

10º Congreso ATALAC 2016
 “Silverio Flores Cáceres”
 XXXVIII Convención ATAM 70º Aniversario
 31 de agosto al 2 de septiembre WTC Boca del Río, Veracruz

PERDIDAS DE SACAROSA POR MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL TALLO DE CAÑA
 DE AZÚCAR EN CAMPO, BATEY Y FÁBRICA

SUCROSE LOSSES BY MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH SUGARCANE STEM FROM
 FIELD, BATEY AND MILL.

Gloria Teresa González Vázquez¹, Mercedes Sobal Cruz², Juan Valente Hidalgo Contreras¹ y
 Francisco Hernández Rosas¹

¹Estudiante de Maestría en Ciencias, CP-Córdoba, México, ¹Profesor Investigador, CP-Córdoba, ²CP
 Campus Puebla, México. Correspondencia: fhrosas@colpos.mx

Resumen

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es el principal cultivo para la obtención de azúcar en México. Sin embargo, se estiman pérdidas de sacarosa por asociación de microorganismos que la invierten (Cuervo, 2010). Por lo anterior, en el presente trabajo se aislaron y seleccionaron los microorganismos obtenidos del tallo de caña de azúcar, de acuerdo a dos secciones del tallo, sección 1 (entrenado 0 al 5) y sección 2 (el entrenado 6 al 10) con tallos pelados y sin pelar. Se observó la mayor incidencia de microorganismos presentes antes de la quema de los tallos (en verde o crudos), tallos quemados y tallos de batey de la misma parcela cosechada. Para ello, se identificó el momento de mayor aumento de microorganismos a las 0, 12, 24, 30 y 36 horas. Se realizaron siembras en medios diferenciales y específicos con el apoyo de pruebas bioquímicas selectivas, para el aislamiento de microorganismos degradadores de sacarosa y coliformes totales. Los resultados muestran que la mayor presencia de microorganismos degradadores de sacarosa se encuentran en la parte basal de tallo (entrenado 0 - 5), la incidencia de microorganismos degradadores de sacarosa aumento a partir de la quema y conforme paso el tiempo hubo mayor presencia, como sucedió en el caso de batey después de transcurridas 30 horas. También, conforme se incrementaron las bacterias degradadoras de sacarosa, las bacterias coliformes tienden a descender y viceversa a mayor presencia de coliformes las bacterias degradadores de sacarosa descende, entre los aislamientos que se obtuvieron tuvimos 7 distintos a *L. mesenteroides*, los cuales también tienden a formar un líquido viscoso similar a la de *L. mesenteroides*. En conclusión la hora recomendable para procesar la caña de azúcar es \leq a 24 horas posteriores a la quema para evitar deterioro bacteriano y donde se encontró no solo a *L. mesenteroides* como causante de la pérdida de sacarosa para el ingenio.

Palabras clave: reductores, *Leuconostoc*, calidad de jugo.

Abstract

Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is the main crop for the production of sugar in Mexico. However, sucrose losses are estimated by association of microorganisms that sucrose inversion. Therefore, in this study they were isolated and selected microorganisms obtained from sugar cane stalk, according to two sections stalks: section 1 (stems 0 to 5) and section 2 (stems 6 to 10) with stems peeled and unpeeled. follow when higher incidence of microorganisms occurred before burning the stems (green), burned stalks and stems into batey. To do this, the peak of microorganisms increased 0, 12, 24,30 and 36 hours

identified. They stocked in specific differential and selective supported by biochemical tests, for the isolation of degraders sucrose and total coliforms means. The results show that the increased presence of sucrose degrading microorganisms are found in the basal part of the stem (section 1, 0-5), the incidence of sucrose degraders increase from burning and spend time as there was a greater presence as it happened in the case of batey after 30 hours. Also, as the degrading bacteria increase sucrose, coliform bacteria tend to fall and vice versa to greater presence of coliform bacteria degrading the sucrose descends, among isolates that were obtained had seven different *L. mesenteroides*, which also tend to forming a viscous liquid similar to that of *L. mesenteroides*. In conclusion advisable to process sugar cane time is ≤ 24 hours after burning to prevent bacterial degradation and *L. mesenteroides* that not only is responsible for the loss of sucrose into the mill.

Key words: reducing sugar, *Leuconostoc*, juice quality.

