

# ICDCA

sobre los derivados de la caña de azúcar

Volumen 47 No. 2 mayo - agosto 2013

ISSN - 0138-6204



Evaluación del biofertilizante Nitrofix en el  
cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum L.*)  
sobre un suelo ferralítico rojo típico



Evaluación del bioestimulante del  
crecimiento y desarrollo de la caña  
de azúcar, Fitomas - E, en el estado  
de Veracruz, México



Predicción de la estabilidad  
del probiótico Probicid de  
*Lactobacillus plantarum*  
B-103-1-5 por el método de  
máxima probabilidad

Í  
N  
D  
I  
C  
E  
/  
C  
O  
N  
T  
E  
N  
T  
S

**Evaluación del biofertilizante Nitrofix en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) sobre un suelo ferralítico rojo típico. Evaluation of the Nitrofix in the cultivation of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) on a ferralitic red typical soil**

Yusmila Guevara-Verdecia, Yohandri Ruisánchez-Ortega,  
Adrian Hernández-Guillén, Ana Nelis San Juan-Rodríguez

3

**Evaluación del bioestimulante del crecimiento y desarrollo de la caña de azúcar, Fitomas-E, en el estado de Veracruz, México. Evaluation of growth and development of sugar cane bio-stimulant Fitomas-E in the state of Veracruz, Mexico**

Rafael Zuaznabar-Zuaznabar, Genaro Pantaleón-Paulino,  
Nelson Milanés-Ramos, Israel Gómez-Juárez, Agustín Herrera-Solano

8

**Paja de la caña de azúcar. Sus usos en la actualidad. Sugarcane's straw. It's current uses**

Tamara S. León-Martínez, Daisy Dopico-Ramírez,  
Omar Triana-Hernández, Marelys Medina-Estevez

13

**Crecimiento de *Azospirillum brasilense* en presencia de disacáridos: sacarosa y lactosa. Azospirillum brasilense growth in the presence of disaccharides: sucrose and lactose**

Yudyt Díaz-Saez, Manuel Díaz-de los Ríos, Mario Alberto-Casas,  
Arianna Nuñez-Caraballo, Marlene Martínez-Mora

23

**La calidad del agua destilada en la determinación de cenizas conductimétricas en azúcares crudos. Distilled water quality in the conductimetric ash determination in raw sugar**

Roberto J. Rodríguez-Mambuca, Julián Rodríguez-López,  
Armando Perdomo-Morales

31

**Predicción de la estabilidad del probiótico Probicid de *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 por el método de máxima probabilidad. Prediction of the stability from the probiotic Probicid of *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 by the method of maximum probability**

Gloria Bueno-García, María Antonieta Brizuela-Herrada,  
Grizel Delgado-Arrieta, Paulina Serrano-Méndez,  
Heidy Pérez Leonard

35

**Integración del diseño del sistema de control automático al diseño total de una planta para obtención de alimento animal a partir de residuos de la industria azucarera. Integration of an automatic control system to the total design of an installation for the obtainment of animal feed from sugar industry residues**

Amaury Pérez-Martínez, Isnel Benítez-Cortés, Hilda Oquendo-Ferrer,  
María Caridad Julián-Ricardo, Pablo Galindo-Llanes

42

**La trehalosa. Parte III. Un oligosacárido asociado a la resistencia de la caña luego del corte. Trehalose. Part III. An oligosaccharide related to the sugar cane resistance after cutting**

Eduardo Lorenzo Ramos-Suárez, Susana Ravelo-Bravo,  
Yusnel Cutiño-Tejeda

52

# Evaluación del biofertilizante Nitrofix en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) sobre un suelo ferralítico rojo típico

Yusmila Guevara-Verdecia<sup>1</sup>; Yohandri Ruisánchez-Ortega<sup>2</sup>, Adrian Hernández-Guillén<sup>3</sup>,  
Ana Nelis San Juan-Rodríguez<sup>1</sup>

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Dirección de Bioprocessos Cuba 10. Consejo Popular Pablo Noriega. Quivicán. Mayabeque. Cuba. CP 33 500
2. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". IIHLD. Carretera Bejucal - Quivicán, km 33 1/2. Quivicán. Mayabeque. Cuba
- 3: Estación de Protección de Plantas de Quivicán. EPP-Quivicán. Carretera Bejucal - Quivicán, km 33 1/2. Quivicán. Mayabeque. Cuba. dirc10@enet.cu

## **RESUMEN**

Se evaluó el efecto del Nitrofix en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum L.*) en las condiciones de suelo ferralítico rojo típico. La investigación se realizó en el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", durante la campaña 2011-2012. Se estudiaron dos tratamientos: T1 (100 % de la fertilización nitrogenada (100 kg N/ha)) y T2 (NITROFIX más 70 % de la fertilización nitrogenada), los cuales se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con tres réplicas, donde se evaluaron indicadores de desarrollo vegetativo y productivo. Los mejores resultados en cuanto a crecimiento y producción correspondieron al T2, lo que representa una reducción del 30 % de la fertilización nitrogenada.

**Palabras clave:** tomate, biofertilizante, *Azospirillum sp.*, fertilización nitrogenada.

## **ABSTRACT**

Present paper was intended to assess the effect of Nitrofix in tomatoe (*Solanum lycopersicum L.*) on ferralytic red typical soil during the 2011-2012 campaigns. Two treatments were studied: T1 (100 % of nitrogen contribution (100 kg N/ha)) and T2 (Nitrofix plus 70 % of nitrogen requirements). These treatments were studied through a random blocks design by triplicate where productive and vegetative indicators were analyzed. The best results regarding to growth and production results corresponded to the treatment using Nitrofix with a net reduction of 30 % of chemical fertilizers.

**Keywords:** tomato, biofertilizer, *Azospirillum sp.*, nitrogenated fertilization.

## INTRODUCCIÓN

El tomate constituye una de las principales hortalizas de Cuba, su cultivo representa el 35 % del volumen total de producción y el 30 % del área de siembra (1), debido a que constituye una de las fuentes primarias de vitaminas y minerales para la población. Se destaca por su contenido de vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, C y carotenoides como el licopeno, así como por su potencialidad en formar biomasa área (2).

La aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) en cultivos de importancia agrícola, es una alternativa viable, sobre todo en los países en vías de desarrollo, con una agricultura subdesarrollada y que carecen de fertilizantes (3).

La capacidad para producir fitohormonas capaces de promover el desarrollo vegetal está ampliamente distribuida entre las PGPB. Entre los géneros más destacados en la producción de estas sustancias, se encuentra el *Azospirillum* (4).

Otro mecanismo que explica el aumento en los cultivos, es la capacidad de estos géneros bacterianos para fijar el nitrógeno atmosférico, nutriente más importante, después del agua, para el desarrollo de las plantas (5).

Nitrofix es un producto obtenido a partir de una suspensión de bacterias fijadoras de nitrógeno y productoras de fitohormonas para el crecimiento vegetal, del género *Azospirillum* sp., elaborado con la cepa autóctona "8 INICA", a una concentración de 10<sup>9</sup>-10<sup>10</sup> ufc.ml<sup>-1</sup>, en medio acuoso.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del biofertilizante en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en las condiciones de suelo ferralítico rojo típico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo durante la campaña 2011-2012, en áreas del Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" (IIHLD).

El material vegetal que se utilizó, fue el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), variedad L-43, proveniente del programa de mejoramiento genético del IIHLD. El experimento se desarrolló en condiciones de campo

abierto. El cultivo se estableció durante los meses de octubre a febrero, sobre un suelo ferralítico rojo típico (6).

Se estudiaron dos tratamientos: T1 (100 % de la fertilización nitrogenada (100 kg N/ha)) y T2 (Nitrofix más el 70 % de la fertilización nitrogenada). Ambas variantes recibieron un fondo fijo de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y K<sub>2</sub>O, de 80 y 100 kg/ha, respectivamente. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con tres réplicas. El trasplante se realizó en parcelas de 28 m<sup>2</sup> (10 m de largo x 2,8 m de camellón). En el momento del trasplante se aplicó media dosis del fertilizante nitrogenado, más todo el fósforo y el potasio, a través del portador fórmula completa 9-13-17. Pasado 35 días, se aplicó el resto de la fertilización nitrogenada y el portador urea (46 %). El Nitrofix fue inoculado inmediatamente después del trasplante sobre el suelo, a razón de 40 L/ha, en un volumen final de 200 L de agua y utilizando una asperjadora de 16 L. Los indicadores evaluados fueron:

- Altura y diámetro basal del tallo (cm): Para la determinación se tomaron 10 plantas por parcela experimental y se le determinó la altura y el diámetro basal del tallo, a los 20 y 60 días después del trasplante (ddt).
- Número promedio de frutos por planta (u), masa promedio de un fruto (g): Para la determinación se contaron los frutos de 10 plantas de la parcela experimental y se pesaron en una balanza técnica.
- Rendimiento total (t/ha): Se calculó sobre la base de la masa de todos los frutos de la parcela, y se transformó en tonelada por hectárea.

Para el procesamiento estadístico de la información se realizó un análisis de varianza de clasificación doble, a cada una de las variables evaluadas. Se utilizó el paquete estadístico Statgraphics versión 5.0 (7). Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significación de 0,05.

Para la valoración económica de los resultados se utilizó la metodología propuesta por la FAO (1984). Se calcularon los siguientes indicadores:

- Valor de la producción (pesos): Rendimiento total por el valor de una tonelada de tomate.
- Gasto total (pesos/ha): Suma total de todos los gastos obtenidos para la producción en una hectárea.

- Ganancia neta (pesos/ha): Diferencia entre el valor de la producción y el gasto total.
- Beneficio/costo (C/P): Cociente del gasto total (pesos) y la ganancia total (pesos).
- Relación beneficio/costo (RVC): Cociente de la ganancia total (pesos) y el gasto total (pesos).
- Valor del incremento del rendimiento (pesos): Diferencia entre el valor de la producción de la variante fertilizada al 100 % y la variante biofertilizada.

Se utilizó como base de cálculo la ficha de costo del cultivo del tomate (Cuba, MINAG, 2010) y un valor de \$4560,00 para una tonelada de tomate (MINAG, 2010) y \$0,55/L para el Nitrofix (ICIDCA, 2010).

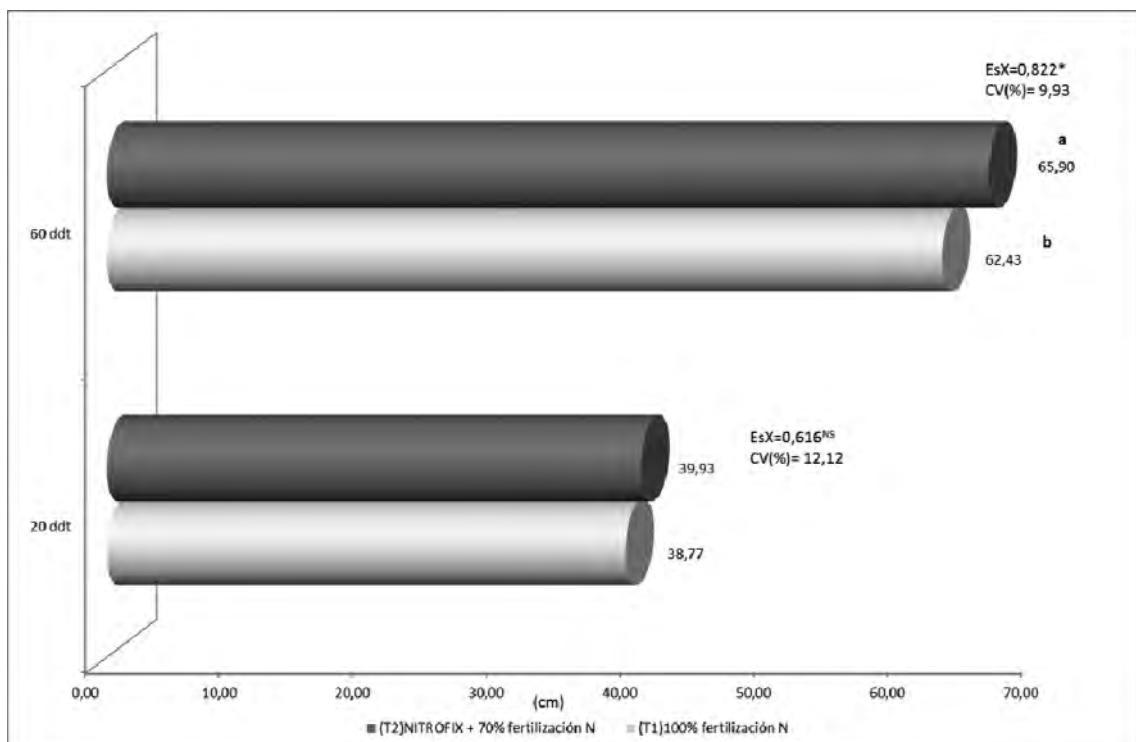
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se puede apreciar que a los 20 días después del trasplante (ddt) no existen diferencias significativas entre los trata-

mientos en cuanto a la altura de la planta, sin embargo, a los 60 ddt, sí se muestran diferencias significativas entre ellos. Con la inoculación del Nitrofix más el 70 % de la fertilización nitrogenada (T2), se obtuvo la mayor estimulación de este indicador. Por otra parte, en la figura 2, se observa que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al diámetro basal del tallo.

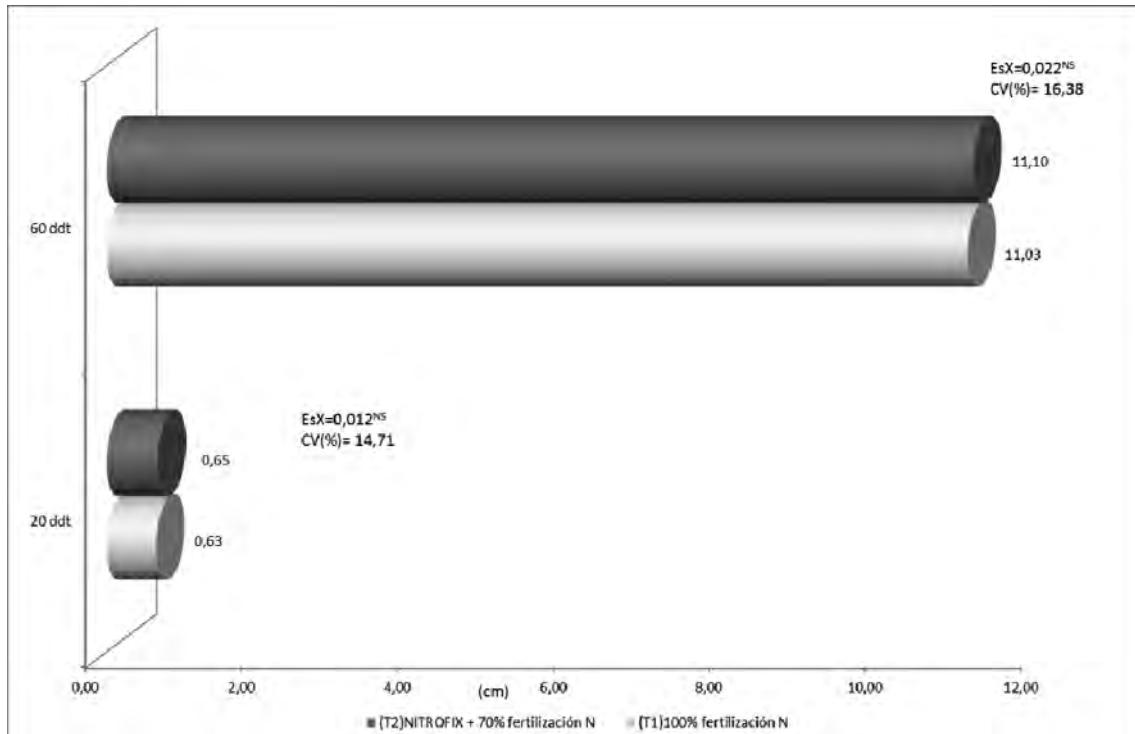
Los resultados alcanzados en cuanto a la altura de las plantas de tomate pueden estar determinados, por la contribución del Nitrofix en la fijación del nitrógeno atmosférico, y por su participación en varias transformaciones en el ciclo del nitrógeno (5,8); así como por la capacidad del género *Azospirillum* para producir fitohormonas como el ácido 3-indol acético (AIA), sustancia que interviene en el desarrollo del sistema radical y provoca un aumento en la toma de minerales y agua (9).

En la tabla 1 se observan diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T2 para el número de frutos por planta y el rendimiento. La inoculación con NITROFIX más el 70 % de la fertilización nitrogenada



NS P ≥ 0,05: No se mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. \* P ≤ 0,05: Existieron diferencias significativas entre los tratamientos

**Figura 1.** Efectos del Nitrofix sobre la altura del tallo de las plantas de tomate.



NS P≥0,05: No se mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.

**Figura 2.** Efectos del Nitrofix sobre el diámetro basal del tallo de las plantas de tomate.

**Tabla 1.** Efectos del NITROFIX sobre el rendimiento y sus componentes

Tratamientos	No. de frutos/planta	Masa X de los frutos g	Rendimiento t/ha
T1	11,98 b	103	21,46
T2	13,40 a	104	24,59
EsX	0,268*	3,16 <sup>NS</sup>	0,596*
CV, %	5,98	8,65	7,26

<sup>NS</sup> P=0,05: No se mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. P=0,05.

(T2), fue la que mostró los mayores resultados en la estimulación de estos indicadores, sin embargo, no se mostraron diferencias entre los tratamientos en cuanto a la masa promedio de los frutos.

Los resultados obtenidos pueden atribuirse a la inoculación con Nitrofix, que es capaz de aportar sustancias estimuladoras del crecimiento como: ácido indolacético, giberelinas, citoquininas y la transmisión de señales que le permiten a la bacteria estimular el desarrollo del cultivo, aumentar el número y masa de los frutos, e incrementar

la producción por planta y el rendimiento total (10).

Resultados similares (11) fueron obtenidos al reducir la fertilización nitrogenada entre 25 y 30 % en el cultivo del tomate "INCA-17" con la aplicación de un bioproducto a base de *Azospirillum brasiliense* Sp-7.

### Análisis económico

En la tabla 2 se refleja el análisis económico derivado de los resultados productivos en el cultivo del tomate variedad L-43 ante los diferentes tratamientos.

El análisis económico permitió realizar una valoración integral de los resultados obtenidos, desde el punto de vista productivo, pues el tratamiento que presentó el mejor comportamiento en cuanto a rendimiento fue el T2 (Nitrofix +70 % N), el cual también mostró indicadores de eficiencia económica superiores.

Se observó además, que independientemente de los factores en estudio, siempre

**Tabla 2.** Valoración económica de los resultados obtenidos

Tratamientos	Rend. (t/ha)	VP (MP/ha)	GT (MP/ha)	GN (MP/ha)	C/P	RVC (MP/ha)	VIR (MP/ha)
T1 (100 % N)	21,46	97,85	9,80	88,05	0,10	9,98	-
T2 (Nitrofix +70 % N)	24,59	112,13	9,76	102,37	0,08	11,48	14,28

Rend: Rendimiento; VP: Valor de la producción; GT: Gasto total; GN: Ganancia neta; C/P: Costo por peso; RVC: Beneficio-costo; VIR: Valor del incremento del rendimiento; MP/ha: Miles de pesos/hectárea.

existió un adecuado retorno del capital invertido, expresado como ganancias, y bajo costo por peso de producción (<1).

Por lo tanto la inoculación de Nitrofix más el 70 % de la fertilización nitrogenada (T2), alcanzó la mayor ganancia económica al obtener un valor del incremento del rendimiento con respecto al testigo (T1) de 14,28 MP/ha.

