho factor se observa en dicho punto del filtro (Serrano, 2006). Por otro lado, es evidentemente que en el filtro 2 la proporción LBDG: MT en la parte trasera es mucho mayor en comparación con el resto y lo mismo ocurre con el filtro 11 en la sección de rebalse. Dicha fluctuación se le atribuye, nuevamente, a las ventajas u oportunidades de la población de LBDG de una mayor proliferación en dicho punto. Particularmente, al observar una mayor proporción LBDG: MT en la parte de rebalse se le atribuye a que en esta sección del filtro ocurre una relativa acumulación de jugo, lo que influye directamente a la proliferación de LBDG.

Al observar la sección de entrada (color morado) se determina que la proporción LBDG: MT es menor en la mayoría de filtros, específicamente 1, 2, 3, 5, 9, 11 y 12. Incluso, en los filtros 4, 6, y 10 no se detectó, en esta muestra, presencia de LBDG. Esto ocurre debido a que probablemente el jugo que entra en los filtros proviene de un sistema en donde la temperatura es más elevada o se agregan bactericidas para controlar el crecimiento microbiológico, y dichos factores se reflejan en la parte superior del filtro. Además, también se analiza,

nuevamente, que dicho factor se puede atribuir a que en esta sección se lleva a cabo una menor acumulación de jugo, representando un mayor paso del jugo a través del filtro.

En la Gráfica 32, Ingenio Pantaleón, se analizan otros fenómenos importantes. Se observa, nuevamente, que en la sección de entrada la prevalencia de LBDG: MT es menor en la mayoría de filtros, específicamente 1, 2, 4 y 6. Sin embargo, se observó una mayor proporción de LBDG: MT en esta sección, entrada, en el filtro 3. Dicho incremento es significativamente mayor en comparación con el resto de filtros. Se puede atribuir dicho fenómeno a varios factores, como por ejemplo la incorrecta limpieza de este filtro en particular y la acumulación de jugo en este filtro por impedimento de un flujo de jugo adecuado. Por otro lado, en el filtro 1 se observa una proporción mucho mayor en la sección de rebalse que el resto de filtros y una proporción prácticamente nula en la sección de entrada. Probablemente en este filtro en particular y en el momento que se tomó la muestra, la acumulación de cachaza era mucho mayor que el resto; por lo que la acumulación repentina del jugo en la sección de rebalse ocasionó una mayor proliferación de LBDG.

Se realizó una prueba estadística, t-Student, para determinar si había diferencia significativa de LBDG: MT en los ingenios. En dicha prueba solamente fue posible analizar o comparar los ingenios de Magdalena y Pantaleón, ya que tenían tres muestras de cada filtro, representando así una mayor significancia de población. Al analizar el resultado, se obtuvo una $p=0.48$, lo cual representa que no existe una diferencia significativa de la prevalencia LBDG: MT en estos dos ingenios de Guatemala, tomando $p=0.05$.

Para llevar a cabo una comparación general sobre la presencia de bacterias dextranogénicas y bacterias no dextranogénicas (MT) en los filtros de cachaza del Ingenio Concepción, se graficaron los conteos microbianos obtenidos en cada filtro (Figura 32). Se observa que la presencia de bacterias dextranogénicas (LBDG) es mayor en el filtro 1 y el filtro 4; mientras que en el filtro 3 se detectó una menor densidad microbiológica. De esta manera, se puede decir que éste último, filtro 3, es el que posee menos actividad microbiana de bacterias dextranogénicas. Por otro lado, las bacterias no dextranogénicas, se observa un fenómeno contrario en el filtro 4; es decir, en este filtro, junto con el filtro 2, se presenta una menor actividad por parte de las MT. Luego, en el filtro 1 se observa la misma cantidad de actividad microbiológica. Esto se debe probablemente a que ambas poblaciones tuvieron oportunidad de proliferarse a mayor velocidad y densidad que en el resto de filtros.

En cuanto al Ingenio Magdalena, se asignó un valor ponderado a cada filtro según las UFC/ml detectadas. De esta manera, fue posible evaluar la severidad de los jugos y las poblaciones bacterianas, tanto LBDG como MT, en cada filtro. En la Gráfica 32, se observan las poblaciones de LBDG en cada filtro. Se determina que el filtro 11 es el que más actividad

por estas bacterias posee, y los filtros 9 y 4 son los que menor actividad microbiológica presentaron. Se realizó una prueba t para determinar si se presenta una diferencia significativa entre ambos filtros, filtro 11 y filtro 9. Se obtuvo una $p=0.057$, indicando que no existe una diferencia significativa entre ambos filtros. Así, indicando que a pesar de determinar una menor o mayor poblaciones de bacterias, dicha diferencia no es lo suficientemente significativa para determinar una mayor o menor población en el determinado filtro. Por otro lado, se detectaron las poblaciones microbianas de MT y se analiza que el filtro 12 es que posee mayor actividad de bacterias no dextranogénicas; mientras que el filtro 9 posee la menor actividad. Se analizó la prueba t en ambos filtros mencionados anteriormente y se determinó que tampoco existe una diferencia significativa, $p=0.050$. Al igual que el Cuadro 3, ambas probabilidades determinan que a pesar de determinar un mayor conteo de bacterias, no indica que sea una diferencia de densidad de bacterias en los filtros. Es evidente que no es posible asegurar qué filtro posee mayor actividad microbiológica en total, tanto LBDG como MT, debido a la fluctuación de conteo de poblaciones. Sin embargo, si es posible establecer que el filtro 9 es el que posee una menor actividad en total y es el que posee el jugo con mejor estado.

Analizando la Figura 32 se asignó nuevamente un valor ponderado a cada sitio o punto del filtro con el propósito de observar la actividad microbiana en estos y compararlos. En la Figura 33, se observa una mayor presencia de MT en la parte de entrada, mientras que el fenómeno opuesto se observa en la Figura 12, en cuanto a la presencia de LBDG. Asimismo, el fenómeno se repite en la sección de rebalse en donde la presencia de MT es menor en este sitio que la presencia de LBDG. Probablemente, tanto en el sitio de rebalse como el trasero, no hay una diferencia significativamente grande en la presencia de ambos tipos de poblaciones (LBDG y MT). Para comprobar dicha diferencia en ambas poblaciones de bacterias, se realizó la prueba t para comprar el sitio de entrada con el trasero tanto para bacterias LBDG como para MT. Las probabilidades $p=0.0049$ y $p=0.146$, respectivamente, determinan que en el caso de bacterias dextranogénicas la diferencia sí es significativa en los sitios, y para las bacterias no dextranogénicas la diferencia no es significativa. Estableciendo cada tipo de bacteria se comporta diferente tanto en los filtros como en los determinados sitios de éste. Sin embargo cabe mencionar que al observar y determinar un patrón de las poblaciones bacterias, mientras crece una determinada población, ya sea LBDG o MT, la población contraria disminuye. Esto indica que mientras una población bacteriana aumenta su actividad, la otra población disminuye ésta por factores de la convivencia entre ellas. Es por eso que la importancia de comprender cómo las bacterias viven y se desarrollan en un nicho ecológico es importante. Las bacterias dextranogénicas se caracterizan por sintetizar o secretar dextrana, lo cual puede considerarse como un factor evolutivo que le permite sobrevivir y prevalecer ante otra población microbiana. Además, estudios han demostrado que

bacterias dextranogénicas también poseen la capacidad de formar biofilm; siendo esto también una ventaja de proliferación (Leather y Cote, 2007) (Jiménez, 2005). Además, bacterias dextranogénicas, como *Weissella confusa*, poseen acción antimicrobiana por producción de bacteriocinas. Éstas también representan una ventaja evolutiva ante el resto de poblaciones bacterias, como las bacterias no dextranogénicas (Cock *et al*, 2010).

En cuanto al Ingenio Pantaleón, nuevamente se asignaron valores ponderados a cada filtro representando la población de bacterias, tanto LBDG como MT. En la Figura 13, se observa una mayor presencia de LBDG en el filtro 3 y una menor presencia de dichas bacterias en el filtro 1. Se determinó si existía una diferencia entre ambos filtros y se determinó que sí existe una diferencia significativa entre el filtro de mayor densidad y el de menor densidad bacteriana. Además el filtro 1, también es el que posee una menor presencia de MT; siendo éste el que está en mejor estado. Asimismo, se observa que el filtro 2 es el que posee una mayor presencia de MT. Al igual que en el análisis del Ingenio Magdalena, no se puede establecer en qué filtro específico es donde hay una mayor presencia de bacterias, tanto MT como LBDG; ya que al realizar la prueba t para ambos filtros (Cuadro 9) de terminó que no existe una diferencia significativa, $p=0.406$. Sin embargo, se establece que el filtro 1 es el que posee una menor densidad bacteriana y el que está en mejor estado. Por otro lado, se presentan los valores ponderados de cada sitio o punto de los filtros para determinar qué sitio de los filtros es el que retiene una mayor densidad de bacterias. Al comparar ambos los gráficos de 33, se observa el fenómeno analizado en el Ingenio Magdalena; es decir, mientras que la población de MT aumenta en densidad la población de LBDG disminuye. De esta manera, se determina que nuevamente se observa la tendencia en donde mientras una población de bacterias aumenta la otra disminuye en densidad en el sitio determinado. Dicho fenómenos se le atribuye una vez más a la ecología en el que las bacterias se desarrollan y sobreviven, ya sea favoreciendo la proliferación de LBDG o la de MT. Igualmente, se realizó una prueba t (Cuadro 8) para establecer las diferencias en poblaciones en los sitios y para las bacterias dextranogénicas se obtuvo un $p=0.001$ indicando una diferencia significativa en las poblaciones dextranogénicas. Por otro lado, se observa que no existe una diferencia significativa entre las poblaciones de bacterias no dextranogénicas en los sitios de los filtros; es decir, lo mismo que se detectó en el Ingenio Magdalena. Esto establece una vez más que cada población o tipo de bacteria se comporta de diferente forma en dicho proceso azucarero.

e. Termófilos, hongos y levaduras en filtros. Caracterizar los filtros de lodo de clarificación con los grupos de microorganismos de estudio y determinar si existe correlación con parámetros técnicos del proceso de producción

Se logró realizar la caracterización en el Ingenio Pantaleón, Magdalena y Concepción. Se debe mencionar que a los tres ingenios se les hizo el conteo microbiano en sus filtros, siendo para el Ingenio Pantaleón seis filtros, para Magdalena doce filtros y el Ingenio Concepción cuatro filtros. Por otra parte al Ingenio Pantaleón y Magdalena se les realizó un conteo microbiano en las tres partes correspondientes a los filtros siendo estas la parte delantera, rebalse y trasera.

Para la caracterización de cada uno de los filtros y de sus partes, se realizó una ponderación numérica, la cual consistió en realizar el conteo de UFC de los microorganismos en estudio, luego se tomó la microbiota total de cada parte y de cada filtro por ingenio. Al total obtenido se le dio una ponderación numérica y de esta manera se lograron obtener la distribución de cada microorganismo en los filtros y en sus partes.

En cuanto a la distribución de los microorganismos en las partes de los filtros, se espera que la distribución sea variable, ya que las temperaturas varían dependiendo de la ubicación (delantera, rebalse y trasera) la temperatura variará. La parte trasera del filtro es la que tiene la mayor temperatura, esto debido a que en esta parte se suele quedar sedimento estancado, por lo que la acumulación de microorganismos es alta. Por su parte en la parte delantera suele acumularse material, ya que este es la parte previa al rebalse, por lo que constantemente hay movimiento y se tiende a tener esta acumulación. Se debe mencionar que las muestras obtenidas de la parte trasera y delantera se encontraban dentro del filtro, sin embargo, la muestra obtenida de la parte del rebalse se encuentra fuera de él. Debido a lo anterior descrito la muestra de rebalse tiene otros factores involucrados, uno de ellos es que al momento que este sale, hay vapor saliendo por la parte de abajo por lo que tanto como la temperatura, presión y pH cambian y esto puede afectar, ya que las condiciones del medio en donde se encontraba con anterioridad cambian. Se debe mencionar que en estos filtros no hay uso de bactericidas.

Se puede notar en la Gráfica 33 que la parte trasera del filtro de Pantaleón es la parte con una mayor distribución de microorganismos, esto comprueba que debido a la sedimentación acumulada en esa área se obtendrá una más alta probabilidad de obtener microbiota. Esto mismo ocurre con el filtro de Magdalena, la parte trasera tiene una mayor distribución que la parte delantera y de rebalse. Sin embargo, en la parte delantera y rebalse ambos ingenios tiene una varianza, ya que hay una mayor distribución de microbiota termófila aerobia en el rebalse que en la parte delantera. Mientras que en el filtro de Magdalena, hay

una mayor distribución en la parte delantera que de rebalse. Esto se puede deber probablemente a la variación de las temperaturas, ya que es probable que la temperatura de la parte delantera del filtro de Pantaleón se encuentre a unos grados mayores que las partes del filtro de Magdalena.

Se realizó una ponderación para determinar qué parte del filtro es la más propensa a tener una distribución de microbiota mayor. Para ello se tomó las microbiota total de cada parte por filtro, y se determinó que parte del filtro es la que tiene una mayor microbiota. En este caso se puede notar que la más sobre saliente es la parte trasera la que tiene una mayor microbiota termófila, ya que este tiene un crecimiento mayor en comparación con los demás filtros. En el caso de Magdalena, no se pudo determinar que parte del filtro es el que tiene una mayor distribución, ya que en la gran mayoría hay presencia de microbiota. Lo que sí se puede denominar es que hay más presencia de microbiota termófila en Magdalena que en Pantaleón.

Así mismo se realizó una ponderación para determinar que filtro es el que posee una mayor concentración de microbiota. En el caso de Pantaleón se puede notar (Gráfica 11), que el filtro 3 es el que tiene una mayor microbiota termófila, en el caso de Magdalena no se logró determinar que filtro es el que tiene una mayor microbiota presente. Al igual que con las partes de los filtros, se puede mencionar que el Ingenio Magdalena tiene una mayor distribución microbiana debido a que sus ponderaciones son mayores que el Ingenio Pantaleón.

En el caso de los hongos miceliares si existe una gran diferencia entre los ingenios, ya que en el caso de Pantaleón la presencia de esta microbiota es mínima en las partes de los filtros, sin embargo, en el Ingenio Magdalena si se logró obtener presencia de hongo micelias, llevando a presentar una alta distribución. Lo anterior se deduce debido a que la parte de rebalse es la parte que contiene una mayor distribución de hongo, esto se puede deber a que al momento que sale el jugo por el rebalse, la humedad que existe en ese ambiente es mayor que el que puede haber dentro del filtro. Los hongos son de gran importancia, ya que estos necesitan un mayor tiempo para que crecer, por lo que no son muy activos en materiales líquidos, por lo que se supone que el material del filtro o posiblemente la acumulación de humedad (debido al vapor), provoquen el brote de esta microbiota.

En el caso del Ingenio Concepción únicamente se puede realizar la ponderación para determinar cuál es el filtro con mayor microbiota termófila, ya que al igual que Pantaleón se obtuvo una microbiota de hongo micelias casi nula. Los hongos miceliares y las levaduras son parte de la microbiota presente en los filtros de lodo, la diferencia la erradicará en las condiciones en las cuales estos se lleguen a encontrar los cuales son cambiantes debido a la temperatura, pH, unidad en donde es tomada la muestra, contaminantes, entre otros.

C. Comparar los resultados de caracterización en cada uno de las unidades y partes de los filtros de lodo de la microbiota termófila

Se realizó una comparación entre el Ingenio Pantaleón y Magdalena para determinar la condición de los filtros en cuanto al crecimiento microbiano. Para ello se realizó la misma ponderación y se compararon los resultados obtenidos de la microbiota total de cada una de las partes de los filtros. Esto se da a conocer en la gráfica 33, en donde se puede notar que el Ingenio Magdalena tiene una mayor microbiota en los filtros en la parte delantera y trasera, a comparación del rebalse que el Ingenio Pantaleón parece tener una mayor distribución microbiana.

La diferencia en la parte de rebalse se puede debe al cambio de presión y temperatura que tiene el jugo al salir del mismo, ya que como se había mencionado esta área se encuentra fuera del filtro, además de ser influenciado por el vapor que sale por la parte baja. Se debe recordar que los termófilos pueden sostenerse a una temperatura de 55°C, por lo que la temperatura en este punto es de suma importancia.

De los termófilos encontrados gram negativos y gram positivos, en algunas de las tinciones realizadas se logró observar la formación de esporas, la presencia de esta microbiota general una gran pérdida de sacarosa, estos a su vez pueden degradar los carbohidratos por lo que esto explica su comportamiento en los jugos evaluados con anterioridad. En el caso de los hongos miceliares, se lograron observar por medio de la tinciones hifas e hifas septadas, algunas de las cuales también se encontraban esporulando.

Se pudo determinar que la presencia de microbiota termófila es mucho mayor que la levadura y los hongos miceliares en todos los ingenios, por ende éste se destaca por ser el microorganismo con mayor distribución en los procesos intermedios luego de los mesófilos y los dextrógenos.

D. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico de la comparación de los microorganismos en estudio presentes en los Ingenios Magdalena, la Unión y Santa en el proceso de los tándems (Gráfica No. 20) y se presentó de manera gráfica. Se puede notar que de los tres microorganismos el que tiene una mayor prevalencia son las levaduras, seguido por los termófilos y por último el hongo, por lo que esto respalda los resultados obtenidos en los tándems (Gráfica No.10) en donde se resalta que la levadura a pesar que no se encuentra en todos los tándems por encima de los termófilos si están en su mayoría, y aún más presente en el tándem B del Ingenio Santa Ana.

Así mismo se realizó un análisis estadístico de la comparación entre ingenios de la microbiota termófila aerobia presente en los filtros de lodo (Gráfica No. 21), así como las partes por las cuales estos están compuestos que son delantero, rebalse y trasero (Gráfica No.22). En el caso de los filtros de cachaza se puede hacer referencia que el ingenio Magdalena es el ingenio con más prevalencia, seguido por Pantaleón y por último Concepción. Esto demuestra que la diferencia si es bastante significativa entre ingenios siendo esta entre los ingenios Magdalena y Pantaleón un aproximado de 70% de diferencia y entre los ingenios Pantaleón y Concepción un aproximado del 13% de prevalencia de este microorganismo.

De la misma manera ocurre al comparar las partes de los filtros de cachaza en donde el Ingenio Magdalena tiene un aproximado de un 80% más de prevalencia de la termófila sobre el Ingenio Pantaleón por lo que esto respalda los resultados obtenidos en la Gráfica 19.

E. Estudio de la actividad microbiana de los filtros desde el punto de vista tecnológico

1. Sectorización y monitorear sobre la incidencia de actividad microbiológica en puntos críticos de los filtros de cachaza del ingenio Pantaleón. El levantamiento del área de tratamiento de lodos se llevó a cabo realizando varias visitas al lugar, el ingenio Pantaleón cuenta con 6 filtros rotatorios de vacío, que succionan el jugo de los lodos provenientes de los clarificadores.

Existen dos tipos de filtro de vacío, del 1 al 5 cuenta con la alimentación por la parte lateral de la bandeja y la descarga por la parte frontal de la bandeja, a excepción del filtro 6 el cual se alimenta por la parte trasera y tiene el rebalse por la parte frontal, es decir del filtro 1 al

5 se alimentan por un costado y sale por la parte frontal, mientras que el 6to se alimenta en la parte trasera y sale por la parte frontal.

Los seis filtros son alimentados por un tanque de distribución que se divide en secciones donde se juntan los lodos de los cinco clarificadores que se mezclan con bagazo y cal para dar consistencia. Los filtros de vacío son alimentados constantemente por lo que el exceso que no puede ser absorbido se rebalsa y se conduce hacia un tanque de recirculación donde se juntan los rebalses de los seis filtros; luego el lodo del tanque de recirculación se bombea hacia el tanque común de alimentación.

El jugo succionado por el vacío de alta presión y de baja presión se dirige hacia un tanque, para luego ser introducido de nuevo al proceso azucarero, el jugo se envía hacia el tanque de sulfitado y alcalizado.

a. Generalidades. Considerando los factores de temperatura, fermentación espontánea y test de resazurinaque afectan al desarrollo microbiano, se ordenaron los filtros con respecto a la parte trasera como se observa en la Cuadro No. 15 de la sección de resultados.

Para analizar el filtro más afectado por los factores y los indicadores, se conformaron valores entre un rango de 0 a 4 puntos para el factor de la temperatura y para los indicadores, con una distribución de la siguiente forma: 4 puntos para el primer lugar, 3 puntos para el segundo lugar, 2 puntos para el tercer lugar, 1 punto para el cuarto lugar y 0 puntos para el quinto lugar, esto se puede observar en la Gráfica 36 y Cuadro No. 16 en las página29.

b. Temperaturas del área de tratamiento de lodos. En la Cuadro No. 9 se muestra la temperatura promedio de los lodos de cada filtro para los puntos críticos, se puede observar que la temperatura varia de punto a punto, esto se debe al diseño de los filtros y a el tiempo de residencia del lodo dentro del filtro. Si se ordena desde el filtro con menor temperatura en la parte delantera se obtiene filtro 3< filtro 2< filtro4<filtro6<filtro5, no se cuentan con las temperaturas del filtro 1 ya que este se mantuvo fuera de servicio durante el tiempo de análisis.

Si se ordena desde el filtro con menor temperatura en la parte trasera se obtiene filtro 4< filtro 2< filtro3<filtro6<filtro5. Que sugiere un ligero cambio en el comportamiento de las temperaturas del filtro 3 y 4 esto puede deberse ya que como se indica en la Cuadro No. 10 en la sección de resultados el agua condensada cae de la parte superior directo al filtro pudiendo reducir la temperatura del mismo.

Comparando estas temperaturas con Castellanos, 2012 (datos en Cuadro No 5 y cuadros 35 al 37) las temperaturas delanteras de los filtros 2 a 5 disminuyeron y la del 6 aumento para las partes traseras hubo un aumento de los filtros 2,3,5 y 6 mientras que el 4to disminuyo, esto puede deberse al rebalse del filtro 4 que se encontraba estancado y era un punto muerto, como se observa en la Cuadro No. 13, este punto muerto por su bajo pH y baja temperatura puede afectar al resto del filtro, ya que en este rebalse se pudo haber incrementado la actividad microbiológica y afectado al resto del filtro.

c. Fermentación espontánea. En la Cuadro No 12. se muestran las caídas promedio de pH a las 4 horas de incubación debido a la actividad microbiológica, si se ordena desde el filtro de mayor a menor caída de pH en la parte delantera se obtiene filtro 5 > filtro 6 > filtro 2 = filtro 3 > filtro 4 y para la parte trasera filtro 4 > filtro 2 > filtro 3 > filtro 6 > filtro 5, la parte delantera no concuerda con las temperaturas registradas y puede estar ligada a la disminución de la temperatura comparada con Castellanos, 2012 datos en Cuadro No 11 y cuadros 35 al 37 y esto puede deberse a factores que no se lograron medir como el tiempo de residencia en cada filtro o puntos muertos que no se hayan detectado, en la gráfica No.34 puede observarse este comportamiento.

Basado en los resultados de (Castellanos, 2012) no se tomó en cuenta la salida de los clarificadores ya que estos cuentan con un alta temperatura y debido a la elevada temperatura de la entrada promedio a cada filtro no se tomó en cuenta para esta prueba, ya que a esas temperaturas existe nula o poca actividad microbiológica.

Como puede verse en la Gráfica No. 35 a partir de una temperatura superior a los 58 °C la caída de pH deja de ser representativa, ya que a estas temperaturas se inhibe o reduce la actividad microbiológica, esto concuerda con los resultados de Castellanos (2012).

d. Test de Resazurina. Con lo referente al test de la resazurina se realizó a dos temperaturas diferentes a 37°C y a 55°C como se observa en la Cuadro No. 14 de resultados hay una mayor actividad registrada a la temperatura de 37°C y realizar el test de la resazurina a esta temperatura puede generar un falso positivo ya que a esta temperatura los mesófilos se reactivan y continúan interactuando con los termófilos haciendo creer que existe mayor actividad que la que en realidad existe en el filtro. A temperatura de 55°C si se organizan los filtros de mayor CM a menor en la parte delantera se obtiene filtro 4 < filtro 5 < filtro 3 < filtro 6 < filtro 2 y para el trasero se obtiene filtro 4 < filtro 6 < filtro 3 < filtro 2 < filtro 5, esto concuerda con las pruebas realizadas anteriormente.

Como se puede observar en la Gráfica 36 y Cuadro No. 16, el filtro con las mejores condiciones es el 5to esto concuerda con los datos de Castellanos (2012) que indicaban a

este como uno de los filtros con las mejores condiciones, esto se debe a que en este filtro se han mantenido las temperaturas elevadas y por ende la actividad microbiológica inhibida, en este los resultados de las pruebas buffer y resazurina dieron como resultados una baja actividad microbiológica, el 6to filtro es el segundo con las mejores condiciones esto puede deberse a su temperatura elevada y al diseño de este filtro ya que este es el único en el cual la alimentación se encuentra desde la parte trasera y no en la parte lateral del filtro, forzando de esta manera al lodo a pasar por toda la canoa hasta alcanzar el rebalse; en el orden establecido siguen el 3ero y 2do filtro esto puede deberse por los problemas mencionados en la Cuadro No.10 , ya que ayudan a la reducción de la temperatura y que puede conducir a un incremento en la actividad microbiológica, el ultimo filtro es el 4to esto puede deberse al punto muerte que se encontraba en el rebalse inactivo que mantenía una temperatura apta para los microorganismos y mantenía estancados los lodos juntos estos factores pueden ayudar a incrementar la actividad microbiológica.

2. Sectorización y monitorear sobre la incidencia de actividad microbiológica en puntos críticos de los filtros de cachaza del ingenio Concepción y la evaluación la pérdida de sacarosa en los principales efluentes de los tándems A, B y C y en el agua de desecho del ingenio

a. Temperaturas del área de tratamiento de lodos de concepción. Se determinó la temperatura promedio de la entrada de los lodos al filtro, lodos acumulados en el filtro y de los lodos de salida en los cuatro filtros del ingenio Concepción mediante la utilización de un termómetro IR, tomando la temperatura en cada punto de interés un mínimo de seis veces por visita al ingenio. Se encontró que la temperatura promedio de las entradas de los filtros uno, dos, tres y cuatro son de $73.09 \pm 2.53^{\circ}\text{C}$, $77.10 \pm 3.52^{\circ}\text{C}$, $74.32 \pm 5.58^{\circ}\text{C}$, $65.54 \pm 5.33^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Las acumulaciones de los cuatro filtros tienen temperaturas promedio de $54.55 \pm 6.37^{\circ}\text{C}$, $53.64 \pm 4.39^{\circ}\text{C}$, $59.08 \pm 7.17^{\circ}\text{C}$, $63.19 \pm 5.81^{\circ}\text{C}$ y las salidas tienen temperatura promedio de $67.01 \pm 3.65^{\circ}\text{C}$, $64.76 \pm 4.82^{\circ}\text{C}$, $68.91 \pm 6.83^{\circ}\text{C}$, $67.06 \pm 5.39^{\circ}\text{C}$. El tornillo que alimenta el tanque principal de cachaza tiene temperatura promedio de $72.20 \pm 3.72^{\circ}\text{C}$. Con esta información se puede observar que el filtro cuatro maneja temperaturas promedio diferentes a los demás filtros y se puede observar una mayor variación entre las temperaturas de entrada comparada con la de acumulación y la de salida en los filtros uno, dos y tres que en el filtro cuatro. De esta forma se logró determinar la temperatura promedio de los lodos para las diferentes secciones de los filtros.

Una vez obtenidas las temperaturas promedio de los puntos de muestreo, se prosiguió a determinar los puntos y filtros con temperaturas promedio menores a 60°C mediante el análisis de las temperaturas. Se encontró que la entrada del filtro dos tiene la temperatura promedio más alta, siendo ésta de $77.10 \pm 3.52^{\circ}\text{C}$. El punto que tiene la temperatura promedio más baja es la acumulación del filtro dos, con un promedio de $53.64 \pm 4.39^{\circ}\text{C}$. Así mismo se puede observar que las acumulaciones de los cuatro filtros presentan las temperaturas promedio más bajas, comparadas con las entradas y las salidas de los filtros, siendo la temperatura promedio del primer filtro de $54.55 \pm 6.37^{\circ}\text{C}$, del segundo de $53.64 \pm 4.39^{\circ}\text{C}$, del tercero de $59.08 \pm 7.17^{\circ}\text{C}$ y del cuarto de $63.19 \pm 5.81^{\circ}\text{C}$. Esto es importante debido a que la mayor parte de esporas de levadura pueden resistir hasta 15 horas a 60°C, aunque la temperatura óptima está entre 20°C y 30°C (Chen y Chou, 1993). Por las temperaturas que manejan los filtros no existen riesgos de presencia de mohos, ya que éstos requieren condiciones de temperatura entre 25°C y 30°C, las cuales no las tuvo ningún punto de ninguno de los cuatro filtros. El hecho de que las acumulaciones de los filtros presenten una temperatura promedio menor a los demás puntos del filtro concuerda con los resultados esperados ya que se observó que los lodos en esos puntos se quedaban estancados en el filtro en lugar de pasar por el proceso regular, el cual sería entrar al filtro, adherirse al cilindro rotatorio y ser removido de éste.

b. Fermentación espontánea. Se muestrearon los lodos de entrada de los filtros uno, dos y tres, y la acumulación y salida de los cuatro filtros. Cabe mencionar que no se tomó muestras de lodo de la entrada del cuarto filtro debido a que el sello del tanque no permitía acceder a la muestra, sin embargo, sí se tomaron las respectivas muestras de temperatura para poder compararla con los demás puntos y poder inferir si es un punto de riesgo o no.). Se puede observar en el Cuadro No. 4 que el punto cuya caída de pH promedio fue mayor fue el punto de acumulación en el filtro uno, con un valor de caída de pH de 1.081 ± 0.436 , este valor está seguido por los puntos medio del filtro dos y del filtro tres, las cuales son 0.8093 ± 0.658 y 0.7891 ± 0.795 respectivamente. Se puede notar que, en promedio, la caída de pH en la acumulación de lodos es mayor a la caída de pH en la salida y en la entrada, esto se debe a que la temperatura en la acumulación de los filtros es en promedio menor a la temperatura de la entrada y salida del filtro. A partir de esta información se puede ver que los puntos con temperaturas promedio más bajas tienen las caídas de pH

más altas, lo que significa que existe una mayor actividad microbiológica en dichos puntos.

c. Test de Resazurina. Entre mayor actividad microbiológica en la muestra, más microorganismos en el proceso de la glucólisis y por lo tanto el cambio de color se da más rápido. Esta prueba se realizó en los mismos puntos en los que se realizó la prueba de fermentación espontánea, y se realizó a 55⁰C y a 37⁰C ya que a 37⁰C es la temperatura ideal para que las bacterias se activen. Se realizó a 55⁰C ya que la prueba tiende a ser más rápida a esta temperatura, sin embargo, ciertos microorganismos no soportan esa temperatura y mueren, por lo que se realizó a ambas temperaturas. La Gráfica No. 39 muestra que la acumulación en los filtros uno y dos presentan los valores promedio más altos de CM promedio, comparados con las salidas y entradas. Con esta información se puede observar que las acumulaciones tienen un CM promedio más alto, el cual es indicativo de una mayor actividad microbiológica, lo que concuerda con las temperaturas promedio menores a 60⁰C observadas en dichos puntos, pero el CM de la acumulación del tercer filtro es más alto de lo inferido a través de su temperatura promedio.