Introducción

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es el principal cultivo para la obtención de azúcar, la industria azucarera en México es muy importante, con una superficie cultivada de aproximadamente 700,000 ha por año, cuya producción alcanza los 6 millones de ton de azúcar, con valor de 15 mil millones de pesos. El estado de Veracruz tiene la producción más alta de la república, cosechando alrededor de 300,000 ha de cultivo de caña por año, que producen 2 millones de ton de azúcar con valor de 5.5 mil millones de pesos, representando el 38% de la producción nacional (CNPR, 2012).

Sin embargo, se estiman pérdidas de sacarosa por plagas y enfermedades en campo y durante la cosecha después de la quema y el corte, el transporte, en batey y durante su procesamiento en fábrica donde se le asocian microorganismos que invierten la sacarosa, estos causan disminución en los niveles de obtención de azúcar.

Los microorganismos degradadores de sacarosa afectan severamente la calidad del jugo, lo que hace que estos no sean aceptables para ser procesadas como recurso primario y la cantidad deseable disminuye, por lo que es necesario buscar alternativas para elevar la producción. Existen registros que ciertas especies de bacterias producen una enzima, la invertasa y que en concentraciones pequeñas ésta enzima transforma la sacarosa en glucosa y fructosa (reductores). Estos microorganismos crecen de manera exponencial en la superficie de la caña quemada, incluso a partir de los diez minutos después de quemado el cultivo. Los microorganismos asociados con la formación de reductores son: *Xanthomonas*, *Bacterium*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Leuconostoc* y *L. mesenteroides* como los más comunes en la caña quemada y su número aumenta considerablemente después de esta práctica. El daño ocasionado por estos microorganismos se evidencia por la formación de cristales de azúcar en forma de aguja que retarda la cristalización, disminuye la eficiencia y formación de falso grano que ocasiona problemas en la centrifugación de las masas cocidas, esto facilita que pase por las perforaciones de la

tela de la centrifuga y en consecuencia se incrementa la merma de producción (Cloninger y Appling, 1964).

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología Microbiana Aplicada del Colegio de Postgraduados campus Córdoba. Para el estudio se selecciono una parcela ubicada en el municipio de Cuitláhuac, Veracruz por estar dentro de las parcelas programadas para cosecha.

La toma de muestras (tallos) se realizó en nueve puntos localizados en forma de “X” de donde se tomaron diez tallos por cada punto con un total de 90 tallos colectados. Los tratamientos muestreados fueron tallos sin quemar (en verde o crudos), tallos después de quema y tallos descargados en fabrica (batey). Los tallos de cada tratamiento (verde, quema y batey) fueron almacenados en cinco pilas en una área con temperatura controlada a 37 °C. Cada pila correspondio a cinco tiempos distintos (0, 12, 24, 30 y 36 horas) para los respectivos análisis. Adicional a esto, los tallos fueron procesados de acuerdo a los tiempos establecidos y se molieron con dos subtratamientos: tallos sin corteza exponiendo la fibra para la extracción de los jugos y tallos completos con la corteza, además estos tallos fueron separados en dos secciones: sección 1 (entrenado cero al entrenado cinco), sección 2 (entrenado seis al entrenado diez). La extracción del jugo consistió en colocar las secciones de tallos por separado en un trapiche marca GUMADI®, sanitizando entre cada una de las molindas de acuerdo a los tratamientos antes mencionados. Una vez obtenido el jugo se procedió a realizar análisis microbiológico que consistió en siembra por expansión en placas con diluciones seriadas en medios de cultivo específico (UFC/ml) para el aislamiento de bacterias degradadoras de sacarosa. Finalmente, las colonias seleccionadas por sus características morfológicas fueron sometidas a pruebas bioquímicas conforme al manual de Bergey modificación de Cuervo (2010).

Resultados

En el análisis de UFC las bacterias coliformes fueron abundantes, no obstante se encontraron bacterias degradadoras de sacarosa, el comportamiento de estas fue inversamente proporcional. En este sentido, se observa la comparación de crecimiento entre tallos verdes con corteza (VCP) y tallos verdes sin corteza (VSP) (figura 1), donde el aumento de bacterias degradadoras de sacarosa se presenta en la parte basal del tallo que corresponde al entrenado 0-5 de los tallos que no les fue retirada la corteza a las 30 y 36 horas.