## CONCLUSIONES

- La inoculación con Nitrofix (*Azospirillum* sp.) permite reducir en un 30 % la fertilización nitrogenada recomendada para el tomate en las condiciones de suelo ferrallítico rojo típico.
- Constituye una alternativa de manejo nutricional, que permite incrementar los indicadores de crecimiento y productividad del cultivo.
- Los beneficios económicos generados avalan el uso del Nitrofix en un sistema agrario sostenible, siendo además un producto amigable con la naturaleza.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ONE. Cuba en cifras. En: (CD-ROM). Oficinas Nacional Estadística. Ciudad de la Habana. 2011.
2. Cardoza, H. Estudio de la cadena productiva del tomate para consumo fresco. En: Informe de etapa: Definición de los límites (frontera de la cadena productiva). Caracterización general de la cadena productiva del tomate. Editora Liliana, La Habana, 2007.
3. Matiru, V.; Dakora, F.. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. African J. Biotechnology, 3:pp. 1-7. 20044.
4. Radwan, T; Mohamed, Z.; Reis, V. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, , 39(10): pp. 987-994. 2004
5. Amir, H; Shamsuddin, Z.; Halimi, M.; Ramlan, M.; Marziah, M. N<sub>2</sub> fixation, nutrient accumulation and plant growth promotion by rhizobacteria in association with oil palm seedlings. Pakistan J. Biol. Sci., 6:pp. 1269-1272. 2003
6. Hernández, A; Ascanio, M.O.; Morales, M. Correlación de la nueva versión de Clasificación genética de los suelos de Cuba con las clasificaciones internacionales y nacionales. En: VI Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo (16:2006 marzo 8-10, La Habana). Memorias. CD-ROM. Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo, 2006.
7. USA, SGC (Statistical Graphics Corporation). Statgraphics Plus for Windows: Version 5.0, 2000.
8. Parra, Y; Cuevas, F. Potencialidades de *Azospirillum* como inoculante para la agricultura. Cultivos Tropicales, 23 (3):pp. 31-41, 2001.
9. Acebo, Y.; Rives, N.; Heydrich, M.; Hernández, A. Efecto promotor del crecimiento vegetal de cepas de *Azospirillum* sp. Cultivos Tropicales, 28(3):pp.29-32. 2007.
10. Villar, J.; Viñals, M.; Álvarez, X.; Dorta, M. Tecnología de producción de inoculantes de *Azospirillum* y factibilidad económica de su aplicación agrícola en cultivos seleccionados. Cultivos Tropicales, 26(3): pp. 23-26. 2005.
11. Terry, E. Application times of an *Azospirillum* bioprodut in tomato growth, development and yield. Cultivos Tropicales 21(4): pp. 5-8. 2000.

# Evaluación del bioestimulante del crecimiento y desarrollo de la caña de azúcar FITOMAS-E en el estado de Veracruz, México

Rafael Zuaznabar-Zuaznabar<sup>1</sup>, Genaro Pantaleón-Paulino<sup>2</sup>, Nelson Milanés-Ramos<sup>1</sup>, Israel Gómez-Juárez<sup>2</sup>, Agustín Herrera-Solano<sup>3</sup>

1. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Carretera del Central M. Martínez Prieto, km 2½ Boyeros, La Habana, Cuba. rafael.zuaznabar@inica.azcuba.cu
2. Ingenio Central Motzorongo. Veracruz México
3. Facultad Agronomía Universidad de Veracruz México

## RESUMEN

Se describen los resultados de dos experimentos llevados a cabo en el central Motzorongo y la Universidad de Veracruz, sobre suelos Acrisol húmico y Cambisol en condiciones de temporal, en ciclo soca, con las variedades de caña de azúcar CP 72 20-86 y Mex 79-431. Se evaluaron dosis de 2 y 3 L/ha y 2 L/ha, respectivamente. Las mediciones de los componentes del rendimiento agrícola, altura y diámetro de los tallos superaron, significativamente, al testigo comercial en ambos experimentos con la dosis de 3 y 2 L/ha, mientras que en el número de tallos por metro lineal se mantuvo un comportamiento estable en todos los casos, sin diferencia significativa entre los tratamientos en estudio. El rendimiento agrícola del cultivo en el central Motzorongo, con las dosis del bioestimulante de 2 y 3 L/ha, fueron superiores estadísticamente al testigo comercial en 11,95 y 15,75 t/ha. Esto representa incrementos de 18,24 y 24,04 %, mientras en el estudio de la Universidad de Veracruz con la dosis de 2 L/ha de FitoMas-E, también hubo diferencia estadística en cosecha verde con un valor de 12,70 t/ha y en cosecha quemada de 10,65 t/ha que representan incrementos de 11,56 y 10,18 %, respectivamente. El análisis de calidad de los jugos (brix, sacarosa, humedad y azúcares reductores) mantuvo un comportamiento uniforme sin diferencias significativas entre los tratamientos en estudio.

**Palabras clave:** bioestimulante, FitoMas, rendimiento agrícola.

## ABSTRACT

The results of two experiments established in the Central Motzorongo and the University of Veracruz on humic Cambisol and Acrisol soils under rainfed conditions in ratoon cycle, with sugarcane varieties CP 72 20-86 and Mex 79-431 are described. It was evaluated in doses of 2 and 3 l/ha and 2 L/ ha respectively. Measurements of crop yield as height and diameter of stem were significantly higher than the commercial control in both experiments with doses of 3 and 2 l/ha, while the number of stems per meter remained stable in all cases with no significant difference between the treatments under study. The agricultural yields of the crop in the Central Motzorongo with biostimulant doses of 2 and 3 L/ha were statistically higher than the commercial samples in 11,95 and 15,75 t/ha which represent increments of 18,24 and 24,04 %, while in the study from the University of Veracruz with a dose of 2 L/ha of FitoMas-E there was also statistical difference in green crop with a value of 12,70 t/ha and in burned harvest with 10,65 t/ha, which represent increments of 11,56 and 10,18 % respectively. The analysis of juice quality (brix, sucrose, moisture and reducing sugars) had a uniform behaviour with no significant differences between the research treatments.

**Keywords:** biostimulant, FitoMas, agricultural yield.

## INTRODUCCIÓN

La regulación del crecimiento de las plantas, a partir de la aplicación de bioestimulantes del crecimiento y desarrollo de los cultivos, es una tecnología relativamente nueva en los países en vías de desarrollo, aunque ya ha sido establecida en algunos países desarrollados.

La introducción y generalización de diferentes bioproductos, fertilizantes foliares y activadores de las funciones biológicas de las plantas se consideran entre los logros más importantes alcanzados en las ciencias agrícolas ya que, si en el pasado siglo muy pocos de estos productos se comercializaban en el mundo, en la actualidad se emplea un número elevado de ellos con resultados satisfactorios. Resultan una opción para aumentar significativamente en cantidad y calidad los rendimientos de los cultivos. Se desarrollan procesos agrícolas con un mínimo impacto sobre los agroecosistemas y, en general, con una disminución porcentual de los costos de producción, en una época donde el precio de los agroquímicos es excesivamente elevado y está muy limitada la disponibilidad de recursos financieros (1).

Se ha demostrado que, en especial, los bioestimulantes son muy eficientes cuando la planta ha sido sometida a períodos de estrés; por otra parte, algunos investigadores plantean que en diferentes condiciones edafoclimáticas los cultivos de interés comercial como promedio logran entre 40-65 % de eficiencia en el uso de los nutrientes. Es necesario un incremento de hasta 70-80 % del potencial para lograr satisfacer las demandas de los próximos 30 años (2). Los bioestimulantes figuran entre los insumos más importantes para alcanzar este resultado.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la eficiencia del bioestimulante FitoMas-E, que se produce en Cuba y se aplica en la caña de azúcar y otros cultivos, en las condiciones edafoclimáticas de algunas localidades de Veracruz, en México y su incidencia en el incremento del rendimiento agrícola de la caña de azúcar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la eficiencia del bioestimulante del crecimiento y desarrollo de la caña

de azúcar FitoMas-E, se establecieron dos experimentos de campo en distintas localidades del estado de Veracruz. Las características principales de los estudios se describen a continuación.

Se montó un experimento de campo sobre suelo Acrisol húmico-gleyco con la variedad de caña de azúcar CP 72-2086, en el ciclo soca, en condiciones de temporal, en el Ejido Ojo de Agua, de la División Batey, perteneciente al central Motzorongo. La cosecha se realizó el 4 de enero de 2012, en caña verde (cruda), con una edad de la plantación de 12,5 meses.

Las evaluaciones ejecutadas durante el desarrollo del estudio fueron las siguientes: rendimiento agrícola del cultivo (por pesaje directo) en el momento de la cosecha, diámetro y altura de los tallos, así como la población expresada en número de tallos por metro lineal a los 8, 10 y 12 meses. También se realizaron análisis de parámetros industriales o calidad de los jugos (brix, sacarosa, humedad y azúcares reductores).

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar, con 3 réplicas, y parcelas conformadas por 6 surcos de 12 m de longitud separados a 1,20 m, de los cuales solo se tomaron 4 surcos, y se desecharon los de los extremos para un área de cálculo de parcela de 57,6 m<sup>2</sup>.

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

- 1-Testigo comercial 600 kg/ha de 20 -5 -24 N, P, K.
- 2-FitoMas-E 3 L/ha.
- 3-FitoMas-E 2 L/ha
- 4-Smartrack 1 kg/ha + Celebrity 1 L/ha.
- 5-Paquete Gradmínea 1 L/ha.
- 6-Paquete Gradmínea 2L/ha.
- 7-Bomen 2 L/ha.

Durante el desarrollo del experimento se registraron las lluvias por meses (figura 1).

El otro experimento se desarrolló en la Facultad de Agronomía de la Universidad Veracruzana, Peñuela, Córdoba, Veracruz, sobre suelo Cambisol, con la variedad de caña de azúcar Mex 79-431, en el ciclo de soca, en condiciones de temporal. La cosecha se realizó el 3 de enero de 2012, una parte verde (cruda) y la otra quemada, como están concebidos los tratamientos del experimento, con una edad de la plantación de 12,5 meses.



**Figura 1.** Lluvia por meses (experimento Motzorongo, 2011).

Las evaluaciones realizadas fueron las siguientes: rendimiento agrícola en el momento de la cosecha, diámetro, altura y pesos de los tallos, así como la población expresada en número de tallos por metro lineal.

El diseño experimental empleado fue de bloques al azar con 4 repeticiones y parcelas conformadas por 4 surcos de 10 m de longitud, con una separación entre hileras de 1,20 m para un área de parcela de 48 m<sup>2</sup>.

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

- 1-FitoMas-E 2 L/ha cosecha verde.
- 2-FitoMas-E 2 L/ha cosecha quemada.
- 3-Cosecha verde sin bioestimulante.
- 4-Cosecha quemada sin bioestimulante.

Se registraron las lluvias por meses durante el desarrollo del estudio (figura 2).

La evaluación de las determinaciones y mediciones realizadas fueron procesadas mediante análisis de varianza y cuando existió diferencias entre las medias, se utilizó la prueba de Rangos Múltiples de Tukey con un 5 % de significación.



**Figura 2.** Lluvia por meses (experimento Córdoba, 2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las evaluaciones realizadas a los componentes del rendimiento en el momento de la cosecha, en el experimento de Motzorongo, el diámetro y la altura de tallos con la dosis de 3 L/ha, resultaron estadísticamente superiores con respecto al testigo comercial, aunque también se debe destacar que con la aplicación de 2 L/ha, se alcanzaron valores absolutos superiores en ambos parámetros. Estos resultados corroboran los obtenidos por otros autores (2-6), quienes en evaluaciones realizadas en diferentes condiciones edafoclimáticas de Cuba, obtuvieron incrementos significativos de estos indicadores productivos con la aplicación de diferentes dosis del bioestimulante FitoMas-E, en comparación con el testigo comercial (tabla 1).

La población expresada en número de tallos, en 2 metros lineales, no mostró diferencia entre ninguno de los tratamientos evaluados, coincidiendo con otros resultados (7). Se reporta (8) que de los componentes del rendimiento agrícola, generalmente este parámetro es el que menos variación sufre en el manejo de las plantaciones de caña de azúcar, y es el más asociado a las características genéticas de cada variedad (tabla 1).

Por otra parte se plantea (9) que el número de tallos puede derivarse de las características de la variedad, que logra presentar un cierre de campo temprano y un elevado ángulo entre la hoja y la vaina. En estas variedades, el cierre de campo puede provocar una reducción más acentuada en el ahijamiento que en las variedades de cierre de campo más tardío, y hábito de crecimiento erecto que ven favorecidas el amacollamiento, lo cual condiciona un mayor número de tallos por metro.

Los resultados del rendimiento agrícola estuvieron influenciados por el comportamiento de sus componentes, por lo que los tratamientos de FitoMas-E, también resultaron significativamente superiores al testigo comercial con valores absolutos de 11,95 y 15,75 t/ha, que representan incrementos de 18,24 y 24,04 % con las dosis de 2 y 3 L/ha, respectivamente. Además también superaron en valores absolutos a los otros bioestimulantes en estudio (tabla 2).

El análisis de los parámetros industriales (tabla 3) realizados en la cosecha del experi-

**Tabla 1.** Resultados de la evaluación de componentes del rendimiento agrícola

Tratamientos	Diámetro (cm)	Altura (m)	Tallos /m
Testigo comercial	2,48b	2,58 <sup>b</sup>	23,55 <sup>a</sup>
FitoMas 3 L/ha	2,62 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a</sup>	23,33 <sup>a</sup>
FitoMas 2 L/ha	2,55 <sup>ab</sup>	2,66 <sup>b</sup>	21,66 <sup>a</sup>
Esmartrack+Celebrity	2,53 <sup>ab</sup>	2,64 <sup>b</sup>	19,78 <sup>a</sup>
Paquete Gradminea	2,60 <sup>a</sup>	2,68 <sup>ab</sup>	22,44 <sup>a</sup>
Paquete Gradminea	2,49 <sup>b</sup>	2,73 <sup>ab</sup>	23,89 <sup>a</sup>
Bomen	2,49 <sup>b</sup>	2,69 <sup>ab</sup>	20,89 <sup>a</sup>
C.V	2,80	3,89	13,39

**Tabla 2.** Resultados del rendimiento agrícola (experimento Motzorongo)

Tratamientos	Rend (t/ha)	Incremento	
		(t/ha)	(%)
Testigo 600 kg/ha	65,50 <sup>b</sup>	-	-
FitoMas 3 L/ha	81,25 <sup>a</sup>	15,75	24,04
FitoMas 2 L/ha	77,45 <sup>a</sup>	11,95	18,24
Esmartra+Celebrity	60,01 <sup>b</sup>	- 5,49	- 8,38
Gradminea 1 L/ha	75,34 <sup>a</sup>	9,84	15,02
Gradminea 2 L/ha	72,35 <sup>a</sup>	6,85	10,45
Bomen 2 L/ha	63,02 <sup>b</sup>	2,48	3,78
C.V	14,99	-	-

**Tabla 3.** Resultado análisis industriales (experimento Motzorongo)

Tratamientos	Brix	Sacarosa	Humedad	Reducit
Testigo	21,9 <sup>a</sup>	13,60 <sup>a</sup>	70,00 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>
FitoMas 3 L/ha	21,8 <sup>a</sup>	13,54 <sup>a</sup>	68,66 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>
FitoMas 2 L/ha	22,1 <sup>a</sup>	13,77 <sup>a</sup>	68,66 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>
Smart+Celebri	21,3 <sup>a</sup>	13,03 <sup>a</sup>	71,33 <sup>a</sup>	0,20 <sup>a</sup>
Gradminea	22,4 <sup>a</sup>	13,81 <sup>a</sup>	69,33 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>
Gradminea	21,4 <sup>a</sup>	13,15 <sup>a</sup>	68,00 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>
Bomen	21,8 <sup>a</sup>	13,49 <sup>a</sup>	69,00 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>
C.V	2,05	2,81	3,68	1,04

**Tabla 4.** Resultados de la evaluación de los componentes del rendimiento agrícola

Tratamientos	Diámetro (cm)	Altura (m)	Tallos/m
FitoMas 2 L/ha C.V	2,16 <sup>a</sup>	2,98 <sup>a</sup>	11,75 <sup>a</sup>
FitoMas 2 L/ha C.Q	2,14 <sup>a</sup>	2,98 <sup>a</sup>	11,66 <sup>a</sup>
Cosecha verde	2,08 <sup>b</sup>	2,79 <sup>b</sup>	11,00 <sup>a</sup>
Cosecha quemada	2,06 <sup>b</sup>	2,71 <sup>b</sup>	10,73 <sup>a</sup>
C.V	0,98	1,92	3,29

mento de Motzorongo, mantuvo un comportamiento uniforme en todos los casos, sin diferencia significativa entre los tratamientos evaluados. Estos resultados ratifican los obtenidos en diferentes condiciones edafoclimáticas de Cuba (10) con la aplicación del bioestimulante FitoMas-E a distintas dosis, que no encontraron influencia sobre los parámetros industriales o calidad de los jugos. Sin embargo, existen reportes (11) sobre la aplicación del bioestimulante Kadostin, a la dosis de 1 L/ha, en análisis realizados 100 días posteriores a la aplicación, logran incrementos en el contenido de sacarosa. La longitud de los tallos se incrementa en un 10 %, mientras que no se detectan diferencias significativas en el diámetro y número de tallos por metro.

El experimento establecido en la Facultad de Agronomía de la Universidad Veracruzana, mantuvo un comportamiento similar al anterior, donde el tratamiento con FitoMas-E a la dosis de 2 L/ha, tanto en cosecha en verde como quemada, resultó significativamente superior al tratamiento comercial, en el diámetro y altura de tallos, y sin diferencia estadística en la población expresada en tallos por metro lineal (tabla. 4).

En los resultados de la cosecha, se mantiene el efecto consistente del bioestimulante FitoMas-E, en el rendimiento agrícola del cultivo. Se apreció que los tratamientos que fueron beneficiados con la aplicación del producto a la dosis de 2 L/ha, alcanzaron valores significativamente superiores en 12,70 y 10,65 t/ha en caña verde y quemada, respectivamente, que representan incrementos de 11,56 y 10,18 % en ambos casos. Estos resultados corroboran otros (7) que obtuvieron respuesta a las aplicaciones de FitoMas-E a dosis de 2 L/ha, en todas las variedades evaluadas sobre los principales tipos de suelo donde se desarrolla el cultivo de la caña de azúcar en Cuba (tabla 5).

**Tabla 5.** Rendimiento agrícola (experimento Facultad Agronomía)

Tratamientos	Rend. (t/ha)	Incremento (t/ha)	(%)
FitoMas 2 L/ha C.V	122,49 <sup>a</sup>	12,70	11,56
FitoMas 2 L/ha C.Q	115,17 <sup>a</sup>	10,65	10,18
Cosecha verde	109,79 <sup>b</sup>	-	-
Cosecha quemada	104,52 <sup>b</sup>	-	-
C.V	5,78	-	-

## CONCLUSIONES

La aplicación de FitoMas-E ocasionó un incremento significativo de la longitud y diámetro del tallo en comparación al testigo comercial, a las dosis de 2 y 3 L/ha en los experimentos establecidos en la Facultad de Agronomía y el central Motzorongo, respectivamente. En la variable de población expresada en tallos/m lineal no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados en ningún caso.

El FitoMas-E no influyó en la calidad de los indicadores azucareros analizados (Brix, sacarosa, humedad y azúcares reductores).