Al observar los resultados obtenidos a 37⁰C se puede observar la misma tendencia que los resultados a 55⁰C. Los CM promedio más altos son de las acumulaciones, tal como era de esperarse debido a la temperatura promedio menor a 60⁰C registrada en esos puntos. Sin embargo también se observa una caída del valor promedio de CM en el filtro número tres. Al observar los valores de CM promedio, ninguno de los valores supera el CM de 1.5, por lo que de acuerdo a la prueba de resazurina los valores de CM se encuentran dentro de los valores permitidos y aceptados.

d. Dextrana. Adicionalmente, se evaluó la presencia de dextrana en los lodos acumulados utilizando un espectrofotómetro para determinar la absorbancia de la muestra y con eso evaluar la presencia de dextrana en los lodos para determinar si después de que los lodos salen de los clarificadores son re-infectados por bacterias provenientes del exterior ya que la bacteria *L. mesenteroides* tiende a proliferar en el bagacillo que se le agrega a los lodos provenientes del clarificador. Este bagacillo se le agrega para mejorar la consistencia de los lodos y facilitar su paso por los filtros de cilindro rotatorio. (Escartín Fernández, 2000)

Se puede observar la cantidad de dextrana presente en la acumulación de cada uno de los filtros, siendo la cantidad de dextrana del primer filtro de $0.802 \pm 0.751 \text{g/l}$, del segundo filtro de $0.880 \pm 0.851 \text{g/l}$, $0.840 \pm 0.729 \text{g/l}$, $0.287 \pm 0.135 \text{g/l}$. Se analizaron únicamente las acumulaciones de los cuatro filtros debido a que eran los puntos que presentaban temperaturas más bajas y que podrían tener una mayor cantidad de microorganismos. Al observar los valores de la desviación estándar se puede notar que éstos son bastante cercanos al valor de la muestra. Esta variación en los datos se puede explicar con que las corridas tres y cuatro fueron realizadas el último día de zafra, y hubo interrupciones en la producción debido a las fuertes lluvias en el área.

Esto pudo haber provocado irregularidades en el proceso que afectaron los resultados de cantidad de dextrana en los lodos. Al comparar los valores obtenidos con los resultados obtenidos por el ingenio en Nicaragua, se puede observar una discrepancia significativa, ya que ellos encontraron valores de 0.034g/l de dextrana en los lodos de cachaza, mientras que los resultados obtenidos en Guatemala oscilan entre $0.287 \pm 0.135 \text{g/l}$ y $0.880 \pm 0.851 \text{g/l}$. Debido a la significativa variación entre los datos obtenidos en la prueba de dextrana, no se puede inferir si existe una relación o no entre la cantidad de dextrana en los lodos y la temperatura promedio.

e. Trazas de sacarosa en agua. En el ingenio Magdalena se buscó evaluar la pérdida de sacarosa en los principales efluentes de los tándems A, B y C y en el agua de desecho del ingenio, tomando muestras en los respectivos tándems y haciéndoles una prueba de trazas de sacarosa, las cuales se compararon entre sí para evaluar los puntos cuyas pérdidas podrían ser críticas. Los tándems, al tener tres pisos, tienen flujos de agua que deben bajar al primer piso para poder ser desechados. En ninguno de los tres tándems del ingenio Magdalena existe una tubería por la cual pueda bajar el agua sin ser derramada, por lo que estos derrames que contienen son adicionales a las trazas que se presentan en el agua de desecho que sí llega por tuberías y sale del ingenio. Se pueden observar los puntos que presentan mayores trazas de sacarosa en sus efluentes.

Los valores fueron tomados como fuertes o extra fuertes siguiendo los lineamientos para la prueba Molisch. Es importante notar que el tándem A no presenta puntos con trazas fuertes de sacarosa, y los tándems B y C sólo presentan un punto de interés con trazas fuertes. El lugar donde se encontró mayor cantidad de

trazas fue en el área de desecho de agua del ingenio, que es donde se junta el agua de desecho del ingenio para ser descartada. Por esto mismo se recomienda controlar las aguas de desecho del ingenio Magdalena, ya que cantidades de trazas pueden ser significativas cuando son constantes y suceden las 24 horas del día. Así mismo se podrían evitar gastos innecesarios en grandes cantidades de agua utilizada y por consiguiente en su tratamiento.

F. Efecto de la actividad microbiana en clarificación y evaporación

1. Determinación de la correlación del coeficiente microbiológico entre el jugo diluido y sulfitado. En el ingenio Pantaleón se está implementando un sistema de control microbiológico cuyo objetivo principal es reducir los efectos de la actividad microbiológica ya que esta genera problemas técnicos tales como el aumento de la capacidad buffer del jugo sulfitado, como parte de este sistema se mide el CM del jugo diluido en forma sistemática por esta razón resultó necesario determinar la relación entre el CM del jugo diluido y el jugo sulfitado.

Se muestra el promedio de inicios diciembre 2012 hasta finales de febrero 2013, este promedio representa la diferencia que existe entre el jugo diluido y el jugo sulfitado, con este resultado se determinó que en promedio el CM del jugo diluido es 0.36 ± 0.045 unidades mayor al jugo sulfitado. Esto permite relacionar los experimentos realizados en base del CM del jugo diluido, debido a que es el jugo diluido es el de mayor incidencia en el crecimiento microbiológico y por ende el más controlado en el ingenio por esta razón es necesario referir los resultados al CM de este jugo.

a. Evaluación del efecto de la actividad microbiológica sobre el proceso de clarificación medido por la velocidad de sedimentación y el consumo de cal.

2. Relación entre CM promedio y velocidad de deposición. En la gráfica No. 37 se muestra la velocidad de deposición de los lodos (%vol/vol de lodos) por segundo de acuerdo al coeficiente microbiológico del jugo diluido, como se muestra en la cuadro, No.35 en el apartado de anexo.

Como se puede observar hay una disminución en la velocidad de la movilización de volumen de lodos en función del aumento del coeficiente microbiológico de jugo diluido esto se debe a que los microorganismos producen sustancias gomosas (como la dextrana) que aumenta la viscosidad del jugo y por lo tanto disminuye su capacidad de movilización,

haciendo que los lodos se tarden un mayor tiempo en precipitar. De esta función se encontró una relación lineal la cual indica un coeficiente de correlación de 0.94 el cual es aceptable, ya que indica que los valores se encuentran correlacionados entre sí.

Con la relación que se encontró anteriormente, se logró determinar que por el aumento de 0.1 en el CM del jugo diluido se tiene una disminución de 0.00004% de la velocidad de deposición de los lodos por segundo, el aumento del CM del jugo diluido también genera problemas técnicos como la dificultad para que los lodos fluyan, alargando su tiempo de residencia en los clarificadores o como el problema de flotación de lodos que impedían la visualización total de los lodos y dificultaban la separación de los mismo, el incremento en la cantidad de lodos observado en la gráfica No. 38 de resultados, que dificultan no solo la medición de los lodos totales si no la separación de los mismos del jugo claro. Estos problemas se atribuyen a las sustancias secretadas por los microorganismos que luego salen como impurezas en los lodos. Cuando un jugo presenta una menor movilización de lodos se agrega más floculante sin exceder las 5ppm (mg/dm³) permitidas por la normas, esto debido a la naturaleza continua de los clarificadores. Para hacer una aproximación a las pérdidas que ocurren debido a un incremento de actividad microbiológica dentro de los clarificadores, se tomó el porcentaje de lodos finales de cada muestra con su respectivo CM correspondientes a la Cuadro No. 33

En la Gráfica No.38 del capítulo de resultados se puede observar el incremento en el porcentaje en volumen de lodos en una muestra de jugo claro comparado con el aumento de CM en el jugo diluido. Las muestras con bajo CM presentaron un aumento no tan significativo como el que se obtuvo en las muestras con alto CM, esto se atribuye a las sustancias que los microorganismos excretan y luego son atrapados como impurezas en los lodos, por lo que un jugo con mayor actividad microbiológica tendrá mayor cantidad de desechos microbiológicos y por ende una mayor cantidad de lodos. Viendo la tendencia de los datos se realizó una regresión lineal que dio un coeficiente de correlación lineal de 0.94, este coeficiente mide la covariación entre las distintas variables relacionadas linealmente, su cercanía a 1 indica que la relación entre ambos parámetros (CM y %vol/vol de lodos) es cercana a comportarse como una línea recta. Con estos resultados se encontró que por cada aumento de CM en 0.1 en jugo diluido se tiene un aumento de 1.08% en la proporción de lodos, esto se traduce como una menor compactación de lodos dentro de los clarificadores y un mayor contenido de azúcar en los mismos, ya que al no compactar correctamente el jugo claro queda atrapado entre el lodo, provocando un efecto negativo en los filtros de cachaza ya que al existir una mayor cantidad de lodos con jugo mezclado, el filtro deberá separar un mayor flujo.

Si un jugo presenta una menor movilización de jugos debe agregarse mayor cantidad de floculante pero la norma establece un uso máximo de 5 ppm (mg/dm³) de floculante, debido a

esto no existe un plan para minimizar las pérdidas de azúcar en cachaza por lo que debe disminuirse la actividad microbiológica, para de este modo agilizar la movilización de lodo en los clarificadores y seguir cumpliendo con la norma. El efecto del aumento de la actividad microbiológica se aprecia en la gráfica No. 38 Una mayor actividad microbiológica conlleva a una baja compactación de lodos debido al incremento en el volumen de los mismos, esto se traduce a un incremento en la capacidad de los filtros y, por ende, un incremento de pérdidas de azúcar en cachaza. Esto concuerda con la literatura que indica que la microbiota presente en los productos azucarados aumenta la viscosidad por la producción de polisacáridos lo que disminuye la compactación de lodos y que resulta en un mayor flujo de lodos en cachaza.

Con la proporción final de lodos que se presenta en la Cuadro No. 36 del capítulo de resultados, se obtuvo el flujo de lodos debido a un incremento de actividad microbiológica del jugo diluido. En el ingenio Pantaleón los clarificadores tipo SRI manejan dos flujos uno de 0.1514 m³/s y otro de 0.1766 m³/s, como se observa en esta cuadro al incrementar la actividad microbiológica aumenta el flujo de lodos de cada clarificador y por ende un aumento de flujo en los filtros de cachaza, como se mencionó anterior mente este aumento se debe a los polisacáridos producidos por los microorganismo.

G. Estimación de pérdidas de lodos debido a la actividad microbiana. Para estimar las pérdidas de azúcar que acarrea el incremento de la actividad microbiológica y por ende de lodos con los datos de la zafra 2012-2013, se obtiene el siguiente resultado.

$$4,727,902 \text{ ton caña} * \frac{4.35 \text{ ton cachaza}}{100 \text{ ton caña}} * \frac{1.27 \text{ ton azúcar}}{100 \text{ ton cachaza}} * 1.08\% \text{ incremento lodos} \\ * 33.33\% \text{ flujo de cachaza} = 9.37 \text{ ton azúcar}$$

En la zafra 2012-2013 se tuvieron pérdidas de azúcar en cachaza. De las toneladas de azúcar incluidas en cachaza 9.40 son causadas por el efecto del incremento en 0.1 de la actividad microbiológica en el jugo diluido ya que si se aumenta el flujo de lodos aumenta la capacidad de los filtros pero el flujo de salida de cachaza se mantiene, esto se refiere a que el lodo pasara un mayor tiempo de procesamiento en los filtros (mayor recirculación) y como sugieren los resultados los microorganismo seguirán consumiendo la sacarosa lo que representara perdidas, esto indica que por cada aumento de 0.1 en la actividad microbiológica del jugo diluido se obtendrá un aumento de 9.40 toneladas perdidas, esto quiere decir que un

aumento de 0.5 en el CM del jugo diluido significaría un aumento de 46.87 toneladas de azúcar perdidas únicamente por el incremento de la actividad microbiológica.

b. Evaluación de un modelo a escala laboratorio del efecto de la actividad microbiológica sobre el proceso de evaporación.

H. Relación entre la necesidad de cal para ajustar el pH y el aumento de incrustaciones en evaporadores. El experimento se realizó siguiendo la metodología planteada anteriormente, de los resultados obtenidos se realizó un análisis para encontrar las pérdidas asociadas al área de evaporadores debido a la actividad microbiológica o el aumento de la misma, ya que los microorganismos liberan ácidos que luego deberán ser neutralizados con cal y la cal luego se incrusta en los tubos de los evaporadores generando pérdidas de transferencia de calor y aumentado costos de limpieza. Para esto se graficó el volumen de sacarato necesario para llevar el jugo sulfitado a un pH neutro contra su respectivo CM del Cuadro No. 27 y 28 presentada en los anexos.

Como se observa en la Gráfica No. 39 en la sección de resultados se puede apreciar un incremento en el volumen de sacarato necesario para neutralizar el jugo a medida que aumenta el CM del jugo diluido, esto debido a que los microorganismos liberan ácidos débiles que aumentan la capacidad buffer del jugo. Se realizó una regresión lineal con un coeficiente de correlación de 0.91 que sugiere un comportamiento bastante lineal, con estos resultados se determinó que un aumento de CM en el jugo diluido representa un aumento en el volumen de sacarato de 0.083%, en un aumento del 0.5 CM el incremento es de 0.42% vol/vol. Este incremento en el volumen consumido de sacarato para disminuir el pH del jugo sulfitado se atribuye a que los microorganismos durante su ruta metabólica producen ácidos orgánicos débiles lo que sin lugar a dudas disminuye el pH del jugo y por la naturaleza de los ácidos débiles la capacidad buffer del jugo aumenta, es decir que el jugo ahora presenta una resistencia a cambiar su pH debido al equilibrio entre la molécula del ácido y su sal conjugada.

I. Incrustaciones asociadas a incremento de la actividad microbiológica. Las incrustaciones en los evaporadores azucareros son inevitables, estas generan complicaciones ya que disminuyen la transferencia de calor entre el metal y el jugo claro lo que conlleva a una mayor necesidad de vapor para evaporar y por quedar adherido a los tubos dificulta la limpieza de los mismos.

Como se observa en la Gráfica No.40 en la sección de resultados, el incremento en el CM en el jugo diluido genera un aumento en las incrustaciones de cada uno de los efectos utilizados en el ingenio Pantaleón, esto debido al incremento de la capacidad buffer del jugo claro y por ende del consumo de cal necesario para neutralizar al jugo claro.

En la Gráfica No. 42 en la sección de resultados se tiene el incremento de kilogramos de incrustaciones por cada día debido a un aumento en el CM del jugo diluido con esto se determinó los efectos de un aumento de 0.1 en el CM para cada efecto como se muestra en la Cuadro No. 30 en la sección de anexos. El comportamiento de los valores sugiere que a una mayor actividad microbiológica hay un incremento de las incrustaciones, esto concuerda con los resultados de la sección anterior ya que a mayor actividad microbiológica mayor requerimientos de cal y por ende mayor cantidad de incrustaciones por unidad de área.

Se trabajó en los 5 efectos controlando los grados brix que maneja el ingenio Pantaleón para cada uno de sus efectos la limitante que se encontró fue el control de la presión de vacío ya que a partir del tercer efecto en adelante se agregó vacío simulando la operación de evaporación y este no se logró mantener constante durante el experimento, esta aproximación da una idea del comportamiento de las incrustaciones en cada evaporador.

Conociendo la cantidad de jugo tratado por evaporador en un tiempo dado, 79,200,000 galones/ día (dato proporcionado por el ingenio), se aproximó las incrustaciones formadas como se muestra en la Cuadro No. 31 y 32 de los anexos. De estos resultados se graficó el CM promedio del jugo diluido con los kilogramos de incrustaciones/ día como se muestra en la sección de resultado en la Gráfica No. 41

Esta gráfica muestra la relación que existe entre los kilogramos de incrustación por día y el aumento del CM del jugo diluido para todos los efectos del evaporador, que como puede observarse va en aumento, con la tendencia observada se realizó una regresión lineal y se determinó el efecto del aumento de 0.1 en el coeficiente microbiológico del jugo diluido que representa un incremento de 16 kg/día en los evaporadores, el tipo de limpieza necesario para cada uno de los tubos ya sea química con ácido clorhídrico y soda caústica o física con hidrolavadoras que bombean agua a presión de 1.03421×10^8 Pa, deberá elegirse según sea el tipo de incrustación y el comportamiento de las incrustaciones en cada efecto, el cual debe determinarse con análisis posteriores, actualmente se sabe que los últimos dos efectos no requieren de una limpieza química.

J. Diseño del método de elongación de cristales. Por medio de la utilización del proceso detallado en la metodología, se realizó el análisis de muestras de masas cocidas provenientes de los tachos, tanto del ingenio Santa Ana, Pantaleón, Magdalena y Madre Tierra. El objetivo principal de dicho análisis era encontrar el número óptimo de campos a observar para obtener un valor del coeficiente de elongación significativo de la muestra de masa que se esté analizando. Para esto se tomaron en total 88 muestras de los ingenios mencionados.

De cada una de ellas, se analizó por campo las dimensiones de los cristales (largo y ancho en milímetros) para la posterior obtención del coeficiente de elongación. Luego se obtuvo el promedio acumulativo en cada muestra, clasificando si era masa tipo A, B, o C; para luego graficar y analizar de una forma visual que en qué número de campo se estabilizaban las mediciones. Para esto se realizó una gráfica de los resultados de la masa A, otra de la masa B y otra de la C de cada uno de los ingenios. También se realizó una gráfica comparativa de las tres masas. Por último se realizó una gráfica con los resultados de los promedios acumulativos de las masas C de todos los ingenios con fines comparativos. Por lo que, en base a esto, se obtuvieron los siguientes resultados.

En los resultados del Ingenio Santa Ana, se puede observar en la Gráfica 43, que al principio de las mediciones se obtuvo una variación muy marcada en el coeficiente de elongación que llegó a variar inclusive en 0.06 entre en campo 6 y campo 8. Pero se puede observar que a partir del campo 9, se empieza a estabilizar el valor del coeficiente de elongación ya que se observa una tendencia lineal donde la diferencia de lectura de dicho coeficiente de campo a campo varía muy poco, aproximadamente 0.0001. Esto puede servir para observar y analizar que entre más mediciones se hagan, se va obteniendo un valor casi constante y significativo del coeficiente de elongación. Por lo que en las muestras de la masa A del ingenio Santa Ana, se puede observar que el análisis del campo 9 en adelante es el correcto para la obtención de un valor del coeficiente de elongación significativo. Luego en la Gráfica 43 se puede observar los resultados de las masas B de este ingenio, donde se puede analizar el mismo comportamiento de la Gráfica 43 de la Masa A, donde a partir del campo 9, se puede observar una estabilización del coeficiente de elongación. Una observación de estas dos gráficas es que tanto los primeros campo (aproximadamente del 1-8) como en los últimos (a partir del campo 16 al 20) los datos de dicho coeficiente ya empiezan a fluctuar nuevamente. Esto puede deberse a que por el tamaño de muestra analizada en el portaobjeto puede ser que más de 16 campo, ya no es posible analizar correctamente en la muestra. Esto podría ser un indicador que por muestra de masa colocada en el portaobjeto es necesarios saber tanto el número de campos significativos para obtención del valor del coeficiente de elongación, y que número de campos es el límite para realizar una lectura correcta del mismo.

Ahora bien, en la Gráfica 43 la cual muestra los resultados en la masa C de este mismo ingenio, puede observarse que si se obtuvo una estabilización del coeficiente a partir del campo 9 donde la diferencia entre valor de coeficiente de elongación era mínimo, pero se obtuvo un dato en el campo 11 donde se observó una diferencia de más de 0.5 en comparación con la tendencia que se traía. Esto pudo ser un error a la hora de realizar la medición de los cristales ya que solamente es un dato, porque luego en los campos posteriores el valor del coeficiente continúa con la misma tendencia de un valor de 1.33. Luego, únicamente sirvió para comparar la tendencia en valor de coeficiente de elongación dependiendo de la masa analizada. Por lo que, tomando en cuenta el valor estabilizado aproximadamente a partir del campo 9, del coeficiente de elongación, se obtuvo para la masa A y masa B fue de 1.29 y para la Masa Cocida C de 1.33.

Ahora bien, con el Ingenio Pantaleón, se obtuvo resultados muy parecidos a los de Ingenio Magdalena. Como por ejemplo, en la Gráfica 44 donde se presenta los resultados de la masa A, se observa estabilidad de la obtención del valor del coeficiente de elongación a partir del campo 9 hasta el campo 14, donde las variaciones de este parámetro sólo fueron aproximadamente de 0.01. Lo mismo sucedió en la Gráfica 9 donde se exponen los resultados de la Masa B donde de igual manera se obtuvo un coeficiente relativamente constante con variaciones en un 0.01 a partir del campo 10 hasta aproximadamente el campo 14. Se observa la misma situación que los resultados del Ingenio Santa Ana, los primeros y últimos 6-8 campos presentaron variaciones significativas del valor del coeficiente de elongación en comparación con el intervalo de campos entre 9-14, donde se mantiene una constancia en el valor de este factor. Mientras que en la Gráfica 44 donde se tiene los resultados para la masa C de dicho Ingenio, es importante mencionar que se obtuvo una constante de valor de coeficiente de elongación desde el campo 3 hasta el 20. Esto es muy interesante, ya que no presente ninguna variación en el valor del coeficiente a partir del campo 5. En términos de aplicación, esto puede ser de suma utilidad en base a análisis a la hora de muestrear y tomar decisiones respecto a los resultados obtenidos, ya que en términos de ahorro de tiempo y obtención más rápida de los análisis pueden tener una metodología más eficaz y eficiente a la vez que pueda ser útil para los análisis de este tipo de masa, no en cambio con las Masa A y B que necesitan más lecturas de campos para obtener un valor de coeficiente de elongación significativo. Y por último, la gráfica 44 se pudo observar por medio de la comparación que el mayor coeficiente de elongación obtenido es el de las masas C, mientras que el valor de coeficiente de elongación entre masa A y B es muy similar igualmente que los resultados del Ingenio Santa Ana. Los valores del coeficiente de elongación fueron 1.26 para las masas A y B; y 1.50 para la Masa C.

En los resultados del Ingenio Magdalena, en la Gráfica 45 se presentan los resultados de los promedios acumulados del coeficiente de elongación de los cristales de las muestras de Masa A. Se puede observar que a partir del campo 6 al 12, se mantiene un valor significativamente constante con una variación mínima de 0.005. Igualmente que los casos anteriores de los ingenios, en los primeros campos leídos y analizados, como en los últimos se observan cambios marcados del valor de este parámetro. Nuevamente esto puede ser un indicador de que al medir aproximadamente menos de 6 campos todavía no es suficiente para obtener un resultado veraz, de igual forma leer en exceso de campos también afecta en la obtención de un resultado no significativo para el análisis, sin mencionar la factibilidad del mismo por cuestiones de tiempo al realizarlos. Mientras que en la Gráfica 45 se presentó los resultados respecto a las muestras analizadas de las Masas B. Nuevamente se puede observar la tendencia lineal en la gráfica, donde a partir del campo 6 hasta el campo 14 se tiene un resultado relativamente constante de 1.28 de coeficiente de elongación de cristales. Aunque en esta gráfica particularmente puede verse que inclusive del campo 14 al 19 sigue habiendo un cambio insignificante en el valor de este coeficiente, lo que no sucedía en las anteriores muestras donde sí había un cambio drástico de este valor. Es importante mencionar que al principio, si se observa que se necesitó leer mínimo 6 campos para lograr estabilizar el valor de éste variable. Ahora bien, donde se tienen los resultados de las Masas C, si se observan cambios drásticos en el valor del coeficiente de elongación en los extremos (del campo 1-6, y del campo 17 al 20). Pero en el rango medio de los campos leídos que incluye del 6-16 la tendencia que presenta la gráfica en lineal, con un cambio entre valores del coeficiente menores a 0.01. En la Gráfica 45 se puede observar los valores promedios significativos en base a su comportamiento lineal a partir de los campos mencionados. Para la masa A se obtuvo un valor de 1.33, para la Masa B fue de 1.28 y para la masa C de 1.30. A comparación de los ingenios anteriores, en estos resultados si se obtuvo diferencia de valor de coeficiente de elongación entre las Masas A y B.

Por último se analizó las muestras del ingenio Madre Tierra. En la Gráfica 46 se obtuvo los resultados de las masas A. Nuevamente se observó una tendencia lineal en la gráfica a partir del campo 7 hasta el campo 15 del valor del coeficiente de elongación. Puede verse cómo una vez más en comparación tanto con las muestras de masas A de otros ingenios como de otras Masas, el mismo intervalo de campo donde se presenta la tendencia lineal o el dato más significativo de este coeficiente para su posterior análisis. En la gráfica 46 se tienen los resultados de las masas B, la cual presenta en los extremos cambios significativos en la tendencia de la gráfica con valores muy cambiantes, mientras del campo 6 al 14, presenta una tendencia lineal con cambios menores a 0.005 entre campo y campo. De igual modo se observa el comportamiento del coeficiente de elongación de las Masas C por campo. Al graficar los promedios acumulativos de los coeficientes por campo, se puede observar

nuevamente en el rango del campo 6-19 en este caso, una tendencia lineal de los valores de este indicador. Por lo que, en la gráfica 18 únicamente se compara la tendencia de cada gráfica por tipo de masa. En base a los rangos establecidos donde se tiene una tendencia lineal del valor del coeficiente de elongación, para la masa A se obtuvo un valor de 1.30, para la masa B 1.28 y para la Masa C de 1.35.

Por último se obtuvo en la Gráfica 47 la comparación de resultados obtenidos por campo de las masas C de cada uno de los ingenios. El valor más alto de coeficiente de elongación fue para el Ingenio Pantaleón con un valor de 1.49, luego el Ingenio Madre Tierra con 1.35, Santa Ana con 1.33 y por último Magdalena con 1.30. Este tipo de comparación es importante, ya que puede servir como un análisis de los controles internos que se realicen en cada ingenio y si éstos son efectivos. Esto con el fin de controlar o mejorar los procesos de control, monitoreo e inclusive limpieza y sanitización de áreas para mantenerse en rangos aceptables del coeficiente de elongación para evitar rechazos y disminución de la calidad del producto final obtenido.

Por lo que es importante, en este proceso tan complejo como lo es la elaboración de azúcar, el control de las características del cristal, específicamente por las dimensiones tanto de ancho como largo del mismo. En la industria azucarera se tiene ciertos aspectos identificados dentro de toda la cadena de producción que afectan la calidad y/o rendimiento del proceso. Entre esto se puede mencionar factores antes del corte (como la variedad de caña, edad y época de corte), como factores después del corte (como altura del corte, contenido de material extraño o basura y acción microbiológica). Entre los factores mencionados con anterioridad, algunos de ellos tienen efectos directos a la hora de la formación del cristal como lo es la presencia de material extraño especialmente constituido por cogollos que tienen una alta incidencia en los niveles de impurezas como los polisacáridos solubles, fenoles y amino-nitrógenos. Estos compuestos afectan directamente el proceso de cristalización y por ende la calidad final del azúcar tanto por el tamaño y/o dimensiones de los cristales obtenidos así como el color del producto final. Ahora bien, el efecto de los agentes microbiológicos, especialmente los *Leuconostoc Mesenteroides* y *L.dextranicum*, son bacterias que afectan al proceso después del corte, dando como resultado polisacáridos a partir de la sacarosa dando como resultado un menor rendimiento de extracción de la misma y efectos secundarios impactantes en el proceso como lo es aumentos en la viscosidad de los jugos, pérdidas de sacarosa tanto en las mieles como en aguas de lavado. Esto último se debe al daño que causa en las dimensiones de los cristales formados los cuales en presencia de estos polisacáridos, tienen efecto en el alargamiento del mismo lo que se conoce como cristal aguja. Por lo que, la industria azucarera ha establecido varios indicadores dentro del proceso donde se puede monitorear y controlar el efecto de estos factores para tomar acciones

correctivas y evitar pérdidas y/o productos que no cumplen con la calidad esperada. Entre estos métodos de análisis, se realizan mediciones de indicadores como lo es la pureza por medio de la lectura del polarímetro, el tanto por ciento Pol que se refiere a una medición cuantitativa de la propiedad de los azúcares de desviar el plano de la luz polarizada y se utiliza para determinar la riqueza de los jugos, grado Brix para conocer la concentración de sólidos disueltos en una solución de sacarosa, identificación de azúcares reductores los cuáles son un producto intermedio en la descomposición de la sacarosa o bien de metabolitos como lo son ácidos orgánicos como el láctico, CO_2 , etanol, entre otros. Por lo que la medición y análisis de las dimensiones y/o coeficiente de elongación de cristal es otro método aplicable en la industria azucarera que se puede utilizar como indicador de un control de causas específicas que afectan la calidad del azúcar después del corte como lo es la producción o presencia de dextranos que a la vez dan origen de biofilms provenientes de un mal control de la actividad microbiológica en el proceso ya sea por mala rotación de caña para procesar en el patio, uso inadecuado de los productos químicos de limpieza y sanitización en el proceso, contenido de material extraño en el proceso, entre otros.