10º Congreso ATALAC 2016
 “Silverio Flores Cáceres”
 XXXVIII Convención ATAM 70º Aniversario
 31 de agosto al 2 de septiembre WTC Boca del Río, Veracruz

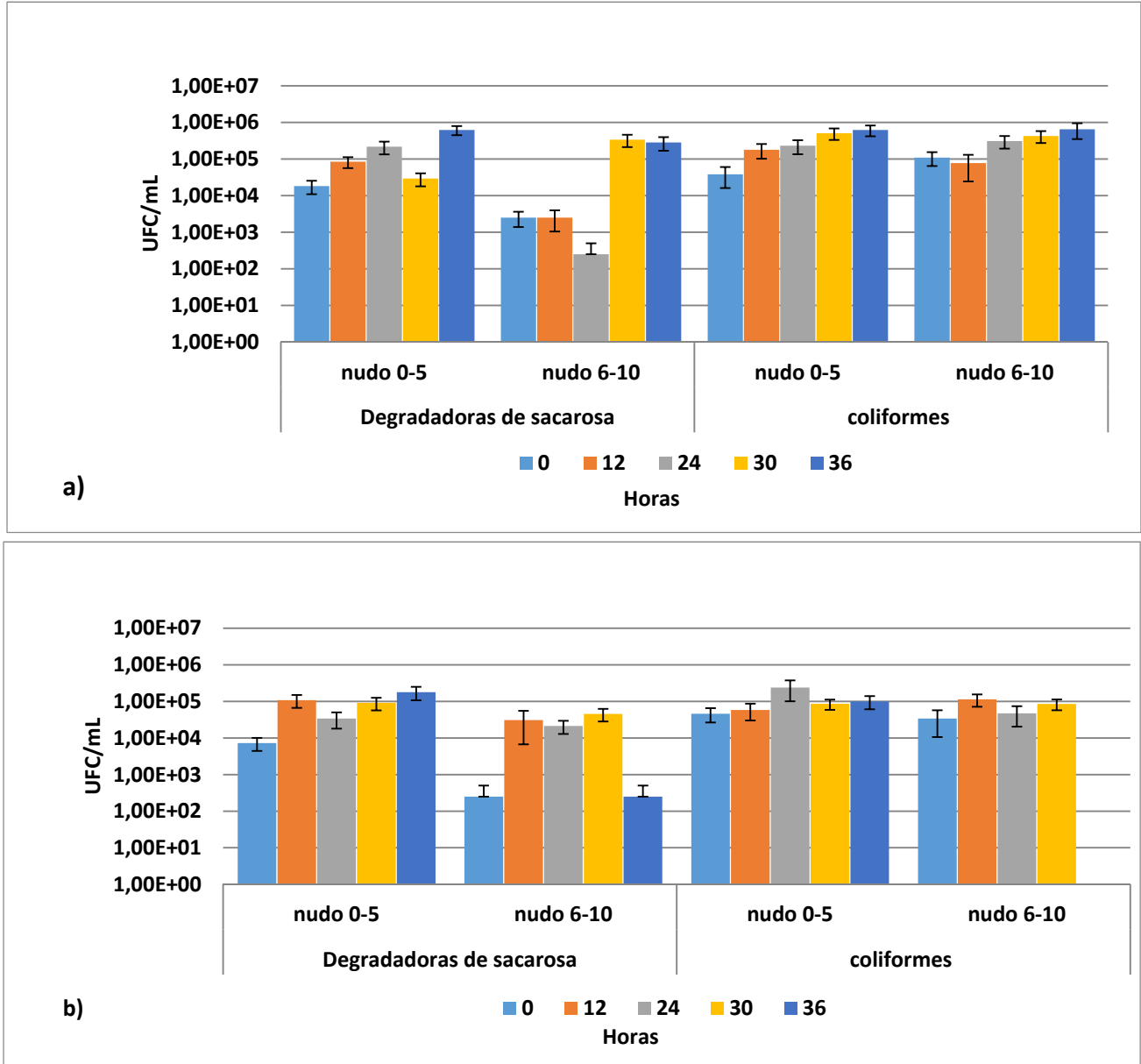


Figura 1. Comparación de crecimiento entre tallos verdes con corteza (VCP) y tallos verdes sin corteza (VSP) **a)** microorganismos presentes en VCP de bacterias degradadoras de sacarosa con 6.19×10^6 UFC/mL en el entrenudo 0-5 a las 36 horas. **b)** microorganismos presentes en VSP de bacterias degradadoras de sacarosa en la sección 0-5 con 1.79×10^5 UFC/mL a la hora 36.