El aumento del rendimiento agrícola de los tratamientos que se beneficiaron con la aplicación de FitoMas-E, en el experimento de Motzorongo fue 11,95 y 15,75 t/ha, y representan incrementos de 18,24 y 24,04 % a las dosis de 2 y 3 L/ha respectivamente, mientras que en el experimento de la Facultad de Agronomía los valores del rendimiento agrícola fueron de 12,70 y 10,65 t/ha, que representan incrementos de 11,56 y 10,18 % en caña cosechada verde y quemada, respectivamente.

## RECOMENDACIONES

- Evaluar en próximos trabajos con FitoMas-E, aplicaciones fraccionadas del producto y su incidencia en el rendimiento agrícola del cultivo de la caña de azúcar.
- Continuar las investigaciones de la aplicación del FitoMas-E con dosis superiores a 3 l/ha en el resto de las variedades más extendidas del país, así como para las condiciones edafoclimáticas más representativas.
- Realizar la evaluación económica con los resultados que se deriven de las aplicaciones del bioestimulante FitoMas-E.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Suárez, H. J. Comportamiento de los componentes del rendimiento agrícola de la caña de azúcar. Comunicación personal. 2011.
2. Montano, R.; Zuaznábar, R.; García, A.; Viñals, M.; Villar, J. FitoMas-E. Bionutriente derivado de la Industria Azucarera. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar (La Habana) 41 (3); pp. 14-20, 2007.
3. Zuaznábar, R. Informe final del proyecto. Generalización del FitoMas-E y evaluación del FitoMas-M y FitoMas-H en el cultivo de la caña de azúcar en Cuba INICA. 20 p. 2010.
4. Díaz, J.C. Rendimiento de los lotes control-extensiones de los bioestimulantes FitoMas-E, Enerplant y Vitazyme en la zafra 2007. INICA, 2007.
5. Rodríguez, E.; Sánchez, J. F.; Campos, J.; García, E. Biomodulador Enerplant. Biotec Internacional S.A. de C.V. 2005
6. Montano, R. Tesis presentada en opción al título académico de Máster en Agroecología y Agricultura Sostenible. Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez". 2000.
7. Hernández, I.; Zuaznábar; R.; Hernández, P. L.; Cortegaza, F.; Jiménez; E.; Olivera, E.; et al. Resultados experimentales y de extensión en caña de azúcar. Jornada Científica por el 40 Aniversario del INICA 11 y 12 de Noviembre 2004. Cuba. p 33
8. Zuaznábar, R.; Díaz, J.C.; Córdoba, R.; Montano, R.; Hernández, I.; Hernández, F.; et al. Validación del bioestimulante FitoMas-E en el cultivo de la caña de azúcar. INICA. Informe del Proyecto sobre bioestimulantes. 15 p. 2005.
9. García, R. Evaluación de diferentes distancias de plantación en el cultivo de la caña de azúcar. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias. INICA. La Habana 1998.
10. Mayor, J. L. Evaluación del bioestimulante FitoMas-E en diferentes condiciones edafoclimáticas de la Empresa Azucarera "Boris Luis Santa Coloma". Tesis en opción al Grado Científico de Maestro en Ciencias. ISCAH. 92 p. 2009.
11. Malasia, Study of Kadostim a ripener in sugar cane in large scale. Agricultural Research Division of Kiland, Malasia. Inagrosa, artículo 147. 1996.

# Paja de la caña de azúcar. Sus usos en la actualidad

Tamara S. León-Martínez, Daisy Dopico-Ramírez, Omar Triana-Hernández,  
Marelys Medina-Estevez

Planta Bioprocesos, Dpto. Química del Bagazo,  
Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar,  
Quivicán, Mayabeque, Cuba  
tamarasleon@hotmail.com

## **RESUMEN**

*La paja de la caña de azúcar es un residuo beneficioso para el hombre cuando se usa correctamente. Su quema es altamente destructiva si se realiza indiscriminadamente, genera daños al suelo y emite partículas de carbón vegetal que pasan directamente al medio ambiente. La atmósfera se contamina, ocurren variaciones climatológicas y se daña sensiblemente el entorno que nos rodea. Se hizo una búsqueda bibliográfica sobre los principales usos de los residuos agrícolas de la caña (paja), donde se destacan sus potencialidades, fundamentalmente, en los países que cultivan esta gramínea para la producción azucarera.*

**Palabras clave:** *paja de la caña de azúcar, cogollo, caña de azúcar, biomasa.*

## **ABSTRACT**

*Sugarcane trash is a beneficial waste for the man when it is correctly used. Its burning, on the other hand, is highly destructive and when carried out indiscriminately damage the soil and emits vegetable coal particles, which pass to the environment directly contaminating the atmosphere and causing climate variations with the concomitant damages to the environment.*

*In this paper a bibliographical research about the main uses of the agricultural residuals of the cane (trash) was carried out. Hence, the potentialities of this residue are emphasized mainly for those countries where this gramineous is cultivated for sugar production.*

**Keywords:** *sugar cane trash, top, sugar cane, biomass.*

## INTRODUCCIÓN

Los combustibles fósiles solo deben durar unas cuatro o cinco décadas más, por lo que de mantenerse los actuales niveles de explotación, la nueva generación observará el fin de estos.

Hoy se impone la necesidad de alcanzar un balance entre desarrollo y conservación del medio ambiente, que garantice un nuevo equilibrio entre la humanidad y la naturaleza y que permita una nueva armonía con esta, tal y como se plantea en la conferencia conocida como Cumbre de la Tierra, celebrada en Río de Janeiro en 1992, para la preservación del medio ambiente y el crecimiento económico.

Entre los problemas actuales que enfrenta la humanidad están: el agotamiento no lejano de los combustibles fósiles, el cambio climático, la insuficiente producción de alimentos y la crisis energética mundial.

La producción azucarera ha demostrado que es capaz de satisfacer parte de la alimentación directa a la humanidad. Muchos de sus derivados constituyen fuentes de alimentación animal, los que a su vez complementan la dieta proteica de los seres humanos.

Sin embargo, los residuos agrícolas resultantes de la cosecha cañera no son empleados en la cuantía que las circunstancias actuales lo exigen, a pesar de representar un formidable recurso como fuente de alimentación animal y generación de energía (1).

Por otra parte, el hollín liberado durante la quema de la paja de la caña de azúcar en el campo, se deposita en el suelo en forma de finos copos oscuros. Este contiene alrededor de 70 productos químicos perjudiciales para el medio ambiente, que ocasionan serios problemas respiratorios en la población expuesta.

En Cuba, la biomasa obtenida como subproducto de la industria azucarera, constituye el mayor recurso desde todos los puntos de vista, ya que en una tonelada de caña fresca, aproximadamente, el 32 % es de bagazo integral y el 28 % de paja y cogollo de caña (Residuo Agrícola Cañero, RAC), los cuales son la biomasa más importante que se procesa y puede ser utilizada con fines energéticos, como alimento animal o para producir otros productos derivados de la caña de azúcar.

A modo de ejemplo podemos citar que, a escala mundial estos subproductos, constituidos fundamentalmente por la paja y el cogollo, representan una disponibilidad de 5,5 MM TM (millones de toneladas métricas) (2). La paja es el resultado del secado de las hojas de la caña de azúcar, producto del desarrollo de esta planta y el cogollo es la parte verde de la planta que queda en el campo (hojas verdes y pedazos de tallos). Los dos constituyen una fuente de energía renovable. El estimado de este residuo en el campo es aproximadamente de 15 a 20 % del peso de la caña, de ahí que su volumen sea elevado.

La solución del aprovechamiento de estos residuos depende de una serie de factores que deberán ser estudiados y desarrollados, así son importantes los aspectos de recolección, transporte, almacenamiento y procesos tecnológicos para transformarlos.

## CARACTERIZACIÓN

La composición de la caña de azúcar en su estado natural se muestra en la tabla 1, donde se puede apreciar que los residuos constituyen alrededor del 30 %, de ahí la importancia de su utilización.

La paja está constituida por la vaina y la hoja seca. Su composición química en estado natural se muestra en la tabla 2.

**Tabla 1.** Composición de la caña en la plantación (4)

Componente	Contenido (%)
Cogollo y hojas verdes	8,44
Vainas y hojas secas(paja)	19,74
Tallos limpios	71,82

**Tabla 2.** Composición química de la paja en estado natural (4)

Componente	Paja integral (%)
Celulosa	45,13
Lignina	14,11
Pentosanos	25,56
Cenizas	8,03
Humedad	9,67

## RECOLECCIÓN Y OBTENCIÓN DE RESIDUOS AGRÍCOLAS

En el mundo hay diversos métodos para la recolección de paja en la producción de cereales. Este proceso es una solución mecánica sencilla, ya que los residuos quedan alineados en el surco durante la cosecha. Además, estos materiales son, por lo regular, homogéneos en su composición y tamaño. En el caso de los residuos de la caña de azúcar, el proceso de recolección no es tan sencillo debido a la heterogeneidad y baja densidad de bulto. Otro factor de importancia lo constituye el hecho de que la inmensa mayoría de los países productores de azúcar de caña son subdesarrollados y no disponen de la infraestructura técnico-material necesaria. Sin embargo, la mayoría de los países productores de cereales tienen un alto desarrollo tecnológico e industrial (3, 4).

En Cuba, los residuos agrícolas de la caña pueden ser recolectados en dos lugares: en el centro de acopio o estaciones de limpieza de caña y en el propio campo. En el caso de la paja, cualquiera que sea su uso, se debe realizar un tratamiento mecánico que elimine la heterogeneidad de su geometría y haga posible su compactación para la utilización posterior.

## TRANSPORTE

Entre los aspectos relacionados con la manipulación de los residuos, uno de los

más importantes por su incidencia técnico-económica es la transportación.

Los residuos agrícolas son materiales de baja densidad y su carga está limitada por volumen y no por el peso; por tanto, es imprescindible para la economía del transporte la utilización de todo el espacio disponible y la obtención de una buena compactación.

La baja densidad lleva a que el costo por transporte aumente, ya que hay que gastar más para lograr el mismo suministro energético que con otro tipo de combustibles. Si se quiere aliviar este problema, se puede hacer aumentando la densidad de la biomasa.

## VÍAS DE UTILIZACIÓN

Las vías de utilización de la paja se clasifican en dos grandes grupos: alimentación animal y fines energéticos (figura 1).

## ALIMENTO ANIMAL

La explotación a nivel industrial de la ganadería y la avicultura en Cuba depende, en gran medida, de la necesidad de importar las materias primas para la elaboración de alimentos concentrados (harina de soja y harina de pescado). Esto explica que para poder desarrollar tales industrias es preciso encontrar nuevas fuentes que sustituyan a los productos importados, y le brinden a la industria cierto grado de protección e inde-

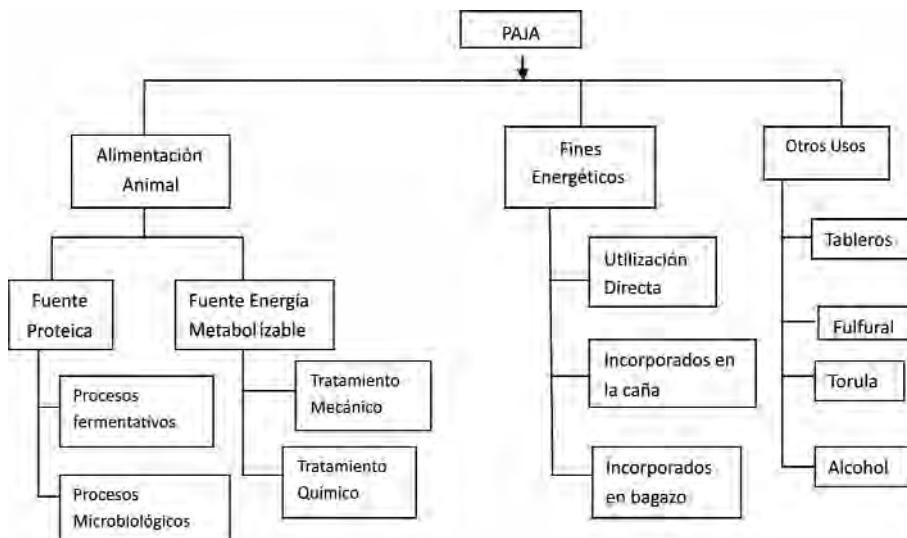


Figura 1. Vías de utilización de paja de la caña de azúcar (4).

pendencia ante la fluctuación de sus precios y la devaluación de la moneda.

El reemplazo de los ingredientes para la elaboración de alimentos por fuentes de proteína y energía de producción nacional, ofrece una alternativa muy atractiva para la diversificación de los productos de la industria del azúcar.

### Fuente proteica

Para lograr complementos proteicos al pienso y aumentar su digestibilidad, es imprescindible el tratamiento del material por métodos fermentativos o microbiológicos.

El primero consiste en someter el material a un proceso de cocción, al que se adiciona urea y alguna sustancia con el objetivo de estabilizar el pH. A continuación se enfriá, y posteriormente, se fermenta hasta concluir la emisión de dióxido de carbono y vapores alcohólicos (que pueden ser recuperados). Finalmente, el producto es compactado en forma de briquetas o paletas (pellets) para su ulterior utilización.

No se tiene noticias de que esta tecnología haya rebasado el marco experimental. Sobre el método microbiológico tampoco constan referencias de que se haya implementado industrialmente. En Cuba y particularmente en el ICIDCA (Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar), se desarrolló una tecnología microbial para la producción de hongos comestibles a partir del hongo *Pleurotus* para la conversión combinada y rentable de los residuos cañeros al ser reintegrados al ecosistema en alimento humano y animal. Además, con esta tecnología, la lignina de difícil digestibilidad se transforma, al igual que la celulosa y hemicelulosa, sin necesidad de tratamiento físico o químico y, por último, el sustrato remanente constituye un forraje beneficiado para la alimentación animal y como fertilizante (4, 5).

### Fuente de energía metabolizable

Se distinguen dos métodos fundamentales: físico y químico. Tanto uno como otro tratan de aumentar la digestibilidad de la paja y lo logran entre 10-12 %. Ambos métodos se aplican para pequeños volúmenes en el campo o a escala industrial. Un aspecto de interés lo constituye la rentabilidad de cualquier tratamiento a la escala en que se aplique.

Un proceso descrito en la literatura (4) informa una combinación de ambos métodos, donde la paja se Tritura y posteriormente se rocía con una solución de NaOH diluida a 4 %, concentración referida al peso de la paja. Se colocó, finalmente en pilas y se observó un aumento de la temperatura en el centro de ellas de 80 °C, posiblemente como resultado de la reacción del álcali con los ácidos que contiene la paja.

El aumento de la digestibilidad se debe a la ruptura de la estructura compacta conformada por la celulosa, hemicelulosa y lignina como material aglutinante. Se brinda una mayor accesibilidad a la celulosa y hemicelulosa conformada por cadenas de azúcares asimilables (6).

### Tratamiento industrial

El tratamiento a escala industrial es el resultado de una investigación previa que finaliza con el desarrollo de una tecnología en la que se pueden o no utilizar métodos físicos o químicos indistintamente o ambos, para lograr la factibilidad tecnológica y mejoras del producto a que va a ser destinado. Con el proceso industrial se logran digestibilidades de 60 a 65 %, también (7) aumentan la palatabilidad y el valor nutritivo; esto se debe a la ruptura de los vínculos lignocelulosicos y por ende, el mejoramiento de la asimilabilidad de la celulosa.

## FINES ENERGÉTICOS

### Utilización directa

Considerando la situación energética mundial, la utilización de los residuos agrícolas con fines energéticos es, en nuestros días, una necesidad indispensable, pero su uso energético lleva aparejada la utilización de más fertilizantes, la erosión de los suelos por el viento y la pérdida de humedad. La paja en el campo los protege. Este uso no es sustentable ecológicamente, enfrenta problemas relacionados con sus propias características (baja densidad, granulometría, etc.), además de los de recolección, manipulación y transporte.

De esta necesidad y con el deseo de aprovechar al máximo el potencial energético de la caña surgió la idea de utilizar los residuos agrícolas del cultivo, renovables anualmente, como combustible en las calde-

ras para la generación del vapor. Tales residuos están compuestos por las hojas verdes y secas de la caña, los cogollos, las basuras y la caña que no se puede procesar.

Las cantidades de residuos generados cambian enormemente dependiendo de la variedad de caña, del rendimiento y de la edad. La proporción de los residuos oscila entre el 10 y el 60 % en Colombia y entre el 25 y el 35 % (8) en Sudáfrica.

El poder calorífico de los residuos mostrados en la tabla 3 es equivalente al del bagazo, que con un contenido de humedad del 30 %, alcanza 11 600 kJ/kg, al 1 % será de 15 800 kJ/kg. El contenido de humedad de los cogollos y basuras en la época de la cosecha es de 50 %; si se dejan en el campo durante 2 o 3 días se reduce a 30 % y a 15 % después de dos semanas. Cifras de Tailandia muestran que los residuos se pueden recoger, embalar y transportar a los ingenios a un costo de US \$ 1,87/GJ, mientras que el petróleo con un poder calorífico equivalente cuesta US\$ 2,91/GJ. En Islas Mauricio se pueden producir, a partir de los residuos, 4,2 MWh de electricidad por hectárea de caña. Los residuos poseen un contenido de cenizas más alto que el del bagazo, por esta razón es recomendable quemarlos mezclados con bagazo.

En la Universidad de Cienfuegos, Cuba, se realizó una investigación referente al uso de carbón de paja de caña como fuente alternativa de energía en aplicaciones sociales. Este se mezcla con diferentes tipos de aglutinantes y se logra la compactación en forma de briquetas para uso como combustible. La paja de caña transformada en carbón posee un valor calórico mayor que el de la leña.

El problema consiste en determinar los parámetros óptimos para la elaboración de briquetas de carbón de paja de caña con diferentes sistemas aglutinantes y mezclas, (no existe

una tecnología adecuada para la utilización de estas briquetas) y ser empleadas como combustible en diferentes aplicaciones (9).

Un estudio realizado por un profesor del Departamento de Ciencias Exactas de la Escuela Superior de Agricultura de la Universidad de São Paulo, demuestra que es posible mantener una hidroeléctrica similar a la de Itaipú, funcionando solamente con la energía de la biomasa de la paja y del bagazo, durante el período mayo-octubre (10). Según este investigador, la paja, que actualmente es un problema ambiental a causa de la quema en el campo, tiene un excelente potencial de energía eléctrica debido a su alto poder calorífico.

Otros autores (11) proponen mantener 50 % de la paja en el campo para conservar la calidad agronómica del suelo y utilizar la otra parte con fines energéticos.

Ocho centrales paulistas están llevando a cabo esta práctica, mezclando bagazo con paja para la cogeneración de energía en las calderas. En lugar de cosechar la caña y dejar la paja en el suelo, para posteriormente transportarla al central, se lleva todo junto a estaciones de limpieza previa, donde se hace la separación del material. Esta es la solución más económica para recoger la paja. Aunque el proceso está funcionando a escala comercial, no se ha establecido aún la proporción de paja y bagazo que debe emplearse en las calderas durante la zafra, para no interferir en la eficiencia del proceso. y se augura que dentro de 15 años no va a haber centrales de azúcar, sino centrales de energía.

Otra perspectiva futura para el uso de la paja es la producción de etanol, que cobró impulso recientemente con el lanzamiento del Programa FAPESP de Investigación en Bioenergía. El programa prevé el uso de hongos que degradan la paja y el bagazo para producir azúcares fermentables.