En general es importante mencionar que por medio del análisis estadísticos de estas muestras, se puede identificar por masa el campo o a partir de qué campo se puede tomar el valor del coeficiente de elongación como significativo. Esto con el fin de poder aplicarse en la industria azucarera como una metodología diaria en el departamento de control de calidad como un método de control o chequeo de que realmente se están realizando en toda la cadena del proceso los cuidados y recomendaciones para evitar actividad microbiológica que se ve reflejada en problemas de tamaño a la hora de la formación de los cristales en el área de tachos. Por el uso de este método de encontrar y normar el rango aceptado del coeficiente de elongación se puede tomar decisiones e identificar que parte de la producción pudo haber tenido cierto problema o descuido en el control microbiológico que se ve reflejada en una elongación del cristal. Aunque una de las causas principales de la dextrana es influir negativamente en la formación del cristal, no es la única causa. Es por esto, que este método puede servir para controlar puntos específicos del proceso aunque no esté relacionada directamente con microorganismos.

K. Pérdidas de azúcar por aterronamiento en azúcar refinado.

El Ingenio Concepción quiso realizar un estudio a profundidad sobre la producción de azúcar para así llegar a conocer posibles puntos de mejora de proceso y así minimizar las pérdidas de azúcar tanto refino como crudo. Para poder realizar esto se llevaron a cabo varios

estudios. Iniciando con una caracterización del azúcar por medio de curvas de distribución granulométrica de gravimetría. Esto para llegar a conocer como se está comportando la cristalización. Luego se realizó un estudio de porcentaje de humedad. Esto se realizó en el producto final, en diferentes puntos indicativos del proceso y en el azúcar envasado con el fin de conocer y poder identificar posibles causas de pérdidas y de aterronamiento. Por último se realizó un estudio del coeficiente de elongación de los cristales de azúcar crudo y refino para identificar si hubiera alguna irregularidad en la formación de los cristales.

Estos estudios sirvieron para determinar si algún punto del proceso estaba afectando directamente al azúcar como producto final que llegara a causar una pérdida de producción

1. **Determinación de curva de cristales.** Para la caracterización del azúcar refino se realizó una recopilación de datos de estudios gravimétricos de granulometría realizados en el laboratorio del Ingenio Concepción. Con estos datos se realizó un promedio de la curva de distribución para así determinar el porcentaje de cristales que cayeran fuera de las especificaciones de tamaño. Así mismo se realizaron estas curvas para los tres turnos para luego determinar si hubiera una variación de tamaño de cristales por las condiciones de temperatura y humedad relativa del ambiente a diferentes horas del día.

Como se puede observar en las gráficas No. 48, 49 y 50 del capítulo de resultados sub capítulo G del presente documento, la curva de distribución presenta una forma anormal. Esto nos indica que los cristales del azúcar refino tienen una variación de tamaño mayor a lo normal. Dentro de las especificaciones establecidas en el Ingenio Concepción está indicado que se debería de encontrar el 90% de los cristales entre el mesh 30 y 80.

El Cuadro No. 25 del capítulo de resultados nos muestra que existe aproximadamente un 40% de cristales fuera de la especificación. Esto puede deberse a que la formación de cristales dentro de los tachos no se está realizando de una manera uniforme. Durante la siembra de los cristales madres se busca que se formen cristales completamente uniformes del mismo tamaño y de forma de cubo. Una de las razones por las cuales no se obtiene este tipo de cristal puede ser por la actividad microbiológica que se puede llegar a tener en el jugo durante la extracción.

En la Gráfica No.48 del capítulo de resultados se observa como la curva se concentra en los mesh de mayor calibre, indicando que existe una mayor cantidad de cristales grandes en comparación a los otros dos turnos. Así mismo en el Cuadro no. 25 del capítulo de resultados se observa que el turno 1 es el que tienen un mayor porcentaje de cristales fuera de las especificaciones. Esto puede ser dado a que el turno 1 está establecido de las 06:00 a las 14:00 horas y por las condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa que pueden

llegar a ser mayores. Estas condiciones pueden llevar a un ambiente más favorable para una mayor actividad microbiológica.

Esta variación en los tamaños de cristales puede llegar a tener un efecto mayor sobre el rendimiento de azúcar más adelante en el proceso como se puede observar en las curvas de caracterización. Al mantener un buen manejo y control del proceso de extracción se minimiza los efectos de la actividad microbiológica que pueden llegar a cambiar la estructura cristalina del azúcar.

2. Medición de porcentaje de humedad en azúcar refino

a. Porcentaje de humedad para estudios gravimétricos de granulometría. La medición del porcentaje de humedad se realizó en varias etapas del azúcar. Iniciando con una caracterización del producto final; se tomaron varias muestras de los estudios de granulometría por turno para obtener un promedio de porcentaje de humedad por mesh en cada turno. Esta información se analizó gráficamente como se puede observar en la Gráfica No.50 del capítulo de resultados, para poder observar la tendencia de absorción de humedad de los cristales dependiendo del tamaño.

Por naturaleza, entre más pequeña la partícula habrá una mayor concentración de humedad ya que habrá una mayor área superficial. Esto se observa en dicha gráfica mencionada en el párrafo anterior. Por consiguiente se puede deducir que el fondo de la columna de tamices presenta un mayor porcentaje de humedad. Sin embargo si se observa en la Gráfica No. 51 en el capítulo de resultados la variación entre los turnos; se presenta que el turno 2, por las condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa, llega a causar una mayor absorción de agua que representa un porcentaje de humedad en el cristal de este tamaño. Llevando a indicar que hay una relación directa entre las condiciones ambientales y los efectos de absorción de humedad en el cristal.

La Gráfica No. 51 también nos indica que hay una tendencia a mayor absorción de agua en el turno 1 para los cristales del tamaño de mesh 35, 40, 50, y 80. Ya que estos cristales son de diferentes tamaños, se podría indicar que la absorción de agua tiene una relación con las condiciones ambientales para este horario.

La Gráfica No. 51, presenta una pequeña anomalía en cuanto a la tendencia observada para el turno 2 del mesh 25, ya que este es relativamente mayor a los otros dos turnos; algo que no se observa en ningún otro mesh. Sin embargo el porcentaje de humedad para este punto no llega al porcentaje de humedad que se observa en los cristales más pequeños, por lo consiguiente esta anomalía en los datos no presenta mayor irregularidad

de la información. Se puede atribuir esta información a las condiciones ambientales para este turno que causaron una mayor absorción de agua en los cristales de este tamaño.

b. Porcentaje de humedad en puntos indicativos de proceso de refinado. Para la realización de este estudio se realizó un estudio de todo el proceso del azúcar refinado para determinar puntos indicativos de posibles efectos en los cristales de azúcar. Luego de identificar los puntos, se realizó un diagrama para así facilitar la toma de muestras. Los puntos definidos fueron la salida del centrifugador, salida del secador, salida del enfriado y el punto de envasado.

La Gráfica No. 52 del capítulo de resultados del presente documento nos indica el porcentaje de humedad para este punto en cada uno de los turnos. El turno 3 presenta una mayor variación en cuanto al porcentaje de humedad. Esto es debido a que durante estas horas del día existe un cambio ambiental mucho mayor que los otros dos turnos ya que la temperatura puede variar hasta 10°C y la humedad relativa puede llegar a ser el 80%. Igualmente se puede observar que en este punto del proceso la hora del día afecta la absorción de humedad de los cristales llegando a tener más que el 0.99% de humedad. Así mismo la época del año también presenta un efecto sobre las condiciones ambientales. Observando los resultados podemos deducir que el turno 1 presenta la mayor estabilidad durante las diferentes semanas del año para este punto del proceso.

Sin embargo esta información presentada nos indica que no existe ninguna inconformidad en el proceso hasta este punto, que pueda llegar a afectar el producto final ya que los datos de porcentaje de humedad están dentro de lo estipulado para azúcar refinado que puede llegar a ser 1.2%. (Coguanor, 1986: 2)

La Gráfica No. 53 del capítulo de resultados nos indica que el porcentaje de humedad en este punto del proceso es menor que el punto de salida del centrifugador. Esto es correlativo con el proceso del azúcar, ya que este proceso ha eliminado la capa de miel que se forma sobre los cristales en los tachos. Se tiene un comportamiento de disminución de porcentaje de humedad para los turnos 2 y 3 con respecto a las semanas transcurridas. Sin embargo el turno 1 presenta un dato que incrementa el porcentaje de humedad y cambia la tendencia de disminución. Esta tendencia de disminución puede ser dada las condiciones climatológicas del año ya que se observa que hay una mayor temperatura.

Como se observa en la Gráfica No. 54 del capítulo de resultados la humedad en el punto de salida del enfriador disminuye incluso más en relación a los dos puntos anteriores. Así mismo se observa que el turno 2 presenta el mayor porcentaje de humedad en relación a los otros dos turnos. Como se estipula en los párrafos anteriores, las condiciones ambientales durante estas horas del día tienen una relación directa con la absorción de agua del cristal de

azúcar. La misma tendencia de disminución de absorción de agua se puede observar con respecto las semanas transcurridas para los turnos 1 y 3, indicando que las condiciones son más favorables para el acondicionamiento adecuado de los cristales.

El punto de envasado del azúcar refino es un punto esencial para el acondicionamiento adecuado, ya que si el cambio de temperatura es muy drástico, los cristales tienden a absorber mayor cantidad de agua. Como se observa en la Gráfica No. 55 del capítulo de resultados, el turno 3 presenta una tendencia contraria a los otros dos turnos. Esto se atribuye a que durante la noche, existe una mayor variación de temperatura y humedad relativa del ambiente. El cual para los cristales que egresan del enfriador a una temperatura adecuada, se ven afectadas por el cambio drástico y suelen absorber más agua.

Para realizar una comparación de los puntos indicativos del proceso se realizó un promedio de la humedad relativa en cada turno para cada punto de medición. La Gráfica No. 56 del capítulo de resultados indica la tendencia de menor absorción de agua a medida que se va avanzando en el proceso de acondicionamiento de los cristales de azúcar refino. Adicionalmente la gráfica muestra como el turno 2 es el que mantiene una tendencia de mayor absorción con respecto a los otros dos turnos. Esto se atribuye a lo mencionado anteriormente en el capítulo de discusión de las condiciones ambientales.

c. Porcentaje de humedad en azúcar refino envasado. El almacenamiento del azúcar acondicionado refino es un punto crucial para asegurar que los cristales no presenten tendencias de atarronamiento. Se tomaron muestras en tres diferentes puntos del almacenamiento de los sacos de azúcar, en la parte superior, central e inferior de la estiba. Esto se realizó dado a que se comprobó que las condiciones ambientales eran diferentes en diferentes puntos de la bodega como se muestra en la Cuadro No. 26 del capítulo de resultados. Como se puede observar en dicha cuadro, la temperatura en la parte superior de la estiba la temperatura es mayor con respecto a los otros dos puntos. La humedad relativa se midió en un solo punto ya que los instrumentos de medición se encuentran fijado a 1.80 m del suelo realizando un promedio a lo largo de varios días en los tres diferentes turnos.

Estas condiciones observadas nos indican los resultados presentados en la Gráfica No. 57 del capítulo de resultados en donde se observa que los cristales de azúcar aumentan su porcentaje de humedad con respecto al punto de envasado. Ese cambio de acondicionamiento de los cristales causa que los cristales más pequeños absorban mayores cantidades de agua encontrada en el ambiente. Esta absorción mayor crea películas de agua y miel sobre la superficie de los cristales. Dado a que el azúcar esta envasado en un contenedor relativamente fijo siendo éste sacos, estos cristales se encuentran en espacios

muy confinados y se crean aglomeraciones. Estas aglomeraciones son luego los terrones de azúcar que se observan en el azúcar refinado.

Las condiciones de temperatura y humedad relativa en el espacio de almacenamiento de los sacos de azúcar favorecen una aglomeración de cristales y absorción de agua. Así mismo los materiales utilizados para la construcción de la bodega de almacenamiento no favorecen un control adecuado de temperatura y humedad, siendo estas láminas metálicas para el techo, block de concreto para las paredes y grandes aperturas para el ingreso y egreso de la maquinaria y medios de transporte.

d. Determinación de coeficiente de elongación de cristales de azúcar crudo y refino. Como parte de la caracterización del azúcar se realizó un estudio del coeficiente de elongación para el azúcar crudo y refino en los dos tachos. Basándose en el estudio realizado en el documento de "Desarrollo de métodos para evaluar el efecto de la actividad microbiológica sobre el proceso de producción de azúcar." se utilizaron 6 campos de medición promediando el ancho y largo de 10 cristales en cada campo para obtener el coeficiente de elongación de cada campo. La Gráfica No. 58 del capítulo de resultados muestra un coeficiente de aproximadamente 1.24 para el azúcar crudo del tacho 1. Esto nos indica que la formación de cristales no es uniforme. La causa de esta elongación puede ser atribuida a una actividad microbiológica en los jugos en cual causa modificaciones a nivel molecular de la sacarosa y así afectando la formación uniforme de los cristales. (Aguirre, A. 2012: 42)

La Gráfica No. 59 del capítulo de resultados indica que existe una mayor elongación de los cristales en el tacho 2 con respecto al tacho 1. Observando así que la siembra de cristales madres en el tacho 2 está teniendo una des uniformidad y creando cristales levemente mayor largo que ancho.

Esta tendencia se observa igualmente en la Gráfica No. 61 del capítulo de resultados con el coeficiente de elongación de los cristales de azúcar refinada con respecto a los resultados presentados en la Gráfica No. 60. Esto indica que existe alguna inconformidad en el tacho 2 creando una formación de cristales levemente más largos que anchos.

Estas variaciones en los cristales tanto de refino como de crudo pueden llegar a tener un efecto en el rendimiento final del producto. Ya que si los cristales presentan una mayor elongación se puede llegar a tener una pérdida en el punto de centrifugación; ya que si los cristales sean menores que la criva, se puede tener una posible pérdida de cristales.

El coeficiente de elongación de los cristales de azúcar refinado presenta una menor variación indicando un cristal más uniforme. Ya que el azúcar refinado se crea utilizando

cristales madres que cumplen con una relación de 0.99:1.00 nm, se asegura una creación de cristales uniformes.

Sin embargo durante la formación de cristales se puede dar el caso de cristales amorfos que causan una posible aglomeración dado a que existe una superficie irregular en donde existe una mayor absorción de agua. Esta absorción de agua aumenta la humedad del cristal teniendo mayor aglomeración por las superficies pegajosas. Manteniendo un control muy ajustado en el momento de extracción de jugos para minimizar posibles cambios microbiológicos, la temperatura y humedad en los tachos para la siembra de cristales y en el momento de centrifugación; se puede prevenir la formación de cristales irregulares y minimizar el aterronamiento que se da en el momento de almacenaje.

e. Evaluación de condiciones de almacenamiento para reducir posibles pérdidas de azúcar. En el subcapítulo del porcentaje de humedad en azúcar refino envasado del capítulo de discusión se indicó que las condiciones de almacenamiento del azúcar refinado puede estar afectando directamente la creación de aglomeraciones de azúcar. Estas aglomeraciones son dadas a la tendencia de los cristales de absorber el agua del ambiente al tener temperaturas mayores que la temperatura de envasado. Estos aterronamientos son irregularidades en el producto final que no cumplen con los estándares.

Con una implementación de almacenamiento del azúcar a granel se podría mejorar las condiciones de los cristales refinados. Si se maneja el azúcar suelto existe una menor probabilidad de que se crea la capa de agua o miel sobre la superficie de los cristales pequeños o amorfos. La fluidez del azúcar asegura un desprendimiento de los cristales y minimiza la aglomeración de cristales.

El cuadro No. 26 del capítulo de resultados nos indica que existe una variación grande entre las temperaturas de almacenamiento y de envasado, así mismo como un cambio entre cada turno para los diferentes puntos de la estiba.

f. Propuesta de mejora de proceso y almacenamiento para implementación en Ingenio Concepción. Entre los resultados de la caracterización del azúcar se encontró que en los puntos indicativos del proceso de producción no existe una variación que pueda llegar a afectar la calidad del producto terminado. Se observó que se cumple con las tendencias esperadas de comportamiento de los cristales para cada punto del proceso.

Los resultados presentados de la caracterización del azúcar ya en almacenamiento indican que las condiciones de almacenamiento no son las adecuadas para asegurar una buena calidad y cumplimiento de estándares de azúcar refinado. Un porcentaje de humedad en los cristales llegando al 0.98% indican que existe una discrepancia en la temperatura y

humedad relativa de la bodega de almacenamiento. El hecho que el azúcar sea almacenado en envases semirrígidos crea condiciones en donde los cristales son propensos a absorber agua y crear aglomeraciones.

Con un control más rígido de las condiciones de almacenamiento se puede llegar a prevenir la tendencia descrita en el párrafo anterior. Así mismo con una mejor adecuación de los materiales de construcción para asegurar una mejor insulación de temperatura y humedad, se puede disminuir la probabilidad de aterronamiento.

Otro método para disminuir el problema de aterronamiento sería un almacenamiento del producto a granel, siempre y cuando se pueda asegurar condiciones inocuas para mantener la calidad e inocuidad del producto. Manteniendo una fluidez de los cristales se previene la aglomeración de cristales húmedos y se disminuye la aparición de terrones.

L. Economía

1. Pérdidas de azúcar por sacarosa en cachaza. En la industria azucarera se pierde sacarosa en el proceso de clarificación ya que se producen lodos que hay que extraer para poder seguir adelante. El subproducto al extraer los lodos es la cachaza y en ésta hay sacarosa que se desperdicia ya que no se puede seguir procesando para que llegue al producto final que es el azúcar.

Para lograr una disminución de sacarosa perdida en la cachaza es necesario disminuir el CM del jugo de caña para que la solución no esté tan viscosa y de esta forma los lodos puedan fluir rápidamente y sea en menor cantidad y por ende será menor el desperdicio y habrá menos pérdidas.

Como se pudo observar con anterioridad en los resultados, con una disminución de un 0.5 del CM se podría obtener la cantidad de Q.1,493,211.92 en ingresos adicionales ya que se pierden 465.79 toneladas de azúcar, representando un 0.00985% de la producción de azúcar de toda la zafra 2012/2013.

Se habla de ingresos adicionales ya que aquí no está incluido el proceso de producción que tiene un costo, por lo que de utilidad será menor a este valor. Suponiendo que son \$.0.07 por cada libra de azúcar de costo de producción (Núñez, 2013), al evitar que se pierdan 465.79 toneladas de azúcar, podría haber un aumento de productividad ya que la utilidad subiría Q.931,250.44

Los datos de pérdidas durante todo el trabajo se evalúan con promedios de precio de azúcar y del cambio de dólar durante toda la zafra ya que no se hicieron mediciones frecuentes de cantidad de azúcar procesada, por promedio en la cachaza, cantidad de cachaza extraída y porcentaje de lodos, por lo que se vuelven datos más inexactos.

2. Análisis de la disminución del CM. Para lograr una disminución del CM en el jugo de caña se pueden seguir las recomendaciones en los trabajos de Colindres, Sánchez, Morfin, Vargas, López y Ortiz, realizadas en cada uno de sus trabajos de graduación del presente año. En dichos trabajos se mencionan formas de manejar el bagazo y su límite de permanencia en el patio. Después de este límite ya no es recomendable utilizar esta materia prima ya que la actividad microbiológica se vuelve demasiado alta.

Según Colindres (2013), el límite permisible que la caña puede estar en el patio sin ser tratada es de 2 horas, por lo que para disminuir 0.5 de CM se debería de recoger y empezar a procesar lo más rápido posible.

Por otra parte, se sugieren formas de limpieza para disminuir la actividad microbiológica y así disminuir el CM en la caña de azúcar, obteniendo más azúcar al final del proceso.

3. Pérdidas de azúcar por consumo de sacarosa por parte de los microorganismos. Para poder sobrevivir, los microorganismos utilizan la sacarosa como materia prima. La ingieren para poder tener energía y poder seguir existiendo y reproduciéndose. Poder medir cuánta sacarosa es ingerida por los microorganismos es una cuestión difícil y existen varios métodos y experimentos que intentan obtener y medir cuánta sacarosa se pierde por este medio.

La razón por la cual existen varios métodos es porque cada uno tiene sus propias ventajas y desventajas. Para poder llegar a una conclusión de cuánta sacarosa es desperdiciada por el consumo de los microorganismos, hay que determinar cuál será el método a utilizar. Se escogió el más confiable y con más ventajas, método que resultó ser el de la resazurina. Por medio de este experimento se logró determinar una ecuación que describe cuánta sacarosa es procesada por los microorganismos y así se puede obtener cuánta fue la pérdida económica.

A continuación se hará un análisis de cuáles son las ventajas y desventajas de cada una de las pruebas que existen para determinar la sacarosa perdida por los microorganismos.

4. Ventajas y desventajas de experimentos para obtener actividad microbiológica

a. **Cromatografía de sacarosa.** Con un coeficiente de correlación de 0.1 a 0.5, la prueba de la cromatografía es poco fiable para medir la actividad microbiológica. Por otra parte, el método es complejo, tiene un alto costo y es poco operativo ya que los resultados no son obtenidos sino hasta 24 horas después y no se puede conocer sino hasta el siguiente día si el CM de la caña de azúcar estaba alto y por ende no se pueden hacer métodos correctivos para disminuir la actividad microbiológica.

b. **Prueba de pol.** La prueba de pol tiene un coeficiente de correlación entre 0.11 y 0.45, lo que no representa un método fiable para poder medir la actividad microbiológica. Además, como se puede observar en la Gráfica 3 hay un aumento de pol y después disminuye. Esto no puede ser posible ya que supuestamente la pol debería de disminuir con la actividad microbiológica ya que los microorganismos están ingiriendo sacarosa, por lo que el porcentaje de sacarosa tiene que disminuir. Esto demuestra su poca fiabilidad para medir la actividad microbiológica.

c. **Prueba de pureza.** La prueba de pureza depende de la prueba pol ya que la forma de obtener este dato de pureza es por medio del cociente entre pol del azúcar y brix del jugo de la caña. Debido a esto es que la prueba de pureza tampoco es un método fiable para medir la actividad microbiológica ya que si la prueba pol, como se vio anteriormente, no es fiable, el error se propaga a este método, haciéndolo de igual forma poco fiable.

Por otra parte, para terminar de justificar la poca fiabilidad del método, se puede observar que el coeficiente de correlación se encuentra 0.03 y 0.48, lo que representa una correlación bastante baja y por ende se confirma que el método de pureza no es fiable para la obtención de la actividad microbiológica en la caña de azúcar.

d. **Prueba de pH.** Con un coeficiente de relación de 0.47 a 0.81, la prueba de pH pareciera ser una de las mejores opciones para poder medir la actividad microbiológica, sin embargo, la caña de azúcar tiene su propio pH y por ende esto también influenciará en los resultados. Debido a esto es que se vuelve poco fiable para poder medir la actividad microbiológica, pese a que su coeficiente de relación es relativamente alto.

e. **Capacidad Buffer.** Debido a que la capacidad Buffer tiene un coeficiente de correlación respecto al tiempo entre 0.2 y 0.5, no representa una prueba fiable para obtener la cantidad de microorganismos presentes en el jugo de caña.

f. Prueba de resazurina. La prueba de la resazurina mostró un coeficiente de correlación en un rango de 0.84 y 0.93, por lo que demuestra ser la más fiable para poder medir la actividad microbiológica de la caña de azúcar. Por otra parte, tiene las ventajas que su costo es bajo y la forma de hacer el experimento es bastante sencillo, por lo que no se tiene que invertir en capacitaciones costosas para que las personas en los laboratorios sepan cómo hacerlo.

5. Análisis Beneficio/Costo sobre la utilización del método de la resazurina. Conociendo el ahorro potencial de disminuir el CM en un 0.5, se puede llegar a hacer un análisis de beneficio/costo para determinar si es rentable hacer algún tipo de cambio para que la actividad microbiológica disminuya. Esto se obtuvo dividiendo el ahorro potencial obtenido por medio de la disminución de la cachaza, dividiéndolo dentro del costo que tiene la resazurina durante los seis meses que dura la zafra.

$$\frac{\text{Beneficio}}{\text{Costo}} = \frac{\text{Quetzales de azúcar ahorrados por zafra}}{\text{Costo de prueba de resazurina durante toda la zafra}}$$
$$= \frac{Q. 883,082.32}{Q. 10,250.00 * 6 \text{ meses}} = 14.36$$

Por cada quetzal invertido en el método de la resazurina, el beneficio será de Q.14,36 en el Ingenios Pantaleón, único lugar en donde se realizó el análisis de la pérdida de sacarosa en cachaza.

6. Pérdidas por microorganismos. Las pérdidas por microorganismos en el proceso de molino para lograr jugo mezclado ascienden a Q.2,835,736.48 en utilidad con un CM de 0.5 extra y a Q.945,245.49 con el aumento del CM de 0.1. Por medio de mejores limpiezas y cortas estadías de la caña de azúcar en el patio se podría lograr mantener bajo el CM y de esta forma lograr mayores utilidades

7. Pérdidas de azúcar por aterronamiento en el azúcar refinado. Los ingenios producen azúcar para consumo interno y externo pero el proceso que conlleva el azúcar para exportación es más prolongado debido a que se requiere refinar el azúcar. El azúcar tiene que cumplir ciertos estándares de calidad y si no los satisface será rechazado y tendrá que ser reprocesado, lo que conlleva a un aumento del costo de producción y por lo tanto una reducción de la utilidad. Como se puede observar en los resultados, son 149,720 toneladas rechazadas y la pérdida de ingresos asciende a Q.479,966.70 únicamente por rechazo. Luego se puede reprocesar para que se pueda vender, con una utilidad más baja.

Según Aycinena (2013), las condiciones de almacenaje no son adecuadas ya que el azúcar es almacenada en envases semirrígidos que crean condiciones en donde los cristales son propensos a absorber agua y crear aglomeraciones. Ella propone que se pueda hacer un control más rígido de la temperatura y humedad. Por otra parte, también propuso que se haga un almacenamiento del producto a granel, siempre y cuando se puedan mantener la calidad e inocuidad del producto. Por medio de este método se obtiene una fluidez de los cristales y se puede prevenir la aparición del fenómeno de aterronamiento.

Se puede hacer una inversión de adquirir aires acondicionados para mantener un ambiente adecuado. Sin embargo, esta inversión tendrá un costo fijo mensual, que será la electricidad que utilizan los aires acondicionados. Según la calculadora Surrey de Watts necesarios para dimensionar un área con aire acondicionado, la cantidad de Watts para tener un dimensionamiento adecuado para una bodega de almacenaje como la del Ingenio Pantaleón es de 100,957 Watts, lo que representa 72,689.13 kWh al mes por utilizar 24 horas el aire acondicionado. Esta energía es equivalente a 436,134.78 kWh utilizados durante los 6 meses de zafra y representa 1.93 veces más de la energía generada durante toda la zafra 2012/2013 por medio del bagazo (con el bagazo se generaron 225,852 kWh).

Esto representaría no sólo que ya no pudieran vender energía, sino que tendrían que estar pagándole a la empresa eléctrica el exceso que están teniendo por tener estos aires acondicionados, por lo que la propuesta no es recomendable para que el ingenio la pueda aplicar.

Adquirir una nueva estructura para almacenar el producto a granel puede ser una inversión que a largo plazo puede ser la mejor opción. Las pérdidas por aterronamiento son de casi medio millón de quetzales, por lo que se podría evaluar si se pueden adquirir estructuras adecuadas para poder almacenar el azúcar como se puede ver en el anexo 2. En este caso no se tendría un costo fijo mensual tan elevado como el de los aires acondicionados ya que únicamente habría que utilizar energía para mover el azúcar y esto se hace por bandas transportadoras que no consumen tanta energía como un aire acondicionado para tales condiciones.

8. Pérdidas económicas operativas por incremento de la actividad microbiológica. Debido a la viscosidad creada por los microorganismos, el proceso de producción se vuelve más lento y se puede llegar a tener la fábrica a tope, es decir, a su máxima capacidad y de esta forma podría ser que haya que parar algunos procesos para que se terminen de completar. Algunos de los procesos que son afectados por la viscosidad son la clarificación y en la cristalización.

En la clarificación el problema operativo sucede cuando hay tanto lodo que ya no se puede seguir ingresando jugo de caña. En ese momento se detiene la producción hasta que se extrae todo el lodo que está impidiendo que se pueda ingresar más jugo de caña. La creación de este lodo sucede ya que debido a la viscosidad creada por los microorganismos y por lo tanto hay menos sedimentación.

Por otra parte, en la cristalización, los tachos trabajan a una menor velocidad cuando tienen meladura con mayor viscosidad por lo que se tardan más procesándola a azúcar y melaza. Si los tachos están en su máxima capacidad, se tiene que detener el ingreso de meladura hasta que los tachos procesen la que está en su interior, alentando el proceso de producción y creando una pérdida para el ingenio.

Por último, la viscosidad creada por los microorganismos provoca que el transporte de los fluidos sea más lento y por ende el proceso de producción sea más lento. Esto provoca que los ingenios tengan una menor eficiencia ya que tienen que trabajar a una menor velocidad en comparación a la cual podrían estar trabajando si hubieran disminuido el CM de la caña de azúcar para evitar que el jugo de caña tuviera una viscosidad alta.

Estos problemas en general están atrasando la producción, que representa un costo para el ingenio, sin embargo, también hay que tomar en cuenta que si se vuelve más lento el proceso de producción, la caña de azúcar espera más tiempo para ser procesada, por lo que el CM de la misma se eleva y siguen apareciendo este tipo de problemas. Esto se vuelve una especie de círculo vicioso, por lo que hay que intentar eliminar el problema desde sus inicios.

IX. CONCLUSIONES

- ✓ En los productos intermedios del proceso de producción de azúcar en la industria guatemalteca, los aspectos como la ecología microbiana, temperatura y tiempo de proliferación bacteriana son relevantes y de gran importancia para el desarrollo de lactobacilos dextranogénicos por lo que se debe evaluar la eficiencia de las pruebas tradicionales que se manejan actualmente en los ingenios para establecer la eficiencia y confiabilidad de las mismas de la actividad microbiológica en dichos productos del proceso como en el jugo de caña.
- ✓ Se desarrolló un método analítico para la obtención del coeficiente de elongación de cristales en Masas de tachos para controlar si las medidas de mitigación contra la actividad microbiológica funciona o necesita de mejoras con el fin de utilizarse como un indicador de la calidad de la producción final obtenido y al mismo tiempo análisis para realizar acciones correctivas en el proceso.
- ✓ El aumento en el CM del jugo diluido representa un aumento en el consumo de sacarato que se ve reflejado en el aumento de incrustaciones en los evaporadores, al mismo tiempo da un incremento en el porcentaje total de lodos que genera problemas en los filtros de cachaza en los cuales es importante mantener un adecuado control de la temperatura para mantener la actividad microbiológica baja.
- ✓ Se estima que la levadura es el microorganismo con una mayor prevalencia en los tándems de los ingenios de Guatemala, así como en las etapas intermedias del jugo claro y soluciones los microorganismos con más incidencia son los termófilos aerobios. Mientras que la presencia significativa del hongo miceliar varía dependiendo del Ingenio evaluado, pero presentaron una morfología de hifas, hifas septadas y en esporulación.
- ✓ El principal problema del atterramiento se da en el punto de almacenamiento del azúcar refinado dado a las condiciones no ideales.
- ✓ Se determinó que sí hay relación entre la temperatura y actividad microbiológica en los lodos de cachaza del ingenio Concepción y que los efluentes en los tándems que podrían ser críticos en pérdidas de sacarosa del ingenio Magdalena se encuentran en las aguas de desecho.