10º Congreso ATALAC 2016
“Silverio Flores Cáceres”
XXXVIII Convención ATAM 70º Aniversario
31 de agosto al 2 de septiembre WTC Boca del Río, Veracruz

También, se hace un comparativo entre los tallos quemados con corteza (QCP) y tallos quemados sin corteza (QSP) (figura 2) donde se observó que el mayor crecimiento de microorganismos se dio en los tallos a los que no se les retiro la corteza en el entrenudo 0-5 a la hora 36.

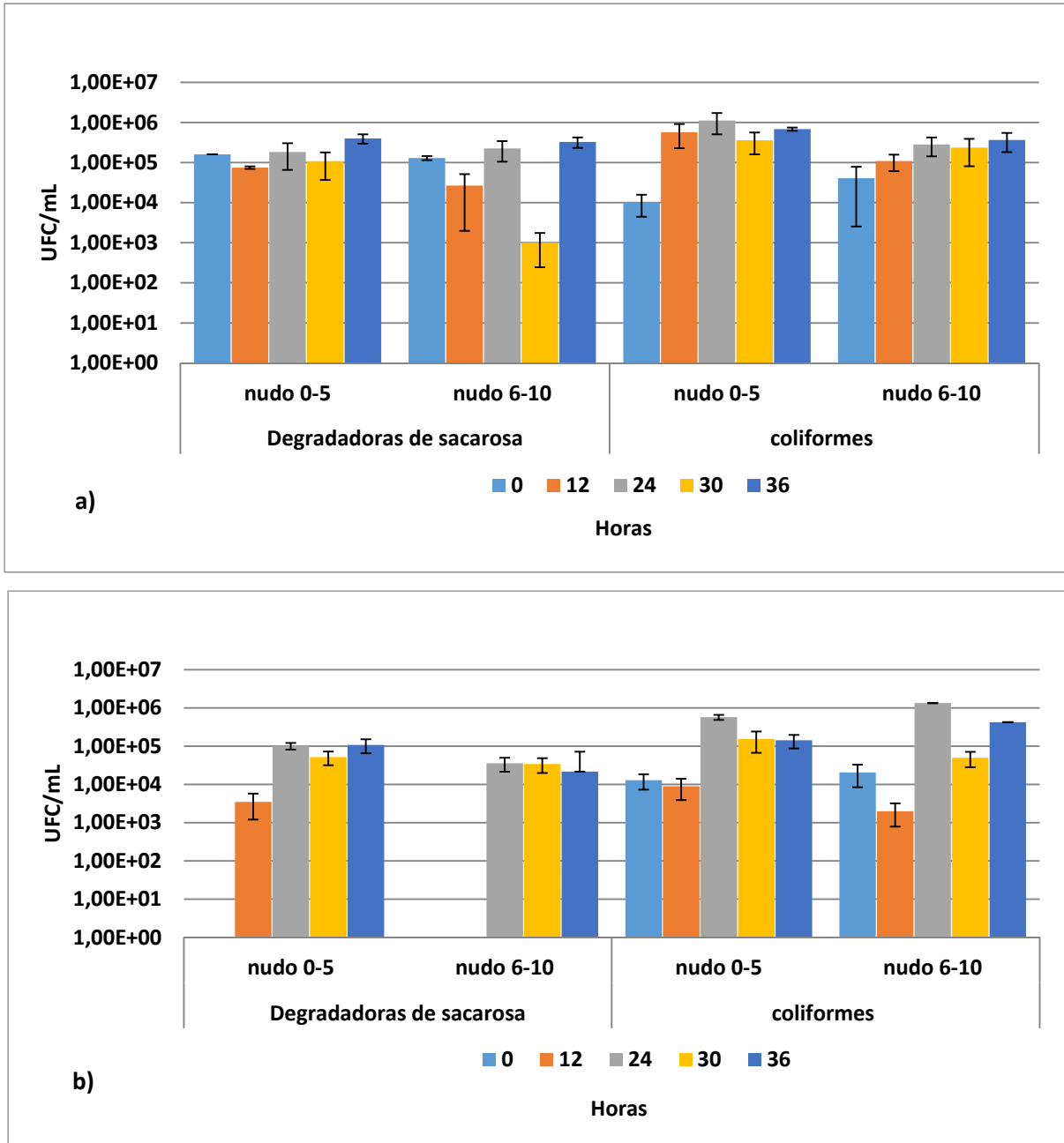


Figura 2. Comparativo entre los tallos quemados con corteza (QCP) y tallos quemados sin corteza (QSP) **a)** bacterias encontradas en QCP con un mayor número de degradadores de sacarosa en el entrenudo 0-5 a las 36 horas con un valor de 4.02×10^6 UFC/mL. **b)** bacterias presentes en los tallos QSP donde el incremento se presentó en el entrenudo 0-5 con 1.09×10^5 UFC/mL a las 36 horas.

10º Congreso ATALAC 2016
“Silverio Flores Cáceres”
XXXVIII Convención ATAM 70º Aniversario
31 de agosto al 2 de septiembre WTC Boca del Río, Veracruz

Los microorganismos del jugo de los tallos de batey fueron aislados a partir de la hora de descarga, estos se obtuvieron a partir de las 24 horas. El tratamiento que tuvo un incremento mayor fue el de los tallos sin corteza de batey específicamente para la sección del entrenudo 0-5 y a las 30 horas (figura 3), esto debido que al estar almacenados los tallos quemados y con la pulpa expuesta dentro del camión durante tantas horas a una temperatura y humedad constante, por lo que los microorganismos tienen las condiciones idóneas para alimentarse por lo que el deterioro del tallo es mayor.