Parece sencillo, pero los mecanismos destinados a entender cómo se produce esa degradación celular pasan principalmente por el conocimiento del genoma de la caña. Se han identificado 469

**Tabla 3.** Composición de los combustibles sólidos

Combustible	C	H	S	N	O	Ceniza	PC (kcal/kg)
RAC	42,4	6,3	-	-	44,3	7,0	4,484
Bagazo	47,0	6,5	-	-	44,0	2,5	4,600
Madera	49,5	6,2	-	1,1	43,1	-	3.220
Turba	21,0	8,3	0,6	1,1	62,9	6,0	1,990
Lignito	42,4	6,6	1,1	0,6	42,1	7,2	3,940
Antracita	84,4	1,9	0,9	0,6	4,4	7,8	7,390

genes relacionados con el metabolismo de la pared celular de la caña y en ese estudio se conciben, incluso, variables relacionadas con los cambios climáticos, con alto nivel de gas carbónico en la atmósfera. En ese escenario habrá cambios en la composición de la pared celular y se necesita saber de qué manera influye cada enzima utilizada en el proceso de obtención de etanol.

El proyecto denominado "Lignoetanol" (12) plantea obtener un combustible vegetal de impacto ambiental mínimo y además, darle un uso a la paja residual del cultivo de caña de azúcar, que por lo general es quemada por los productores.

Además de añadirle un valor agregado a esta paja, su uso evitara el fuerte impacto ambiental provocado por su quema en las regiones productoras de caña de azúcar.

Aunque el proyecto está en sus inicios, se espera un gran aporte en el sector bioenergético y poder comercializar etanol a partir de la paja de caña, pues actualmente en el mercado no hay un proceso industrial económico viable para producir etanol a partir de biomasa vegetal, como el bagazo o la paja de la caña de azúcar.

Todo el proyecto plantea una reducción en la contaminación atmosférica, un aumento significativo de la productividad del combustible sin necesidad de aumentar las áreas de cultivo ni de invertir en otras especies que apoyen el proceso de producción.

En la medida que se obtengan logros en el desarrollo de su manipulación, recolección y transporte, así como en la forma de tratamiento para lograr la granulometría requerida para su combustión, podemos disponer de criterios que permitan una valoración técnica-económica adecuada, sobre su posible utilización para los fines mencionados (13).

La paja como material lignocelulósico puede sustituir innumerables renglones en los que se emplea bagazo. Los tableros de partículas son un ejemplo de ello. Existen criterios preliminares sobre la factibilidad tecnológica de procesar la paja de caña de azúcar para ser utilizada en la elaboración de los mismos.

Se realizó un trabajo experimental para elaborar tableros con los mismos parámetros que los empleados en bagazo, sin embargo las propiedades obtenidas están por debajo de los requerimientos de las normas de tableros de buena calidad (14).

Diferentes grupos de investigación a nivel mundial se dedican a estudiar otras aplicaciones para este material como la fabricación de semiconductores, bioaceites, carbón para siderúrgicas, cemento y yeso fortalecido como materiales para la construcción.

Una de las líneas de investigación, llevada a cabo en el Departamento de Ingeniería de Materiales de la Universidad Federal de São Carlos (Brasil) (15), resultó ser la obtención de carburo de silicio, un versátil material sintético a base de sílice de paja de caña. Este material presenta propiedades tales como: excelente resistencia al desgaste, al choque térmico y al ataque de ácidos, lo cual permite su empleo como semiconductor, en abrasivos, en la industria de refractarios, en el blindaje de aeronaves, en microelectrónica y otras aplicaciones. El descubrimiento surgió como despliegue de un proyecto destinado a la fabricación de carburo de silicio de paja de arroz, desarrollado anteriormente por el mismo grupo de investigación. La sílice es mezclada con una fuente de carbono como grafito y llevada a un horno especial con atmósfera controlada, sin oxígeno, para la formación de carburo de silicio. Este material se obtiene mediante la reacción de reducción carbotérmica, que sucede a alta temperatura.

El método, usado actualmente a escala industrial, emplea una mezcla de sílice con carbono. El material se trató en un horno eléctrico a temperaturas superiores a los 2400 °C durante 32 y 40 horas. Esto genera como producto bloques de silicio que deben ser procesados mecánicamente por picadura y molida.

En otra investigación (16), la paja de caña picada se somete a un proceso de termoconversión denominado pirólisis rápida, en circuito cerrado a altas temperaturas. Se obtienen tres productos con diferentes aplicaciones: bioaceite con potencial de utilización en la industria química, polvo fino de carbón vegetal que puede emplearse en la producción siderúrgica y un gas con alto poder calorífico, compuesto de monóxido de carbono, metano e hidrógeno, indicado tanto para alimentar el propio reactor como para la generación de energía eléctrica.

Para obtener un elevado rendimiento de bioaceite, los investigadores utilizan la técnica denominada lecho fluidificado burbujeante, que resulta de la combinación de aire y

arena a temperaturas alrededor de 550 °C. En la puerta de entrada al lecho del reactor se pone carbón vegetal para dar inicio al proceso de calentamiento. Cuando la temperatura llega a 600 °C, la arena se pone en el reactor y se sopla para formar el lecho fluidificado, donde se coloca la biomasa seca picada para su degradación y transformación en productos tales como el bioaceite, de coloración oscura y bastante viscoso, que puede emplearse como insumo químico, combustible de turbinas y calderas, sustituto del fenol petroquímico en resinas y aditivo en la formulación de concreto celular para la construcción civil.

El vapor utilizado para la producción de bioaceite, después de pasar por un proceso de lavado, resulta un agua ácida, que puede aplicarse como bioestimulante para el crecimiento de plantas y como bioinsecticida en el cultivo del frijol. Los gases liberados en el proceso de pirólisis pueden utilizarse para alimentar calderas o en el propio proceso de combustión del reactor, por lo tanto toda la paja se aprovecha. La planta piloto tiene capacidad para procesar 200 kilos de paja por hora, transformados en 80 kilos de aceite y 50 kilos de carbón.

### **Forraje animal**

La paja picada se usa como sustrato en la siembra de granos para la producción en pocos días de un alimento voluminoso para vacunos, porcinos y aves (17).

La propuesta de José Luiz Guimarães de Souza, profesor jubilado de la Universidad Estadual Paulista (Unesp) de Botucatú, y del economista José Abílio Silveira Cosentino, consiste en integrar la caña de azúcar y la ganadería en pequeñas propiedades rurales, utilizando la paja que actualmente se quema durante la zafra. Mediante el empleo de una técnica llamada forraje verde hidropónico o FVH, un proceso de producción sin uso del suelo, es posible obtener en poco tiempo y con escasa necesidad de agua, un volumen considerable de alimento de calidad para animales, con el empleo de la paja de la caña como sustrato. Encima de una lona negra se pone la paja picada, sembrada con varios tipos de granos, tales como: el maíz, la soja, el trigo, el frijol gandul, la avena, el mijo y el sorgo. Según este método, cada 18 o 20 días se pueden cosechar 25 kilos de FVH de maíz por metro cuadra-

do. La FHV de maíz o de cualquier otro grano plantado se levanta como una alfombra constituida por la paja, por las semillas que germinaron y sus respectivas hojas y raíces, y también por las semillas que no germinaron, para reemplazar al pasto en la dieta del animal. La cantidad recogida es la misma que un animal adulto (una vaca en el período de engorde), debe recibir por día, complementada con un concentrado compuesto de maíz, salvado de soja, salvado de trigo y sal mineral. El objetivo de la utilización de la técnica es producir gran cantidad de masa vegetal, de buena calidad y en un corto período de tiempo.

El único cuidado consiste en mojar el cantero según la necesidad, como en una huerta convencional. Por los cálculos del investigador, confirmados con estudios en campo, con 25 metros cuadrados, es posible producir alimento para una vaca el año entero; basta con plantar y juntar un metro cuadrado por día. En Holambra II, municipio de Avaré, interior paulista, un propietario rural que criaba ganado de la raza Santa Gertrudis mantuvo 18 canteros de 60 metros cuadrados cada uno durante dos años. Levantaba un cantero por día y trataba de 60 a 80 cabezas. Todo el proceso fue seguido recopilando los datos y pesaje de animales. El mismo método puede aplicarse también para alimentar cerdos y aves.

### **Otras aplicaciones**

Para pequeñas propiedades donde se planta solamente caña de azúcar, la propuesta es utilizar también la paja en varios tipos de productos hechos artesanalmente, tales como: portamacetas, revestimiento de botellas, sombreros, macetas, placas y otros. La paja cumpliría así una función social y generaría ingresos, en lugar de quemarla en el campo. Los investigadores han probado varias formulaciones en sociedad con un artesano, incluso con teñido del material. Esas formulaciones resultaron en productos que pueden fabricarse sin mucha dificultad (18).

También se obtuvo yeso fortalecido con fibras naturales (19). Se prepararon con mezcla de bagazo y paja de caña de azúcar, y pulpa de bagazo, clasificadas a distintas concentraciones: 1, 2, 10 y 20 %. La composición fibra / yeso fue evaluada mecánicamente por compresión usando las técnicas

Análisis Mecánico Dinámico (DMA) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

Los mejores resultados se obtuvieron con 1 y 2 % de niveles de fibras y el módulo elástico fue más significativo para la muestra que mostró una mejor distribución y compactación entre las fibras y el yeso.

Investigadores del Instituto de Pesquisa Energética y Nuclear de Brasil evaluaron la resistencia a la compresión del yeso fortificado con fibras naturales para ser utilizados en materiales de la construcción (20).

A partir de la colaboración entre la Universidad de la Villas y la Universidad Gkhassel en Alemania, se realizó un trabajo donde se evaluaron las cenizas de bagazo y paja de caña de azúcar, obtenidas en forma inalteradas, directamente de las calderas de la fábrica de azúcar y de la quema incontrolada en el campo como aditivo de puzolana reactiva con potencialidad de ser usada en la preparación de aglomerantes del tipo cal/puzolana.

Los aglomerantes tipo cal/puzolana se han convertido recientemente en una atractiva alternativa para la construcción social en países en vías de desarrollo.

Estudios recientes demuestran que los desechos agrícolas e industriales de la industria azucarera, principalmente las cenizas de bagazo de caña (CBC) y las cenizas de paja de caña (CPC), tienen actividad puzolánica debido al alto contenido de sílice presente en estos materiales.

Como es conocido, las altas temperaturas de combustión afectan la reactividad de las cenizas usadas como puzolanas. Entonces, resulta imprescindible tratar de lograr una combustión controlada de los residuos agrícolas, para optimizar la reactividad de las cenizas a producir (21).

Las cenizas de cascarilla de arroz, del bagazo y de la paja de la caña de azúcar, cuando son quemadas convenientemente, producen un residuo mineral rico en sílice y alúmina, cuya estructura depende de la temperatura de combustión. Estas son consideradas puzolanas artificiales.

El cemento puzolánico CP-40 se produce a partir de mezclar íntimamente y moler hasta fino polvo una mezcla de hidrato de cal y puzolana, con una proporción promedio de 70 % de puzolana y 30 % de cal. El material producido requiere ser tan fino como el cemento Portland ordinario. Por esta razón,

puede ser considerado como un cemento para aplicaciones de albañilería.

Los aglomerantes cal-puzolana tienen su origen reconocido en las construcciones hechas por los romanos. Hoy día se conservan aún las ruinas de los grandes edificios construidos con este material.

Las puzolanas son materiales silíceos o alumino-silíceos que por sí solos poseen poco o ningún valor cementante, pero cuando se han dividido finamente y están en presencia de agua reaccionan químicamente con el hidróxido de calcio a temperatura ambiente para formar compuestos con propiedades cementantes.

En el caso de las puzolanas obtenidas como desechos de la agricultura (cenizas de la paja de caña de azúcar y el arroz), la forma más viable de mejorar sus propiedades es realizar una quema controlada en incineradores rústicos, donde se controla la temperatura de combustión y el tiempo de residencia del material.

Si la temperatura de combustión está entre 400 y 760 °C, hay garantía de que la sílice se forma en fases amorfas, de mucha reactividad. Para temperaturas superiores comienzan a formarse fases cristalinas de sílice, poco reactivas a temperatura ambiente.

El problema de la vivienda, junto al hambre y la falta de empleo, constituyen una de las prioridades de mayor urgencia a atender durante los próximos 20 años. Para buscar soluciones a esta acuciante problemática, es necesario acometer de forma integral la producción de materiales de construcción, de forma tal que sean asequibles a las familias con bajos recursos.

El cemento puzolánico tipo CP40 ha sido desarrollado y producido por el CIDEM, (Centro de Investigaciones de la Universidad Central de Las Villas, Cuba) (22).

Investigadores de la Facultad de Ingeniería Mecánica de la Universidad de Oriente, en Cuba, tomaron una muestra amplia de paja y la pusieron a quemar para medir el porcentaje de CO<sub>2</sub> (factor alterador del ecosistema). Despues de varias pruebas realizadas, se obtuvo un valor prácticamente invariable de un 8 %, asumido así como valor emitido por los gases de la combustión en condiciones ambientales por la paja de caña.

El estudio fue realizado en un complejo agroindustrial con una norma potencial de

molda de 500 000 arrobas diarias y para su beneficio cuenta con centros de preparación de la caña (centro de acopio). En una cosecha recién concluida, se tiene que en los centros de acopio se procesaron para su limpieza 2 850 000 arrobas de caña. Se acumularon, durante ese proceso, 342 000 arrobas de paja de caña (aproximadamente un 12 % del peso total). Una parte apreciable de la paja fue quemada. Esto produce una considerable emisión de CO<sub>2</sub> a la atmósfera, y provoca el aumento de su contaminación (23).

Si esta cantidad de paja de caña se utilizará para generar energía eléctrica, se podrían mantener trabajando los hornos de la fábrica por 18 días, ya que generando vapor para hacer trabajar los turbogeneradores, se producirían 2592 MW (aproximadamente el 75 % del consumo del país en una hora).

También el vapor generado podría tener otros usos durante el período de limpieza al finalizar la cosecha, como limpiar los equipos y tuberías de los residuos del proceso de producción de azúcar; así, se lograría un efecto de limpieza mayor.

Otros posibles usos de la paja de caña sería emplearla como fertilizantes y/o herbicidas, para evitar el crecimiento de malezas en el campo y como materia orgánica.

Al prepararse un compost a base de la paja de caña y otros agentes, a muy bajos costos, se pueden obtener fertilizantes orgánicos, no contaminantes al medio ambiente y capaces de utilizar un área de producción apreciable; y disminuir, consecuentemente, el empleo de fertilizantes químicos (24).

La paja y el bagazo de caña se pueden utilizar para la fabricación de embalajes de pulpa vegetal. La vajilla de celulosa natural es fabricada a partir de residuos de tallos de bambú, de pajas o de bagazo de caña de azúcar (residuos de caña recuperados después de la trituración). Las fibras vegetales son extraídas de estas plantas, pulpeadas y después fácilmente molidas en diferentes formas para crear platos, vasijas y cubiertos, los cuales son resistentes al frío y a elementos grasos (25).

La vajilla de pulpa vegetal es apta para congelar y para el contacto con alimentos. Es robusta y se puede calentar al microondas. Completamente naturales, los productos de celulosa son 100 % reciclables y biodegradables.

Por otra parte, investigadores de la Universidad Estadual Paulista, de Brasil

comprobaron que dejar la paja de caña de azúcar cosechada en el suelo, reduce la emisión de carbono. Se realizó un experimento dividiendo una siembra en tres áreas. Luego de la cosecha mecanizada, una parte quedó cubierta con 50 por ciento de la paja, otra con 100 por ciento y otra sin paja, explicó el coordinador del proyecto, Newton la Scala Júnior.

Los resultados revelaron que las áreas cubiertas de paja emitieron 400 kg menos de carbono, que equivalen a 1 500 kg de gas carbónico. Actualmente, se estudian otros usos de la paja de caña, como generar energía y producir etanol, pero la mejor alternativa, según el estudio realizado, es dejarla en la tierra (26).

## CONCLUSIONES

La paja de la caña de azúcar es un residuo beneficioso para el hombre, si se usa correctamente en algunas de las siguientes formas: como fertilizante para los suelos o como capa para cubrirlos y evitar el crecimiento de malas hierbas en las áreas de producción de la caña de azúcar, como combustible en la industria para generar electricidad o vapor para la limpieza de los equipos al finalizar la zafra; como alimento animal, ya sea unida al bagazo o de forma integral. También tiene otros usos alternativos que benefician el desarrollo de otras industrias como la refractaria, la química, la siderúrgica, la construcción y embalaje, que avalan las potencialidades de diversificación de la paja cañera.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 FAO. Productos forestales no madereros; posibilidades futuras. p.36. Roma: FAO, 1992. Programa informativo.
- 2 Álvarez, G. E. Aprovechando los Residuos Madereros. Centro de Estudios Forestales. Universidad de Pinar del Río, Cuba, 2003.
- 3 Triana, O.; Leonard, M.; Saavedra, F.; Fernández, N.; Gálvez, G.; Peña, E. Atlas del bagazo de la caña de azúcar. GEPLACEA. Publicación del Grupo de Países Latinoamericanos y del Caribe Exportadores de azúcar. Secretariado. Serie: Diversificación, GEPLACEA/PNUD. 1990. p. 19.