- ✓ La susceptibilidad de las bacterias difiere según el tipo de biocida que se utilice. Los resultados que existe mayor susceptibilidad de la microbiota hacia el biocida compuesto por carbamato mientras que son menos susceptibles hacia y el ácido B del extracto de lúpulo. Los biocidas compuestos por aminas cuaternarias, benzotiazol y povidone parecen tener la misma efectividad.

- ✓ Las pérdidas estimadas en el Ingenio Pantaleón de origen microbiológico causadas por incremento de 0.5 de CM en cachaza y jugo mezclado fueron de Q.883,082.32 y Q.2,835,836.48 respectivamente. Así mismo el aterronamiento en el Ingenio Concepción del azúcar es causante de una pérdida de 149,720 toneladas de azúcar rechazada, que equivalen a Q. 479,966.70 en ingresos.

X. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda el estudio, desarrollo e implementación de pruebas indicadoras de actividad microbiológica tanto por análisis de sus efectos, subproductos, pérdidas, comportamiento de bacterias en el medio en todos los productos intermedios de la extracción de caña, incluyendo tipos de jugos, maceraciones y mieles en el proceso de producción de azúcar.
- ✓ Establecer el método de elongación de cristales en las industrias azucarera con una manera interna de control de calidad del producto final y los efectos de la actividad microbiológica en el mismo.
- ✓ Realizar los modelos de evaluación de clarificación y evaporación durante la zafra 2013-2014 para poder evaluar los resultados a diferentes escenarios a escala industrial respecto a incrustaciones en tubos, cantidad de cal añadida, cantidad de soda cáustica y ácido clorhídrico que se utiliza para remoción de incrustaciones en evaporadores y el CM.
- ✓ Llevar un inventario en el cual se denote algún cambio realizado durante el proceso el cual se pueda reflejar si pudo haber influenciado en el desarrollo de la microbiota ya que puede llegar a tener un impacto económico significativo para la industria azucarera.
- ✓ Adecuar los materiales de construcción de bodega para minimizar cambios drásticos de temperatura y humedad y ambiente e implementar un sistema de acondicionamiento.
- ✓ Se recomienda en el Ingenio Concepción realizar un seguimiento constante de los tests de reszurina, dextrana y fermentación espontánea en los puntos establecidos de filtros y cachaza. En el ingenio Magdalena se recomienda implementar un sistema de control cuantificable de las pérdidas de azúcar en los desechos de agua por medio de pruebas de HPLC, y trazas.
- ✓ Se recomienda realizar más estudios a escala industrial acerca del efecto de los biocidas en fábrica y comparar si estos son los mismos a nivel del laboratorio.
- ✓ Incorporar al estudio una evaluación económica de la reducción de la actividad microbiológica con el uso de biocidas.

- ✓ Se recomienda el estudio, desarrollo e implementación de pruebas indicadoras de actividad microbiológica tanto por análisis de sus efectos, subproductos, pérdidas, comportamiento de bacterias en el medio en todos los productos intermedios de la extracción de caña, incluyendo tipos de jugos, maceraciones y mieles en el proceso de producción de azúcar.
- ✓ Establecer el método de elongación de cristales en la industria azucarera con una manera interna de control de calidad del producto final y los efectos de la actividad microbiológica en el mismo.
- ✓ Realizar los modelos de evaluación de clarificación y evaporación durante la zafra 2013-2014 para poder evaluar los resultados a diferentes escenarios a escala industrial respecto a incrustaciones en tubos, cantidad de cal añadida, cantidad de soda cáustica y ácido clorhídrico que se utiliza para remoción de incrustaciones en evaporadores y el CM.
- ✓ Llevar un inventario en el cual se denote algún cambio realizado durante el proceso el cual se pueda reflejar si pudo haber influenciado en el desarrollo de la microbiota ya que puede llegar a tener un impacto económico significativo para la industria azucarera.
- ✓ Adecuar los materiales de construcción de bodega para minimizar cambios drásticos de temperatura y humedad y ambiente e implementar un sistema de acondicionamiento.
- ✓ Se recomienda en el Ingenio Concepción realizar un seguimiento constante de los tests de reszurina, dextrana y fermentación espontánea en los puntos establecidos de filtros y cachaza. En el ingenio Magdalena se recomienda implementar un sistema de control cuantificable de las pérdidas de azúcar en los desechos de agua por medio de pruebas de HPLC, y trazas.
- ✓ Se recomienda realizar más estudios a escala industrial acerca del efecto de los biocidas en fábrica y comparar si estos son los mismos a nivel del laboratorio.
- ✓ Incorporar al estudio una evaluación económica de la reducción de la actividad microbiológica con el uso de biocidas

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, A, *et al.* (2012). «Desarrollo de la implementación del sistema de control microbiológico en la industria azucarera.» Megaproyecto Universidad Del Valle De Guatemala. 413 págs.
- Aiba, S. Humprey, A.E y N.F. Millis. 1970. Biochemical Engineering. Edición Ciencia y Técnica. Instituto del libro, La Habana.
- Álvarez, C, *et al.* (2008). Establecimiento de un sistema de control microbiológico para la industria azucarera. Megaproyecto Universidad del Valle. Guatemala. 431 págs.
- Amari *et. al* (2012) Characterization of a novel dextransucrase from *Weissella confusa* isolated from sourdough. Appl Microbiol Biotechnology 4447-4478
- Anderson, E. 1956. Fenómeno de fermentación bacteriana en el proceso azucarero de remolacha. Zeitz fur Zuckerind.
- Anderson, Sweeney, Williams. (2008). 19.4 Prueba de Kruskall-Wallis, Estadística para administración y economía, 10ª edición, página 833 – 834
- Antier P. 1996. *Microbiological Control in a Cane sugar Mill: implications on Sugar Quality and on losses*. Proceeding of the South African Sugar Technologist Association. V 7 p. 185 – 188.
- Antier, P. (1996) Microbiological control in a cane sugar mill: implications on sugar quality and losses. Proc s afr sug technol ass 70: 185-187.
- Arguello, G. (n.d.). Términos comunes de la industria panelera en el Estado Trujillo. Sistema de Informacion Agricola Nacional - Inicio. Retrieved May 29, 2013, from http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd67/texto/garguello.htm
- Asadi, M. (2007). Beet-Sugar Handbook. New Jersey: John Wiley & Sons.
- ASAZGUA. (2012) *Asociación de Azucareros de Guatemala*. <http://www.azucar.com.gt/index.html>. Fecha de consulta marzo del 2012
- Asociación de Azucareros de Guatemala. 2012. Estadística. Guatemala. Visitado el 20 de marzo de 2013. Sitio web: <http://www.azucar.com.gt/economia2.html>
- Avelar, A, *et al.* (2011). *Control microbiológico, sistemático y Gradual en un Ingenio Azucarero*. Guatemala. 366 págs.
- Aycinena. M. 2013. Identificación y métodos para evaluación de pérdidas en cristales de azúcar crudo y refino en el Ingenio Concepción. Tesis UVG. Revisado el 13 de septiembre de 2013
- Azasgua. (2012). Estadística de producción zafra 2011/12.
- Azasgua. 2013. Producción. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: <http://www.azucar.com.gt/economia.html>
- Azucarera. Historia del azúcar. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: http://www.azucarera.es/conoce_historia_azucar.php#
- Balsells, D, *et al.* (2009). *Optimización de procedimientos de laboratorio y económicos en control microbiológico en la industria azucarera*. Tesis Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala, Guatemala. Bioquímica y Microbiología e Ingeniería industrial. 201 págs.
- Banguat. 2013. Valor (CIF) de las importaciones y valor (FOB) de las exportaciones por producto de la industria agropecuaria, extractiva y manufacturera. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: http://www.banguat.gob.gt/inc/ver.asp?id=estaeco/comercio/por_producto/prod0207_DB001.htm&e=107698

- Banguat. Tipo de cambio compra promedio ponderado del mercado institucional de divisas. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: <http://www.banguat.gob.gt/inc/ver.asp?id=/imm/imm02>
- Barchart. 2013. Azúcar #11 Mayo 2013 (SBK13). Revisado en línea el 11 de mayo de 2013 en: <http://www.barchart.com/chart.php?sym=SBK13&t=BAR&size=M&v=2&q=1&p=M&d=X&q=1&style=technical&template=>
- Barrangou, R, et. al. (2002). *Characterization of six Leuconostocfallax Bacteriophages Isolated from An Industrial Sauerkart Fermentation*. Estados Unidos. Applied and environmental Microbiology.
- Bastidas. L. 2011. Origen geográfico de la caña de azúcar. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: http://unefmagronomia-spici-canazucar.blogspot.com/2011/03/origen-y-distribucion-geografica-de-la_11.html
- Begerow. (n.d.). Controlled Spontaneous fermentation. Retrieved May 22, 2013, from www.begerow.com/fileadmin/user_upload/F_B/Produkte/1B2254.pdf
- Beta San Miguel S.A. de C.V. (2002). Ingenio San Miguel del Naranjo. Proceso de producción de azúcar. Cámara Nacional de la Industria azucarera y alcoholera.
- Björkroth, J., y W. Holzapfel. (2006) Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*, p.267-319. In M. Dworkin (ed.), *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*, Vol 4. 3era Edición, Springer.
- Blanco, O.G. (1995). *Implementación del test de resazurina como prueba rápida para estimar el número de microorganismos presentes en el jugo de caña*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Bregni. M. 2013. Caracterización y optimización de los test de fermentación espontánea y capacidad buffer como indicadores de actividad microbiana en jugos y cepas individuales. Tesis UVG. Revisado el 13 de septiembre de 2013
- Camacho, C. 2002. Coeficiente de correlación lineal de Pearson. Revisado en línea el 21 de septiembre de 2013 en: <http://personal.us.es/vararey/adatos2/correlacion.pdf>
- Carr, J; C. Cutting y G. Whiting. (1975). *Occurrence and effects of Lactic Acid Bacteria in sugar industry*. Academic Press London.
- Casas, Lourdes, et al. (2001). <<Determinación de azúcares reductores en miel final por cromatografía líquida de alta resolución>>. *Centro Azúcar*. 2: 17-22.
- Castillo G. H., Severiano P.P., Ramírez B.L., Durán R.M.del C. (2000). Validación de las metodologías analíticas para la medición de sacarosa en mieles incristalizables de ingenios azucareros usando dos tipos de polarímetro y un cromatógrafo de líquidos de alta resolución. Facultad de química, UNAM. México. *International Sugar Journal* vol 102. No. 1223. Pág 616.
- Castillo, J. 2005. La cal en la industria azucarera. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: http://anfcal.org/media/Biblioteca_Digital/Alimentos/LA_CAL_EN_LA_INDUSTRIA_AZUCARERA.pdf
- Castrillón, N., Pabón, B., Reif-Acherman, S. 2011. Influencia de las condiciones del secado en el aterronamiento y la compactación del azúcar almacenado. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/264/1/Influencia%20de%20las%20condiciones%20del%20secado%20en%20el%20aterronamiento%20y%20la%20compactación%20del%20azúcar%20almacenado.pdf>
- Catano, A. (n.d.). Revista La Era Agrícola N° 18. Revista La Era Ecológica. Retrieved May 29, 2013, from http://www.eraecologica.org/revista_18/era_agricola_18.htm?abono.htm~mainFrame
- Cavallini, E. Coronado, M. Chavarría, F., Hidalgo, J. (2005). *Bacteriología general: Principios y Prácticas de Laboratorio*. Sección III. Tinciones diferenciales. Tinción Gram. página 63 – 65

- Cenicaña. (2004). Producción de variedad de caña. Política de manejo de las variedades obtenidas por Cenicaña. Memorando ejecutivo No. 063-2004. Pág 8.
- Chen, J., & Chou, C. (1993). Cane sugar Handbook. New York: John Wiley & Sons.
- Chen, Y; M.M. Abraham, L.C. Templeton y W.P Unruh. (1975). *Role of hydrogen and deterrium on the V—center formation of MgO*. Estados Unidos. American Physical Society. Volume 11. Issue 2
- Chou, C. 2000. Handbook of sugar refining. Estados Unidos. John Wiley and Sons, Inc.
- Cock, Liliana *et al.*(2010). <<Cinética de fermentación y acción antimicrobiana de *Weissella confusa* contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*>>. *Rev. Rac. Ing. Antioquia*. 55: 55-56.
- Coguanor. 1986. Azúcar Refinado. Guatemala. Coguanor Ministerio de Economía de Guatemala. NGO 34-034.
- Cole *et. al.* (2009) The Ribosomal Database Project: improved alignments and new Tools for rRNA análisis. *Nucl. Acids Res.* 37(1): D141-D145
- Colindres, L. 2013. Evaluación y reingeniería de los procedimientos de acondicionamiento de la caña para la extracción en el Ingenio Pantaleón. Tesis UVG. Revisado el 16 de octubre de 2013
- Cuervo, R, *et al.* (2010). <<Aislamiento y control microbiológico de *Leuconostoc mesenteroides* en un ingenio para optimizar el rendimiento de azúcar y etanol>>. *Ciencias Agropecuarias*. 8 (2): 32-40.
- Daeschel, M; J, Mundt y I, Mccartyv. (1981). *Microbial Changes in Sweet Sorghum (Sorghum bicolor) Juices*. Estados Unidos. Applied and environmental microbiology. Vol 42. No. 2
- Dang, Chi. (2013). <<Role of aerobic glucólisis in genetically engineer mouse models of cancer>>. *BMC Biology: Journal of Biology*. 11 (3): 1-4.
- Del Sugeyrol, M. (2008). Efectos de Microbicidas y Antagonistas Microbianos sobre Microorganismos Causales del Deterioro Poscosecha de Caña y su Impacto en las Pérdidas de Sacarosa en el Ingenio. Instituto Politécnico Nacional. México, pág 93.
- DGPLADES, 2008. Análisis costo beneficio. Revisado en línea el 11 de septiembre de 2013 en: <http://www.dgplades.salud.gob.mx/descargas/dhg/ACB.pdf>
- Duarte, E.; Guillermo, A.; Polanco, N.; López, N. (1982) Análisis microbiológico de productores azucareros. Revista científico-técnica [cuba].
- Duran, F. (ND). *La biblia de las recetas industriales*. N/D: Grupo latino editores.
- Dzul *et. al* (2011) Contribution of the *Klebsiella pneumoniae* Capsule to Bacterial Aggregate and Biofilm Microstructures. *Appl Environ Microbiol* 77(5): 1777–1782.
- Egan, B.T y Rehbein, C.A (1963) Bacterial deterioration of mechanically harvested cut-up sugar cane during storage over weekends. *Proc Queensland Soc Sug Cane Technol* 30: 11-25.
- Eggleston, G, Harper, W. (2005). *Determination of sugarcane deterioration at the factory: Development of a rapid, easy and inexpensive enzymatic method to measure mannitol*. USDA-ARS-Southern Regional Research Center. Food Chemistry 98 366–372
- Eggleston, G. (2001) *Deterioration of cane juice—sources and indicators*. Southern Regional Research Center. Food Chemistry 78 95–103
- Eggleston, G. (2002). *Deterioration of cane juice-sources and indicators*. *FoodChemistry* , 78, 95-103.
- Eggleston, G; Marel du Boil PG; Wlaford SN. (2008) A review of sugarcane deterioration in the United States and South Africa. *Proc S Afr Sug Technol Ass* 81:72-85.

- Eiguero, Xiomara. (2000). *Comparación de la reproducibilidad de dos métodos para la determinación de azúcares reductores en el jugo de caña de azúcar*. Tesis Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala, Guatemala, Químico Biologo. 39 págs
- Escartín Fernández Eduardo. *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. Editorial Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México, 2000. ISBN 9709-2630-05.
- F. Marchal¹ H. Robert, N. Merbahi, C. Fontagné-Faucher, M. Yousfi, C. E. Romain. (s.f) Treatment of *Weissella confusa* biofilms with low temperatura plasma jet at atmospheric pressure. Université de Toulouse, France F-32000.
- Farine S., Estoupan S., Pulgserver A., Biagini A., Malgoyre R. (2000). Degradation of sucrose during sugar processing III: Conditions for clear liquor storage. International. Sugar Journal. Vol 102.No. 1287. Pág 248.
- Filtro rotativo. (n.d.). Filtro Rotativo de cachaza. Retrieved May 20, 2013, from www.basingeneria.com/es/img/filtro-rotatorio-de-vacio.jpg
- Flores, S. 1976. Manual de caña de azúcar. Editorial INTECAP instituto técnico de capacitación y productividad. Guatemala C.A. 171 páginas
- Francisco, G.; Li, Z. *et al.* (2003) Phenyl thiazolyl urea and carbamate derivatives as new inhibitors
- Frank, J.; Reich, C.; Sharma, J.; Weisbaum, J.; Wilson, B y Olsen G. (2008) Critical evaluation of two primers commonly used for amplication of bacterial 16S rRNA genes. *Appl and Environ Microbiol*: 2461-2470
- Fuentes Navarro, S. (2006). *Optimización del proceso de fabricación de azúcar blanca para mejorar la calidad en el Ingenio Santa Teresa, S.A*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Mecánica Industrial
- FXcuisine.com zoomed image Image Photo Picture. (2013). FXcuisine.com >> Home. Retrieved May 10, 2013, from <http://fxcuisine.com/zoom-image.asp?image=http://images.fxcuisine.com/blogimages/swiss-cuisine/aarberg/aarberg-sugar-factory-35-1000.jpg&t=>
- García, A. (2001). Modelado y Simulación de Procesos Batch, Sección de cristalización de una Azucarera. Centro de Tecnología Azucarera Universidad de Valladolid. España.
- Guerin-mechin, I; Dubois-brissonnet, F; Heyd, B. *et al.* (2000) Quaternary ammonium compound stresses induce specific variation in fatty acid composition of *pseudomonas aeruginosa*. *International journal of food microbiology* (55): 157-159
- Guía de Protección Ambiental Tomo II: Economía Agropecuaria. (1996). Minería y Energía, Actividades Industriales y Artesanales (GTZ/BMZ). Actividades industriales y artesanales, 56. Azúcar, 751 pages
- Guzmán, R. 2011. Actualización de los Procedimientos Organizacionales y Financieros del control microbiológico en la industria azucarera. Tesis UVG. 83 Págs. Revisado el 10 de septiembre de 2013.
- Hernández, M, *et al.* (1986). Microbiología de la producción azucarera. Producciones microbianas derivadas. Universidad Central de las Villas. Cuba. 270 págs.
- Hernández, M.T; Dauval, C; Pérez, M. E. (1978) Acción de *L. mesenteroides* y otros microorganismos sobre los componenetes del jugo de caña. *Centro azúcar* 5(1): 69-97. Cuba
- Hernández, María Teresa, *et al.* (1986). *Microbiología de la producción azucarera. Producciones microbianas derivadas*. Universidad Central de las Villas. Cuba. 260 págs.
- Hernández, MT. Diciembre 2007. Curso de Microbiología de la producción azucarera. Universidad del Valle de Guatemala.

- Herrera, S. 1999. Azúcar y Transformación del Colonato como Práctica Económica Social y Referente Indetitario en Mozos de Ranchería de la Costa Sur de Guatemala. Tesis, USAC. 6-7.
- Honig, P. (1969) principios de tecnología azucarera: tomo iii, parte 3: microbiología azucarera. Compañía editorial continental s. A, México.
- Hugill, Anthony. 1978. Sugar and all That. Gentry Books.
- Hugot, E. (1972). *Handbook of Cane Sugar Engineer*. Amsterdam: Elsevier Pub.
- Hugot, E. 1972. Handbook of Cane Sugar Engineer. Amsterdam. Elsevier Pub.
- Huitz, Edgar. Comunicador Personl. Enero 2013-Mayo 2013.
- INDUSTRIAL | Pantaleon. (n.d.).Pantaleon. Retrieved May 29, 2013, from <http://www.pantaleon.com/industrial>
- Ingenio Pantaleón. Revisado en línea el 13 de julio de 2013 en: http://www.pantaleon.com/sites/default/files/popup/pop_up.html
- Isaacs, C. (2006). *Misión Tecnológica a la Industria Azucarera de Guatemala*.Santiago de Cali, Colombia.
- Isaacs, C. 2006. Misión Tecnológica a la Industria Azucarera de Guatemala. Santiago de Cali, Colombia.
- Isaacs, Camino, et al. (2005). *Misión tecnológica ala industria azucarera de Guatemala*. Contrato Colciencias. Convenio No. 467-2004. Santiago de Cali, Colombia. 28 págs.
- James, C.P. (1996). Manual de azúcar de caña. Para fabricantes de azúcar de caña y químicos especializados. Edit Limusa. México.
- James, Glyn. 2004. Sugarcane.Blackwell Publishing.
- Jarvis, B. (2008) Statistical Aspects of the Microbiological Examination of Foods. Second Edtion. Elsevier, U.S
- Javeriana. 2008. Acidez y pH. Revisado en línea el 28 de septiembre de 2013 en: <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/agua.html>
- Jenkins, G.H. 1966. Introduction to sugar cane technology. Elsevier Pub.
- Jenkins, G.H.(1966). Introduction to sugar cane technology. Elsevier Pub.
- Jiménez, Efraín. (2005). *La dextranasa a lo largo de la industria azucarera*. Biotecnología Aplicada. 22: 11-19.
- Joint Genome Institute (JGI) Microbes. (1999). *LeuconostocMesenteroides*. Visitado el 20 de noviembre de 2012. Sitio web: http://genome.jgi-psf.org/finished_micobes/leume/leume.home.html
- Kaplinski, R. 1984. Sugar processing: The development of a Third-World Technology. Intermediate technology publications.
- Kloos, W. E.; Schleifer K. H., Smith R. F. (1976). "Characterization of Staphylococcus sciuri sp.nov. and Its Subspecies". International Journal of Systematic Bacteriology 26 (1): 22–37
- Larrahondo, J. (1995). Calidad de la Caña de Azúcar. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia CENICAÑA. Colombia.
- Larrahondo, J. 1995. Calidad de la caña de azúcar. En: *Cenicaña. El Cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia, Cali, CENICAÑA, 1995. p.337-354*
- Larrahondo, J. Viveros, C. Victoria, J. (2009). *Deterioration in sugarcane after harvest: An approximation of the kinetics of the chemical process and varietal differences*. Sugar Tech 11(2) : 217-218
- Larrahondo, Jesús. (1995). <<Calidad de la Caña de Azúcar>>. *El cultivo de la caña de la zona azucarera de Colombia*. Colombia: CENICAÑA. Págs. 337-354.

- Leather, T y G. Coté. (2008). <<Biofilm formation by exopolysaccharide mutants of *Leuconostoc mesenteroides* strain NRRL B-1355>>. *Appl Microbiol Biotechnol.* 78 : 1025-1031.
- Leather, T.D y Côte, G.I. (2008) Biofilm formation by exopolysaccharide mutants of *leuconostoc mesenteroides* strain nrll b1335. *Appl microbiol biotechnol* 78:1025-1031.
- Lennon, J. (2011). Replication, lies and lesser-known truths regarding experimental design in environmental microbiology. *Envir Microbiol* 13(6): 1384-1386
- Magni, D. (n.d.). ScienceDirect.com - Analytica Chimica Acta - Artificial neural networks study of the catalytic reduction of resazurin: stopped-flow injection kinetic-spectrophotometric determination of Cu(II) and Ni(II). ScienceDirect.com | Search through over 11 million science, health, medical journal full text articles and books.. Retrieved May 29, 2013, from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000326700401373X>
- Majumder, A. (2007). An overview of purification methods of glycoside hydrolase family 70 dextranucrase. *Indian Microbiol*, 47, 197-206.
- Mathlouthi, M. Rogé, B. 2010 Caking of White crystalline sugar. Université de Reims Champagne. France.
- Maxwell, A. (1997) Dna gyrase as drug target. *Trend in Microbiol* 5(3): 102-109.
- Mayeux, J et. al. (1962). *A selective médium for detecting Leuconostoc organisms in mixed-strain starter cultures.* Journal of Dairy Science
- Meade, G., Spencer, G. (1963). *Spencer-Meade Cane Sugar Handbook.* J. Wiley.
- Miranda, Franty. Comunicador Personal. Febrero 2013-Mayo 2013.
- Mirón, Danilo. (1998). *Conozca la industria azucarera en Guatemala.* Guatemala: Artemis Edinter.
- Mora, Z. (1994) Impacto de la microbiología en la fabricación del azúcar: estudio del impacto de las microfloras contaminantes durante la etapa de molienda de caña y sus efectos en el proceso de elaboración de azúcar. Colombia: programa fondo de nuevos desarrollos. Asocaña y Cenicaña. Editorial Orstom, 195pp.
- Morales, K. (2013). *Evaluación preliminar de la presencia de microbiota termófila, hongos miceliares y levaduras en productos azucareros.* Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala, Guatemala. Bioquímica y Microbiología.
- Morel du Boil, P. G. (1991). *The role of oligosaccharides in crystal elongation. Proceedings of the 1991 South African Sugar Technologists Meeting* (pp. 171-178). Mount Edgecombe: South African Sugar Technologists' Association.
- Nelson, David y M. Cox. (2008). *Lehninger: Principles of biochemistry.* 5ta ed. USA. W. H. Freeman and Co. Nueva York, USA. 1158 págs.
- Neogen Cooperation. (2011). *Potatoe Dextrose Agar.* PI7149 Rev 4
- NFU Sugar. (2013). *Wissington factory.* Retrieved May 10, 2013, from www.nfusugar.com/Home/Wissington-factory/
- Núñez, O. 2013. Algunos resultados vinculados al efecto de la actividad microbiológica obtenidos en los últimos años. Revisado el 14 de septiembre de 2013 en Optimisa.
- Núñez, O. Comunicación personal. Septiembre de 2013.
- Núñez, Osbel. Comunicador personal. Junio 2012-Octubre 2013
- Organismo Argentino de Acreditación. (2011). *Guía para la validación de métodos microbiológicos.* Argentina. 17 págs.
- Ortiz. K. 2012. Implementación de mejoras a la base de datos del sistema y estimación de costos del efecto de la actividad microbiana en el tratamiento de jugo. Tesis UVG. 108 Págs. Revisado el 10 de septiembre de 2013

- Parul Srivastava, C. Chatterjee, A. K. Shrivastava, S. Solomon, A. K. Srivastava · B.K. Dube. (2009). *Post-harvest decline in commercial cane sugar and its relationship with quality parameters in sugarcane under sub-tropical climate*, Sugar Tech, 11(2) : 161-166
- Pérez. J.M., Pratt. L. (1997). *Industria Azucarera en Guatemala: Análisis de Sostenibilidad*, INCAE Scharlau Microbiology, 2011, PLATE COUNT AGAR (PCA) Technical Data Sheet, 064-BA1005
- Pfeifer & Langen. (2013). Pfeifer & Langen. Retrieved May 10, 2013, from <http://www.koelner-zucker.de/verarbeitung.php>
- Porta, A. (1955). *Fabricación del azúcar*. (Primera Edición). España: Salvat Editores, S.A.
- Porta, A. 1955. *Fabricación del azúcar*. Salvat Editores, S.A, Barcelona Primera edición 809 pp.
- Queipo-Ortuño, M.; Colmener, J.; Macias, M; Bravo, M.; Morata, P. (2008) Preparation of bacterial DNA template by Bowling and effect of immunoglobulin G as inhibitor in Real-Time PCR for serum samples from patients with brucellosis. *Clin Vaccine Immunol* 15(2): 293-296
- QuimiNet.com. (2007, August 8). *¿Qué es la cachaza?* QuimiNet.com - Información y negocios segundo a segundo. Retrieved May 29, 2013, from <http://www.quiminet.com/articulos/que-es-la-cachaza-23380.htm>
- Ramírez, Jenniffer. (2011). *Determinación de sacarosa invertida por efecto de recirculación de jugo clarificado de caña de azúcar, en un evaporador de placas de película descendiente*. Tesis Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, Guatemala. Ingeniería Química. 107 Págs
- Ravelo, S. B., Ramos, E. L., & Mejiras, R. (1991). *Sugar cane deterioration and its implications in the factory*. *International Sugar Journal*, 93, 82-86.
- Rein, P. (2007). *Sugar cane engineering*. Estados Unidos: Bartens
- Rein, P. 2007. *Sugar cane engineering*. Bartens
- Robles. E. 2012. *El azúcar en Guatemala, su producción y exportación*. Revisado en línea el 16 de agosto de 2013 en: <http://www.dequate.com.gt/artman/publish/produccion-guatemala/El-azucar-en-guatemala-su-produccion-y-exportacion.shtml#.Ug5UU5JyFic>
- Rodriguez, E. (2005). <<La dextranasa a lo largo de la industria azucarera>>. *Biotecnología Aplicada*. Cuba. 22: 11-19.
- Romeo, E. (2012). *Propuesta de Alternativas para la Reducción de Pérdidas de Sacarosa en un Ingenio Azucarero*. Universidad de El Salvador. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. El Salvador.
- Rosenblueth, M.; Martínez, L.; Silva, J.; y Martínez-Romero, E. (2004) *Klebsiella variicola*, a novel species with clinical and plant-associated isolates. *Syst Appl Microbiol* (1):27-35.
- Ruiz, Fermín. (2000). *El cultivo de la caña de azúcar*. 1era edición. San José, Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia. 419 págs.
- Russel, A. (2002, February 2). *Sugar Production from Sugar Cane | Practical Answers | Practical Action*. Practical Action mobile web site. Retrieved May 29, 2013, from <http://practicalaction.org/sugar-production-from-sugar-cane>
- Russell, A. D. (2003) Review: similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. *J of antimicrob chemotherapy* (52): 750-763
- Safe and efficient beet growing - Nordic Sugar. (2013). *Sugarproducts and fibres for industry, retail and animal feed - Nordic Sugar*. Retrieved May 10, 2013, from <http://www.nordicsugar.com/know-your-sugar/natural-sweetness/safe-and-efficient-beet-growing/>

- Salminen, S; A. von Wright y A. Ouwehand. (2004). *Lactic acid bacteria: Microbiological and Functional aspects*. 3ra edición. CRC Press.
- Samaraweera, I; Buschette, I; Rheult, I. *et.al.* (2011) Bench studies and factory trials with the use of the beta hop acid, betastab 10a. American crystal Sugar Company (31): 103-124.
- Sambrook, J y Russell, D. (2001) *Molecular cloning: a laboratory manual*, 3era Edición. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.
- Sandra Herrera. (1999). *Azúcar y Transformación del Colonato como Práctica Económica-Social y Referente Identitario en Mozos de Rancherías de la Costa Sur de Guatemala*, tesis, USAC. 6-7.
- Serrano G.L. (2006). *Determinación de las poblaciones microbiológicas en el proceso de extracción de jugo de caña de azúcar en el Ingenio Manuelita S.A.* Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Colombia Microbiología Industrial, 102 págs.
- Silliker, J.H. Elliot, R.P. Baird-Parker, A.C. Bryan, F.L. (1980). *Sugar, Cocoa, Chocolate and Confectioneries, Microbial ecology of foods*, Chapter 26. Volume 2. Food Commodities. International Commission on Microbiological Specifications for foods. página 278 – 300
- Skoog, D *et al.* (2008). *Fundamentos de Química Analítica*. 8ava edición. Editorial Thomson. 1171 páginas.
- Solomon, S. (2009). *Post-harvest deterioration of sugarcane*, Sugar Tech 11(2): 109-123
- Stackebrandt, E.; Frederiksen, W. *et. al.* (2002) Taxonomic note: Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology). Int J of Syst and Ev Microbiol 52:1043-1047.
- Sugar processing > Sugar > Südzucker. (2013). Startseite > Südzucker. Retrieved May 10, 2013, from <http://www.suedzucker.de/en/Zucker/Zuckergewinnung/>
- Surrey. Calculadora de frigorías. Revisado en línea el 17 de octubre de 2013 en: http://www.surrey.com.ar/herramientas/calculo_frigorias.htm
- Tadeo, F. (2012). Seguimiento de la Cristalización de azúcar mediante Procesado de Imagen con Wavelets. Universidad de Valladolid. Facultad de Ciencias. España.
- Technology. (n.d.). Sugar production from sugar cane. Retrieved March 5, 2013, from practicalaction.org/text/docs/technical_information_service/sugar_production_from_cane.pdf
- Túnez, I.; Galván, A.; Fernandez, E. 2003. PH y amortiguadores: tampones fisiológicos. Revisado en línea en <http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/06%20pH%20AMORTIGUADORES.pdf>
- Universidad de las Americas Puebla. 2012. La industria azucarera. Mexico. Visitado el 15 de agosto de 2012. Sitio web: http://caterina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lri/aroche_h_d/capitulo2.pdf.
- Universidad de Valencia. 2011. Introducción a la Cromatografía. Revisado en línea el 12 de septiembre de 2013 en: http://ocw.uv.es/ocw-formacio-permanent/2011-1-35_Manual.pdf
- Universidad de Zulia. 2003. Introducción al control de la calidad de la leche cruda. Guía práctica. Maracaibo. <http://www.members.tripod.com.ve/tecnología/introducción.html>
- Universidad Nacional de Colombia. 2006. Procesamiento y conservación de frutas. Revisado en línea el 12 de septiembre de 2013 en: <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006228/teoria/obpulpfru/p7.htm>
- Villatoro, Crista (2012). Sectorización de los procedimientos para evaluar y controlar la actividad microbiológica en jugos. Universidad del Valle de Guatemala (Trabajo de Graduación Ingeniería Química)
- Vogel, H. (1983). *Fermentation and biochemical engineering handbook*. Park Ridge, New Jersey: Noyes publications.