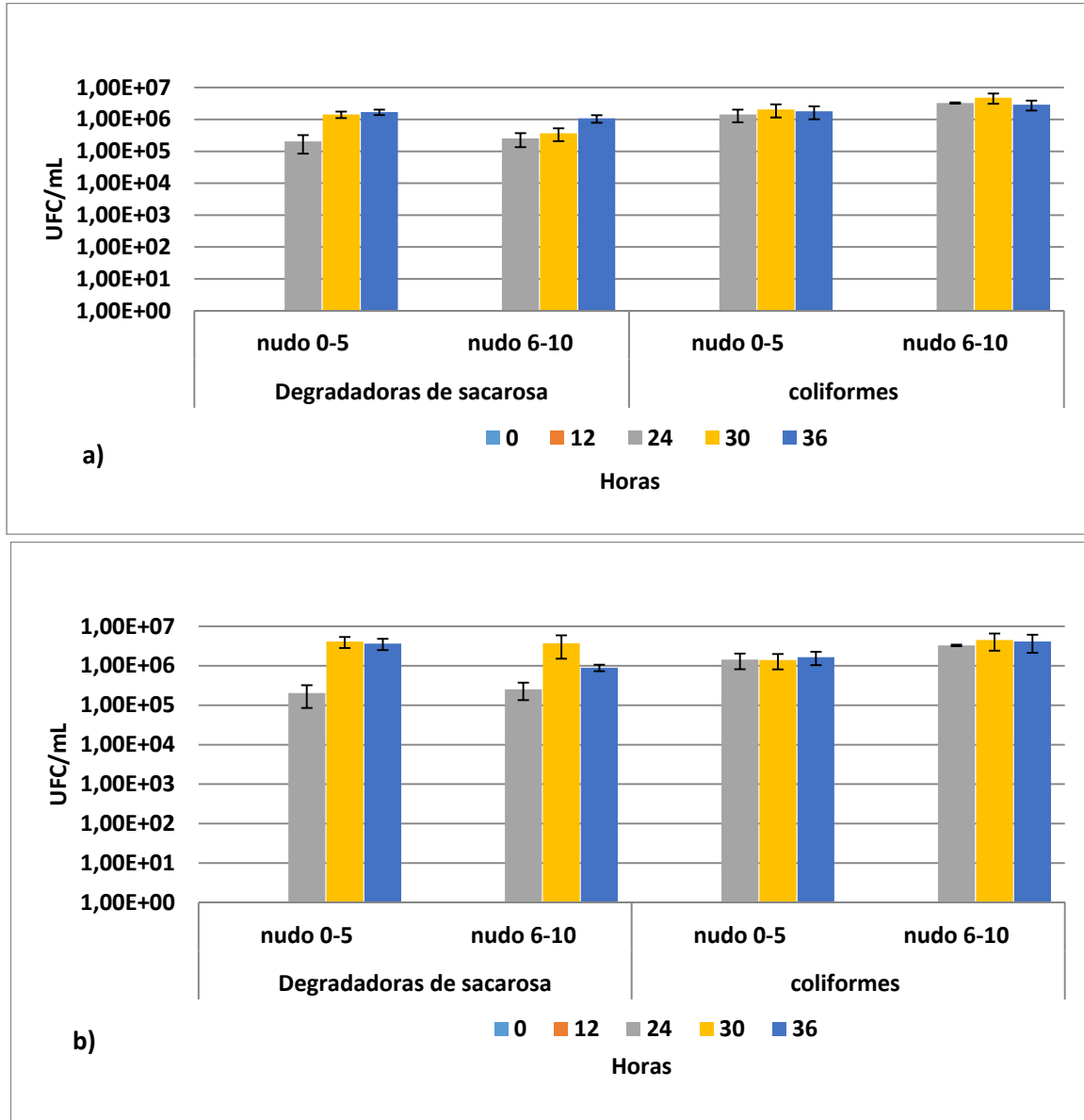


Figura 3. Presencia de microorganismos aislados del jugo de los tallos de batey **a)** la mayor presencia de bacterias degradaras de sacarosa 1.71×10^6 UFC/mL se observó en la parte basal del tallo a las 36 horas. **b)** a diferencia de los tiempos anteriores en este caso el mayor número de bacterias degradadoras de sacarosa se encuentran a las 30 horas en la parte basal del tallo con un valor de 4.10×10^6 UFC/mL.

10º Congreso ATALAC 2016
“Silverio Flores Cáceres”
 XXXVIII Convención ATAM 70º Aniversario
 31 de agosto al 2 de septiembre WTC Boca del Río, Veracruz

Del total de microorganismos que crecieron en medio específico de sacarosa se realizó la separación por morfología bacteriana y se aisló un total de diez bacterias. A estas se les realizaron pruebas bioquímicas de acuerdo al manual de Bergey modificado por Cuervo (2010), los resultados obtenidos demuestran que de los diez aislamientos siete dieron resultados distintos a lo referido por Cuervo (2010) (tabla 1).

Tabla 1. Pruebas bioquímicas para seleccionar a *L. mesenteroides*. Símbolos: **cb**- coco-bacilos, **c**-cocos, **b**-bacilos, **k**-cadenas, **r**-racimos, + 90% o más de cepas son positivas, - 90% o más de cepas son negativas. Fuente: Mora (1996) modificado de Cuervo (2010).

Pruebas	Microorganismo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Morfología Celular	cb	b	b	b	b	cb	cb	c	b	c
Coloración de Gram	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Coloración de Esporas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coloración de Capsula	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Agrupación	k	r	k	k	k	k	k	k	k	r
Formación de Dextrana	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hidrólisis del Almidón	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Caldo glucosa 5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Degradación de Citrato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxidasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Movilidad	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