- 4 Padilla, J. A.; Correa, J. L. La Industria de los Derivados de la Caña de Azúcar. Capítulo V. Utilización de los residuos. 1980. p. 131.
- 5 Gálvez, L. Hongos Comestibles. Capítulo 5.8. En: Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar. 3ra. ed. La Habana: Imprenta MINAZ, 2000. pp. 375-389.
- 6 Jackson, M. Estudios sobre la alimentación animal. Informe de consulta a la FAO. India. 1978.
- 7 García, R.; Hernández, R. Digestión de residuos de la cosecha cañera tratados con hidróxido de sodio. Determinación de la digestibilidad in situ. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504. vol. IX. no 11.2008.
- 8 Tecnologías preventivas.<<http://www.tecnologiaslimpias.org.311801.pdf>>. [Consulta: 20 ene.2012].
- 9 Álvarez, R.R.; Romero, C.; Fundora, P.; Mencía, V. Evaluación de mezclas y aglutinantes de la elaboración de briquetas de biomasa. 8vo Congreso Iberoamericano de Ingeniería mecánica. Universidad de Cienfuegos Carlos Rafael Rodríguez. Cuba. 2007.
- 10 Villa Nova, N. A.; Ocheuze, P. C. Departamento de Ciencias Exactas de la Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq) de la Universidad de São Paulo. Brasil, 2008.
- 11 Caetano, T.; Wagner de Oliva, M. Departamento de Ingeniería Rural de la Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq) de la Universidad de São Paulo. Brasil. (2008).
12. Buckeridge, M.; Cáceres, O. Instituto de Biociencias de la Universidad de São Paulo (USP). Programa FAPESP de Investigación en Bioenergía (Bioen). Brasil. 2010.
- 13 López, P.; Valdés, A. Aprovechamiento de los residuos de la cosecha cañera. 43 Conferencia ATAC. La Habana. Cuba. 1981.
- 14 Carvajal, O.; La Serna, N.; Almagro, R. Investigación preliminar sobre la elaboración de tableros de partículas a partir de paja de caña. Informe interno. Dpto. Tableros. ICIDCA. La Habana. Cuba. 1981.
- 15 Costa, S.M.; Cardoso, E.C.L.; da Luz, S.M.; Araujo, S.G.; Lima, L.F.; Lugão, A.B. Assessment of compression resistance of natural fibers- reinforced gypsum composites. 17o Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciencia dos Materiais. Brasil. 2006.
- 16 Cortez, L.A.; Perret, S. Aprovechamiento total. Nuevas técnicas transforman la paja de la caña de azúcar en bioaceite, carbón siderúrgico, carburo de silicio y en el futuro también etanol. Tecnología, Agricultura. Edición 154. Pesquisa FAPESP. 2008.
- 17 Guimarães de Souza, J.L.; Silveira, J.A. Universidad Estadual Paulista (Unesp) de Botucatú. 2009.
- 18 Ereno, D. Aprovechamiento total. Nuevas técnicas transforman la paja de la caña de azúcar en bioaceite, carbón siderúrgico, carburo de silicio y en el futuro también etanol. Pesquisa FAPESP. Tecnología, Agricultura. Edición 154. Diciembre 2008.
- 19 Arikan, M.; Hassoun, D. The optimization of a gypsum-based composite material. Cement and Concrete Research. v. 32. pp. 1725-1728. 2002.
- 20 Romero, C. Aglutinantes de biomasa. 8vo Congreso Iberoamericano de Ingeniería mecánica. Universidad de Cienfuegos. Cuba. 2007.
- 21 Martirena, J.F.; Betancourt, B.; Middendorf, B.; Rubio, A.; Martínez, L.; Machado, I.; *et al.* Propiedades puzolánicas de desechos de la industria azucarera. Revista materiales de construcción. 50 (260). 2000.
- 22 González, R.; Martirena, J.F.; Reciclaje de biomasa y su conversión en energía y materiales de construcción. Universidad Central de Las Villas. 2003.
- 23 Knudsen, J. A. Diseño y gestión de la cadena de suministro de los residuos agroindustriales de la caña de azúcar. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Facultad de Ciencias Empresariales. Departamento de Ingeniería Industrial. 2006.
- 24 Domínguez, J.M.; Reyes, C. La paja de caña. Formas de atenuar su impacto ecológico. Revista Tecnología Química. XXIII (3), 2003.
- 25 Embalaje pulpa vegetal.<<http://www.google/fotos.com>>. [Consulta: dic. 2011]
- 26 Dejar la paja de caña de azúcar cosechada en el suelo, reduce la emisión de carbono.<<http://www.google/fotos.com>>. [Consulta: dic. 2011]

# Crecimiento de *Azospirillum brasiliense* en presencia de disacáridos: sacarosa y lactosa

Yudyt Díaz-Saez<sup>1</sup>, Manuel Díaz-de los Ríos<sup>2</sup>, Mario Alberto-Casas<sup>3</sup>,  
Arianna Nuñez-Caraballo<sup>2</sup>, Marlene Martínez-Mora<sup>1</sup>

1. Centro de Estudios Biotecnológicos, Facultad de Agronomía,  
Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos" (UMCC).  
Carretera a Varadero km 3½, Matanzas, Cuba.  
[yudyt.diaz@umcc.cu](mailto:yudyt.diaz@umcc.cu)
2. Instituto Cubano de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).  
Vía Blanca 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.
3. Departamento de Protección de Plantas, Instituto Nacional de Investigaciones  
de la Caña de Azúcar (INICA). Carretera central M. Martínez Prieto, km 2½,  
Boyeros, La Habana, Cuba.

## RESUMEN

*La obtención de biopolímeros a partir de fermentaciones bacterianas requiere de la selección adecuada de las condiciones del proceso. Se evaluó el crecimiento de la cepa Azospirillum brasiliense 8-INICA en medio líquido suplementado con disacáridos. Las mediciones se realizaron a las 23 h de incubación con la determinación de la densidad óptica, la concentración de azúcares reductores y concentración de carbohidratos totales, así como la determinación del pH del sobrenadante. Se confirmó el máximo desarrollo de la biomasa para 33 °C y 7,2 g.L⁻¹ de sal con sacarosa, y 40 °C y 3,5 g.L⁻¹ de sal con lactosa. Se estableció que las condiciones más favorables para la producción de exopolisacáridos se encuentran a temperaturas y concentraciones elevadas de sal para un medio con lactosa; y bajas temperaturas a concentraciones elevadas de sal en presencia de sacarosa. Se constató la marcada influencia de la temperatura en el crecimiento, y la acción positiva de la concentración salina en los mecanismos de supervivencia del microorganismo.*

**Palabras clave:** *Azospirillum, sacarosa, lactosa.*

## ABSTRACT

*The biopolymers obtention from bacterial fermentation requires an appropriate selection of the process conditions. In the present paper was evaluated the growth of Azospirillum brasiliense 8-INICA in a liquid medium enriched with disaccharides. The measurements were made at 23 hours of incubation with the determination of the optical density, the concentration of reducing sugars, as well as the total carbohydrate and we also determined the pH of the supernatant. The maximum development of biomass was determined for 33 °C and 7.2 g.L⁻¹ of salt with sucrose, and 40 °C and 3.55 g.L⁻¹ of salt with lactose. It was established that the most favorable conditions for the production of exopolysaccharides is at high temperatures and salt concentration for a medium with lactose and low temperatures at high concentrations of salt when there is sucrose. It's was evidenced the high influence of temperature in the growth, with positive influence of saline concentration in the surviving mechanisms of the microorganism.*

**Keywords:** *Azospirillum, sucrose, lactose.*

## INTRODUCCIÓN

La utilización de microorganismos en la producción de biopolímeros es una opción probada en producciones como la dextrana, el alginato y el xantano, los cuales se obtienen comercialmente de los géneros bacterianos *Leuconostoc* y *Xanthomonas*, respectivamente (1). Muchas bacterias producen sustancias de naturaleza polimérica al enfrentarse a condiciones como el estrés térmico, la desecación, la escasez de nutrientes, oportunidades de colonización, entre otras (2). Las posibilidades de encontrar utilidad para estas moléculas en áreas como la inmovilización de enzimas, son muy altas y casi ilimitadas en función de la gran variedad de microorganismos, y las variaciones en la composición de los polímeros, atendiendo a las condiciones de la fermentación y la composición del medio de cultivo. La creación de un banco de biopolímeros para la evaluación del comportamiento de enzimas inmovilizadas, requiere del estudio de las fermentaciones bacterianas en función de diferentes factores, para el establecimiento de procedimientos confiables que permitan obtener el producto deseado.

*Azospirillum brasilense* es una bacteria diazotrófica que produce exopolisacáridos (EPS) de composición variada y poli- $\beta$ -hidroxibutirato (PHB); es capaz de degradar una gran variedad de fuentes de carbono, aunque se conoce su preferencia por los ácidos grasos (3). Metaboliza un amplio grupo de carbohidratos, pero se ha reportado la imposibilidad de degradar almidón y celulosa, así como de utilizar la glucosa como única fuente de carbono a expensas de nitrógeno libre (4); aunque parece haber divergencias en el comportamiento atendiendo a la cepa y a las condiciones de fermentación. Es capaz de fijar nitrógeno a partir de amonio, nitrato, nitrito, aminoácidos y nitrógeno molecular, y utiliza para ello condiciones microaerófilas que protegen a la enzima nitrogenasa (5).

Se ha reportado que *A. brasilense* utiliza fructosa como fuente de carbono y energía para la producción de EPS ricos en glucosa durante la fase de crecimiento exponencial, y ricos en arabinosa para la fase estacionaria. El segundo de estos biopolímeros está relacionado con la colonización de las superficies y con la agregación celular, en respuesta a condiciones desfavorables para la

actividad nitrogenasa (2). La producción de los polímeros ricos en arabinosa está condicionada por la utilización de medios con elevadas concentraciones de carbono respecto al nitrógeno, que posibilita la observación de películas antes de las 24 h de cultivo (6).

El PHB es una fuente de almacenamiento de carbono y energía, utilizable en condiciones adversas como la sequía, la luz ultravioleta y el choque osmótico (7). Okon (8) y Bahat-Samet (2) proponen la hipótesis de su almacenamiento como fuente menos costosa energéticamente para el metabolismo celular, comparado con el almacenamiento en los EPS; ya que el primero promueve la supervivencia en ambientes de energía y sustratos limitantes. Según Bashan y Vázquez (9), la formación de quistes en la bacteria provoca un recubrimiento de polisacáridos y la acumulación del polímero. La producción de polímeros de polihidroxialcanoatos ha estado limitada por el costo del sustrato, lo que representa según cita Martínez (10), hasta el 40 % del costo de producción. La utilización de fuentes alternativas más baratas ha sido una de las soluciones a esta situación. En este sentido, la alta disponibilidad de fuentes azucaradas, como las mieles finales de la industria azucarera y los sueros lácteos residuales de la producción de queso, sugieren su explotación como fuentes de carbono y energía. Con este propósito es necesario establecer una comparación en el comportamiento de la bacteria *A. brasilense* entre diferentes condiciones de trabajo, para el establecimiento de fermentaciones que impliquen la utilización de los azúcares más representativos de las fuentes alternativas de sustrato antes mencionadas.

El objetivo de la presente investigación es evaluar el crecimiento de la bacteria *Azospirillum brasilense* 8-INICA atendiendo a la temperatura y la concentración salina de un medio de cultivo enriquecido con disacáridos como fuente de carbono y energía con vistas a la producción de polímeros.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El diseño experimental utilizado fue de superficie de respuesta con compuesto central 2<sup>2</sup> + estrella y dos réplicas al centro, evaluado en el software Statgraphics Plus 5.1

(11, 12) con un 95 % de confianza para los dos azúcares. El rango de las variables independientes establecido fue para la temperatura de 25 a 40 °C (13) y para la concentración de cloruro de sodio de 5 a 12 g.L<sup>-1</sup> (14). Se utilizaron como variables de respuesta el crecimiento y la concentración de azúcares. El diseño de los ensayos se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Diseño estadístico establecido por el software Statgraphics Plus 5.1

No.	Temperatura (°C)	Concentración NaCl (g.L <sup>-1</sup> )
1	25	5
2	33	3,5
3	33	8,5
4	40	5
5	25	12
6	43	8,5
7	33	13,5
8	22	8,5
9	33	8,5
10	40	12

La cepa de *Azospirillum brasilense* 8-INICA fue obtenida del cepario del Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA) y fue refrescada cada 3 semanas en medio Dlys al que se adicionó agar 15 g.L<sup>-1</sup>.

El inóculo se incubó en medio Dlys, extracto de levadura 2 g.L<sup>-1</sup>, peptona 1,5 g.L<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,38 g.L<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub>\*7H<sub>2</sub>O 0,5 g.L<sup>-1</sup>, ácido málico 2 g.L<sup>-1</sup>, ácido glutámico 1,5 g.L<sup>-1</sup>, glucosa 2 g.L<sup>-1</sup> a pH 6,8. Como medio de cultivo se utilizó Luria Bertani (LB) modificado, triptona 10 g.L<sup>-1</sup>, extracto de levadura 5 g.L<sup>-1</sup>, NaCl según diseño, sacarosa o lactosa 40 g.L<sup>-1</sup> a pH 6,8. Para placas se añade agar 15 g.L<sup>-1</sup>.

Los ensayos se realizaron en erlenmeyers de 45 ml con 15 ml de medio LB modificado y según diseño estadístico. Se evaluaron a las 23 horas de incubación. La determinación de los metabolitos se realizó en el sobrenadante de la centrifugación del medio a 3000 rpm por 10 minutos.

La determinación de la concentración celular se realizó por absorbancia en espectrofotómetro Ultrospec 2100 UV/Visible, Pharmacia Biotech, Inglaterra; a 560 nm utilizando medio de cultivo sin inocular como control (15, 16). Las unidades formadoras de colonia (UFC.ml<sup>-1</sup>) se estimaron por el método de McFarland, y rectificaron por el método de diluciones seriadas en base 10 desde 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-6</sup> con recuento en placa (17) utilizando el medio agar nutritivo, con 36 h de incubación a 37 °C. La curva de calibración de McFarland obtenida es: Abs560 = 0,0844 \* c(bacterias) \* (10<sup>8</sup> UFC.ml<sup>-1</sup>).

Los carbohidratos totales se determinaron empleando la técnica del fenol-ácido sulfúrico (18) y aplicada a los estudios de fermentación (6, 16). La curva de calibración se construyó con glucosa como patrón, de expresión Abs490 = 8,0464 \* c(carbohidratos totales), con un coeficiente de correlación de 0,991 para un rango de trabajo de 0,01 a 0,1 g.L<sup>-1</sup> de carbohidratos totales.

Los azúcares reductores se determinaron a partir de la metodología del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNSA) (19). La curva de calibración se construyó empleando glucosa como patrón, de expresión Abs546 = 1,1179 \* c(azúcares reductores), con un coeficiente de correlación de 0,997 para un rango de trabajo de 0,1 a 1 mg.ml<sup>-1</sup> de azúcares reductores.

La determinación de PHB se realizó de acuerdo con lo informado previamente (10, 20). La fracción celular obtenida de la centrifugación del caldo fermentado, fue resuspendida con tampón fosfato de sodio 0,03 M y tratada con hipoclorito de sodio al 5 % de Cl<sup>-</sup> y ácido etilendiaminotetraacético por hora y media a 37 °C para la ruptura celular. El precipitado se lavó con agua destilada y se trató con acetona y etanol. El residuo sólido se secó a 40 °C, para ser hidrolizado con ácido sulfúrico al 80 % por 30 min a 90 °C. Las mediciones se realizaron en espectrofotómetro Ultrospec 2100 UV/Visible, Pharmacia Biotech, Inglaterra; a 235 nm utilizando agua destilada como control.

## RESULTADOS

El comportamiento de *Azospirillum brasilense* 8-INICA frente a las dos fuentes de carbono y energía se estableció a partir del creci-

miento bacteriano, para las condiciones seleccionadas en el experimento. Cuando el disacárido presente en el medio es la lactosa, disminuye la concentración celular alcanzada de forma general para el tiempo de incubación del ensayo, como se observa en la figura 1.

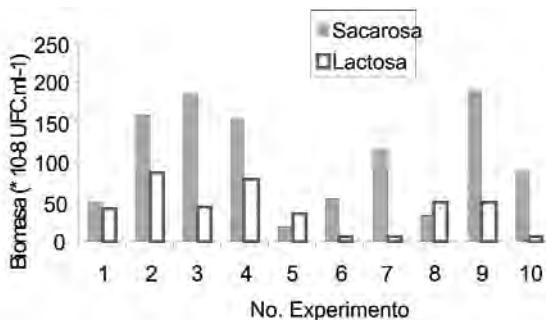


Figura 1. Crecimiento celular de *Azospirillum brasiliense* según el diseño experimental.

El análisis individual de los experimentos evidencia los mayores crecimientos para los dos azúcares cuando la temperatura es de 33 y 40 °C para concentraciones inferiores a los 9 g.L<sup>-1</sup> de sal.

En el estudio se reporta para la utilización de sacarosa, la influencia significativa del cuadrado de la temperatura, seguida de la misma como factor simple para las condiciones seleccionadas, según lo mostrado en la parte superior de la figura 2.

Aunque el efecto de la concentración no resulta estadísticamente significativo, el estudio individual de varios experimentos que incluyeron temperaturas superiores, sugiere que bajas temperaturas (entre los 22 y 25 °C) no resultan satisfactorias para el crecimiento de la bacteria diazotrófica, pero en este intervalo las elevadas concentraciones salinas tienen mayor influencia, no así para temperaturas superiores.

Para el mismo diseño, el comportamiento del microorganismo utilizando lactosa refleja gran influencia de la concentración salina del medio. Por el software, se estimó el valor óptimo de crecimiento para la mayor temperatura y menor concentración de sal ensayadas. La combinación de los factores en estudio resulta importante, pero la temperatura como variable simple no indica efectos significativos sobre el crecimiento para el rango en estudio, como se observa en la parte inferior de la figura 2.

En las condiciones experimentales seleccionadas se evidencia un consumo máximo de sacarosa para 33 °C y concentración salina de 8,5 g.L<sup>-1</sup>. El menor consumo del azúcar se manifiesta con 25 °C para concentración salina de 5 g.L<sup>-1</sup> y a 40 °C para 12 g.L<sup>-1</sup> de sal. La acumulación de azúcares reductores producidos es muy pequeña, con un mínimo para 33 °C con 3,5 g.L<sup>-1</sup> de sal, según se observa en la figura 3.

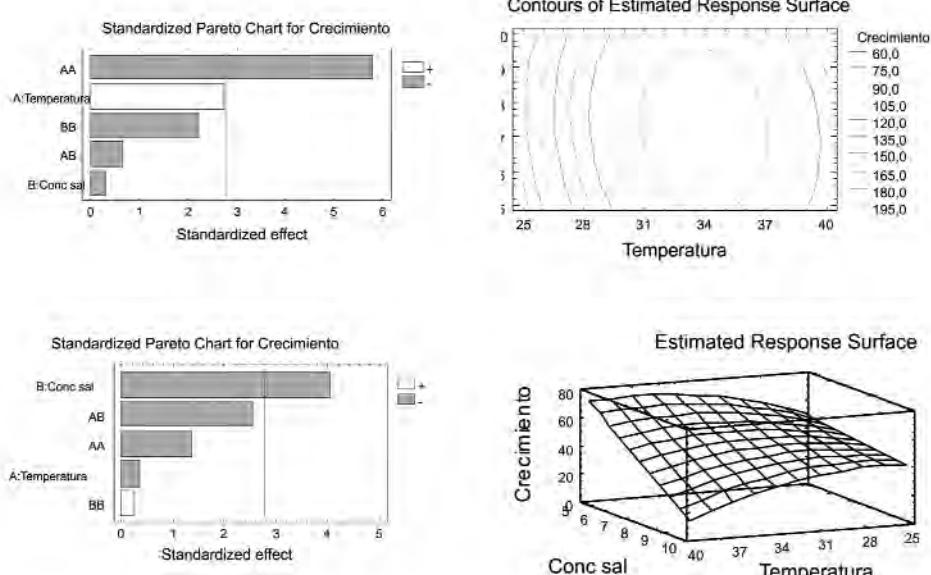
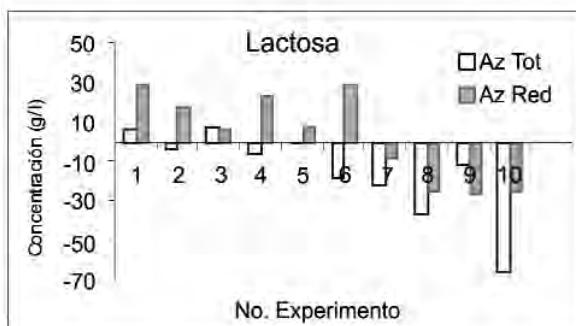
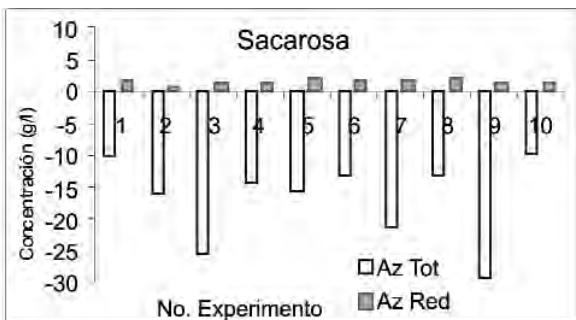


Figura 2. Resultados del diseño experimental en el Statgraphics Plus 5.0, para el crecimiento.