- Walford, Stephen. (2002). <<Applications of ion chromatography in cane sugar research and porcess problems>>. *Journal of Chromatography*. Elsevier. 956: 187-199.
- Ward, D. (1998) A natural species concept for prokaryotes. *Current Opinion in Microbiol* 1:271-277.
- Ward, W., & Goepf, R. (1984). *Chemistry of the carbohydrates*. New York: Academic press Inc.
- Watt, D.A., Cramer, M.D. (2009). *Post-harvest biology of sugarcane*, *Sugar Tech* 11(2): 142-145
- Woese, C. R. (1987) Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51:221-271.
- Woods, A. 1982. Bulk Storage- Weibull Silo. Nueva York. Visitado el 18 de mayo de 2013. <http://assbt-jsbr.org/JSBR/Vol12/JSBRVol12No2P135to140BulkSugarStorageWeibullSilo.pdf>
- World Sugar Production, Statistics - Groupe Sucres et Denrées. (2013).Home - Groupe Sucres et Denrées. Retrieved May 10, 2013, from <http://www.sucden.com/statistics>
- Zepeda Guardado, E. R (2012) Propuesta de alternativas para la reducción de pérdidas de sacarosa en un ingenio azucarero. . Universidad de El Salvador. (Tesis de Ingeniería Química)
- Zérega M. (1993). *Manejo y uso Agronómico de la Cachaza en Suelos Cañameleros*. Caña de Azúcar. Vol. 11 N° 2.
- Zossi, Silva, *et al.* (2010). <<Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán>>. *Rev. Ind. Agríc. De Tucumán*. 87 (1):15-27

XII. APÉNDICE

A. Datos originales

Desarrollo de un método para medir la deformación por elongación de cristales en masas cocidas de la producción azucarera

Cuadro 1. Descripción recopilada de las muestras analizadas para el Ingenio Madre Tierra.

No. De Muestra	Descripción	Fecha	Hora
1	masa B	01/05/2013	12:00
2	masa B	02/05/2013	8:00
3	masa B	02/05/2013	20:30
4	masa A	01/05/2013	12:00
5	masa c	02/05/2013	9:10
6	masa C	01/05/2013	12:00
7	masa c	02/05/2013	9:10
8	masa c	02/05/2013	23:25

Cuadro 2. Descripción recopilada de las muestras analizadas para el Ingenio Santa Ana.

No de Muestra	Descripción	Fecha	Hora
1	masa A	01/05/2013	15:00
2	masa A	01/05/2013	1:20
3	masa c	02/05/2013	12:00
4	masa c	02/05/2013	14:45
5	masa A	01/05/2013	12:00
6	masa c	02/05/2013	10:00
7	masa A	01/05/2013	6:35
8	masa c	02/05/2013	2:00
9	masa 2da (B)	02/05/2013	7:10
10	masa 2da (B)	01/05/2013	8:00

Cuadro 3. Descripción recopilada de las muestras analizadas para el Ingenio Magdalena.

No de Muestra	Descripción	Fecha	Hora
1	c	15/05/2013	8:50
2	c-2	13/05/2013	23:00
3	c1	14/05/2013	3:20
4	c-2	14/05/2013	6:30
5	c-2	12/05/2013	8:05
6	c-1	12/05/2013	8:05
7	A	13/05/2013	19:35
8	A	12/05/2013	15:20
9	A	11/05/2013	15:00
10	B	12/05/2013	19:05
11	c-2	11/05/2013	2:10
12	c-1	14/05/2013	19:40
13	c-1	13/05/2013	3:20
14	c-1	12/05/2013	3:00
15	c-1	13/05/2013	15:20
16	c-1	15/05/2013	11:30
17	B	11/05/2013	19:35
18	B	11/05/2013	2:10
19	c-1	01/05/2013	10:15
20	c-1	15/05/2013	23:10
21	B	15/05/2013	19:05
22	c-2	12/05/2013	3:00
23	c-2	15/05/2013	19:10
24	B	12/05/2013	12:00
25	c-1	15/05/2013	15:45
26	B	11/05/2013	13:50
27	A	13/05/2013	10:30
28	c-1	14/05/2013	15:25
29	c-1	13/05/2013	23:00
30	c-1	11/05/2013	19:15
31	c-1	15/05/2013	23:10
32	c-2	14/05/2013	10:15
33	c-1	11/05/2013	15:00
34	A	11/05/2013	3:50
35	A	15/05/2013	11:30
36	c-2	13/05/2013	6:05
37	c-1	13/05/2013	6:25
38	A	13/05/2013	3:20
39	c-1	13/05/2013	10:30
40	B	15/05/2013	15:20
41	A	12/05/2013	3:10
42	c-2	14/05/2013	15:25
43	c-2	13/05/2013	15:20
44	c-1	12/05/2013	12:30
45	A	11/05/2013	11:20

Cuadro 4: Descripción recopilada de las muestras analizadas para el Ingenio Pantaleón.

No de Muestra	Descripción	Fecha/ Día de Zafra	Hora
1	1era A	172	15:00
2	1era A	176	23:35
3	3era C	173	1:30
4	2da B	173	1:30
5	3era C	172	1:30
6	1era A	173	14:20
7	1era A	172	11:20
8	3era C	172	14:20
9	1era A	174	14:00
10	1era A	172	11:25
11	1era A	174	6:45
12	1era A	172	15:00
13	1era A	173	11:20
14	3era C	184	13:20
15	3era C	179	1:50
16	1era A	184	N/R
17	1era A	184	N/R
18	3era C	179	N/R
19	3era C	183	20:05
20	2da B	179	10:45
21	2da B	179	8:30
22	2da B	185	6:15
23	3era C	179	N/R
24	3era C	173	N/R
25	3era C	173	N/R

- N/R: No se reportó hora exacta de toma de muestra.

Cuadro 5. Descripción recopilada de las muestras analizadas para el Ingenio Santa Ana.

No de Muestra	Descripción	Fecha	Hora
1	masa A	01/05/2013	15:00
2	masa c	01/05/2013	1:20
3	masa c	02/05/2013	12:00
4	masa A	02/05/2013	14:45
5	masa c	01/05/2013	12:00
6	masa A	02/05/2013	10:00
7	masa c	01/05/2013	6:35
8	masa 2da (B)	02/05/2013	2:00
9	masa 2da (B)	02/05/2013	7:10
10	masa 2da (B)	01/05/2013	8:00

Cuadro 6. Promedio Acumulado de las Masa A, B y C por campo respecto al coeficiente de elongación de cristal del ingenio Madre Tierra.

No. De Campo	Promedio acumulado		
	Masa A	Masa B	Masa C
1	1.302541	1.297465	1.337495
2	1.298591	1.287546	1.324195
3	1.298546	1.290012	1.326485
4	1.297461	1.291041	1.346458
5	1.304561	1.284562	1.364197
6	1.305042	1.281262	1.351562
7	1.305162	1.281175	1.351795
8	1.302354	1.28129	1.351165
9	1.301973	1.281399	1.351084
10	1.302264	1.281794	1.351982
11	1.302294	1.281146	1.351448
12	1.302784	1.27999	1.351256
13	1.302794	1.281066	1.351872
14	1.302694	1.284595	1.351956
15	1.302164	1.284152	1.35147
16	1.302846	1.254162	1.35101
17	1.301862	1.286649	1.351665
18	1.302193	1.284473	1.351174
19	1.31012	1.289966	1.351452
20	1.311023	1.254499	1.334585

Cuadro 7: Promedio acumulado de las Masa A, B y C por campo respecto al coeficiente de elongación de cristal del Ingenio Magdalena

No. De Campo	Promedio acumulado		
	Masa A	Masa B	Masa C
1	1.3194	1.2594	1.269475
2	1.3275	1.2473	1.298394
3	1.3300	1.2536	1.274362
4	1.3199	1.2749	1.317495
5	1.3271	1.2758	1.316483
6	1.3345	1.2873	1.308462
7	1.3347	1.2869	1.307543
8	1.3339	1.2858	1.30815
9	1.3337	1.2873	1.306694
10	1.3361	1.2871	1.305549
11	1.3360	1.287	1.307946
12	1.3388	1.288	1.309875
13	1.3373	1.2866	1.308341
14	1.3365	1.2859	1.309462
15	1.3399	1.2885	1.307184
16	1.3379	1.291	1.306495
17	1.3466	1.2915	1.304795
18	1.3300	1.2901	1.320164
19	1.3425	1.2894	1.327495
20	1.3462	1.2982	1.309586

Cuadro 8. Promedio acumulado de las Masa A, B y C por campo respecto al coeficiente de elongación de cristal del Ingenio Pantaleón.

No. Campo	Promedio Masa A	Promedio Masa B	Promedio Masa C
1	1.288	1.258	1.905
2	1.254	1.256	1.405
3	1.275	1.258	1.460
4	1.270	1.257	1.475
5	1.279	1.269	1.497
6	1.248	1.249	1.464
7	1.259	1.260	1.479
8	1.250	1.249	1.452
9	1.258	1.260	1.479
10	1.254	1.269	1.446
11	1.255	1.264	1.448
12	1.257	1.268	1.449
13	1.254	1.270	1.448
14	1.252	1.268	1.447
15	1.258	1.275	1.597
16	1.275	1.287	1.479
17	1.275	1.275	1.489
18	1.250	1.295	1.488
19	1.251	1.288	1.475
20	1.287	1.288	1.497

Cuadro 9. Promedio acumulado de las Masa A,B y C por campo respecto al coeficiente de elongación de cristal del Ingenio Santa Ana.

No. Campo	Promedio Masa A	Promedio Masa C	Promedio Masa B
1	1.2790	1.3097	1.2611
2	1.2646	1.3143	1.2624
3	1.2547	1.2983	1.2608
4	1.2591	1.2889	1.2580
5	1.2746	1.2822	1.2749
6	1.2455	1.2786	1.2676
7	1.3093	1.2787	1.2731
8	1.2578	1.3286	1.2811
9	1.2897	1.3322	1.2899
10	1.2901	1.3342	1.2951
11	1.2912	1.2873	1.2923
12	1.2910	1.3321	1.2940
13	1.2902	1.3326	1.2953
14	1.2899	1.3260	1.2950
15	1.2870	1.3278	1.2920
16	1.2900	1.3316	1.2749
17	1.2854	1.2799	1.2934
18	1.3152	1.2853	1.2666
19	1.2476	1.2879	1.2704
20	1.2537	1.2845	1.2861

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA PRESENCIA DE MICROBIOTA TERMÓFILA, HONGOS MICELIARES Y LEVADURAS EN PRODUCTOS AZUCAREROS

Cuadro 10. Conteo de microbiota termófila y de hongo de la parte trasera de los filtros de cachaza del Ingenio Pantaleón.

Filtro	Descripción		
	Dilución	Termófilos (37°C) (UFC)	Hongo (45°C)
1	P	480	---
	-1	70	---
2	P	---	---
	-1	---	---
3	P	30	---
	-1	---	---
4	P	40	---
	-1	---	---
5	P	10	---
	-1	Esparcido	---
6	P	20	---
	-1	---	---

- P = dilución pura
- -1 = dilución de 10^{-1}

Cuadro 11: Conteo de microbiota termófila y de hongo de la parte delantera de los filtros de cachaza del Ingenio Pantaleón.

Filtro	Descripción		
	Dilución	Termófilos (37°C) (UFC)	Hongo (45°C)
1	P	20	---
	-1	---	10
2	P	100	---
	-1	---	---
3	P	30	---
	-1	10	---
4	P	---	---
	-1	---	---
5	P	---	---
	-1	---	---
6	P	---	---
	-1	---	---

- P = dilución pura
- -1 = dilución de 10⁻¹

Cuadro 12. Conteo de microbiota termófila y de hongo de la parte de rebalse de los filtros de cachaza del Ingenio Pantaleón.

Filtro	Descripción		
	Dilución	Termófilos (37°C) (UFC)	Hongo (45°C)
1	P	--	--
	-1	--	--
2	P	--	--
	-1	--	--
3	P	9	--
	-1	10	--
4	P	300	--
	-1	150	--
5	P	10	--
	-1	--	--
6	P	--	10
	-1	--	--

- P = dilución pura
- -1 = dilución de 10⁻¹

Cuadro 13. Conteo de microbiota termófila y de hongo de la parte trasera de los filtros de cachaza del Ingenio Magdalena.

Filtro	Descripción		
	Dilución	Termófilos (55°C) (UFC)	Hongo (45°C)
1	P	Esparcido	---
	-1	900	---
2	P	Esparcido	20
	-1	4500	---
3	P	630	---
	-1	22	---
4	P	190	---
	-1	4	---
5	P	Esparcido	Esparcido
	-1	4100	800
6	P	790	---
	-1	10000	---
7	P	510	130
	-1	1000	---
8	P	260	10
	-1	600	---
9	P	520	30
	-1	100	---
10	P	820	---
	-1	630	---
11	P	Esparcido	---
	-1	21300	---
12	P	510	---
	-1	600	---

- P = dilución pura
- -1 = dilución de 10^{-1}

Cuadro 14. Conteo de microbiota termófila y de hongo de la parte de rebalse de los filtros de cachaza del Ingenio Magdalena.

Filtro	Descripción		
	Dilución	Termófilos (55°C) (UFC)	Hongo (45°C)
1	P	1240	10
	-1	100	700
2	P	80	230
	-1	100	100
3	P	210	70
	-1	100	200
4	P	20	70
	-1	---	1200
5	P	---	80
	-1	---	300
6	P	210	80
	-1	--	300
7	P	---	60
	-1	---	100
8	P	350	30
	-1	100	100
9	P	20	20
	-1	---	700
10	P	140	40
	-1	2400	--
11	P	1480	60
	-1	400	1200
12	P	70	20
	-1	---	400

- P = dilución pura
- -1 = dilución de 10^{-1}

Cuadro 15. Conteo de microbiota termófila y de hongo de la entrada de los filtros de cachaza del Ingenio Magdalena.

Filtro	Descripción		
	Dilución	Termófilos (55°C) (UFC)	Hongo (45°C)
1	P	80	---
	-1	---	---
2	P	2250	---
	-1	11700	---
3	P	610	930
	-1	20100	3100
4	P	30	---
	-1	---	---
5	P	30	---
	-1	---	100
6	P	10	---
	-1	---	---
7	P	---	---
	-1	---	100
8	P	Esparcido	140
	-1	5200	---
9	P	Esparcido	---
	-1	---	---
10	P	210	---
	-1	---	---
11	P	110	10
	-1	---	---
12	P	790	20
	-1	---	---

Cuadro 16. Conteo de microbiota termófila aerobia.

TÁNDEM A		
Ingenio	UFC	Log
MG	1600000	6.20
U	50000	4.70
SA	200000	5.30

TANDEM B		
Ingenio	UFC	Log
MG	1500000	6.18
U	120000	5.08
SA	10000	4

TANDEM A,B y C DE MG		
Ingenio	UFC	Log
A	1600000	6.20
B	1500000	6.18
C	190000	5.28

Cuadro 17. Conteo de hongo miceliar.

TÁNDEM A		
Ingenio	UFC	Log
MG	120000	5.08
U	100000	5.00
SA	90000	4.95

TANDEM B		
Ingenio	UFC	Log
MG	110000	5.04
U	410000	5.61
SA	60000	4.78

TANDEM A,B y C DE MG		
Ingenio	UFC	Log
A	120000	5.08
B	110000	5.04
C	110000	5.04

Cuadro 18. Conteo de levadura.

TÁNDEM A		
Ingenio	UFC	Log
MG	400000	5.60
U	270000	5.43
SA	130000	5.11

TANDEM B		
Ingenio	UFC	Log
MG	220000	5.34
U	50000	4.70
SA	640000	5.81

TANDEM A,B y C DE MG		
Ingenio	UFC	Log
A	400000	5.60
B	220000	5.34
C	470000	5.67

Cuadro 19. Resultados de ingenio Pantaleón termófilo.

Filtro	UFC		
	Delantero	Rebalse	Trasero
1	20	0	480
2	100	0	0
3	30	100	30
4	0	2990	40
5	0	0	6000
6	0	0	20

Cuadro 20. Resultados obtenidos de microbiota termofila del ingenio concepción

Parte del filtro	Filtro (UFC)					
	1	2	3	4	5	6
Delantero	1500	1500	10	10	10	20

Cuadro 21. Resultados obtenidos de microbiota magdalena del ingenio magdalena.

Filtro	UFC		
	Delantero	Rebalse	Trasero
1	80	1240	900
2	2250	80	4500
3	610	210	2200
4	30	20	400
5	30	0	4100
6	10	210	1000
7	0	0	100
8	5200	350	600
9	0	20	100
10	210	140	6300
11	110	1480	21300
12	790	70	600

Evaluación de la actividad microbiológica y/o sus efectos en el área de clarificación y tratamiento de lodos en un ingenio de Guatemala

Cuadro 22. Tanto por ciento de volumen de sacarato debido al cambio del cm en el jugo diluido.

CM rango	Promedio CM	promedio %VOL/VOL
<1	1.18	16.39
1-1.5	1.53	17.66
1.51-2	2.08	22.19
2.1-2.5	2.64	27.50
2.51-3	3.20	38.75

Cuadro 23. Tanto por ciento de volumen de sacarato debido al cambio del cm en el jugo diluido.

CM rango	%vol/volsaca rato	Promedio CM
<1	0.88	1.18
1-1.5	1.31	1.53
1.51-2	1.38	2.08
2.1-2.5	1.84	2.64
2.51-3	2.75	3.20

Cuadro 24. Parámetros medidos durante el alcalizado del jugo sulfitado.

Muestras 1-10			Muestras 11-20		
Vol. SacaratomL	CM (sulfitado)	pH inicial	Vol. SacaratomL	CM (sulfitado)	pH inicial
7.50	1.71	4.84	15.00	1.76	4.44
7.50	2.07	4.98	22.00	2.84	4.52
10.00	1.43	5.15	22.00	2.50	5.14
9.50	1.25	5.15	13.00	1.54	5.09
10.00	1.00	5.15	20.50	1.84	4.89
8.50	0.40	5.13	14.50	0.94	4.93
9.50	0.98	4.85	12.50	1.01	4.79
4.50	0.98	4.99	5.00	1.54	4.96
3.95	0.71	5.08	5.00	1.92	5.06
3.50	0.83	5.21	5.00	0.94	5.09

Cuadro 25. Gramos incrustados en los tubos de cada uno de los efectos durante la prueba de evaporación que corresponden a un cierto cm del jugo diluido.

CM(sulf)	CM diluido	1	2	3	4	5
1.71	2.07	0.0012	0.0003	0.0009	0.0018	0.0039
2.07	2.43	0.0007	0.0003	0.001	0.0026	0.0073
1.43	1.79	0.0009	0.0037	0.0024	0.0008	0.0003
1.25	1.61	0.0015	0.0036	0.0013	0.0011	0.0011
1	1.36	0.0003	0.0003	0.0021	0.0020	0.0075
0.4	0.76	0.0002	1E-04	0.0027	0.0002	0.0075
0.98	1.34	0.0001	0.0003	0.003	0.0071	0.0139
0.98	1.34	0.0011	0.0081	0.0018	0.0005	0.0006
0.71	1.07	0.0012	0.0007	0.0013	0.0127	0.0015
1.76	2.12	0.0014	0.0006	0.0013	0.0051	0.0144
2.84	3.20	0.0018	0.0010	0.0038	0.0046	0.0139
2.5	2.86	0.0037	0.0040	0.0026	0.0048	0.0118
1.54	1.90	0.0015	0.0108	0.002	0.0014	0.0018
1.84	2.20	0.0012	0.0060	0.0110	0.0066	0.0084
0.94	1.30	0.0026	0.0041	0.0106	0.0052	0.0092
1.01	1.37	0.0017	0.0029	0.0031	0.0087	0.0107
1.54	1.90	0.0068	0.0031	0.0026	0.002	0.0018
1.92	2.28	0.0018	0.0009	0.0025	0.0204	0.0025

Cuadro 26. Datos utilizados para realizar los cálculos, según los la caña procesada durante la zafra 2012-2013 del ingenio Pantaleón.

2998046 3	l/día
4727902	ton caña(zafra)
26711.31 073	ton cana/día

Cuadro 27. Rangos utilizados de cm para cada uno de los evaporadores y los gramos incrustados en un día según los datos obtenidos.

CM rango	promedio CM del jugo diluido	1	2	3	4	5	Kg/L incrustados en 600 mL de muestra	kg incrustados/día
<1	1.16	0.0010	0.0027	0.0039	0.0051	0.0065	0.00003	888.34
1-1.5	1.53	0.0011	0.0026	0.0022	0.0031	0.0049	0.00002	645.73
1.51-2	2.08	0.0023	0.0036	0.0034	0.0062	0.0055	0.00003	968.60
2.1-2.5	2.64	0.0022	0.0022	0.0018	0.0037	0.0095	0.00003	894.80
2.51-3	3.20	0.0018	0.0010	0.0038	0.0046	0.0139	0.00004	1157.71

Cuadro 28. Aumento del %vol/vol de los lodos debido al cambio del cm en el jugo diluido.

CM rango	promedio CM	CM Promedio del jugo diluido	promedio %VOL/VOL
<1	0.83	1.18	16.39
1-1.5	1.17	1.53	17.66
1.51-2	1.72	2.08	22.19
2.1-2.5	2.29	2.64	27.50
2.51-3	2.84	3.20	38.75

Cuadro 29. Aumento del flujo de los lodos en los clarificadores sri debido al cambio de 0.1 en el cm del jugo diluido

CM	Δ CM	%Vol/Vol	% disminución	SRI 0.1514(m3/s)	SRI 0.1766(m3/s)
1	0.9	1.077	15.32	2.48	2.89
1.5	1.4	1.077	16.58	2.67	3.12
2	1.9	1.077	21.11	3.36	3.92
2.5	2.4	1.077	26.42	4.16	4.86
3	2.9	1.077	37.67	5.87	6.84

Cuadro 30. Disminución en la velocidad de sedimentación de los lodos en las pruebas de laboratorio realizadas

CM rango	CM promedio del jugo diluido	%lodos /s
<1	1.18	0.279%
1-1.5	1.53	0.274%
1.5-2	2.08	0.259%
2-2.5	2.64	0.242%
2.5-3	3.20	0.204%

Cuadro 31. Cambios de los parámetros de ph, sacarato utilizado, brix y pol en la clarificación debido al aumento del cm.

muestra	Δ pH	Δ sacarato	Δ brix	Δ pol	Δ pureza	Δ color	Δ turbidez	C M
1	0.40	7.50	0.27	2.37	0.13	554.00	11750.00	0.05
2	0.46	14.50	0.44	1.89	0.09	654.00	679.00	0.77
3	0.01	12.00	0.27	0.03	-0.01	7367.00	40301.00	1.07
4	0.06	3.50	0.51	0.66	0.02	32776.00	1041.00	0.29
5	0.26	10.50	0.65	0.65	0.01	723.00	21912.00	0.84
6	0.20	6.00	0.49	-0.16	-0.04	3126.00	1901.00	0.54
7	0.06	3.00	0.20	-0.05	-0.02	1884.00	13278.00	0.03
8	0.03	0.50	2.28	0.39	-0.12	6546.00	1380.00	0.55
9	0.02	1.05	0.28	0.02	-0.02	11918.00	2703.00	1.20
10	0.12	1.50	1.77	1.92	0.04	820.00	12597.00	0.10

Cuadro 32. Temperatura de los puntos, frontal y trasera de cada filtro, 8 corridas.

Sistema	Parte	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)
filtro 1	Delantera	50	52	56.8	47	49	53	54	--
	Trasera	--	--	--	--	--	--	--	--
filtro 2	Delantera	--	--	53.6	50	50	50	51	53
	Trasera	--	--	49.2	55	49	49	45	45
filtro 3	Delantera	--	--	56	--	--	--	--	--
	Trasera	--	--	53.6	--	--	--	--	--
filtro 4	Delantera	51	50	77.6	50	51	58	57	54
	Trasera	52	46	53.4	55	54	60	57	54
filtro 5	Delantera	65	62	65.8	58	62	62	61	65
	Trasera	62	65	66.4	67	62	61	62	65
filtro 6	Delantera	52	49	--	54.6	50	58	55	55
	Trasera	51	54	--	50	54	53	52	51

Cuadro No. 1: Caída de ph para las corridas 1, 2 y 3.

Muestra	Corrida 1		Corrida 2		Corrida 3	
	Caída 1	Caída 2	Caída 1	Caída 2	Caída 1	Caída 2
Tanque	0.4	0.1	0.14	1.41	0.3	1.4
Filtro 1	0.1	-0.3	2.17	2.43	1.7	2.1
Filtro 2	0.2	-0.2	1.36	2.09	2.1	2.4
Filtro 3	--	--	--	--	--	--
Filtro 4	0.3	0.1	0.2	1.69	0.5	1.4
Filtro 5	0.1	-0.3	0.12	1.4	0.3	1.3
Filtro 6	0.5	0.1	1.55	1.96	1.2	1.5

Cuadro No. 2: Caída de ph para las corridas 4, 5 y 6.

Muestra	Corrida 4		Corrida 5		Corrida 6	
	Caída 1	Caída 2	Caída 1	Caída 2	Caída 1	Caída 2
Tanque	0.2	0.3	0.6	0.6	-0.15	0.06
Filtro 1	1	1.2	2.3	2.5	-0.11	1.19
Filtro 2	0.2	0.6	2.5	2.8	1.62	1.84
Filtro 3	--	--	--	--	--	--
Filtro 4	0.1	0.3	0.3	1	0.03	0.26
Filtro 5	0.1	0.1	0.2	0.6	-1.06	-0.8
Filtro 6	1.5	1.7	2.1	2.2	1.74	1.8

Cuadro No. 3: Caída de ph para las corridas 7, 8 y 9.

Muestra	Corrida 7		Corrida 8		Corrida 9	
	Caída 1	Caída 2	Caída 1	Caída 2	Caída 1	Caída 2
Tanque	0.11	0.35	-0.03	0.18	0.36	1.31
Filtro 1	1.04	1.64	1.22	1.32	2.44	2.27
Filtro 2	1.63	1.81	1.46	1.76	1.59	2.98
Filtro 3	--	--	--	--	--	--
Filtro 4	0.16	0.34	0.09	0.41	0.43	1.63
Filtro 5	0.15	0.38	0.04	0.12	0.26	1.47
Filtro 6	0.83	1.12	0.74	1	0.79	0.85

Cuadro No. 4: cm promedio y proporción de lodos por segundo de jugo sulfitado.