Crecimiento en:										
Agar Nutritivo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipersacarosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mayeux	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a:										
15°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37°C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento en:										
NaCl 3%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 6.5 %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

De acuerdo a las pruebas realizadas para seleccionar aislamientos de *Leuconostoc mesenteroides* se encontró que no necesita citrato como única fuente de energía, no presenta movilidad, es

negativa para hidrólisis de almidón así mismo para catalasa y oxidasa, tiene crecimiento bajo en agar nutritivo pero alto desarrollo en medio Hipersacarosado y en Mayeux en estos últimos hace la formación de dextranas, también tiene crecimiento positivo para NaCl 3% y desarrolla a temperaturas de 37 y 40 °C, esto puede variar dependiendo la eficiencia de la incubadora que se tenga. Sin embargo, en las pruebas realizadas observamos que hay diferencia entre la estructura celular porque tenemos cinco aislamientos en forma de bacilos, dos pertenecen a cocos y tres a coco-bacilos donde esta última estructura es la referencia para identificar a *Leuconostoc* por que podemos decir que además de *Leuconostoc mesenteroides* están presentes otros microorganismos con capacidad para degradar sacarosa de tallos de caña de azúcar.

Discusión

Larrahondo (1995), sostiene que el deterioro empieza casi inmediatamente después del corte, siendo mayor a medida que aumenta el tiempo de permanencia de la caña sin procesar y la tasa de deterioro depende de las condiciones ambientales.