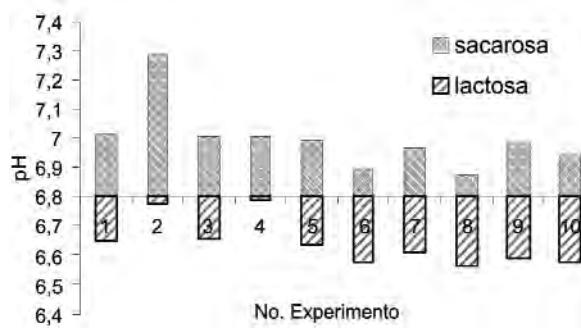
**Figura 3.** Comportamiento de los azúcares totales y reductores en el ensayo.

El comportamiento del *A. brasiliense* 8-8-NICA cuando cambia la fuente de carbono y energía a lactosa presenta diferencias internas que dificultan la interpretación de los resultados, aunque se puede concluir la existencia de un consumo máximo de lactosa a 40 °C con 12 g.L<sup>-1</sup> de sal. Para 25 °C y una concentración salina de 12 g.L<sup>-1</sup> es evidente una acumulación mínima de los azúcares reductores.

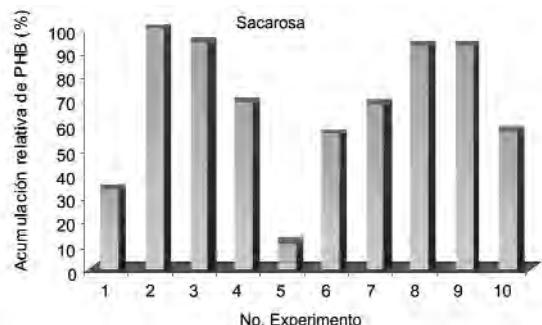
La variación del pH para el tiempo del ensayo se muestra en la figura 4.

Se observa un cambio máximo en la concentración de hidronio para 33 °C en el caso de la sacarosa con un aumento del pH en 0,48 unidades, mientras para la lactosa la disminución en el pH no presenta un máximo único, aunque se registró con mayor reproducibilidad para 22 °C y 8,5 g.L<sup>-1</sup> de concentración salina. Los valores mínimos en el caso del primer disacárido se registraron para temperatura de 22 y 43 °C, cuando la concentración de sal es de 8,5 g.L<sup>-1</sup> y para 25 °C con 12 g.L<sup>-1</sup> de sal.

Uno de los polímeros de interés es el PHB, su existencia se evaluó en el caso de la sacarosa, el comportamiento se muestra en la figura 5.



**Figura 4.** Variación del pH en el diseño experimental seleccionado.



**Figura 5.** Producción de PHB en presencia de sacarosa para el diseño experimental seleccionado.

El comportamiento evidencia producción del polímero en todos los casos, con máxima acumulación para 33 °C cuando la concentración de sal es de 3,5 g.L<sup>-1</sup> y 8,5 g.L<sup>-1</sup>; y para 22 °C cuando la concentración de sal es de 8,5 g.L<sup>-1</sup>. La mínima cantidad es acumulada para 25 °C con 12 g.L<sup>-1</sup> de sal.

## DISCUSIÓN

En los experimentos se evidencia preferencia de la sacarosa sobre la lactosa como fuente de carbono y energía para las condiciones de la mayoría de los ensayos, por lo que existe mayor consumo de fructosa bajo la consideración de una utilización mínima de la glucosa por este microorganismo; aunque las condiciones de pureza y degradación de los reactivos utilizados pueden incidir en la disponibilidad de azúcares simples en el medio. La evaluación en placa de los experimentos en las mismas condiciones, reafirmó el resultado obtenido a partir de una mayor velocidad de expansión de las colonias en el medio con sacarosa.

El rango favorable de temperatura obtenido para concentraciones medias y bajas de sal, coincide con los reportes para otros medios de cultivo (21; 22), debido esencialmente a la presencia, en ambos casos, de fuentes de nitrógeno semejantes que incluyen fuentes de carbono, en este caso el extracto de levadura. Los mecanismos para la hidrólisis de los disacáridos podrían resultar para esta bacteria vías metabólicas activadas a partir del agotamiento de sustratos carbonados con mayor afinidad.

En el crecimiento de la bacteria intervienen un número elevado de factores. La temperatura determina las posibilidades de crecimiento de los microorganismos, pero no puede describir por si sola un modelo de este proceso. Otros factores como el pH, la concentración de nutrientes y la concentración de oxígeno disponible inciden paralelamente y no se encuentran reflejados en el estudio, a partir de lo cual el procesamiento matemático indica, como factor significativo al cuadrado de la temperatura para el medio con sacarosa, aunque el valor óptimo estimado por el programa coincide con resultados informados anteriormente (13, 14). Para la lactosa, la concentración salina es en términos estadísticos y bajo las condiciones del ensayo, el factor significativo para el crecimiento. La temperatura en este caso solo tiene importancia en combinación con la concentración salina. Esté último es quien limita el crecimiento del cultivo cuando utiliza como fuente de carbono a la lactosa, en comparación con la sacarosa.

Como se ha informado (22), temperaturas cercanas a los 20 °C disminuyen el crecimiento del *A. brasiliense*, favorecen la formación de estructuras y sustancias de protección y la disminución del metabolismo basal, que garantizan el mantenimiento del microorganismo pero no su crecimiento. En estas condiciones existe para el medio rico en sacarosa influencia de la concentración salina sobre el crecimiento, relacionado con la acción creciente del cuadrado de este factor en el análisis estadístico. El medio rico en lactosa a pesar de presentar una influencia significativa de la concentración salina en el diseño evaluado, para las temperaturas inferiores ensayadas tiene menor acción, según un análisis individual de los resultados experimentales.

Las temperaturas superiores del rango ensayado tienen una acción negativa sobre el crecimiento de la bacteria en presencia de sacarosa independiente de la concentración salina. Cuando en el medio existe lactosa, es la acción de las elevadas concentraciones de sal la que determina el crecimiento microbiano, por encima de la influencia de la temperatura.

Los valores óptimos estimados para la concentración de cloruro de sodio cuando existe sacarosa en el medio de cultivo, se acercan a las concentraciones del suero fisiológico, relacionado tal vez con las facilidades de este género para colonizar el interior de las plantas.

El comportamiento obtenido para el consumo de sacarosa evidencia que para la temperatura de mayor crecimiento existe un máximo consumo global de sacarosa, a partir de la existencia de un número superior de microorganismos en el medio de cultivo. Sin embargo, para 25 °C con 12 g.L<sup>-1</sup> de sal, 22 °C con 8,5 g.L<sup>-1</sup> de sal y 25 °C con 5 g.L<sup>-1</sup> de sal, se obtienen los mayores consumos específicos de sacarosa y mayores acumulaciones de azúcares reductores específicos. Este hecho posiblemente indica la activación de enzimas hidrolíticas y poliméricas extracelulares como mecanismos de protección frente a condiciones desfavorables de crecimiento, en correspondencia con reportes anteriores (14, 24). Tal comportamiento resulta de interés para la obtención de polisacáridos extracelulares que puedan ser evaluados como soportes de inmovilización enzimática.

Para la lactosa coinciden las condiciones de consumo general con el específico, además de un consumo específico elevado para 33 °C con 13,5 g.L<sup>-1</sup> y 43 °C con 8,5 g.L<sup>-1</sup> de sal. Dentro de estos valores, los ensayos de las temperaturas superiores (40 y 43 °C) se corresponden con las mayores producciones de azúcares reductores específicos. La siguiente producción específica en orden descendente le corresponde a 25 °C para 5 g.L<sup>-1</sup>, lo cual hace pensar que para 40 y 25 °C se encuentra favorecida la acumulación de azúcares reductores en el exterior celular, mientras a 33 °C a pesar del estrés salino, una parte superior de los azúcares hidrolizados es internada a la célula para su degradación.

Los mayores crecimientos de biomasa para el medio con sacarosa alcanzaron las más altas variaciones del pH, pero los experimentos que presentaron más acumulación específica de azúcares reductores fueron los que evidenciaron las máximas variaciones específicas de pH. Para los ensayos con lactosa se obtienen las mayores variaciones específicas donde no es máximo el crecimiento celular. En los dos casos las mayores variaciones de este parámetro pueden estar relacionadas con la existencia de mecanismos de adaptación y supervivencia, a partir de la acumulación de azúcares en el medio externo para la producción de exopolisacáridos.

El comportamiento en la acumulación del polímero de ésteres para un medio con sacarosa coincide de forma general con las condiciones de crecimiento máximo, a partir del carácter intracelular de esta molécula de reserva. Sin embargo, valores generales y específicos elevados se obtuvieron para 22 °C con 8,5 g.L<sup>-1</sup> de sal. De los parámetros en estudio es la temperatura el que parece determinar la producción del producto de interés, desfavorecida para elevadas concentraciones de sal. La producción específica superior se encontró para 43 °C con 8,5 g.L<sup>-1</sup> de sal. En el primer caso, parece haber un predominio de los mecanismos de supervivencia a partir de la producción de EPS, mientras para las temperaturas altas predomina la vía de acumulación del PHB, para la bacteria en estudio dentro de las condiciones establecidas.

## CONCLUSIONES

En las condiciones estudiadas para el medio utilizado la presencia de sacarosa o lactosa no evidencia grandes diferencias en el crecimiento. Existe una tendencia para el rango de las variables seleccionado a la acumulación extracelular de materiales de reserva que pueden incluir EPS, cuando las temperaturas son bajas para elevadas concentraciones de sal en presencia de sacarosa; y cuando la temperatura y la concentración salina es alta en presencia de lactosa. Las variaciones del pH del medio están relacionadas en mayor medida con la utilización de la sacarosa y la lactosa como fuentes de carbono y energía en las condiciones seleccionadas, que con el aumento de la biomasa.

La producción de PHB en *Azospirillum brasiliense* 8-INICA en medio enriquecido con sacarosa está favorecida por temperaturas de 33 y 22 °C cuando la concentración salina es de 8,5 g.L<sup>-1</sup>.

## AGRADECIMIENTOS

A la MSc. Juana Pérez Pérez por su contribución en la adquisición de la cepa bacteriana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sharma, S. C. Gums and hydrocolloids in oil-water emulsion. *J. Food Tech.* pp.59: 59 - 67, January, 1981.
- Bahat-Samet, E.; Castro-Sowinski, S.; Okon Y. Arabinose content of extracellular polysaccharide plays a role in cell aggregation of *Azospirillum brasiliense*. *FEMS Microbiology Letters* 237: pp.195-203, July, 2004.
- Michiels, K.; Vanderleyden, J.; Van Gol, A. *Azospirillum* - plant root associations: A review. *Biol Fertil Soils*. 8 (4):pp. 356-368, March, 1989.
- Carcaño-Montiel, M.G.; Ferrera-Cerrato R.; Pérez-Moreno, J.; Molina-Galán, J. D.; Bashan, Y. Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. *TERRA Latinoamericana* (México) 4 (4): pp. 493 - 502, 2006.
- Reiner, O.; Okon, Y. Oxygen recognition in aerotactic behaviour of *Azospirillum brasiliense* Cd. *Can. J. Microbiol.* 32: pp. 829 - 834, 1986.
- Burdman, S.; Jurkewitch, E.; Soria-Diaz, M.E.; Gil Serrano, A.M.; Okon, Y. Extracellular polysaccharide composition of *Azospirillum brasiliense* and its relation with cell aggregation. *FEMS Microbiol. Lett.* 189: pp. 259 -264, June, 2000.
- Bashan, Y. *Azospirillum* spp. interactions in soils - a review. *Biol. Fertil. Soils*. 29: pp. 246-258, 1999.
- Okon, Y.; Itzigsohn, R. Poly-?-hydroxybutyrate metabolism in *Azospirillum brasiliense* and the ecological role of PHB in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Rev.* 103: pp. 131-140, 1992.

9. Bashan, Y.; Vázquez, P. Effect of calcium carbonate, sand, and organic matter levels on mortality of five species of *Azospirillum* in natural and artificial bulk soils. *Biol Fertil Soils.* 30: pp.450- 59, 2000.
10. Martínez, J.; Rodríguez, M.; Fernández, A.I. Producción de polihidroxialcanoatos en bacterias diazóticas. I. Influencia de la aireación en la síntesis de poli-β-hidroxibutirato en cepas de *Azospirillum brasiliense* Cepa 7. *Revista Biología* 18 (1): pp. 87 - 95, 2004.
11. Rodríguez, M. E. Factores que afectan a la fermentación microbiana y al perfil y flujo de aminoácidos de las bacterias asociadas con las fracciones líquida y sólida en un sistema de cultivo continuo. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Barcelona, España, 2004.
12. Martínez, J. A. Hidrólisis de sacarosa en un reactor de lecho empacado con invertasa y *Aspergillus niger* inmovilizados en el medio de cultivo sólido. Tesis de Maestro en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, 2005.
13. París, X. Obtención de exopolisacáridos de interés industrial a partir del lactosue-ro y permeatos. Tesis de Doctorado. Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España, 2009.
14. Fischer, S.E.; Miguel, M.J.; Mori, G.B. Effect of root exudates on the exopolysaccharide composition and the lipopolysaccharide profile of *Azospirillum brasiliense* Cd under saline stress. *FEMS Microbiology Letters* 219 (1): pp.53-62, 2003.
15. Ruas-Madiedo P. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by acid bacteria. *Int Dairy J* 12: pp. 163-171, 2002.
16. Kimmell, S.; Roberts, R.F.; Ziegler, G. Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* RR grown in a semidefined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (2): pp. 659-664, 1998.
17. Milián, G. Obtención de cultivos de *Bacillus* spp. y sus endosporas. Evaluación de su actividad probiótica en pollos (*Gallus gallus domesticus*). Tesis de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal, La Habana. Cuba, 2009.
18. Dubois, M.; Pilles, K. A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: pp. 350-356, 1956.
19. Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar *Anal. Chem.*: pp. 426- 28, 1959.
20. Cholula, L. P. Estudio de la producción de poli-β-hidroxibutirato (PHB) en *Azospirillum brasiliense* Sp7. Tesis de Maestro en Ciencias en Biotecnología Genómica. Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Tamaulipas, México, 2005.
21. Tyler, M.E.; Milian, J.R.; Smith, R.L.; Schank, S.C.; Zuberer, D.A. Isolation of *Azospirillum* from diverse geographic regions. *Can. J. Microbiol.* 25: pp. 693-697, 1979.
22. Caballero-Mellado, J. El género *Azospirillum*. (digital) En: Romero, D. *Microbios en línea. Programa de Ecología Molecular y Microbiana*, Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, UNAM, Cuernavaca, México, 2002. <En: [www.mirobiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO\\_14/Capitulo14.pdf](http://www.mirobiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_14/Capitulo14.pdf)> (Consultado en febrero 2011).

# La calidad del agua destilada en la determinación de cenizas conductimétricas en azúcares crudos

Roberto J. Rodríguez-Mambuca, Julián Rodríguez-López, Armando Perdomo-Morales

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)  
Carretera central M. Martínez Prieto, km 2 ½. Boyeros. La Habana. Cuba.  
[roberto.rmambuca@icidcaby.acuba.cu.](mailto:roberto.rmambuca@icidcaby.acuba.cu)

## RESUMEN

*Se llevaron a cabo experimentos de determinaciones en paralelo de muestras de azúcar crudo usando el método de ceniza conductimétrica del ICUMSA 2007, con agua de conductividad de 2  $\mu$  Siemens/cm y una réplica utilizando agua destilada en el intervalo de 2 a 10  $\mu$  Siemens/cm, para evaluar la posibilidad de sustituir el agua de conductividad exigida por la técnica analítica por agua destilada común en estos análisis.*

*Se evaluó estadísticamente el conjunto de 58 muestras pareadas y de este análisis se concluyó que no había diferencias significativas entre los resultados con el empleo de agua destilada normal y agua de baja conductividad.*

*La utilización de agua destilada normal (5-10  $\mu$  Siemens/cm) economizaría divisas por ahorro de energía eléctrica (si se utilizan bidestiladores) o ahorro de reactivos-resinas intercambiadores y contaminación del medio ambiente si se emplean desionizadores.*

**Palabras clave:** azúcar crudo, ceniza conductimétrica, ICUMSA, agua de conductividad.

## ABSTRACT

*A set of experiments were carried out doing parallel determinations of raw sugar samples by 2007-ICUMSA conductimetric ash method, using 2  $\mu$ Siemens/cm conductivity water and a replica with distilled water within the range of 2 to 10  $\mu$ Siemens/cm, to evaluate the possibility of substitution of conductivity water required by the analytical technique with common distilled water.*

*The whole set comprised 58 paired samples which were statistically evaluated and this led to the conclusion that there were no significant differences between results using ordinary distilled water and low conductivity one.*

*The use of normal distilled water (5-10  $\mu$ Siemens/cm) will economize foreign currency by savings in electrical energy (if bidistillators are applied) or by savings in reagents and ion-exchange resins, as well as a reduced environmental impact, if deionizers are utilized.*

**Keywords:** raw sugar, ICUMSA, conductimetric ash, distilled water.

## INTRODUCCIÓN

La ceniza se puede definir como el residuo mineral que queda de una sustancia después de haberla sometido a combustión total. Los resultados satisfactorios y la facilidad operatoria de los métodos conductimétricos, según algunos autores (1, 2), han reemplazado el lento proceso de la ceniza gravimétrica en las determinaciones rutinarias en azúcares refinos, crudos, aguas residuales, mieles y otros productos de la industria azucarera.

El análisis de los productos en esta industria por métodos conductimétricos para la determinación de ceniza se basa en la baja conductividad del agua destilada y la condición de no-electrolito de la sacarosa que, por tanto, tampoco conduce la electricidad. Así, las sales minerales que constituyen la ceniza son prácticamente las responsables del valor de conductividad obtenido, con la excepción de la sílice, que tampoco es conductora.

El valor de estas mediciones conductimétricas ha sido reconocido por la industria azucarera y se han informado numerosos trabajos sobre el tema.

La medición de la conductividad da una medida de la concentración de los iones presentes y ofrece de este modo, una indicación directa del total de los minerales presentes o el contenido de ceniza del producto. El conocimiento del contenido de cenizas en los azúcares y mieles finales, tiene incidencia en el proceso industrial, ya que estas tienen carácter melasigénico.

En los años 40 del siglo pasado (3), se proponía la utilización de aguas de una conductividad de 1,5 a 2,0  $\mu\text{Siemens}/\text{cm}$ . Para la determinación de ceniza conductimétrica, la metodología de ICUMSA, 2007, recomienda aguas con conductividad  $\leq 2 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$  y a la vez menciona que el agua destilada ordinaria puede tener una conductividad de hasta  $10 \mu\text{S}/\text{cm}$ , valor que fue utilizado hasta que la norma cubana cambió (4) dicho valor, que pasó a ser de  $5 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$ . Esta norma relaciona tres calidades de agua. En el país, en la determinación de ceniza se emplea el método (ICUMSA) 2007 (5).

Las posibilidades de obtener la denominada agua de conductividad (conductividad  $\leq 2 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$ ) para la determinación de la ceniza conductimétrica en azúcar crudo

es compleja en la mayoría de los laboratorios azucareros (especialmente en los ingenios azucareros) que emplean un destilador de agua común. Una posible elección es utilizar bidestiladores de agua (caros) o desionizadores con el correspondiente uso de resinas de intercambio iónico y productos químicos para la regeneración de dichas resinas que son agresivos al medio ambiente.

Otra alternativa es estudiar el efecto del empleo de diferentes calidades de agua destilada y analizar estadísticamente los resultados de las determinaciones de la ceniza comparada con el uso de agua de conductividad con la misma muestra de azúcar en ambas determinaciones.