CM promedio	Velocidad ($\pm 0.003 \text{ cm}^3/\text{s}$)
0.63 ± 0.01	0.405
0.66 ± 0.01	0.385
0.72 ± 0.01	0.370
0.79 ± 0.01	0.320
0.96 ± 0.02	0.220

Cuadro No. 5: cm promedio y proporción final de lodos en jugo sulfitado.

CM promedio	Proporción final de lodos ($\pm 0.5\%$)
0.63 ± 0.01	19.0
0.66 ± 0.01	23.0
0.72 ± 0.01	26.0
0.79 ± 0.01	36.0
0.96 ± 0.02	56.0

Cuadro No. 6: cm promedio y volumen de sacarato utilizado en simulación de evaporación.

CM promedio	Volumen de sacarato utilizado en análisis (± 0.5 mL)
0.63 ± 0.01	20.0
0.66 ± 0.01	22.0
0.72 ± 0.01	24.5
0.79 ± 0.01	28.1
0.96 ± 0.02	30.4

Cuadro No. 7: cm promedio y proporción en exceso de sacarato en simulación de evaporación.

CM promedio	Proporción en exceso de sacarato ($\pm 0.5\%$)
0.63 ± 0.01	0.00
0.66 ± 0.01	0.10
0.72 ± 0.01	0.26
0.79 ± 0.01	0.72
0.96 ± 0.02	0.90

Cuadro No. 8: cm promedio e incrustaciones por unidad de área en simulación de evaporación.

CM promedio	Incrustación por unidad de área en simulación de evaporación (kg/m ²)
0.63 ± 0.01	0.0130 ± 0.0012
0.66 ± 0.01	0.0783 ± 0.0073
0.72 ± 0.01	0.0913 ± 0.0085
0.79 ± 0.01	0.1696 ± 0.0158
0.96 ± 0.02	0.2218 ± 0.0206

Evaluación de la actividad microbiológica en los lodos de cachaza del ingenio Concepción y determinación de efluentes con posibles pérdidas en residuales en el área de molinos del ingenio Magdalena

Cuadro No. 9: PH inicial, final y caída de pH en las corridas uno y dos de la prueba de fermentación espontánea.

Filtro	Punto	Corrida 1		Corrida 2	
		inicial	final	inicial	final
1	Entrada	8.24±0.01	8.05±0.01	8.04±0.01	7.53±0.01
	Acumulación	8.27±0.01	6.85±0.01	8.48±0.01	7.95±0.01
	Salida	8.22±0.01	8.05±0.01	8.47±0.01	7.91±0.01
2	Entrada	8.25±0.01	8.02±0.01	8.53±0.01	8.42±0.01
	Acumulación	8.33±0.01	8±0.01	8.44±0.01	8.21±0.01
	Salida	8.12±0.01	7.98±0.01	8.61±0.01	8.4±0.01
3	Entrada	8.22±0.01	7.95±0.01	8.54±0.01	8.31±0.01
	Acumulación	7.82±0.01	7.2±0.01	8.48±0.01	8.28±0.01
	Salida	8.21±0.01	7.96±0.01	8.44±0.01	8.35±0.01
4	Acumulación	8.22±0.01	7.9±0.01	8.44±0.01	7.33±0.01
	Salida	8.13±0.01	7.94±0.01	8.51±0.01	8.4±0.01
Tornillo		7.65±0.01	7.4±0.01	8.41±0.01	8.35±0.01

Cuadro No. 10: PH inicial, final y caída de pH en las corridas tres y cuatro de la prueba de fermentación espontánea.

Filtro	Punto	Corrida 3		Corrida 4	
		inicial	final	inicial	final
1	Entrada	8.12±0.01	7.965±0.01	8.1±0.01	8.014±0.01
	Acumulación	8.2±0.01	6.592±0.01	8.23±0.01	6.798±0.01
	Salida	8.23±0.01	8.015±0.01	8.33±0.01	8.052±0.01
2	Entrada	8.23±0.01	8.078±0.01	8.35±0.01	6.327±0.01
	Acumulación	8.23±0.01	8.033±0.01	8.34±0.01	5.854±0.01
	Salida	8.3±0.01	8.001±0.01	8.39±0.01	7.965±0.01
3	Entrada	8.23±0.01	8.082±0.01	8.38±0.01	5.965±0.01
	Acumulación	8.4±0.01	8.033±0.01	8.39±0.01	5.486±0.01
	Salida	8.51±0.01	8.15±0.01	8.48±0.01	8.085±0.01
4	Acumulación	8.31±0.01	7.87±0.01	8.5±0.01	7.325±0.01
	Salida	8.19±0.01	7.627±0.01	8.19±0.01	8.101±0.01
Tornillo		8.52±0.01	8.13±0.01	7.4±0.01	7.298±0.01

Cuadro No. 11: PH inicial, final y caída de pH en las corridas cinco y seis de la prueba de fermentación espontánea.

Filtro	Punto	Corrida 5		Corrida 6	
		inicial	final	inicial	final
1	Entrada	8.24±0.01	7.7±0.01	8.23±0.01	8.07±0.01
	Acumulación	8.43±0.01	6.65±0.01	8.44±0.01	7.63±0.01
	Salida	8.42±0.01	8.21±0.01	8.41±0.01	8.24±0.01
2	Entrada	8.4±0.01	7.68±0.01	8.39±0.01	7.9±0.01
	Acumulación	8.33±0.01	7.63±0.01	8.3±0.01	7.76±0.01
	Salida	8.4±0.01	7.71±0.01	8.42±0.01	8.22±0.01
3	Entrada	8.37±0.01	8.22±0.01	8.37±0.01	8.35±0.01
	Acumulación	8.58±0.01	8.36±0.01	8.59±0.01	8.28±0.01
	Salida	8.43±0.01	8.31±0.01	8.45±0.01	8.18±0.01
4	Acumulación	8.35±0.01	8.28±0.01	8.34±0.01	8.26±0.01
	Salida	8.46±0.01	8.12±0.01	8.48±0.01	8.24±0.01
Tornillo		7.3±0.01	7.2±0.01	7.6±0.01	7.37±0.01

Cuadro No. 12: PH inicial, final y caída de pH en las corridas siete y ocho de la prueba de fermentación espontánea.

Filtro	Punto	Corrida 7		Corrida 8	
		inicial	final	inicial	final
1	Entrada	8.48±0.01	8.40±0.01	8.47±0.01	8.26±0.01
	Acumulación	8.51±0.01	7.83±0.01	8.51±0.01	7.62±0.01
	Salida	8.23±0.01	7.99±0.01	8.53±0.01	8.07±0.01
2	Entrada	8.43±0.01	7.94±0.01	8.29±0.01	7.30±0.01
	Acumulación	8.32±0.01	7.44±0.01	8.53±0.01	7.51±0.01
	Salida	8.33±0.01	8.22±0.01	8.49±0.01	7.98±0.01
3	Entrada	8.50±0.01	8.19±0.01	8.34±0.01	8.21±0.01
	Acumulación	8.43±0.01	7.46±0.01	8.24±0.01	7.61±0.01
	Salida	8.33±0.01	7.86±0.01	8.25±0.01	7.88±0.01
4	Acumulación	8.34±0.01	7.94±0.01	8.32±0.01	7.82±0.01
	Salida	8.53±0.01	8.13±0.01	8.32±0.01	8.01±0.01
Tornillo		7.62±0.01	7.33±0.01	7.62±0.01	7.33±0.01

Cuadro No. 13: PH inicial, final y caída de pH en las corridas nueve y diez de la prueba de fermentación espontánea.

Filtro	Punto	Corrida 9		Corrida 10	
		Inicial	Final	Inicial	Final
1	Entrada	8.35±0.01	7.97±0.01	8.26±0.01	8.16±0.01
	Acumulación	8.33±0.01	7.42±0.01	8.35±0.01	7.60±0.01
	Salida	8.26±0.01	7.93±0.01	8.37±0.01	8.10±0.01
2	Entrada	8.47±0.01	8.06±0.01	8.52±0.01	7.85±0.01
	Acumulación	8.30±0.01	7.38±0.01	8.27±0.01	7.48±0.01
	Salida	8.39±0.01	7.91±0.01	8.23±0.01	7.69±0.01
3	Entrada	8.32±0.01	8.05±0.01	8.41±0.01	8.14±0.01
	Acumulación	8.44±0.01	7.76±0.01	8.35±0.01	7.36±0.01
	Salida	8.29±0.01	7.89±0.01	8.33±0.01	8.15±0.01
4	Acumulación	8.37±0.01	7.86±0.01	8.53±0.01	8.02±0.01
	Salida	8.33±0.01	7.82±0.01	8.46±0.01	8.35±0.01
Tornillo		7.62±0.01	7.33±0.01	7.62±0.01	7.33±0.01

Cuadro No. 14: Temperatura de los puntos de entrada, acumulación y salida de los filtros, así como del tornillo, de la corrida uno a la seis

Filtro	Punto	Temperatura (°C)					
		1	2	3	4	5	6
1	Entrada	72.3±0.1°C	71.9±0.1°C	73.7±0.1°C	68.9±0.1°C	68.8±0.1°C	77±0.1°C
	Acumulación	48.3±0.1°C	44.7±0.1°C	48.9±0.1°C	53.4±0.1°C	51.3±0.1°C	46±0.1°C
	Salida	63.1±0.1°C	62.5±0.1°C	64.8±0.1°C	71.2±0.1°C	67.8±0.1°C	70±0.1°C
2	Entrada	73.8±0.1°C	74.6±0.1°C	72.3±0.1°C	77.7±0.1°C	74±0.1°C	74±0.1°C
	Acumulación	58.1±0.1°C	60.1±0.1°C	60.5±0.1°C	57.8±0.1°C	56.9±0.1°C	58±0.1°C
	Salida	64.8±0.1°C	62.3±0.1°C	63.1±0.1°C	63.3±0.1°C	55.6±0.1°C	63±0.1°C
3	Entrada	70.4±0.1°C	72.9±0.1°C	71.8±0.1°C	71.4±0.1°C	72.2±0.1°C	74±0.1°C
	Acumulación	52±0.1°C	53.5±0.1°C	53.3±0.1°C	55.1±0.1°C	51±0.1°C	50±0.1°C
	Salida	66±0.1°C	67.8±0.1°C	71.1±0.1°C	71.3±0.1°C	68.1±0.1°C	55±0.1°C
4	Entrada	63.9±0.1°C	65.4±0.1°C	73.6±0.1°C	68.8±0.1°C	69.9±0.1°C	57±0.1°C
	Acumulación	58.9±0.1°C	60.9±0.1°C	58.9±0.1°C	59.5±0.1°C	55.9±0.1°C	57±0.1°C
	Salida	72.5±0.1°C	74.4±0.1°C	65.8±0.1°C	59.7±0.1°C	60.3±0.1°C	62±0.1°C
Tornillo		71.6±0.1°C	69.9±0.1°C	76.6±0.1°C	69.7±0.1°C	70.1±0.1°C	75±0.1°C

Cuadro No. 15: Temperaturas de los puntos de entrada, acumulación y salida de los filtros de la corrida siete a la diez.

Filtro	Punto	Temperatura (°C)					
		7	8	9	10	11	12
1	Entrada	72.2±0.1°C	71.5±0.1°C	71.1±0.1°C	70±0.1°C	72.3±0.1°C	74.1±0.1°C
	Acumulación	49.5±0.1°C	50.4±0.1°C	51.5±0.1°C	49±0.1°C	67.1±0.1°C	63.3±0.1°C
	Salida	69±0.1°C	59.5±0.1°C	72.6±0.1°C	68±0.1°C	66.9±0.1°C	66.7±0.1°C
2	Entrada	75.1±0.1°C	72.1±0.1°C	72.9±0.1°C	75±0.1°C	81.6±0.1°C	81.2±0.1°C
	Acumulación	55.3±0.1°C	52.6±0.1°C	58.6±0.1°C	51±0.1°C	58.1±0.1°C	53.4±0.1°C
	Salida	64.9±0.1°C	63.9±0.1°C	68.6±0.1°C	62±0.1°C	73±0.1°C	74.1±0.1°C
3	Entrada	74.8±0.1°C	72.6±0.1°C	74.1±0.1°C	82±0.1°C	81.9±0.1°C	78.3±0.1°C
	Acumulación	53.8±0.1°C	53.8±0.1°C	54.5±0.1°C	58±0.1°C	74±0.1°C	70.8±0.1°C
	Salida	66.1±0.1°C	64.1±0.1°C	65.8±0.1°C	73±0.1°C	55±0.1°C	58.8±0.1°C
4	Entrada	69.4±0.1°C	73.1±0.1°C	74.2±0.1°C	60±0.1°C	62±0.1°C	59.8±0.1°C
	Acumulación	62.3±0.1°C	66.3±0.1°C	60.8±0.1°C	64±0.1°C	75.9±0.1°C	72.8±0.1°C
	Salida	59.4±0.1°C	60.4±0.1°C	59.9±0.1°C	65±0.1°C	74.6±0.1°C	71.5±0.1°C
Tornillo		69.9±0.1°C	70.4±0.1°C	71.2±0.1°C	77±0.1°C	65.9±0.1°C	67.6±0.1°C

Cuadro No. 16: Temperatura de los puntos de entrada, acumulación y salida de los filtros, así como del tornillo, de la corrida trece a la diecisiete

Filtro	Punto	Temperatura (°C)				
		13	14	15	16	17
1	Entrada	72±0.1°C	75±0.1°C	72±0.1°C	77.3±0.1°C	75.1±0.1°C
	Acumulación	63±0.1°C	56.7±0.1°C	56±0.1°C	52.2±0.1°C	55.4±0.1°C
	Salida	68±0.1°C	63.4±0.1°C	70±0.1°C	60.7±0.1°C	66.2±0.1°C
2	Entrada	74±0.1°C	80.4±0.1°C	80±0.1°C	81.4±0.1°C	81.8±0.1°C
	Acumulación	50±0.1°C	48.9±0.1°C	49±0.1°C	58.3±0.1°C	53.6±0.1°C
	Salida	61±0.1°C	59.6±0.1°C	71±0.1°C	67.3±0.1°C	62.4±0.1°C
3	Entrada	67±0.1°C	79.5±0.1°C	70±0.1°C	71.9±0.1°C	79.1±0.1°C
	Acumulación	70±0.1°C	57.8±0.1°C	60±0.1°C	59±0.1°C	58.6±0.1°C
	Salida	74±0.1°C	79.1±0.1°C	67±0.1°C	73.9±0.1°C	75.9±0.1°C
4	Entrada	71±0.1°C	65.5±0.1°C	72±0.1°C	62.6±0.1°C	56.3±0.1°C
	Acumulación	57±0.1°C	64.3±0.1°C	56±0.1°C	65.4±0.1°C	68.1±0.1°C
	Salida	70±0.1°C	67.3±0.1°C	59±0.1°C	71.3±0.1°C	75.2±0.1°C
Tornillo		75±0.1°C	75.6±0.1°C	78±0.1°C	75.4±0.1°C	78.8±0.1°C

Cuadro No. 17: Temperaturas de los puntos de entrada, acumulación y salida de los filtros, y el tornillo, de las corridas de la dieciocho a la veintidós

Filtro	Punto	Temperatura (°C)				
		18	19	20	21	22
1	Entrada	72.4±0.1°C	72±0.1°C	70±0.1°C	75.5±0.1°C	76±0.1°C
	Acumulación	54.3±0.1°C	58±0.1°C	57±0.1°C	54.5±0.1°C	63±0.1°C
	Salida	65.8±0.1°C	71±0.1°C	72±0.1°C	66.6±0.1°C	66±0.1°C
2	Entrada	80.6±0.1°C	74±0.1°C	78±0.1°C	80.6±0.1°C	82±0.1°C
	Acumulación	58.9±0.1°C	54±0.1°C	50±0.1°C	43.8±0.1°C	52±0.1°C
	Salida	69.8±0.1°C	58±0.1°C	71±0.1°C	64.3±0.1°C	57±0.1°C
3	Entrada	80.6±0.1°C	70±0.1°C	69±0.1°C	80.9±0.1°C	62±0.1°C
	Acumulación	49.6±0.1°C	51±0.1°C	57±0.1°C	60.2±0.1°C	69±0.1°C
	Salida	75.1±0.1°C	59±0.1°C	57±0.1°C	75.8±0.1°C	74±0.1°C
4	Entrada	56.2±0.1°C	63±0.1°C	71±0.1°C	65.6±0.1°C	62±0.1°C
	Acumulación	67.6±0.1°C	59±0.1°C	59±0.1°C	63.8±0.1°C	62±0.1°C
	Salida	70.8±0.1°C	68±0.1°C	66±0.1°C	75.8±0.1°C	66±0.1°C
Tornillo		74.8±0.1°C	73±0.1°C	78±0.1°C	75.8±0.1°C	73±0.1°C

Cuadro No. 18: Temperaturas de los puntos de entrada, acumulación y salida de los filtros, y el tornillo, de las corridas de la veintitrés a la veintisiete

Filtro	Punto	Temperatura (°C)				
		23	24	25	26	27
1	Entrada	75.9±0.1°C	77±0.1°C	75±0.1°C	70±0.1°C	74.8±0.1°C
	Acumulación	59.6±0.1°C	47±0.1°C	47±0.1°C	64±0.1°C	64.8±0.1°C
	Salida	67.9±0.1°C	68±0.1°C	72±0.1°C	65±0.1°C	58.4±0.1°C
2	Entrada	82.1±0.1°C	75±0.1°C	73±0.1°C	75±0.1°C	82.1±0.1°C
	Acumulación	45.1±0.1°C	56±0.1°C	47±0.1°C	51±0.1°C	55.6±0.1°C
	Salida	70.8±0.1°C	65±0.1°C	61±0.1°C	69±0.1°C	72.9±0.1°C
3	Entrada	82.6±0.1°C	80±0.1°C	74±0.1°C	78±0.1°C	79.6±0.1°C
	Acumulación	60.5±0.1°C	63±0.1°C	57±0.1°C	72±0.1°C	74.4±0.1°C
	Salida	73.9±0.1°C	79±0.1°C	60±0.1°C	69±0.1°C	63.3±0.1°C
4	Entrada	68.8±0.1°C	66±0.1°C	62±0.1°C	68±0.1°C	60.4±0.1°C
	Acumulación	62.2±0.1°C	61±0.1°C	75±0.1°C	64±0.1°C	80±0.1°C
	Salida	71.1±0.1°C	61±0.1°C	63±0.1°C	71±0.1°C	72.3±0.1°C
Tornillo		76.3±0.1°C	69±0.1°C	67±0.1°C	70±0.1°C	65.9±0.1°C

Cuadro No. 19: Temperaturas de los puntos de entrada, acumulación y salida de los filtros, y el tornillo, de las corridas de la veintiocho a la treinta y tres

Filtro	Punto	Temperatura (°C)					
		28	29	30	31	32	33
1	Entrada	75±0.1°C	68.1±0.1°C	75±0.1°C	71±0.1°C	75±0.1°C	74±0.1°C
	Acumulación	45±0.1°C	52.3±0.1°C	65±0.1°C	52±0.1°C	57±0.1°C	53±0.1°C
	Salida	72±0.1°C	65.3±0.1°C	70±0.1°C	67±0.1°C	70±0.1°C	64±0.1°C
2	Entrada	81±0.1°C	76.9±0.1°C	73±0.1°C	76±0.1°C	74±0.1°C	79±0.1°C
	Acumulación	49±0.1°C	56.4±0.1°C	50±0.1°C	54±0.1°C	51±0.1°C	56±0.1°C
	Salida	62±0.1°C	61.5±0.1°C	59±0.1°C	66±0.1°C	68±0.1°C	62±0.1°C
3	Entrada	79±0.1°C	61.8±0.1°C	66±0.1°C	72±0.1°C	79±0.1°C	74±0.1°C
	Acumulación	53±0.1°C	54.6±0.1°C	67±0.1°C	57±0.1°C	61±0.1°C	58±0.1°C
	Salida	77±0.1°C	70.8±0.1°C	76±0.1°C	71±0.1°C	70±0.1°C	71±0.1°C
4	Entrada	59±0.1°C	71.4±0.1°C	72±0.1°C	61±0.1°C	63±0.1°C	69±0.1°C
	Acumulación	63±0.1°C	57.8±0.1°C	60±0.1°C	59±0.1°C	65±0.1°C	63±0.1°C
	Salida	62±0.1°C	64.8±0.1°C	75±0.1°C	63±0.1°C	65±0.1°C	70±0.1°C
Tornillo		71±0.1°C	70.1±0.1°C	66±0.1°C	73±0.1°C	71±0.1°C	71±0.1°C

Cuadro No. 20: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 55°C para la corrida 1

Filtro	Punto	Temperatura	1	
			Inicial	final
1	Entrada	55°C	16.5h	18h
	Acumulación		16.5h	20.83h
	Salida		16.5h	18.67h
2	Entrada		16.5h	18.67h
	Acumulación		16.5h	21.83h
	Salida		16.5h	20.5h
3	Entrada		16.5h	19.33h
	Acumulación		16.5h	21.5h
	Salida		16.5h	19.83h
4	Acumulación		16.5h	22h
	Salida		16.5h	19.83h
Tornillo				16.5h

Cuadro No. 21: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C para la corrida 1

Filtro	Punto	Temperatura	1	
			Inicial	final
1	Entrada	37°C	16.5h	22.5h
	Acumulación		16.5h	22.67h
	Salida		16.5h	22.58h
2	Entrada		16.5h	22.25h
	Acumulación		16.5h	22.67h
	Salida		16.5h	22.5h
3	Entrada		16.5h	22.5h
	Acumulación		16.5h	23h
	Salida		16.5h	21.43h
4	Acumulación		16.5h	21.5h
	Salida		16.5h	22h
Tornillo			16.5h	22.58h

Cuadro No. 22: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 55°C para la corrida 2

Filtro	Punto	Temperatura	2	
			Inicial	final
1	Entrada	55°C	16.5h	21.99h
	Acumulación		16.5h	18.9h
	Salida		16.5h	20.67h
2	Entrada		16.5h	21.71h
	Acumulación		16.5h	18.18h
	Salida		16.5h	20.44h
3	Entrada		16.5h	19.91h
	Acumulación		16.5h	19.48h
	Salida		16.5h	19.94h
4	Acumulación		16.5h	22.13h
	Salida		16.5h	19.9h
Tornillo			16.5h	19.25h

Cuadro No. 23: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C para la corrida 2

Filtro	Punto	Temperatura	2	
			Inicial	final
1	Entrada	37°C	16.5h	22.51h
	Acumulación		16.5h	21.17h
	Salida		16.5h	22.37h
2	Entrada		16.5h	22.88h
	Acumulación		16.5h	22.24h
	Salida		16.5h	22.37h
3	Entrada		16.5h	23.07h
	Acumulación		16.5h	22.09h
	Salida		16.5h	22.26h
4	Acumulación		16.5h	21.45h
	Salida		16.5h	23.71h
Tornillo			16.5h	22.83h

Cuadro No. 24: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 55°C para la corrida 3

Filtro	Punto	Temperatura	3	
			Inicial	final
1	Entrada	55°C	11h	18.17h
	Acumulación		11h	15.25h
	Salida		11h	18.17h
2	Entrada		11h	18.08h
	Acumulación		11h	17.50h
	Salida		11h	19.67h
3	Entrada		11h	19.92h
	Acumulación		11h	18.95h
	Salida		11h	17.67h
4	Acumulación		11h	17.59h
	Salida	11h	18.75h	
Tornillo			11h	17.50h

Cuadro No. 25: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C para la corrida 3

Filtro	Punto	Temperatura	3	
			Inicial	final
1	Entrada	37°C	10.92h	19.75h
	Acumulación		10.92h	18.01h
	Salida		10.92h	19.75h
2	Entrada		10.92h	20.66h
	Acumulación		10.92h	20.75h
	Salida		10.92h	18.83h
3	Entrada		10.92h	19.83h
	Acumulación		10.92h	18.92h
	Salida		10.92h	19.42h
4	Acumulación		10.92h	19.50h
	Salida	10.92h	20.50h	
Tornillo		10.92h	20.58h	

Cuadro No. 26: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C para la corrida 4

Filtro	Punto	Temperatura	4	
			inicial	final
1	Entrada	37°C	10.92h	21.33h
	Acumulación		10.92h	20.42h
	Salida		10.92h	21.66h
2	Entrada		10.92h	21.58h
	Acumulación		10.92h	20.02h
	Salida		10.92h	23.00h
3	Entrada		10.92h	21.75h
	Acumulación		10.92h	20.29h
	Salida		10.92h	22.25h
4	Acumulación		10.92h	22.92h
	Salida	10.92h	24.42h	
Tornillo		10.92h	22.42h	

Cuadro No. 27: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 55°C para la corrida 4

Filtro	Punto	Temperatura	4	
			inicial	final
1	Entrada	55°C	11h	18.25h
	Acumulación		11h	15.25h
	Salida		11h	17.50h
2	Entrada		11h	17.00h
	Acumulación		11h	16.00h
	Salida		11h	16.00h
3	Entrada		11h	16.00h
	Acumulación		11h	16.38h
	Salida		11h	15.58h
4	Acumulación		11h	16.20h
	Salida	11h	15.70h	
Tornillo		11h	15.50h	

Cuadro No. 28: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 55°C para la corrida 5

Filtro	Punto	Temperatura	5	
			Inicial	Final
1	Entrada	55°C	12.33h	17.85h
	Acumulación		12.33h	15.83h
	Salida		12.33h	17.55h
2	Entrada		12.33h	17.35h
	Acumulación		12.33h	16.00h
	Salida		12.33h	18.00h
3	Entrada		12.33h	17.75h
	Acumulación		12.33h	16.25h
	Salida		12.33h	17.75h
4	Acumulación		12.33h	18.00h
	Salida	12.33h	17.87h	
Tornillo		12.33h	17.87h	

Cuadro No. 29: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C para la corrida 5

Filtro	Punto	Temperatura	5	
			inicial	final
1	Entrada	37°C	12.33h	21.56h
	Acumulación		12.33h	22.87h
	Salida		12.33h	21.58h
2	Entrada		12.33h	21.7h
	Acumulación		12.33h	22.65h
	Salida		12.33h	22.09h
3	Entrada		12.33h	21.24h
	Acumulación		12.33h	22.78h
	Salida		12.33h	22.16h
4	Acumulación		12.33h	22.16h
	Salida		12.33h	21.16h
Tornillo		12.33h	22.07h	

Cuadro No. 30: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C y 55°C para la corrida seis

Filtro	Temperatura	6	
		inicial	final
1	55°C	8.85h	13.20h
2		8.85h	14.33h
3		8.85h	13.95h
4		8.85h	13.95h
1	37°C	8.85h	15.00h
2		8.85h	14.18h
3		8.85h	13.5h
4		8.85h	14.17h

Cuadro No. 31: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C y 55°C para la corrida siete

Filtro	Temperatura	7	
		inicial	final
1	55°C	8.85h	13.20h
2		8.85h	14.45h
3		8.85h	13.95h
4		8.85h	14.10h
1	37°C	8.85h	15.00h
2		8.85h	14.18h
3		8.85h	13.5h
4		8.85h	14.17h

Cuadro No. 32: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C y 55°C para la corrida ocho

Filtro	Temperatura	8	
		inicial	final
1	55°C	11.92h	16.92h
2		11.92h	16.67h
3		11.92h	16.75h
4		11.92h	18.92h
1	37°C	11.92h	19h
2		11.92h	19h
3		11.92h	17.5h
4		11.92h	18.67h

Cuadro No. 33: Hora inicial y final de la reacción de la prueba de resazurina a 37°C y 55°C para la corrida nueve

Filtro	Temperatura	9	
		inicial	final
1	55°C	11.92h	16.67h
2		11.92h	16.67h
3		11.92h	16.82h
4		11.92h	19.17h
1	37°C	11.92h	19.08h
2		11.92h	18.92h
3		11.92h	17.5h
4		11.92h	18.75h

Cuadro No. 34: pH inicial y final para la prueba de fermentación espontánea para las corridas número uno y dos

Filtro	1		2	
	inicial	final	inicial	final
1	8.24±0.01	8.05±0.01	8.04±0.01	7.53±0.01
	8.27±0.01	6.85±0.01	8.48±0.01	7.95±0.01
	8.22±0.01	8.05±0.01	8.47±0.01	7.91±0.01
2	8.25±0.01	8.02±0.01	8.53±0.01	8.42±0.01
	8.33±0.01	8±0.01	8.44±0.01	8.21±0.01
	8.12±0.01	7.98±0.01	8.61±0.01	8.4±0.01
3	8.22±0.01	7.95±0.01	8.54±0.01	8.31±0.01
	7.82±0.01	7.2±0.01	8.48±0.01	8.28±0.01
	8.21±0.01	7.96±0.01	8.44±0.01	8.35±0.01
4	8.22±0.01	7.9±0.01	8.44±0.01	7.33±0.01
	8.13±0.01	7.94±0.01	8.51±0.01	8.4±0.01
Tornillo	7.65±0.01	7.4±0.01	8.41±0.01	8.35±0.01

Cuadro No. 35: pH inicial y final para la prueba de fermentación espontánea para las corridas número tres y cuatro

Filtro	3		4	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	8.12±0.01	7.965±0.01	8.1±0.01	8.014±0.01
	8.2±0.01	6.592±0.01	8.23±0.01	6.798±0.01
	8.23±0.01	8.015±0.01	8.33±0.01	8.052±0.01
2	8.23±0.01	8.078±0.01	8.35±0.01	6.327±0.01
	8.23±0.01	8.033±0.01	8.34±0.01	5.854±0.01
	8.3±0.01	8.001±0.01	8.39±0.01	7.965±0.01
3	8.23±0.01	8.082±0.01	8.38±0.01	5.965±0.01
	8.4±0.01	8.033±0.01	8.39±0.01	5.486±0.01
	8.51±0.01	8.15±0.01	8.48±0.01	8.085±0.01
4	8.31±0.01	7.87±0.01	8.5±0.01	7.325±0.01
	8.19±0.01	7.627±0.01	8.19±0.01	8.101±0.01
Tornillo	8.52±0.01	8.13±0.01	7.4±0.01	7.298±0.01

Cuadro No. 36: pH inicial y final para la prueba de fermentación espontánea para las corridas número cinco y seis

Filtro	5		6	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	8.24±0.01	7.7±0.01	8.23±0.01	8.07±0.01
	8.43±0.01	6.65±0.01	8.44±0.01	7.63±0.01
	8.42±0.01	8.21±0.01	8.41±0.01	8.24±0.01
2	8.4±0.01	7.68±0.01	8.39±0.01	7.9±0.01
	8.33±0.01	7.63±0.01	8.3±0.01	7.76±0.01
	8.4±0.01	7.71±0.01	8.42±0.01	8.22±0.01
3	8.37±0.01	8.22±0.01	8.37±0.01	8.35±0.01
	8.58±0.01	8.36±0.01	8.59±0.01	8.28±0.01
	8.43±0.01	8.31±0.01	8.45±0.01	8.18±0.01
4	8.35±0.01	8.28±0.01	8.34±0.01	8.26±0.01
	8.46±0.01	8.12±0.01	8.48±0.01	8.24±0.01
Tornillo	7.3±0.01	7.2±0.01	7.6±0.01	7.37±0.01

Cuadro No. 37: pH inicial y final para la prueba de fermentación espontánea para las corridas número siete y ocho

Filtro	7		8	
	inicial	final	inicial	final
1	8.48±0.01	8.40±0.01	8.47±0.01	8.26±0.01
	8.51±0.01	7.83±0.01	8.51±0.01	7.62±0.01
	8.23±0.01	7.99±0.01	8.53±0.01	8.07±0.01
2	8.43±0.01	7.94±0.01	8.29±0.01	7.30±0.01
	8.32±0.01	7.44±0.01	8.53±0.01	7.51±0.01
	8.33±0.01	8.22±0.01	8.49±0.01	7.98±0.01
3	8.50±0.01	8.19±0.01	8.34±0.01	8.21±0.01
	8.43±0.01	7.46±0.01	8.24±0.01	7.61±0.01
	8.33±0.01	7.86±0.01	8.25±0.01	7.88±0.01
4	8.34±0.01	7.94±0.01	8.32±0.01	7.82±0.01
	8.53±0.01	8.13±0.01	8.32±0.01	8.01±0.01
Tornillo	7.62±0.01	7.33±0.01	7.62±0.01	7.33±0.01

Cuadro No. 38: pH inicial y final para la prueba de fermentación espontánea para las corridas número nueve y diez

Filtro	9		10	
	inicial	final	inicial	final
1	8.35±0.01	7.97±0.01	8.26±0.01	8.16±0.01
	8.33±0.01	7.42±0.01	8.35±0.01	7.60±0.01
	8.26±0.01	7.93±0.01	8.37±0.01	8.10±0.01
2	8.47±0.01	8.06±0.01	8.52±0.01	7.85±0.01
	8.30±0.01	7.38±0.01	8.27±0.01	7.48±0.01
	8.39±0.01	7.91±0.01	8.23±0.01	7.69±0.01
3	8.32±0.01	8.05±0.01	8.41±0.01	8.14±0.01
	8.44±0.01	7.76±0.01	8.35±0.01	7.36±0.01
	8.29±0.01	7.89±0.01	8.33±0.01	8.15±0.01
4	8.37±0.01	7.86±0.01	8.53±0.01	8.02±0.01
	8.33±0.01	7.82±0.01	8.46±0.01	8.35±0.01
Tornillo	7.62±0.01	7.33±0.01	7.62±0.01	7.33±0.01

Cuadro No. 39: Valores de absorbancia observados para las acumulaciones de los filtros de cachaza.