Según Solomon et al. (2006), el deterioro de la caña cosechada es causada por agentes enzimáticos, químicos y microbiológicos y que continúa aumentando con el paso del tiempo. Inicialmente, la enzima invertasa, que ocurre naturalmente en la caña se activa después de la cosecha, especialmente cuando la temperatura ambiente es elevada. Grandes cantidades de invertasa se liberan durante la molienda, convirtiendo la sacarosa en azúcares invertidos, reduciendo así la pureza. En Australia demostraron que las poblaciones de *Leuconostoc* se elevan rápidamente cuando la caña se quema y se troza durante la cosecha mecanizada produciéndose altos niveles de dextranos Egana y Rehbein (1963). A su vez Hollad (1990) y London (2002) encontraron mayores concentraciones de dextranos en la caña quemada, ya que el calor elimina de la superficie la capa de cera protectora, y causa rupturas en la corteza dañando el tejido de almacenamiento donde se encuentran las saponinas responsables de la defensa contra agentes fitopatógenos, en consecuencia, los tejidos quedan más expuestos y por tanto más susceptibles a la degradación microbiológica especialmente por bacterias encontradas en el suelo capaces de producir exopolisacáridos a partir de la sacarosa, como las pertenecientes al género *Leuconostoc mesenteroides*.

Con los resultados que se obtuvieron en esta investigación podemos decir que la presencia de *Leuconostoc mesenteroides* y otras bacterias ácido-lácticas están desde la caña en verde y estas empiezan a afectar a partir de la quema y conforme transcurre el tiempo se van reproduciendo y degradando la sacarosa a partir de transcurridas 24 horas después del corte, por lo tanto coincidimos con lo mencionado anteriormente.

CONCLUSIONES

La cosecha es una parte importante para la obtención de jugo de calidad, sin embargo las prácticas agrícolas al momento de cosechar no son las adecuadas, debido a que la quema realizada antes del corte genera calor lo que remueve la cubierta serosa de los tallos lo que ocasiona aberturas donde aparecen

10º Congreso ATALAC 2016
“Silverio Flores Cáceres”
XXXVIII Convención ATAM 70º Aniversario
31 de agosto al 2 de septiembre WTC Boca del Río, Veracruz

exudaciones ricas en azúcares, que son el alimento para el desarrollo de *Leuconostoc mesenteroides* y otras bacterias ácido lácticas (BALs).

La incidencia de esta bacteria aumenta después de las 24 horas de cortados los tallos después de la quema, por lo tanto se sugiere que el tiempo entre el corte de los tallos y el acarreo de estos a la fábrica fuera en menor tiempo, se evitaría el aumento de microorganismos degradadores de sacarosa y la formación de dextrana que es la causa principal de las pérdidas de sacarosa por acción microbiológica, entre la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* y otras bacterias ácido lácticas.

Referencias

- Cloninger y Appling, "pérdidas por la inversión de la sacarosa durante la fabricación de Azúcar", julio 1964.
- Cuervo, R, A., Ledesma, A, J., Durán, V, J., Argote V, F. Aislamiento y control microbiológico de *Leuconostoc mesenteroides*, en un ingenio para optimizar el rendimiento de azúcar y etanol. 2010 CNPR-Unión nacional de cañeros. 2012-2007. Mexico DF.
- Hollaus F. 1978. The microbiology of beet sugar manufacturing: Practical considerations on operational checks and measures against microorganisms. *La sucrerie Belge*. V 97. p 3-11.
- Larrahondo, J.E. Calidad de la caña de azúcar. En CENICANA (Centro de investigación de la caña de azúcar en Colombia). El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia Cali, 1995 p. 337-354.
- Mora, Z. 1995. Estudio de las microfloras contaminantes durante la etapa de molienda de caña en relación con el proceso de elaboración de azúcar. Págs. 114. Tesis, Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Programa Académico de Biología.
- SAGARPA 2010. Importancia de la agroindustria de la caña de azúcar. México D.F.
- Solomon, S; Banerji, R; Shrivastava, AK; Singh, P; Singh I; Verma, M; Prajapati, CP; Sawhani, A. 2006. Post harvest deterioration of sugarcane and chemical methods to minimize sucrose losses. *SugarTech8* (1):74-78.