Producto de la dureza de nuestras fuentes de agua, se llevaron a cabo ensayos con agua destilada en un rango de entre 2 y  $10 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$ , lo que en caso de ser viable permite la utilización de destiladores comunes, y así trabajar con aguas en el entorno de  $5 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$ .

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la calidad del agua a valores  $\leq 2 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$  y su comparación con aguas en el rango desde  $\geq 2 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$  hasta  $\leq 10 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$  en la determinación de ceniza. Adicionalmente, se ofrecen las ventajas económicas que reporta la utilización de agua destilada en su determinación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

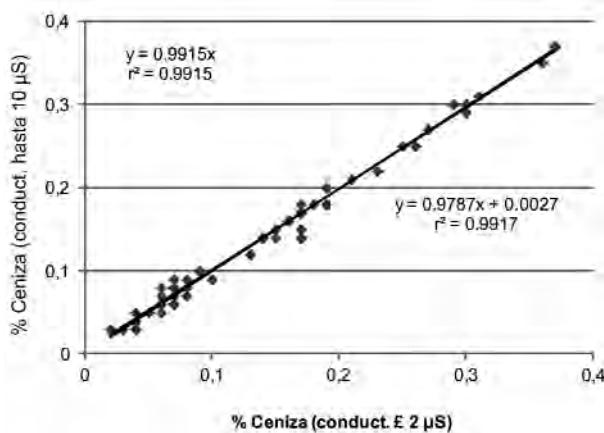
El Leycal (Laboratorio de Ensayo y Calibración de Alimentos) recibe al menos tres muestras de cada una de las empresas azucareras que se encuentran produciendo azúcar, de las cuales se seleccionó una muestra aleatoria de 58 (debe aclararse que el porcentaje representa a la población total por lo que caracteriza a la población original).

La técnica empleada para la determinación de ceniza en azúcar crudo fue la que recomienda ICUMSA en su edición de 2007 (5), en la que se ofrece una descripción detallada de la misma. El método conductimétrico utilizado para la determinación de ceniza es sencillo, rápido y rinde buenos resultados. Se prepara una solución del azúcar a analizar con una concentración de  $5 \text{ g}/100 \text{ ml}$ , la cual se enfriá por debajo de  $20^\circ\text{C}$ , y se transfiere a la celda de lectura del conductímetro, se

espera que la temperatura llegue a los 20 °C para leer la conductividad de la solución problema. A la conductividad leída, se le resta la conductividad del agua destilada con la cual se preparó la solución y dicho valor se convierte a conductividad específica en  $\mu\text{Siemens}/\text{cm}$  multiplicando por la constante de la celda, K. La conductividad específica se convierte a porcentaje de ceniza mediante la aplicación de la fórmula correspondiente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra el análisis estadístico realizado a los resultados analíticos de las 58 muestras comparadas con las dos calidades de agua destilada empleada.



**Figura 1.** Correlación alcanzada durante la comparación con diferentes calidades de agua destilada.

Se calculó la regresión de  $y$  ( $\leq 10 \mu\text{Siemens}$ ) versus  $y$  ( $\leq 2 \mu\text{Siemens}$ ), teniendo en cuenta la exclusión del término independiente o su inclusión, las ecuaciones aparecen en el gráfico, se seleccionó la que incluye el término independiente porque tiene un coeficiente de determinación estadísticamente más alto.

En la tabla 1 aparece una serie de parámetros calculados a partir de dicha regresión. Se puede apreciar, en ambas variables que los valores medios coinciden. Además, si se considera que todo el error está en la  $y$ , su desviación típica  $S_0$  no excede como valor 0,01 % por lo que la incertidumbre en una medición (asumiendo una distribución normal de los datos, no

**Tabla 1.** Resultados a partir de la regresión  $y$  ( $\leq 10 \mu\text{Siemens}$ ) versus  $y$  ( $\leq 2 \mu\text{Siemens}$ )

Coeficiente de la variable independiente (x)	$b =$	0,97869
Término independiente	$a =$	0,00265
Coeficiente de correlación	$r =$	0,99585
Coeficiente de determinación	$r^2 =$	0,99172
	$x_{\text{media}} =$	0,14069
	$y_{\text{media}} =$	0,14034
Todo el error en la $y$	$S_0 =$	0,00925
Número de muestras	$n =$	58

debe exceder 0,02 % (dos desviaciones típicas) para un factor de cobertura de 2, con un 95 % de confianza).

Según la tabla, A.30a (6) percentiles de la distribución de  $r$  cuando  $\rho = 0$ , para una probabilidad del 99,95 % y para 60 pares de valores, cuando el valor de  $r$  calculado excede de 0,414, se afirma que hay correlación.

La dispersión de los datos se puede observar más claramente mediante la tabla 2.

La tabla revela que el 98,3 % de los valores analizados tienen una diferencia  $\leq 0,02$  % de ceniza con respecto al valor de referencia, con lo que se corrobora que los datos analizados se pueden representar por una distribución normal y esta diferencia a su vez es menor que la repetibilidad del método (0,03 %).

Adicionalmente, se realizó una prueba de  $t$  pareada comparando los resultados obteni-

**Tabla 2.** Porcentaje acumulativo de la dispersión respecto al valor  $\leq 2 \mu\text{Siemens}/\text{cm}$

Número de muestras	Dispersión	% acumulado	% acumulado total
29	0	50	50,00
25	$\pm 0,01$	43,1	93,10
3	$\pm 0,02$	5,2	98,30
1	$\pm 0,03$	1,7	100,00

**Tabla 3.** Prueba de *t* pareada de los resultados analíticos de las 58 muestras

Parámetros	Variable 1	Variable 2
Media	0,14034	0,14069
Varianza	0,00921	0,00954
Observaciones	58	58
Coeficiente de correlación de Pearson	0,99585	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	57	
Estadístico <i>t</i>	-0,29255	
P( <i>T</i> <=t) una cola	0,38546	
Valor crítico de <i>t</i> (una cola)	1,67203	
P( <i>T</i> <=t) dos colas	0,77093	
Valor crítico de <i>t</i> (dos colas)	2,00266	

dos utilizando agua destilada con las dos conductividades especificadas con los resultados que se muestran en la tabla 3.

Del análisis de la tabla, dado que la *t* calculada es inferior al valor crítico de la *t* de la tabla para dos colas, se acepta la hipótesis de que no hay diferencias significativas entre el uso del agua destilada con conductividad inferior a 2  $\mu$ Siemens/cm y con agua destilada con conductividades > 2 y 10  $\mu$ Siemens/cm.

Un diagnóstico de los laboratorios existentes en la actualidad reveló que sería necesaria una inversión para la adquisición de no menos de 60 equipos desionozadores de agua para dotar los distintos laboratorios, (provinciales y los de las UEB) de este servicio. Estos equipos están valorados en € 550 cada uno, sin tener en cuenta el suministro de reactivos para una operación sin contratiempos.

## CONCLUSIONES

1. La prueba de *t* pareada mostró que no hay diferencias significativas en la determinación de cenizas conductimétricas en azúcar crudo utilizando agua destilada con una conductividad hasta de 10  $\mu$ Siemens/cm, comparada con la misma muestra realizada con agua de conductividad  $\leq$  2  $\mu$ Siemens/cm. Los valores medios de la ceniza conductimétrica por ambos métodos de todas las muestras, difieren en la cuarta cifra decimal (0,1403 y 0,1407).

2. El 98,3 % de los resultados poseen diferencias analíticas menores que la repetibilidad del método.
3.  $S_0$ , el límite de confianza inverso para la regresión, no excede de 0,009 %, por lo que la incertidumbre en la medición con factor de cobertura de 2, no excede de 0,02 %.
4. El coeficiente de correlación *r* para el conjunto de las 58 comparaciones fue de 0.99585, teniendo en cuenta, además que el coeficiente *r* puede variar solamente entre -1 y +1; se considera que hay una buena correlación entre ambos métodos, o sea que ambos métodos dan los mismos resultados analíticos.

## RECOMENDACIONES

Se puede utilizar agua destilada hasta 10  $\mu$ Siemens/cm de conductividad para la determinación de ceniza conductimétrica en azúcares crudos en todos los laboratorios de la industria azucarera.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chen, J.C.P.; Cheng-Chi, Chou. Cane Sugar Handbook. 12th Edition. New York: John Wiley and Sons, 1993, p. 344.
2. David, E.; Perdomo, A. Introducción al Control Técnico de la Industria Azucarera. Minaz. Instituto Superior de Capacitación Azucarera. La Habana Cuba, pp. 109-110, 1978.
3. Browne, C.A.; Zerban, F.W. Physical and Chemical. Methods of Sugar Analysis. 3rd Edition. New York: John Wiley and Sons, p. 1016, 1948.
4. NC-ISO 3696:2004. Agua para uso en análisis de laboratorio.
5. ICUMSA, Methods Book. Method GS1/3/4/7/8-13. The determination of conductivity of ash in raw sugar, brown sugar, juice, syrup and molasses. Official. 2007.
6. Introducción al Análisis Estadístico Dixon, Massey. E Instituto Cubano del Libro, p. 464, 1974.

# Predicción de la estabilidad del probiótico PROBICID de *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 por el método de máxima probabilidad

Gloria Bueno-García, María Antonieta Brizuela-Herrada, Grizel Delgado-Arrieta,  
Paulina Serrano-Méndez, Heidy Pérez-Leonard

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)  
Vía Blanca 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba  
gloria.bueno@icidca.edu.cu

## RESUMEN

El PROBICID es un producto líquido de bacterias lácticas viables, obtenido por fermentación del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 y utilizado como aditivo alimentario para la cría de aves y cerdos. Se evaluó el método de estabilidad acelerada, vida de estante y predicción de fecha de vencimiento por valoración microbiológica utilizando análisis de degradación, distribución Weibull, relación Weibull-Arrhenius y estimación de máxima probabilidad. El método predice una estabilidad en la viabilidad del microorganismo de 3 meses con una confiabilidad del 90 % y garantiza que pueda ser almacenado y utilizado hasta 6 meses a 30 °C. Esta predicción fue corroborada por análisis de vida de estante a la misma temperatura.

**Palabras clave:** producto probiótico, estabilidad acelerada, relación Weibull-Arrhenius, estimación máxima probabilidad.

## ABSTRACT

The PROBICID, is a liquid product of viable Lactic acid bacteria obtained by fermentation from the *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 and used as feeding additive for the breeding of fowls and pigs. In this work it was evaluated the method of accelerate stability, shelf life and prediction of expiration date by valuation microbiological using degradation analysis, distribution Weibull, relationship Weibull-Arrhenius and estimate of maximum probability. The method predicts a stability in the viability of the microorganism of 3 months with a reliability of 90 % and it warrant that it can be stored and used up to 6 months at 30 °C. This prediction was corroborated by analysis of shelf life to the same temperature.

**Keywords:** probiotic product, accelerate stability, relationship Weibull-Arrhenius, estimate of maximum probability.

## INTRODUCCIÓN

Durante décadas, los antibióticos han sido utilizados para prevenir la infección de bacterias patógenas (*Escherichia coli* y *Salmonella* sp.) en los animales (1). Sin embargo, el incremento creciente en la dosificación provoca el desarrollo de cepas bacterianas resistentes, lo cual propicia el ulterior uso de antibióticos dificultando la terapia. Tanto los productores como los consumidores interesados en los efectos de los antibióticos en los animales de granja, se han dedicado a la búsqueda de alternativas al uso de antibióticos (2). Una manera de resolver la salud animal mediante el balance de los microorganismos intestinales es el empleo de los probióticos (3).

Los probióticos son microorganismos vivos no patogénicos, habitantes usuales del tracto digestivo, los cuales en su estado natural se alojan en humanos y animales (4, 5, 6) y que, al ser agregados como suplemento en la dieta y ser consumidos en cantidades suficientes, favorecen el desarrollo de una flora microbiana en el intestino (7-12).

En la alimentación animal se ha reportado el efecto beneficioso de los probióticos en el control de patógenos mediante su exclusión (13), en el incremento de la digestión y en la absorción de nutrientes. Esto se traduce en un efecto positivo en el crecimiento y conversión alimentaria con aumentos en la producción de carne, leche y huevos (14, 15).

El PROBICID es un producto líquido de bacterias lácticas viables, obtenido por proceso fermentativo del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5, que presenta características probióticas y que ha sido validado en animales con resultados satisfactorios, comparables con los obtenidos con productos comerciales ofrecidos en el mercado internacional (16, 17).

Es importante señalar que una característica esencial de un producto probiótico es su viabilidad. El tiempo en que una proporción dada de la población original permanece viable después del almacenamiento en las condiciones escogidas, se conoce como tiempo de vida útil o vida de estante.

Tradicionalmente, el análisis de los datos de supervivencia se realiza investigando los tiempos de vida útil de productos o componentes que se obtienen en condiciones normales de operación o almacenamiento. En

muchas ocasiones y por diversas razones, tales datos de vida útil son muy difíciles, si no imposible, de obtener. Las razones para esta dificultad pueden incluir los tiempos prolongados de vida de los productos de hoy y el desafío de experimentar con productos que son usados continuamente en condiciones normales. Dada esta dificultad, se han desarrollado métodos que aceleren la pérdida de supervivencia más rápidamente, que tienen como propósito predecir la estabilidad de productos o componentes en condiciones normales de uso (18).

El estudio de la estabilidad acelerada consiste en el análisis de los datos de vida o supervivencia, en base a un modelo de distribución que representa el producto a diferentes niveles de estrés y el análisis de la relación supervivencia-estrés, que cuantifica la manera en que la distribución de vida cambia, empleando el método de estimación de máxima probabilidad.

El análisis de supervivencia conocido también como "análisis de Weibull" permite estudiar la variable "tiempo hasta que ocurre un evento o tiempo de espera". El objetivo es hacer predicciones a partir de una distribución estadística de los datos de vida o supervivencia de una muestra representativa para estimar características importantes de vida útil del producto. Diversos autores consideran a las curvas de supervivencias como una forma acumulativa de distribución de la letalidad que muestra una aproximación probabilística (19-23).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el método de estabilidad acelerada, vida de estante y predicción de fecha de vencimiento, por evaluación microbiológica del bioproducto líquido PROBICID obtenido a partir del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 por análisis de degradación, distribución Weibull y relación Weibull-Arrhenius, utilizando el método de máxima probabilidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestra

Se utilizó un producto líquido de bacterias lácticas viables "PROBICID" con una concentración celular de  $10^{11}$ - $10^{13}$  UFC/ml obtenido por proceso fermentativo del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5, de acuerdo con el procedimiento tecnológico

desarrollado en el Instituto Cubano de Investigaciones de los derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), (17).

### **Estudio de estabilidad acelerada**

Se realizaron cinéticas de muerte térmica empleando un volumen fijo (10 ml) de PROBICID añadido en tubos de vidrio con tapa de 15 ml de capacidad, previamente esterilizados. La incubación se realizó en baño termostatado a temperaturas de 37, 45, 50, y 60 °C durante intervalos de tiempo variados. La concentración celular se midió al inicio y final del tiempo de incubación.

### **Estudio de vida de estante**

Se emplearon seis lotes de PROBICID envasados en frascos de cristal de 1 L, obtenidos de fermentaciones diferentes y colocados en estantes a temperatura ambiente (30 °C promedio) durante varios días. Se realizaron valoraciones periódicas de los mismos.

### **Estimación de la concentración celular**

El conteo de células viables se realizó por el método de diluciones seriadas y siembra en placas de MRS-Agar e incubación a 37 °C durante 48 h.

### **Procesamiento de los datos**

Se realizó de acuerdo con la teoría y principios de Estabilidad Acelerada (18) y procesados por el programa Stagraphic versión 7. Segidamente, se caracterizan los modelos y funciones utilizados:

- **Modelo de distribución de Weibull de dos parámetros**

La variable tiempo de espera es una variable aleatoria continua y no negativa, cuya función de probabilidad [f(t)] se especifica en la función densidad de probabilidad (pdf, por sus siglas en inglés), que se define como una función que permite calcular la probabilidad de que la variable tome valores en un intervalo a través de la siguiente ecuación:

$$f(t) = \frac{\beta}{\eta} \left( \frac{t}{\eta} \right)^{\beta-1} e^{-(t/\eta)^\beta}$$

Donde: beta,  $\beta$ , es el parámetro de forma del pdf y es adimensional. Para  $0 < \beta < 1$ , f(t) decrece de forma asintótica y convexa cuando aumenta el tiempo, cuando  $\beta=1$  la f(t)

representa una distribución exponencial que puede representar crecimiento o pérdida de supervivencia y para  $\beta>1$  f(t) asume una distribución normal.

- **Modelo de distribución de Arrhenius.**

El modelo de Arrhenius es probablemente el más utilizado en los ensayos de estabilidad acelerada cuando el estímulo o estrés es térmico. La ecuación que relaciona la velocidad de muerte y el estrés está dada por:

$$L(\eta) = Ae^{-(B/T)}$$

Donde: (L) representa el valor de la característica de vida, (A) constante a ser determinada, (B) es una constante a ser determinada y es igual a Ea/k) (Ea) energía de activación (eV), (k) constante de Boltzman (8,17 E-5 eV/ °K) y (T) temperatura en grados Kelvin.

- **Propiedades estadísticas de Weibull**

Vida media calculada por la siguiente ecuación:

$$\hat{t} = \eta \cdot \Gamma(1/\beta + 1)$$

Donde  $\Gamma(1/\beta+1)$  es la función gamma evaluada al valor de  $(1/\beta+1)$ .  
Mediana de vida, evaluada a partir de:

$$\check{t} = \eta (\ln 2)^{\frac{1}{\beta}}$$

Función de probabilidad de confiabilidad de vida representada por:

$$C(t) = e^{-(t/\eta)^\beta}$$

Tiempo de confiabilidad de vida, estimado de acuerdo con:

$$t(c) = \eta \cdot [-\ln[S(t)]]^{\frac{1}{\beta}}$$

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Dado que el análisis de estabilidad o supervivencia permite estudiar la variable "tiempo hasta que ocurre un evento", se defi-

nió como evento para este análisis, la pérdida de tres órdenes de las Unidades formadoras de colonia (UFC) como el valor mínimo aceptable del producto, por lo que valores iguales o menores serán considerados como tiempo de fallo o pérdida. En la tabla 1 se presentan los resultados del tiempo de pérdida de supervivencia obtenidos de la cinética de muerte del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 a diferentes niveles de estrés térmico.