Filtro	Corrida			
	1	2	3	4
1	1.222±0.001 Å	1.187±0.001 Å	0.112±0.001 Å	0.123±0.001 Å
2	1.331±0.001 Å	1.352±0.001 Å	0.103±0.001 Å	0.118±0.001 Å
3	1.284±0.001 Å	1.152±0.001 Å	0.181±0.001 Å	0.154±0.001 Å
4	0.355±0.001 Å	0.298±0.001 Å	0.149±0.001 Å	0.123±0.001 Å

Identificación y métodos para evaluación de pérdidas en cristales de azúcar crudo y refino en el Ingenio Concepción

Cuadro No. 40: Promedio de porcentaje de humedad por mesh de estudio granulométrico para cada turno.

Mesh	Turno 1	Turno 2	Turno 3
	Humedad (%)	Humedad (%)	Humedad (%)
25	0.6784	0.765	0.6954
30	0.586	0.613	0.5976
35	0.7288	0.6933	0.7021
40	0.7155	0.7023	0.716
50	0.65	0.632	0.6228
60	0.6106	0.6098	0.6276
80	0.8312	0.8117	0.8287
Fondo	0.9611	0.9876	0.9756

Cuadro No. 41: Promedio de porcentaje de humedad en puntos indicativos del proceso de refinado.

Turno	1	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	23-mar	5-apr	6-apr	6-apr	7-apr	13-apr	13-apr	13-apr	20-apr	20-apr	20-apr
Pto 1 (%)	0.9756	0.9622	0.9712	0.9833	0.9612	0.9754	0.9721	0.9865	0.9786	0.9624	0.9910
Pto 2 (%)	0.8310	0.8731	0.8354	0.8976	0.8760	0.8195	0.8834	0.8792	0.8496	0.8529	0.8387
Pto 3 (%)	0.7835	0.7899	0.7747	0.7857	0.7791	0.7921	0.7985	0.7731	0.7652	0.7963	0.7688
Pto 4 (%)	0.7026	0.6799	0.6931	0.7198	0.6897	0.6866	0.7038	0.7128	0.7056	0.7198	0.6918

Cuadro No. 42: Promedio de porcentaje de azúcar en puntos de estiba en almacenamiento por turno.

Turno	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Arriba (%)	0.9666	0.9827	0.9879	0.9687	0.9815	0.9832	0.9687	0.9589	0.9791
En medio (%)	0.9478	0.9478	0.9388	0.9478	0.9538	0.9649	0.9438	0.9428	0.9511
Abajo (%)	0.9621	0.9737	0.9811	0.9646	0.9653	0.9754	0.9912	0.9837	0.9712

Cuadro No. 43: Promedio acumulativo de coeficiente de elongación para azúcar crudo.

Campo	Promedio acumulativo de coeficiente de elongación. Tacho 1	Promedio acumulativo de coeficiente de elongación. Tacho 2
1	1.2305	1.3421
2	1.2492	1.3312
3	1.2465	1.2986
4	1.2357	1.2937
5	1.2492	1.2957
6	1.2403	1.3024

Cuadro No. 44: Promedio acumulativo de coeficiente de elongación para azúcar refinado.

Campo	Promedio acumulativo de coeficiente de elongación. Tacho 1	Promedio acumulativo de coeficiente de elongación. Tacho 2
1	1.0026	1.0139
2	1.0130	1.0174
3	1.0066	1.0152
4	1.0012	1.0182
5	1.0046	1.0151
6	1.0033	1.0120

Cuadro No. 45: Promedio de porcentaje de humedad en puntos indicativos para cada turno.

	Turno 1	Turno 2	Turno 3
Pto 1 (%)	0.9752	0.9726	0.9752
Pto 2 (%)	0.8339	0.8780	0.8668
Pto 3 (%)	0.7789	0.7935	0.7777
Pto 4 (%)	0.6970	0.7145	0.6936

B. Cálculos de la muestra

Cálculo No. 1: Determinación del coeficiente microbiológico CM para la primera corrida de la entrada del filtro uno a 55°C.

$$C_M = \frac{5}{t_R} = \frac{5}{t_{final} - t_{inicial}} \text{ (Ecuación No. 1)}$$

$$C_M = \frac{5}{18 - 16.5} = 3.33$$

Cálculo No. 2: Determinación de caída de pH en la primera corrida de la entrada del filtro uno.

$$pH_{inicial} - pH_{final} = pH_{caída} \text{ (Ecuación No. 2)}$$

$$8.24 \pm 0.01 - 8.05 \pm 0.01 = 0.19 \pm 0.014$$

Todos los cálculos de caída de pH se realizaron de la misma manera

Cálculo No. 3: Determinación de concentración de Dextrana en la muestra de la primera corrida del filtro uno.

$$\frac{\text{Absorbancia}^2 + 1196.401\text{Absorbancia} + 10.9864}{1000} = \text{Dextrana} \text{ (Ecuación No. 3)}$$

$$\text{Dextrana} = \frac{1.222 \pm 0.001\text{Å}^2 + (1.222 \pm 0.001\text{Å} \times 1196.401) + 10.9864}{1000} = 1.47 \pm 0.001 \frac{g}{l}$$

C. Análisis de error

Cálculo No. 7: Incertidumbre en la en la multiplicación de la determinación de concentración de Dextrana en la muestra de la primera corrida del filtro uno.

$$\pm \left[\frac{A}{B} \sqrt{\left(\frac{a}{A}\right)^2 + \left(\frac{b}{B}\right)^2} \right] \text{ (Ecuación No. 4)}$$

$$1.47 \times \sqrt{\left(\frac{0.001}{1.222}\right)^2 + \left(\frac{0.001}{1.222}\right)^2} = 1.47 \pm 0.001 \frac{MG}{L}$$

Este cálculo se realizó de la misma forma en todas las incertidumbres de multiplicación y división.

Cálculo No. 8: Incertidumbre en la en la suma de la determinación de caída de pH en la primera corrida de la entrada del filtro uno

$$\pm \left[\sqrt{a^2 + b^2} \right] (\text{Ecuación No. 5})$$

$$\sqrt{0.01^2 + 0.01^2} = 0.19 \pm 0.014$$

Todas las incertidumbres en la sumas se calcularon de la misma manera.

Este cálculo se realizó de la misma forma para todas las incertidumbres de suma y resta.

Calculo No. 8: Medias experimentales por medio de la función PROMEDIO de Excel para determinar la temperatura promedio en el punto de entrada del filtro uno.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

$$\bar{x} = 73.08 \pm 2.53^\circ\text{C}$$

Todas las medias experimentales se calcularon de la misma manera

Calculo No. 9: Desviación estándar por medio de la función STDEV de Excel para determinar la desviación estándar de la temperatura promedio en el punto de entrada del filtro uno.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

$$s = 73.08 \pm 2.53^\circ\text{C}$$

Todas las desviaciones estándar de las medias experimentales se calcularon de la misma manera

Calculo No. 10: Intervalo de confianza por medio de la herramienta "Análisis de datos" de Excel para determinar el intervalo de confianza a 95% de la temperatura promedio en el punto de entrada del filtro uno.

$$IC..de.. \mu = \bar{x} \pm \frac{z\sigma}{\sqrt{N}}$$

$$\pm 0.899\%$$

Todos los intervalos de confianza fueron determinados de la misma manera.

D. Datos calculados

Cuadro No. 46: Caída de pH de las corridas uno a la cinco de la prueba de fermentación espontánea.

Filtro	Punto	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 4	Corrida 5
1	Entrada	0.19±0.014	0.51±0.014	0.155±0.014	0.086±0.014	0.54±0.014
	Acumulación	1.42±0.014	0.53±0.014	1.608±0.014	1.432±0.014	1.78±0.014
	Salida	0.17±0.014	0.56±0.014	0.215±0.014	0.278±0.014	0.21±0.014
2	Entrada	0.23±0.014	0.11±0.014	0.152±0.014	2.023±0.014	0.72±0.014
	Acumulación	0.33±0.014	0.23±0.014	0.197±0.014	2.486±0.014	0.7±0.014
	Salida	0.14±0.014	0.21±0.014	0.299±0.014	0.425±0.014	0.69±0.014
3	Entrada	0.27±0.014	0.23±0.014	0.148±0.014	2.415±0.014	0.15±0.014
	Acumulación	0.62±0.014	0.2±0.014	0.367±0.014	2.904±0.014	0.22±0.014
	Salida	0.25±0.014	0.09±0.014	0.36±0.014	0.395±0.014	0.12±0.014
4	Acumulación	0.32±0.014	1.11±0.014	0.44±0.014	1.175±0.014	0.07±0.014
	Salida	0.19±0.014	0.11±0.014	0.563±0.014	0.089±0.014	0.34±0.014
Tornillo		0.25±0.014	0.06±0.014	0.39±0.014	0.102±0.014	0.1±0.014

Cuadro No. 47: Caída de pH de las corridas seis a la diez de la prueba de fermentación espontánea.

Filtro	Punto	Corrida 6	Corrida 7	Corrida 8	Corrida 9	Corrida 10
1	Entrada	0.16±0.014	0.08±0.014	0.21±0.014	0.38±0.014	0.10±0.014
	Acumulación	0.81±0.014	0.68±0.014	0.89±0.014	0.91±0.014	0.75±0.014
	Salida	0.17±0.014	0.24±0.014	0.46±0.014	0.33±0.014	0.27±0.014
2	Entrada	0.49±0.014	0.49±0.014	0.99±0.014	0.41±0.014	0.67±0.014
	Acumulación	0.54±0.014	0.88±0.014	1.02±0.014	0.92±0.014	0.79±0.014
	Salida	0.2±0.014	0.11±0.014	0.51±0.014	0.48±0.014	0.54±0.014
3	Entrada	0.02±0.014	0.31±0.014	0.13±0.014	0.27±0.014	0.27±0.014
	Acumulación	0.31±0.014	0.97±0.014	0.63±0.014	0.68±0.014	0.99±0.014
	Salida	0.27±0.014	0.47±0.014	0.37±0.014	0.40±0.014	0.18±0.014
4	Acumulación	0.08±0.014	0.40±0.014	0.50±0.014	0.51±0.014	0.51±0.014
	Salida	0.24±0.014	0.40±0.014	0.31±0.014	0.51±0.014	0.11±0.014
Tornillo		0.23±0.014	0.29±0.014	0.29±0.014	0.29±0.014	0.29±0.014

Cuadro No. 48: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida uno.

Filtro	Punto	Temperatura	1		
			Diferencia	CM	
1	Entrada	55°C	1.50	3.33	
	Acumulación		4.33	1.15	
	Salida		2.17	2.30	
2	Entrada		2.17	2.30	
	Acumulación		5.33	0.94	
	Salida		4.00	1.25	
3	Entrada		2.83	1.77	
	Acumulación		5.00	1.00	
	Salida		3.33	1.50	
4	Acumulación		5.50	0.91	
	Salida		3.33	1.50	
Tornillo				2.83	0.57
1	Entrada		37°C	6.00	0.83
	Acumulación			6.17	0.81
	Salida			6.08	0.82
2	Entrada	5.75		0.87	
	Acumulación	6.17		0.81	
	Salida	6.00		0.83	
3	Entrada	6.00		0.83	
	Acumulación	6.50		0.77	
	Salida	4.93		1.01	
4	Acumulación	5.00		1.00	
	Salida	5.50		0.91	
Tornillo				6.08	1.22

Cuadro No. 49: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida dos

Filtro	Punto	Temperatura	2		
			Diferencia	CM	
1	Entrada	55°C	5.49	0.910747	
	Acumulación		2.4	2.083333	
	Salida		4.17	1.199041	
2	Entrada		5.21	0.959693	
	Acumulación		1.68	2.97619	
	Salida		3.94	1.269036	
3	Entrada		3.41	1.466276	
	Acumulación		2.98	1.677852	
	Salida		3.44	1.453488	
4	Acumulación		5.63	0.888099	
	Salida	3.4	1.470588		
Tornillo			2.75	1.818182	
1	Entrada	37°C	6.01	0.831947	
	Acumulación		4.67	1.070664	
	Salida		5.87	0.851789	
2	Entrada		6.38	0.783699	
	Acumulación		5.74	0.87108	
	Salida		5.87	0.851789	
3	Entrada		6.57	0.761035	
	Acumulación		5.59	0.894454	
	Salida		5.76	0.868056	
4	Acumulación		4.95	1.010101	
	Salida		7.21	0.693481	
Tornillo				6.33	0.789889

Cuadro No. 50: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida tres

Filtro	Punto	Temperatura	3		
			Diferencia	CM	
1	Entrada	55°C	7.17	0.70	
	Acumulación		4.25	1.18	
	Salida		7.17	0.70	
2	Entrada		7.08	0.71	
	Acumulación		6.50	0.77	
	Salida		8.67	0.58	
3	Entrada		8.92	0.56	
	Acumulación		7.95	0.63	
	Salida		6.67	0.75	
4	Acumulación		6.59	0.76	
	Salida	7.75	0.65		
Tornillo			6.50	0.77	
1	Entrada	37°C	8.83	0.57	
	Acumulación		7.09	0.71	
	Salida		8.83	0.57	
2	Entrada		9.74	0.51	
	Acumulación		7.91	0.63	
	Salida		9.83	0.51	
3	Entrada		8.91	0.56	
	Acumulación		8.00	0.63	
	Salida		8.50	0.59	
4	Acumulación		8.58	0.58	
	Salida		9.58	0.52	
Tornillo				9.66	0.52

Cuadro No. 51: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida cuatro

Filtro	Punto	Temperatura	4		
			Diferencia	CM	
1	Entrada	55°C	7.25	0.69	
	Acumulación		4.25	1.18	
	Salida		6.50	0.77	
2	Entrada		6.00	0.83	
	Acumulación		5.00	1.00	
	Salida		5.00	1.00	
3	Entrada		5.00	1.00	
	Acumulación		5.38	0.93	
	Salida		4.58	1.09	
4	Acumulación		5.20	0.96	
	Salida	4.70	1.06		
Tornillo			4.50	1.11	
1	Entrada	37°C	10.41	0.48	
	Acumulación		9.50	0.53	
	Salida		10.74	0.47	
2	Entrada		10.66	0.47	
	Acumulación		9.10	0.55	
	Salida		12.08	0.41	
3	Entrada		10.83	0.46	
	Acumulación		9.37	0.53	
	Salida		11.33	0.44	
4	Acumulación		12.00	0.42	
	Salida		13.50	0.37	
Tornillo			11.50	0.43	

Cuadro No. 52: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida cinco.

Filtro	Punto	Temperatura	5		
			Diferencia	CM	
1	Entrada	55°C	5.52	0.91	
	Acumulación		3.50	1.43	
	Salida		5.22	0.96	
2	Entrada		5.02	1.00	
	Acumulación		3.67	1.36	
	Salida		5.67	0.88	
3	Entrada		5.42	0.92	
	Acumulación		3.92	1.28	
	Salida		5.42	0.92	
4	Acumulación		5.67	0.88	
	Salida	5.54	0.90		
Tornillo			5.54	0.90	
1	Entrada	37°C	9.23	0.54	
	Acumulación		10.54	0.47	
	Salida		9.25	0.54	
2	Entrada		9.37	0.53	
	Acumulación		10.32	0.48	
	Salida		9.76	0.51	
3	Entrada		8.91	0.56	
	Acumulación		10.45	0.48	
	Salida		9.83	0.51	
4	Acumulación		9.83	0.51	
	Salida		8.83	0.57	
Tornillo				9.74	0.51

Cuadro No. 53: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida seis.

		6	
Filtro	Temperatura	Diferencia	CM
1	55°C	4.35	1.15
2		5.48	0.91
3		5.10	0.98
4		5.10	0.98
1	37°C	6.15	0.81
2		5.33	0.94
3		4.65	1.08
4		5.32	0.94

Cuadro No. 54: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida siete

		7	
Filtro	Temperatura	Diferencia	CM
1	55°C	4.35	1.15
2		5.60	0.89
3		5.10	0.98
4		5.25	0.95
1	37°C	6.15	0.81
2		5.33	0.94
3		4.65	1.08
4		5.32	0.94

Cuadro No. 55: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida ocho

		8	
Filtro	Temperatura	Diferencia	CM
1	55°C	5.00	1.00
2		4.75	1.05
3		4.83	1.04
4		7.00	0.71
1	37°C	7.08	0.71
2		7.08	0.71
3		5.58	0.90
4		6.75	0.74

Cuadro No. 56: Resta de tiempo inicial y final en la prueba de resazurina y el CM tanto a 37°C como a 55°C en la corrida nueve

		9	
Filtro	Temperatura	Diferencia	CM
1	55°C	4.75	1.05
2		4.75	1.05
3		4.90	1.02
4		7.25	0.69
1	37°C	7.16	0.70
2		7.00	0.71
3		5.58	0.90
4		6.83	0.73

Cuadro No. 57: Caída de pH para la prueba de fermentación espontánea para las corridas de la uno a la cuatro

		1	2	3	4
Filtro	Punto				
1	Entrada	0.190±0.014	0.510±0.014	0.155±0.014	0.086±0.014
	Acumulación	1.420±0.014	0.530±0.014	1.608±0.014	1.432±0.014
	Salida	0.170±0.014	0.560±0.014	0.215±0.014	0.278±0.014
2	Entrada	0.230±0.014	0.110±0.014	0.152±0.014	2.023±0.014
	Acumulación	0.330±0.014	0.230±0.014	0.197±0.014	2.486±0.014
	Salida	0.140±0.014	0.210±0.014	0.299±0.014	0.425±0.014
3	Entrada	0.270±0.014	0.230±0.014	0.148±0.014	2.415±0.014
	Acumulación	0.620±0.014	0.200±0.014	0.367±0.014	2.904±0.014
	Salida	0.250±0.014	0.090±0.014	0.360±0.014	0.395±0.014
4	Acumulación	0.320±0.014	1.110±0.014	0.440±0.014	1.175±0.014
	Salida	0.190±0.014	0.110±0.014	0.563±0.014	0.089±0.014
Tornillo		0.250±0.014	0.060±0.0014	0.390±0.014	0.102±0.014

Cuadro No. 58: Caída de pH para la prueba de fermentación espontánea para las corridas de la cinco a la siete

		5	6	7
Filtro	Punto			
1	Entrada	0.540±0.014	0.160±0.014	0.080±0.014
	Acumulación	1.780±0.014	0.810±0.014	0.680±0.014
	Salida	0.210±0.014	0.170±0.014	0.240±0.014
2	Entrada	0.720±0.014	0.490±0.014	0.490±0.014
	Acumulación	0.700±0.014	0.540±0.014	0.880±0.014
	Salida	0.690±0.014	0.200±0.014	0.110±0.014
3	Entrada	0.150±0.014	0.020±0.014	0.310±0.014
	Acumulación	0.220±0.014	0.310±0.014	0.970±0.014
	Salida	0.120±0.014	0.270±0.014	0.470±0.014
4	Acumulación	0.070±0.014	0.080±0.014	0.400±0.014
	Salida	0.340±0.014	0.240±0.014	0.400±0.014
Tornillo		0.1000.014	0.230±0.014	0.290±0.014

Cuadro No. 59: Caída de pH para la prueba de fermentación espontánea para las corridas de la ocho a la diez

		8	9	10
Filtro	Punto			
1	Entrada	0.210±0.014	0.380±0.014	0.100±0.014
	Acumulación	0.890±0.014	0.910±0.014	0.750±0.014
	Salida	0.460±0.014	0.330±0.014	0.270±0.014
2	Entrada	0.990±0.014	0.410±0.014	0.670±0.014
	Acumulación	1.020±0.014	0.920±0.014	0.790±0.014
	Salida	0.510±0.014	0.480±0.014	0.540±0.014
3	Entrada	0.130±0.014	0.270±0.014	0.270±0.014
	Acumulación	0.630±0.014	0.680±0.014	0.990±0.014
	Salida	0.370±0.014	0.400±0.014	0.180±0.014
4	Acumulación	0.500±0.014	0.510±0.014	0.510±0.014
	Salida	0.310±0.014	0.510±0.014	0.110±0.014
Tornillo		0.290±0.014	0.290±0.014	0.290±0.014

Cuadro No. 60: Dextrana en los lodos de cachaza

Filtro	1	2	3	4
1	1474.48±0.001 g/L	1432.52±0.001 g/L	144.99±0.001 g/L	158.15±0.001 g/L
2	1605.16±0.001 g/L	1630.34±0.001 g/L	134.22±0.001 g/L	152.17±0.001 g/L
3	1548.81±0.001 g/L	1390.56±0.001 g/L	227.56±0.001 g/L	195.25±0.001 g/L
4	435.83±0.001 g/L	367.60±0.001 g/L	189.27±0.001 g/L	158.15±0.001 g/L

Cuadro No. 61: Análisis de estadística descriptiva para las mediciones de temperatura del primer y segundo filtro

Análisis	Entrada	Acumulación	Salida	Entrada	Acumulación
	Filtro 1			Filtro 2	
Media	73.08788	54.55152	67.01212	77.09697	53.63636
Error estándar	0.441411	1.108628	0.635767	0.614233	0.765606
Mediana	72.4	53.4	67	76	54
Moda	75	63	70	74	51
Desviación estándar	2.535715	6.368581	3.652205	3.528499	4.398069
Varianza de la muestra	6.429848	40.55883	13.3386	12.4503	19.34301
Nivel de confianza (95.0%)	0.899125	2.258201	1.295015	1.251151	1.559487

Cuadro No. 62: Análisis de estadística descriptiva para las mediciones de temperatura del segundo y tercer filtro

	Salida	Entrada	Acumulación	Salida
	Filtro 2	Filtro 3		
Media	64.76364	74.31515	59.07576	68.90606
Error estándar	0.839584	0.972755	1.249811	1.189115
Mediana	63.9	74	57.8	70.8
Moda	62	74	57	55
Desviación estándar	4.823045	5.588052	7.179617	6.830947
Varianza de la muestra	23.26176	31.22633	51.54689	46.66184
Nivel de confianza (95.0%)	1.710177	1.981437	2.545781	2.422148

Cuadro No. 63: Análisis de estadística descriptiva para las mediciones de temperatura del cuarto filtro y del tornillo

	Entrada	Acumulación	Salida	Tornillo
	Filtro 4			
Media	65.54242	63.19394	67.06364	72.2
Error estándar	0.927679	1.012731	0.939796	0.649038
Mediana	65.5	62.2	66	71.2
Moda	62	59	62	73
Desviación estándar	5.329108	5.817696	5.398716	3.728438
Varianza de la muestra	28.39939	33.84559	29.14614	13.90125
Nivel de confianza (95.0%)	1.88962	2.062865	1.914302	1.322047

Cuadro No. 64: Análisis de estadística descriptiva para las mediciones de dextrana para los cuatro filtros

Filtro	1	2	3	4
Media	0.80254	0.88048	0.840551	0.287717
Error estándar	0.375941	0.425715	0.364727	0.067575
Mediana	0.795341	0.878672	0.809068	0.278438
Desviación estándar	0.751881	0.85143	0.729454	0.135151
Varianza de la muestra	0.565325	0.724932	0.532103	0.018266
Nivel de confianza (95.0%)	1.196411	1.354814	1.160724	0.215055

Cuadro No. 65: Análisis de estadística descriptiva para las pruebas de resazurina a 55°C

	55°C											
	Entrada	Acumulación	Salida	Entrada	Acumulación	Salida	Entrada	Acumulación	Salida	Acumulación	Salida	Tornillo
Media	Filtro 1			Filtro 2			Filtro 3			Filtro 4		
Error estándar	0.70	1.23	0.81	0.79	1.23	0.91	0.90	0.76	0.98	0.88	0.95	1.03
Mediana	0.11	0.12	0.13	0.10	0.22	0.11	0.17	0.17	0.14	0.05	0.15	0.22
Desviación estándar	0.70	1.15	0.77	0.83	1.05	0.88	0.92	0.63	0.92	0.89	0.90	0.90
Varianza de la muestra	0.25	0.35	0.29	0.23	0.67	0.26	0.37	0.50	0.31	0.14	0.34	0.48
Nivel de confianza (95.0%)	0.06	0.13	0.08	0.05	0.45	0.07	0.14	0.25	0.10	0.02	0.11	0.23
Media	0.31	0.27	0.36	0.28	0.52	0.32	0.46	0.38	0.39	0.10	0.42	0.60

Cuadro No. 66: Análisis de estadística descriptiva para las pruebas de resazurina a 37°C

	37°C											
	Ent rad a	Acum ulació n	Sa lid a	Ent rad a	Acum ulació n	Sa lid a	Ent rad a	Acum ulació n	Sa lid a	Acu mul ació n	Sali da	Tor nill o
Punto	Filtro 1			Filtro 2			Filtro 3			Filtro 4		
Media	0.7 2	0.78	0. 73	0.6 9	0.79	0. 70	0.7 1	0.57	0. 68	0.7 6	0.65	0.6 9
Error estándar	0.1 3	0.08	0. 14	0.1 3	0.08	0. 15	0.1 3	0.11	0. 11	0.0 7	0.12	0.1 4
Mediana	0.5 7	0.71	0. 57	0.5 3	0.71	0. 51	0.5 6	0.48	0. 59	0.7 4	0.57	0.5 2
Desviación estándar	0.3 0	0.24	0. 31	0.2 8	0.23	0. 33	0.3 0	0.33	0. 24	0.2 2	0.28	0.3 2
Varianza de la muestra	0.0 9	0.06	0. 10	0.0 8	0.05	0. 11	0.0 9	0.11	0. 06	0.0 5	0.08	0.1 0
Nivel de confianza (95.0%)	0.3 7	0.19	0. 38	0.3 5	0.18	0. 41	0.3 7	0.26	0. 29	0.1 7	0.34	0.4 0

Cuadro No. 67: Análisis de estadística descriptiva para las prueba de fermentación espontánea para los filtros uno y dos

Punto	Entrada	Acumulación	Salida	Entrada	Acumulación	Salida
	Filtro 1			Filtro 2		
Media	0.2411	1.081	0.2903	0.6285	0.8093	0.3604
Error estándar	0.054613	0.138146	0.040451	0.177207	0.208114	0.061927
Mediana	0.175	0.9	0.255	0.49	0.745	0.362
Desviación estándar	0.1727	0.436855	0.127918	0.560378	0.658115	0.19583
Varianza de la muestra	0.029825	0.190842	0.016363	0.314023	0.433116	0.038349
Nivel de confianza (95.0%)	0.123542	0.312507	0.091507	0.40087	0.470787	0.140088

Cuadro No. 68: Análisis de estadística descriptiva para las prueba de fermentación espontánea para los filtros tres y cuatro

Punto	Entrada	Acumulación	Salida	Acumulación	Salida	Tornillo
	Filtro 3			Filtro 4		
Media	0.4213	0.7891	0.2905	0.5115	0.2862	0.2292
Error estándar	0.223276	0.251447	0.040801	0.11709	0.05328	0.03376
Mediana	0.25	0.625	0.315	0.47	0.275	0.27
Desviación estándar	0.70606	0.795146	0.129023	0.370271	0.168485	0.106759
Varianza de la muestra	0.498521	0.632257	0.016647	0.1371	0.028387	0.011398
Nivel de confianza (95.0%)	0.505085	0.568813	0.092298	0.264876	0.120527	0.076371

E. Anexos

Anexo 1: Prueba de efectividad de biocidas por el método de difusión por disco. BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 8) con modificaciones.

Equipo, materiales y reactivos

- Incubadora
- Mechero
- Micropipetas p10, p100 y p1000
- Puntas estériles para micropipetas
- Discos de papel filtro estériles no.2
- Tubos Eppendorf de 1.5 µL estériles
- Formaldehído
- Placas de Agar Plate Count
- Caldo Nutriente
- Agua de peptona ésteril
- Estándar de McFarland de 0.5
- Biocidas

Procedimiento

Nota: realizar todos los procedimientos en condiciones estériles.

Preparación de medios de cultivo y caldos

Preparar cajas Petri con PCA, según fabricante.

Preparar agua peptonada al 0.1% para realizar inóculos, según fabricante.

Preparación de discos con biocidas

Esterilizar discos de papel filtro no. 2. de 6 mm diámetro.

Realizar diluciones de cada biocida en tubos Eppendorf de 1.5mL. (100%, 10⁻¹, 10⁻²)

Preparar solución de formaldehído 1:10.

En cada disco colocar 8 µL de cada biocida y formaldehído 1:10.

Dejar secar los discos por 15 minutos.

Determinación de susceptibilidad a antimicrobianos por método de difusión por disco

Nota: placas y discos deben de estar a temperatura ambiente.

Tomar una colonia de la bacteria y colocarla en tubo con 10mL de agua peptonada al 0.1%

La muestra bacteriana del tubo debe tener 10⁸ cfu/mL o McFarland 0.5

Si es necesario aumentar concentración, agregar más bacterias. Si se debe diluir utilizar agua peptonada 0.1%

Del inóculo en agua peptonada, tomar 100 μ L y colocarlos en placa de Müller-Hinton, utilizar un esparcidor para cubrir la placa completamente.

Dividir la placa en cuatro secciones para colocar los discos con biocida a diferente concentración y el control de formaldehído.

Dejar absorber el inóculo por 15 minutos.

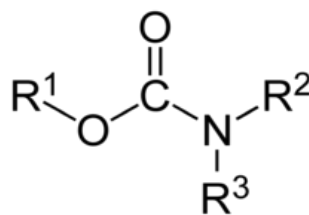
En cada uno de los segmentos, previamente identificados, colocar cada disco correspondiente. Asegurarse que el disco toque la superficie completamente.

Nota: no colocar más de seis discos en cajas petri de 10cm. Media vez el disco toque la superficie de la placa, no debe moverse de lugar.

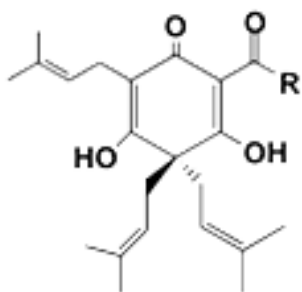
Incubar las cajas 37°C por 18-24hrs.

Medir los halos de inhibición en cada segmento, asignar una medición de referencia a cada dilución y compararla con la del formaldehído (dividir diámetro de inhibición de la muestra dentro la del formaldehído) (Lou, 2008)

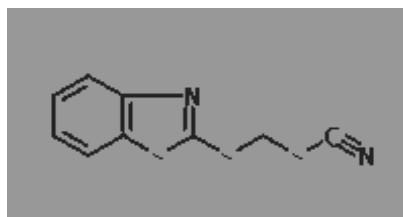
Anexo 2: Estructuras químicas de biocidas.



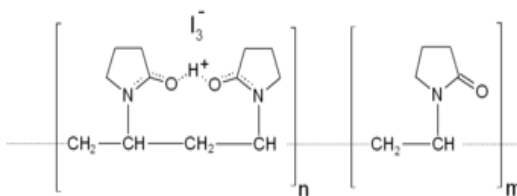
Carbamato



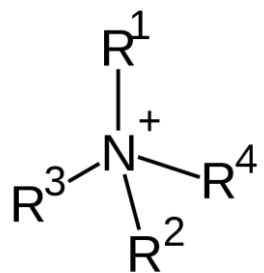
Ácido beta de lúpulo



Tiocianometilitio benzotiazol



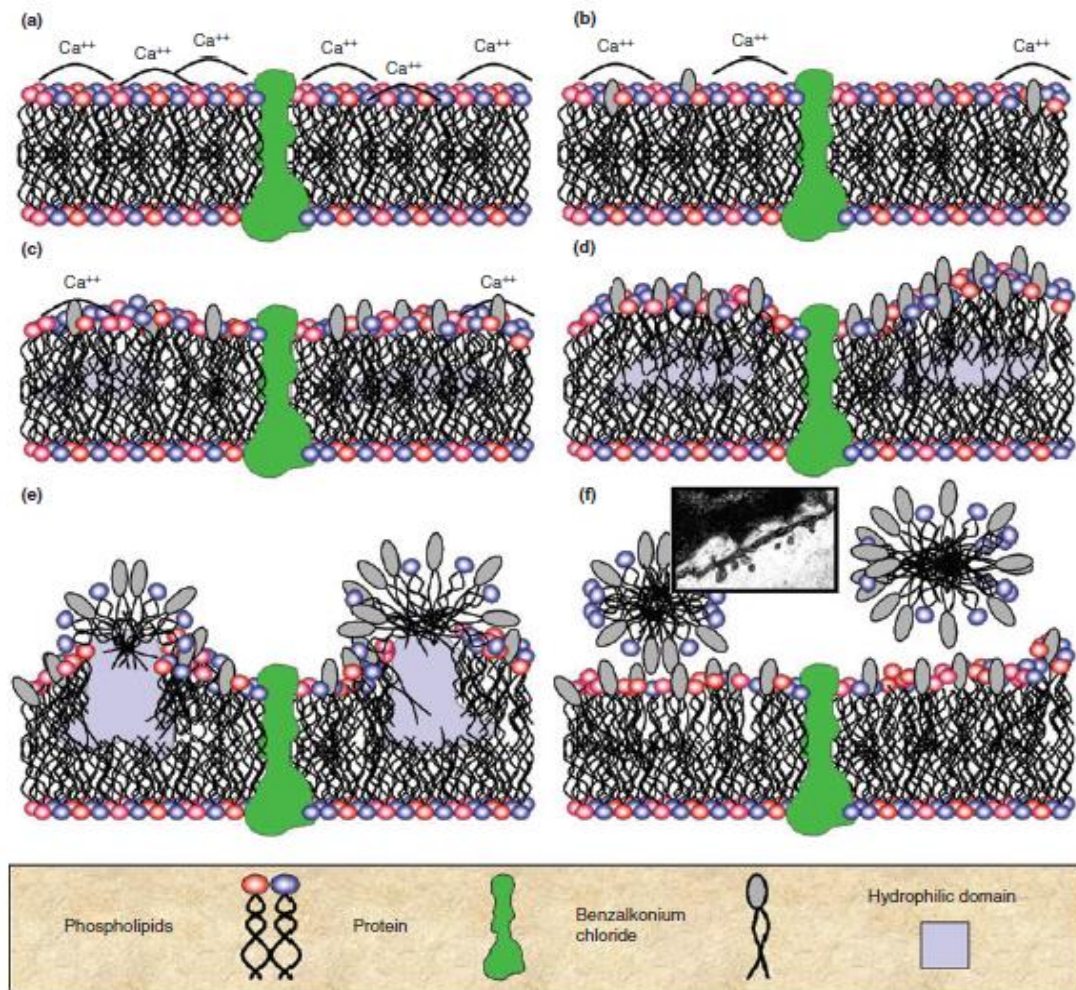
Polivinilrridona



Amina cuaternaria (cati3n)

Ejemplo de mecanismo de acción de biocida

Figura 4. Mecanismo de acción de aminas cuaternarias como biocida. El esquema muestra la acción progresiva del biocida (a-f) en la membrana de las bacterias hasta provocar la lisis de la célula. La micrografía en (f) muestra la formación de vesículas de la membrana exterior causada por la exposición a aminas cuaternarias.



Créditos:

Gilbert y Moore (2005). Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet. *J Appl Microbiol* 99:703-715.

Anexo 3

Pruebas bioquímicas de bacterias identificadas

Se escogieron tres de las cinco especies de bacterias identificadas en esta investigación para que formaran parte del cepario del Departamento de Bioquímica y Microbiología de la Universidad del Valle de Guatemala, como parte del proyecto del laboratorio del curso de Microbiología Aplicada II en segundo ciclo del año 2013. Esto se debe a que pueden servir pedagógicamente así como también para futuras investigaciones.

Para poder ingresar estas bacterias al cepario fue necesario realizarles pruebas bioquímicas para confirmar su especie, viabilidad y pureza del cultivo. Estas pruebas fueron realizadas por mi persona además de dos alumnos más, Roberto Fernández y Marijose Bregni. A continuación se presenta un cuadro con los resultados de dichas pruebas.

Cuadro 5. Pruebas bioquímicas de especies identificadas

Cepa	Grupo Morfológico	Tinción Gram	Formación de esporas	Fermentación de Glucosa	Fermentación de Lactosa	Fermentación de Sacarosa	Movilidad	Indol	Lisina-Hierro	Utilización de citrato
<i>Bacillus cereus</i>	Bacilos	+	+	+	-	-	+	-	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	Bacilos	-	-	+	+	+	+	nd	-	+
<i>Weissella confusa</i>	Bacilos (cortos)	+	-	+	+	+	-	nd	-	-

Anexo 4

Mejora de metodología utilizada para determinar susceptibilidad de bacterias hacia biocida.

La metodología utilizada para determinar la susceptibilidad bacteriana hacia biocidas se basa en la prueba estandarizada de difusión de disco desarrollado por Kirby y Bauer en 1959 y que ha sido estandarizada por la Sociedad Británica de Quimioterapia como Antimicrobianos, BSAC por sus siglas en inglés y El comité nacional para pruebas estándares de laboratorio clínicos (NCCLS). Esta metodología es la que se realiza rutinariamente para determinar la resistencia de cepas hacia antibióticos en laboratorios clínicos. Dado el caso que ésta investigación no utiliza antibióticos sino que otros biocidas se realizaron cambios a la metodología estándar.

La primera modificación fue utilizar el medio PCA para realizar las pruebas en lugar de usar el medio Müeller-Hinton. Esto se debió a que no había suficiente medio disponible para el número de muestras que se realizaría. Por lo que altamente se recomienda, si es posible, realizar una estandarización del método con el medio de PCA y determinar si hay una diferencia significativa al utilizarlo en lugar del recomendado por la BSAC. La segunda modificación fue presentar los resultados de forma distinta a como lo dicta el método. Esto se debe a que el público blanco al que se quiere presentar los resultados –personal del ingenio- poseen muy poco o nulo conocimiento sobre microbiología, lo cual hace que no comprendan los resultados si se presentan de la forma que indica el método.

Existen otras metodologías que podrían utilizarse para determinar la susceptibilidad bacteriana. La que puede utilizarse y recomiendo es la prueba de la determinación de concentración mínima inhibitoria (MIC ug/mL). Esta prueba consiste en realizar de 7-8 diluciones seriadas del agente antimicrobiano de las cuales se coloca 0.1ml del mismo en una placa con 96 posos. Luego se añade a cada poso 0.01mL de un cultivo de la bacteria con una concentración de 5×10^5 cfu/ml. Por último se deja incubando para luego interpretar los datos según la turbidez del cultivo. **Para mayores detalles se recomienda consultar el Manual de Pruebas de Susceptibilidad de Antimicrobianos de la Sociedad Americana de Microbiología.**

Bauer, A. W., D. M. Perry, and W. M. M. Kirby. 1959. Single disc antibiotic sensitivity testing of Staphylococci. A.M.A. Arch. Intern. Med. 104:208–216.

Anexo 5: Procedimiento Normado de Operación de análisis de cambios en capacidad buffer por efectos de los microorganismos. Prueba tradicional de capacidad buffer.

1. Propósito: Analizar el aumento de la capacidad buffer por parte del jugo de caña por causa de la contaminación microbiológica. Por lo que se necesita de un método sencillo y rápido para establecer la calidad del jugo de caña en base a su contaminación microbiológica. La importancia de esto, radica que al conocer y analizar a nivel industrial los resultados de esta prueba, se puede conocer las necesidades posteriores de dicho jugo como la necesidad de agregar más cal en el proceso de elaboración de azúcar granulada de mesa.

2. Aplicación: La importancia de esto, radica que al conocer y analizar a nivel industrial los resultados de esta prueba, se puede conocer las necesidades posteriores de dicho jugo como la necesidad de agregar más cal en el proceso de elaboración de azúcar granulada de mesa.

3. Referencias:

- 3.1. Zossi, S.2010. Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán, Argentina. Revista Industrial y agrícola de Tucumán. Vol. 187 No. 1 Versión ISSN 1851-3018.
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182010000100003
- 3.2. 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. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Microbiología Industrial. Colombia.
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis254.pdf>
- 3.3. Raimbault, M. 1994. Impacto de la Microbiología en la Fabricación del Azúcar. Programa Fondo de Nuevos Desarrollos. España. http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/doc34-01/41706.pdf

4. Terminología y abreviaciones:

- 4.1. ml = mililitros
- 4.2. NaOH = hidróxido de sodio

5. Principio: Declarar la base teórica/práctica que sustenta el procedimiento.

La producción de azúcar en Guatemala, tiene un alto impacto en la economía del país, por lo que el aumento de la eficiencia del proceso tiene un efecto positivo y beneficioso no sólo para la industria sino que para la estabilidad de cada una de las personas que tienen relación con el mismo.

Por lo que, al analizar la forma de trabajo y producción de la industria azucarera, como cualquier industria alimenticia, es importante definir puntos críticos de control para asegurarnos la calidad del producto final y medir de una forma confiable los efectos de los microorganismos en pasos importantes de la producción de azúcar, para poder cuantificar el daño de los mismos y con esto afecta a la eficiencia general del proceso.

La eficiencia de un proceso tan complejo, como lo es la producción de azúcar a nivel industrial, se ve afectado por muchos parámetros que la industria debe regular y controlar. Uno de ellos, que ha sido uno de los mayores problemas por su incapacidad de medición del daño, es el causado por la acción de los microorganismos. Ya que, al aumentar significativamente estos organismos en las diferentes etapas del proceso, desde la materia prima hasta el producto final, se obtienen cambios

en la capacidad buffer del jugo, cambios de pH, precipitación de compuestos, cambios en las propiedades fisicoquímicas del mismo, entre otras.

Por lo que, cada una de estas características negativas, producto de la acción microbiológica pueden medirse cuantitativamente para poder establecer parámetros y límites aceptables, y así poder tomar decisiones a nivel industrial cuando se obtenga resultado no deseable.

Entonces, es necesario definir específicamente el procedimiento de cada prueba analítica que se piensa aplicar con su grado de confiabilidad y las condiciones y pasos para realizar de una buena manera las mediciones. Es por esto, que se necesita tener personal competente que pueda realizarlo, ya que en base a sus resultados y confiabilidad de los mismos, depende la toma de decisiones a la hora de estar trabajando en la producción industrial de azúcar. Para esto, es indispensable desarrollar métodos fáciles de aplicar en condiciones de producción para que sean indicadores confiables de la acción microbiológica. Para esto, es necesario conocer las condiciones adecuadas del procedimiento de cada prueba y la forma correcta de realizarlos. Esto se logra con una capacitación del personal que está encargado de realizar estas mediciones, con el apoyo de un jefe superior que pueda tomar decisiones en el momento para evitar mayores efectos en la eficiencia del proceso en general.

6. Documentos asociados:

- 6.1. Balsells, D. de la Peña, B. Rodríguez, F. 2009. Tesis "Optimización de procedimientos de Laboratorio y económicos en control microbiológico en la industria azucarera." Universidad del Valle de Guatemala.

7. Seguridad:

- 7.1. Siempre que trabaje dentro del laboratorio, usar guantes y lentes para evitar cualquier accidente.
- 7.2. A la hora de trabajar con el Hidróxido de sodio al 0.1% colocarse guantes.
- 7.3. Usar un guante especial para altas temperaturas, a la hora de introducir y sacar los erlemeyer del baño de maría cada una de las muestras, para evitar quemaduras.
- 7.4. Tener máximo cuidado a la hora de realizar el proceso de neutralización.
- 7.5. No olvide rotular cada cristalería o muestra que esté trabajando, para evitar accidentes y confusiones.

8. Equipos, materiales y reactivos:

8.1. Materiales

- 1 Bureta de 25 ml
- 1 beaker de 250 ml
- 1 estufa
- 1 agitador magnético
- 1 pH-metro
- 1 base
- 1 pinzas metálicas

8.2. Equipo

- Baño de María (40 °C)

8.3. Soluciones

- NaOH al 0.1 N.

9. Procedimiento:

- 9.1. Agregar 20mL de jugo al beaker
- 9.2. Agregar el agitador magnético
- 9.3. Colocar el beaker sobre la estufa
- 9.4. Introducir el electrodo dentro del beaker, tomar el pH inicial
- 9.5. Llenar la bureta de 25 mL con NaOH al 0.1 N
- 9.6. Titular con el NaOH al 0.1 N, hasta que el pH inicial aumente un grado de pH.
- 9.7. Apuntar el volumen agregado de NaOH al 0.1 N.
- 9.8. Realizarlo tanto con la muestra inicial como la muestra a las 4 horas. Comparar resultado de volumen agregado.

10. Cálculos: No hay

11. Control de calidad:

11.1. Listar pasos de control de Calidad:

- Dejar un día antes, descongelándose la muestra en un refrigerado.
- Sacar la muestra de la refrigeradora únicamente en el momento en el cuál se vaya a utilizar.
- Tener preparado el baño de maría a 40°C, antes de sacar las muestras
- Evitar cualquier contaminación cruzada en el área de trabajo.

11.2. Medidas para asegurar la calidad de los procedimientos

- Utilice cristalería limpia y en buen estado.
- Lávese las manos antes y después de terminar el procedimiento.
- Rotule cada una de las muestras y cristalería que es utilizando para evitar problemas y contaminación cruzada.

11.3. Medidas para asegurar la conservación de la muestra.

- Lavar y limpiar correctamente los erlemeyers donde se colocarán la muestra
- Luego de servira las muestras, colocarlas rápidamente en el baño de maría previamente preparado.

11.4. Política de resolución de conflictos: N/A

12. Reporte de datos y documentos utilizados:**12.1. Pasos para reportar resultados obtenidos:**

- Colocar en una tabla una columna identificando el número de muestra, el tiempo de cada muestra, y los mililitros de NaOH gastados para la titulación. También coloque una columna donde se reporte el pH inicial y final.

- En una gráfica lineal (x,y) colocar tiempo (días) vr. mL de NaOH agregados, de cada corrida.

Anexo 6: Procedimiento Normado de Operación de método de análisis por Fermentación Espontánea.**1. Propósito:**

Análisis de metabolismo microbiano en jugos de caña mediante el método de fermentación espontánea.

2. Aplicación:

Aplicación en laboratorios de microbiología en ingenio, utilizando el jugo de caña para determinar el metabolismo microbiano y así poder determinar el daño que ésta ha producido.

3. Referencias:

- 3.1 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.". Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, Microbiología industrial. Bogotá, Colombia. Pp. 89.

4. Terminología y abreviaciones:

- a. HPLC: High- performance liquid chromatography

- b. Fermentación Espontánea: proceso catabólico de oxidación incompleta y se desarrolla en un ambiente completamente anaerobio; y se obtiene como producto final un compuesto orgánico.

5. Principio:

El método de Fermentación espontánea permite cuantificar la sacarosa perdida en un lapso de tiempo y relacionar ésta con el metabolismo microbiano llevado a cabo en el determinado tiempo. Para esto se utilizan herramientas como el HPLC, potenciómetro, Excel, entre otros instrumentos (Serrano, 2006).

6. Documentos asociados:

- 6.1. No aplica

7. Seguridad:

- 7.1. Utilizar bata blanca de manga larga
- 7.2. Zapatos cerrados

8. Equipos, materiales y reactivos:

- 8.1. 4 Erlenmeyers
- 8.2. 1 pH-metro
- 8.3. Jugo de caña diluido o concentrado
- 8.4. Baño de maría a 37°C
- 8.5. Equipo de HPCL (Filtros y curva de calibración)

Condiciones: realizar curva de calibración utilizando estándares de sacarosa. Se recomiendan estándares de las siguientes concentraciones: 3%, 5%, 9%, 12% y 17%. Fase móvil: acetonitrilo.

9. Procedimiento:

- 9.1 Verter aproximadamente 120mL de jugo de caña diluido en los cuatro Erlenmeyers.
- 9.2 Rotular los Erlenmeyers como hora1, hora2, hora3 y hora4.
- 9.3 Introducir estos cuatro en el Baño de María 37°C.
- 9.4 Luego de 5 o 10 minutos tomar cualquiera de los cuatro Erlenmeyers y leer el pH de éste con un pH-metro. Registrar este pH como el **INICIAL** (este proceso debe de realizarse en 5 min para evitar que se pierda tiempo de las muestras siguientes).
- 9.5 Correr dicha muestra, "INICIAL", en el equipo de HPLC para registrar la concentración de sacarosa en dicha muestra.
- 9.6 RECUERDE que debe filtrar la muestra y correr ésta después de realizar la curva de calibración.

9.7 Empezar a tomar el tiempo luego de registrar el pH inicial, y dejar pasar una hora para leer el pH rotulado como “hora1”.

9.8 Leer el pH de cada hora sucesivamente.

9.9 Se espera que el pH baje o sea más ácido con el pasar de las horas.

9.10 Correr la última muestra, “hora4”, en el equipo de HPCL HPLC para registrar la concentración de sacarosa en dicha muestra.

9.11 RECUERDE que debe filtrar la muestra y correr ésta después de realizar la curva de calibración.

9. Cálculos:

No aplica

10. Control de calidad:

- a. Pasos y criterios para control de calidad
Si el jugo de caña a utilizar fue descongelado previamente a la realización de la prueba, evitar la re-congelación del jugo para evitar deteriorar las propiedades del jugo y los microorganismos a estudiar.
- b. Medidas para asegurar la calidad de los procedimientos
Trabajar con precisión de medidas y toma de tiempo.
- c. Incluir medidas para asegurar la conservación de las muestras
Los jugos de caña deben permanecer congelados para luego descongelarlos a la hora de utilizarlos

11. Reporte de datos y documentos utilizados:

Erlenmeyer (Hora)	pH registrado	Concentración de sacarosa (HPLC)
Hora 0		
Hora 1		
Hora 2		
Hora 3		
Hora 4		

Anexo 7: Procedimiento Normado de Operación de método de análisis de acción de resazurina.

1. Propósito: Determinar el pH óptimo para la realización del test de resazurina con el fin de reducir el tiempo de viraje de la reacción

2. Aplicación: Con la variación de pH, a más ácidos o básicos, se podrá disminuir el tiempo de reacción (viraje) del test de resazurina

3. References:

1. Anoopkumar-Dukie S, Carey JB, Conere T, O'Sullivan E, Van Pelt FN, Allshire A. 2005 Resazurin assay of radiation response in cultured cells. *Br J Radiol*; 78 (934): 945-947
2. Rolón M, Vega C, Escario JA, Gómez-Barrio A. 2006 Development of resazurin microtiter assay for drug sensibility testing of *Tripanosoma cruzi* epimastigotes. *Parasitol Res*; 99 (2): 103-107.
3. Zhang H, Du G, Zhang J. 2004 Assay of mitochondrial functions by resazurin in vitro. *Acta Pharmacol Sin*. 25 (3): 385-389.
4. Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings, J, Portaels F. 2002 Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*; 46 (8): 2720-2722.
5. Rasmussen ES. 1999 Use of fluorescent redox indicators to evaluate cell proliferation and viability. *In Vitro Mol Toxicol*; 12 (1): 47-58.
6. UNIVERSIDAD DE ZULIA. 2003 Introducción al control de la calidad de la leche cruda. Guía práctica. Maracaibo. Disponible desde Internet: URL: <http://www.members.tripod.com.ve/tecnología/introducción.ht>
7. Madigan TM, Martinko J M, Parker J. Brock, 2003 *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

4. Terminología y abreviaciones:

1. Esterilización: Destrucción o eliminación en su totalidad de la vida microbiana, incluyendo esporas.

2. Resazurina:

3. pH: cantidad logarítmica de iones hidronio en una solución

5. Principio:

En sí la resazurina es un indicador de pH que tiene su punto de viraje entre 3.8 (anaranjado) a 6.5 (púrpura). Esta se reduce en dos etapas debido a la pérdida de oxígeno, la primera sufre varios cambios de tonalidades hasta llegar a un color rojo-rosado, debido a la formación de la resazurina (una característica importante de este paso es que es irreversible, debido al contacto con el oxígeno del aire no regresa a el color azul original), en segunda etapa, si la pérdida de oxígeno continúa esta se reduce a dihidro-resofurina, este es un compuesto incoloro (es importante mencionar que este paso es reversible por oxidación). (8)

De esta manera, si se comprende la reacción de la resazurina se busca plantear un nuevo ambiente a la reacción para favorecer la actividad microbiana, con el fin de que esta reacción se dé a una velocidad mayor a la que se trabaja comúnmente.

6. Documentos asociados:

- PNO's de Megaproyecto 2012 en Ingenios azucareros por Marijose Bregni y Cristinne Fabian
- PNO meta 1 Validación de tubos para la realización del test de resazurina, 2012, José D. Sánchez
- PNO meta 2 Determinación de la vida de anaquel de la solución de resazurina

7. Seguridad:

- Bata
- Guantes
- Uso correcto de campana de flujo laminar

8. Equipos, materiales y reactivos:

- Tubos test de resazurina
- 2 Beakers 50 mL
- Potenciómetro
- Buffer pH 4 y 7
- HCl 1N
- NaOH 1N
- Gradilla
- Baño térmico a 37C

9. Procedimiento:

1. Tomar una alícuota de 30mL de Resazurina en un beaker
2. Previamente se calibra el potenciómetro como lo indica su manual
3. Tomar lectura de pH inicial y tomar alícuota de 5.1mL a un tubo estéril de resazurina
4. Cambiar el pH con HCl y NaOH aproximadamente 0.1N hasta tener phis de 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 y 7
5. Tomar alícuotas por duplicado de 5.1mL en tubos de resazurina por cada pH a variar
6. Agregarles jugo diluido de caña hasta rebalsar con tapón
7. Colocar tubos en gradilla y colocarla en baño térmico a 37 C
8. Tomar el tiempo en que viran las reacciones

10. Cálculos:

No aplica

11. Control de calidad:

- Calibrar el potenciómetro antes de usarlo
- Tomar la lectura con agitación constante de la solución
- Limpiar con agua destilada el electrodo entre cada medida
- Utilizar puntas estériles para el micro pipeta

12. Política de resolución de conflictos:

- Después de calibrar tomar medida de un buffer con pH conocido para confirmar la calibración del instrumento
- Una diferencia de 5 minutos en viraje no es significativa para determinar si un método es más efectivo que otro

Fotografía: Cambio del color de resazurina por oxidación del reactivo



Anexo 8: Procedimiento de medición de elongación de cristales

Para realizar la medición del tamaño de los cristales en las diferentes masas cocidas, se realizó el siguiente procedimiento

A. Muestreo

1. Se toma una muestra aleatoria de las masas cocidas de los tachos 1 y 2; y se colocan en un recipiente

B. Preparación de muestra

1. Se prepara un baño de maría a una temperatura de 30°C
2. Se introduce el recipiente que contiene la muestra en el baño de maría con el fin de homogenizar la misma

C. Medición

1. Con una pinza, se toma una pequeña muestra de la masa cocida a evaluar
2. Se coloca en un portaobjetos
3. Se esparce la muestra para eliminar acumulaciones que impidan medir asertivamente
4. Se agrega una gota de glicerina y se esparce sobre la muestra
5. Es necesario tener un microscopio con lente milimetrado y zoom para apreciar los cristales en su totalidad, una vez encendido el equipo, se introduce la muestra
6. Se enfoca hasta divisar claramente los cristales
7. Se eligen 10 campos que contengan al menos 10 cristales
8. Se determina el largo y ancho de cada cristal en los determinados campos

Anexo 9: Estandarización de la Medición del Coeficiente de Elongación de Cristales en Masas Cocidas del área de Tacho, en el proceso de elaboración de azúcar

Medición del tamaño de los cristales en las diferentes masas cocidas A, B, y C de los tacho o cristalizadores tanto para el Ingenio Magdalena como Pantaleón.

Toma de muestra

- Tomar de 50-75 ml de muestras de forma aleatoria en el período de zafra 2012-2013 de las masas cocidas A, B y C de cada ingenio
- Colocarlas en recipientes plásticos, con tapadera o papel film en la parte superior de los mismos para protección de la muestra.
- Luego almacenarlas, a temperatura de refrigeración.
- Identificar cada una de las muestras por tipo de masa cocida, ingenio y fecha de la toma de muestra.

Preparación

- Preparar un baño de María, aproximadamente a una temperatura entre 28-30°C.
- Introducir los recipientes con la muestra, cuidando que el agua no entre en contacto con los mismos.
- Mientras la muestra se va calentando, utilice una varilla de vidrio para lograr homogenizar la misma.

Mediciones

- Por medio de una pinza, o con la punta de la misma varilla, tome una pequeña muestra del recipiente homogenizado de la masa cocida que se va a analizar.
- Colocar la muestra significativa sobre un portaobjeto. Para esto es necesario que esparza lo más que se pueda la muestra sobre toda la superficie del portaobjetos para evitar que se acumule y se formen grumos que dificulten analizar correctamente la muestra.
- Encender el microscopio y colocar el portaobjeto en el mismo. Es importante mencionar que este equipo debe contar con un lente milimetrado para poder realizar las mediciones de forma correcta.

- Realiza el enfoque de la muestra.
- Elija 1 campo de lectura, que le permita evaluar un mínimo de 30-50 cristales.
- Determine el largo y ancho de cada cristal, dentro del campo que se está analizando.
- Realice el mismo procedimiento para un mínimo de 8 campos por muestra.

Ilustración 1: Prueba de resazurina Ingenio Concepción.



Ilustración 2: Almacenaje a Granel.



Ilustración 3: Medio selectivo de bacterias dextranogénicos (LBDG), con el característicos crecimiento de estas bacterias, procedentes de jugo de caña.



Ilustración 4: Medio nutritivo con crecimiento de bacterias no dextranogénicas, o microbiota total, procedente de jugos de caña.



Ilustración 5: Fotografía de filtro de cachaza de Ingenio Concepción.