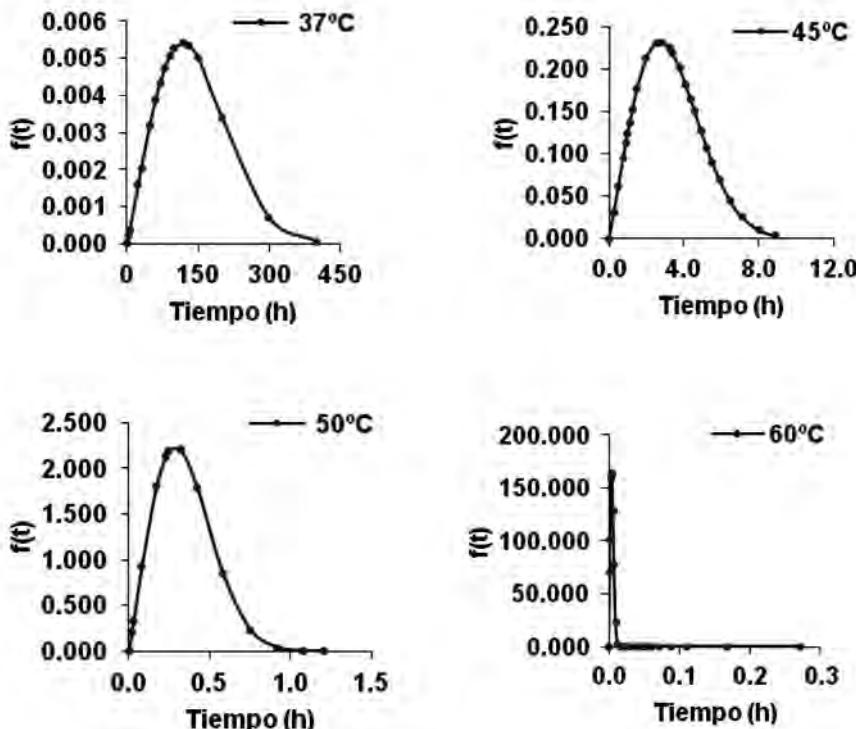
**Tabla 1.** Tiempos de pérdida de supervivencia a diferentes niveles de estrés térmicos

Tiempo (h)	T (°C)	Tiempo (h)	T (°C)	Tiempo (h)	T (°C)
90	37	1,25	45	0,018	60
100	37	1,50	45	0,020	60
120	37	2,00	45	0,022	60
130	37	2,50	45	0,023	60
150	37	0,233	50	0,025	60
200	37	0,750	50	0,033	60
300	37	0,917	50	0,050	60
400	37	1,083	50	0,067	60
1,00	45	2.00	50	0,083	60
1,10	45	2.50	50		

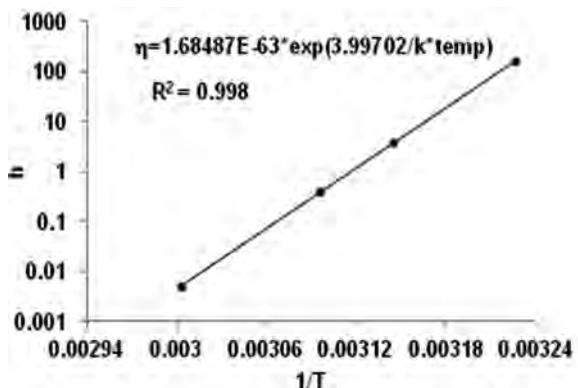
En la figura 1 se muestra el efecto de los valores de  $\beta$  y  $\eta$  en los pdf correspondientes del modelo de Weibull, a cada nivel de estrés. El valor  $\beta$  corresponde al valor promedio a partir del cual se estimaron los valores de  $\eta$ . Como se puede apreciar los pdf muestran una distribución normal correspondiente a un valor de  $\beta > 1$  ( $\beta = 2,07$ ).

Aplicado a la cinética de supervivencia se puede señalar que se produce un incremento de la velocidad de muerte del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 hasta alcanzar un valor del tiempo correspondiente al máximo valor del pdf, la velocidad de muerte disminuye posteriormente. Dado el valor positivo de  $\beta$ , la supervivencia es inversa al estrés. Adicionalmente, por efecto de la temperatura, los valores de  $\eta$  (característica de vida) disminuyen en la medida que aumenta la temperatura como se presenta a continuación: 37 °C ( $\eta$  162,18 horas), 45 °C, ( $\eta$  3,59 horas), 50 °C ( $\eta$  0,405 horas) y 60 °C ( $\eta$  0,0063 horas). Este efecto se refleja en un cambio en la distribución con desplazamiento hacia su comienzo o cero aumentando su altura al incrementarse el estrés.

Con los valores de  $\eta$  obtenidos, se evaluó el modelo de Arrhenius (figura. 2); a partir de la ecuación derivada se estimó el valor  $\eta$  (5143,56 horas) a 30 °C.

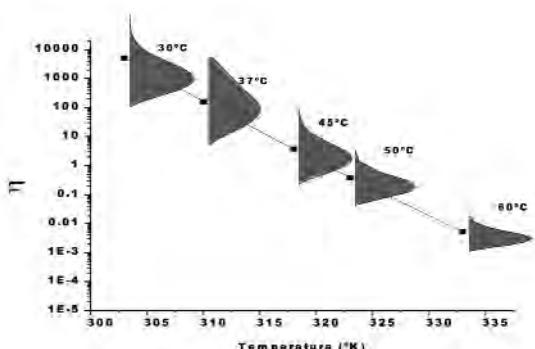


**Figura 1.** Efecto de los parámetros  $\beta$  y  $\eta$  de la distribución de Weibull en la densidad de probabilidad (pdf).



**Figura 2.** Relación gráfica de Arrhenius de los valores de  $\eta$  del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5.

La relación Weibull-Arrhenius se muestra en la figura 3 para los diferentes pdf y valores de característica de vida ( $\eta$ ) del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 a los diferentes niveles de estrés, incluido el valor estimado. Como se puede observar, la pendiente parece ser negativa aunque esta tiene un valor positivo. Esto se debe a que  $\eta$  es ploteada versus a la temperatura y no al inverso de la misma. La energía de activación calculada a la temperatura de 30 °C fue de 82,26 kcal mol<sup>-1</sup>. El valor obtenido de energía de activación se encuentra dentro del rango reportado para células vegetativas (55-100 kcal mol<sup>-1</sup>), comparablemente más alto que para vitaminas o enzimas que están en el entorno de 2-10 kcal mol<sup>-1</sup> (24).

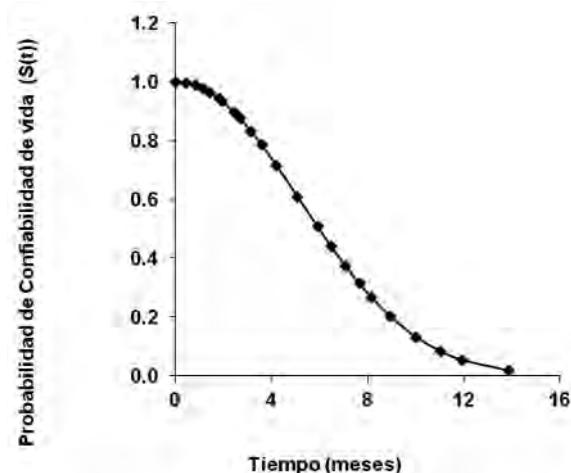


**Figura 3.** Relacion Weibull-Arrhenius.

Se ha señalado (25), que los valores de energía de activación son constantes para un particular estrés o modo de fallo, pero en realidad la energía de activación puede que realmente varíe de un lote de producción a

otro y de una versión del producto a otra, incluso para el mismo producto.

Para predecir la supervivencia del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5 y con ello la vida útil del probiótico PROBICID los parámetros  $\beta$  y  $\eta$  a 30 °C fueron usados para estimar las diferentes variables estadísticas. En la figura 4 se muestra la probabilidad de confiabilidad de vida útil.



**Figura 4.** Probabilidad de confiabilidad de vida, en función del tiempo de almacenamiento a 30 °C.

El tiempo de vida media con un nivel de confiabilidad del 90 % estimado del probiótico PROBICID fue de 2,8 meses sin pérdida de viabilidad del *Lactobacillus plantarum* B-103-1-5. La mediana de supervivencia que representa el centro de la distribución o valor central de vida útil, a partir de la cual se produce la pérdida de más de 3 órdenes del producto, fue de 6 meses.

Para corroborar esta predicción se analizó la estabilidad de vida de estante a 6 lotes de PROBICID, de acuerdo con la metodología desarrollada. De igual forma, se definió la pérdida de tres órdenes de las unidades formadoras de colonia (UFC), como el valor mínimo aceptable del producto. En la tabla 2 se presenta la valoración microbiológica de los lotes.

Como se puede apreciar, no todos los resultados cumplen con esta condición. Por tal razón, se aplicó el análisis de degradación ajustando los datos a una distribución exponencial, a partir de la cual por extrapolación se estimaron los tiempos de pérdida

**Tabla 2.** Nivel de contaminación en función del tiempo de estante de PROBICID a 30 °C

Tiempo (días)	UFC/ml Lote 1	UFC/ml Lote 2	UFC/ml Lote 3	UFC/ml Lote 4	UFC/ml Lote 5	UFC/ml Lote 6
0	8,50E+11	8,6E+10	1,50E+11	2,40E+10	2,64E+12	6,20E+10
15	-	-	-	-	-	4,30E+10
30	7,60E+10	3,60E+10	8,10E+10	1,10E+10	-	1,30E+10
45	-	-	-	-	-	1,00E+09
60	1,00E+09	5,00E+08	-	1,10E+09	7,00E+10	1,60E+06
90	4,50E+08	3,00E+07	2,10E+09	9,20E+08	1,60E+10	2,30E+06
120	-	-	-	-	2,30E+04	-
150	-	-	-	-	2,10E+05	-

**Tabla 3.** Tiempo de pérdida de viabilidad de los diferentes lotes

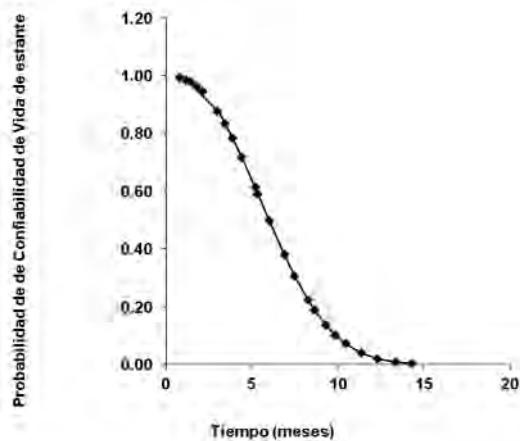
Muestra	UFC/ml	Tiempo de pérdida (días)
Lote 1	6,35E+07	183
Lote 2	4,82E+07	208,3
Lote 3	8,46E+07	321,5
Lote 4	2,22E+07	208,3
Lote 5	3,26E+08	120,0
Lote 6	3,27E+07	166,7

de viabilidad a cada lote. Estos tiempos se muestran en la tabla 3. Estos datos fueron ajustados al modelo estadístico de Weibull empleando el método de máxima probabilidad y estimados los parámetros  $\beta$  (2,38473) y  $\eta$  (5020,2).

La probabilidad de confiabilidad de vida de estante se ilustra en la figura 5. Los valores estimados de vida media y mediana de vida fueron de 2,6 y 6 meses, respectivamente. El resultado obtenido concuerda con los valores predichos de estabilidad del PROBICID utilizando el método de máxima probabilidad.

## CONCLUSIONES

Con el estudio de la estabilidad acelerada y la aplicación de las funciones de probabilidad, se pudo describir el impacto del estrés térmico en la cinética de muerte del *Lactobacillus plantarum* B -103-1-5, principio activo, del producto líquido PROBICID. El método predice que el producto no sufre cambios en la viabilidad del microorganismo

**Figura 5.** Gráfico de probabilidad Weibull para vida de estante a 30 °C.

durante 3 meses con una confiabilidad del 90 % y garantiza que pueda ser utilizado y almacenado a 30 °C hasta 6 meses, a partir de los cuales no es confiable al decrecer la viabilidad por pérdidas en 3 órdenes o más de unidades formadoras de colonias. Estos resultados fueron corroborados por análisis de estabilidad en anaquel.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Perry, F.G. Biotechnology in animal feeds and animal feeding: An overview. New York, 1995. pp.1-15.
2. Fuller, R. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: pp. 365-378, 1989.
3. Tannock, G.W. Identification of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. In: Probiotics: A Critical Review, Wymondham: Horizon Scientific Press, 1999, pp. 45-56.

4. Kaplan, H.; Hutkins, R.W. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl Environm Microbiol* 66 (6): pp. 2682-2684, 2000.
5. Fric, P. Probiotics in gastroenterology. *Zeitschrift fuer gastroenterology* 40 (3): pp. 197-201, 2002.
6. Pujato, D. Los alimentos prebióticos (en línea), 2002 <<http://www.gineconet.con/articulos/1361.htm>> [Consultado 24 jun. 2004].
7. Brizuela, M.A.; Serrano, P.; Pérez, Y. ¿Qué son los probióticos? *Revista ACPA*, (2): pp. 41-43, 1998.
8. Donnet-Hughes, A. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: efective dose. *J Dairy Sci.* 82 (5): pp. 863-869, 1999.
9. De Roos, N.M. and Katan, M.B. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Amer J Clin Nutr* 71: pp. 405-411, 2000.
10. Gionchetti, P.; Amadini, C.; Rizzello, F.; Venturi, A.; Romagnoli, R.; Palmonari, V. Role of probiotics in inflammatory bowel disease and intestinal infections. *Expert Opinion on Therapeutic* 2002.
11. Cagigas, A.L.; Blanco, J. Probióticos y prebióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* (La Habana) 16 (1): pp. 63-68, 2002.
12. Marquina, D; Santos, A. Probióticos, prebióticos y salud. *Revista Actualidad* 32: pp. 24-27, 2003.
13. Rial, R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr* 130: pp. 3965-4025, 2000.
14. Berg, R.D. Probiotics, prebiotics or "conbiotics." *Trends Microbiol* 6: pp. 89-92, 1998.
15. Reuter, G. Probiotics: Possibilities and limitations of their application in food, animal feed, and in pharmaceutical preparations for men and animals, *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 114: pp. 410-419, 2001.
16. Brizuela, M.A. y Serrano, P. Beneficio del empleo de las bacterias ácido lácticas como "Probióticos" en la nutrición animal. *Memorias del Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados de la Caña de Azúcar Diversificación 2002* (La Habana) pp. 18-20, 2002.
17. Brizuela, María A. Selección de cepas de bacterias ácido lácticas para la obtención de un preparado con propiedades probióticas y su evaluación en cerdos. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias, ICID-CA (La Habana), 2003.
18. ReliaSoft Corporation Accelerated Life Testing Reference, ReliaSoft Publishing, 1998.
19. Cunhan, L.M.; Oliveira, F.A.R.; Oliveira, J.C. Optimal experimental design for estimating the kinetic parameters of processes described by the Weibull probability distribution function. *J Food Eng* 37: pp. 175-191. 1998.
20. Fernández, A.; Salmerón, C.; Fernández, P.S.; Martínez, A., Application of a frequency distribution model to describe the thermal inactivation of two strain of *Bacillus cereus*. *Food Sci Technol* 10: pp. 158-162, 1999.
21. Peleg, M.; Cole, M.B. Reinterpretation of microbial survival curves. *Crit Rev Food Sci* 38: pp. 353-380, 1998.
22. Peleg, M.; Cole, M.B. Estimating the survival of *Clostridium botulinum* spores during heat treatment. *J Food Protection* 63: pp. 190-195, 2000.
23. Mafart, P.; Couvert, O.; Gaillard, S.; Leguerinel, I. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of Weilbull frequency distribution model. *Int J Food Microbiol* 72: pp. 107-113, 2002.
24. Shuichi, Aiba. *Biochemical engineering*, 2 ed. New York: Academic Press, 1973.
25. Wayne, N. *Accelerated Testing: Statistical Models, Test Plans, and Data Analyses*, John Wiley & Sons, 1990.

# Integración del diseño del sistema de control automático al diseño total de una planta para obtención de alimento animal a partir de residuos de la industria azucarera

Amaury Pérez-Martínez\*, Isnel Benítez-Cortés, Hilda Oquendo-Ferrer,  
María Caridad Julián-Ricardo, Pablo Galindo-Llanes

Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Camagüey  
"Ignacio Agramonte Loynaz". Camagüey. Cuba.

\*amaury.perez@reduc.edu.cu

## RESUMEN

*Se desarrolla una propuesta metodológica para integrar el diseño de un sistema de control automático dentro de las tareas del diseño de planta. La misma se fundamenta con un estudio de caso de obtención de un producto de consumo animal (Bagamés), el cual se obtiene por vía biotecnológica a partir de residuos de la industria azucarera. Se discuten los elementos claves para diseñar el sistema de control automático y su inserción en la propuesta metodológica. El diseño incide en la disminución del costo total de inversión y aseguramiento de una alta eficiencia y calidad del producto. Al seguir los pasos de la metodología, es posible seleccionar aquella más factible desde el punto de vista técnico-económico, que sea compatible con el medio ambiente y segura.*

**Palabras clave:** diseño de plantas, sistema de control automático, alimento animal.

## ABSTRACT

*It develops a methodology for integrating the design of an automatic control system in the plant design tasks. It is grounded with a case study for obtaining a consumer product animal (Bagamés), which is obtained through biotechnology waste from the sugar industry. We discuss the key elements to design automatic control system and its integration into the proposed methodology. The design affects the lower total cost of investment and ensuring high efficiency and product quality. By following the steps in the methodology that can be selected more feasible from a technical, economic, that is compatible with the environment and safer.*

**Keywords:** plant design, automatic control system, feed.

## INTRODUCCIÓN

La perspectiva industrial sobre la necesidad de integrar el control automático al diseño de plantas no es una idea nueva, sino que fue sugerida desde la década de 1980 (1) y continua siendo un área de desarrollo (2). El logro eficiente de estos objetivos ha dependido del orden de prioridad que se le ha asignado a cada una de las tareas involucradas en el diseño. Generalmente, el diseño de plantas y su sistema de control automático se han realizado de manera secuencial, como procesos independientes. Inicialmente, se determina la estructura del diagrama de flujo, las condiciones de operación en estado estacionario que se requieren, y así alcanzar los objetivos de producción y el cálculo de los parámetros físicos de la planta (tamaño de las unidades del proceso) (3). Con tales parámetros es posible, entonces, optimizar un índice económico, como por ejemplo: minimizar el costo anual de mantenimiento, maximizar los beneficios o ganancias y minimizar el costo de construcción, entre otros.

Para el diseño de plantas químicas en Cuba, se han propuesto diferentes enfoques metodológicos (4). Sin embargo, estos no consideran el diseño del control automático del proceso. El hecho de no considerarlo como una parte integral en las etapas de diseño (diseño integrado) genera como consecuencia que los objetivos asociados a la calidad deban alcanzarse ante la presencia de grandes perturbaciones, de fallos de los equipos, variaciones de carga, entre otros (3). Este artículo se centra en un proceder metodológico propuesto en Cuba para la selección de alternativas factibles en los ámbitos técnicos, económicos y medioambientales y que emplea en su fundamentación un estudio de caso basado en la tecnología de obtención del Bagamés (4). El Bagamés es un producto diseñado para el consumo animal y se obtiene de residuos de la industria azucarera como la cachaza, el bagazo y la miel (5), donde el bagazo constituye el soporte sólido, la miel final el sustento y la cachaza permite el balance de sólidos y cumplir los requisitos nutricionales del microorganismo. Los experimentos llevados a cabo previamente (5) permitieron simular y optimizar un conjunto de variables que inciden en la obtención de Bagamés con

altos valores de proteína verdadera, y por tanto, mayor valor nutricional (5). Sin embargo, en las modificaciones realizadas con posterioridad al diseño de dicha planta, no se tuvo en cuenta el control automático. La automatización es factible lograrla debido a que se conocen los parámetros del proceso (temperatura, tiempo y flujo de aire específico) que inciden en los niveles óptimos de calidad del producto (proteína verdadera). Por estas razones, se propone desarrollar un procedimiento para el diseño de control automático integrado al diseño de plantas. Esto permitirá que, desde el diseño de plantas, se garantice un entorno seguro, compatible con el medio ambiente, aumente la calidad deseada del producto y la eficiencia de la planta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una modificación a la propuesta metodológica para el diseño de una planta (procedimiento base) (4), al añadir un grupo de acciones en el diseño de control automático de procesos. Estas acciones fueron:

1. Diseño de la estructura de control o diseño del sistema de control de procesos (9-12). Esta etapa consistió en: la selección de las variables controladas, de las variables manipuladas, de los instrumentos de medición, de la configuración del lazo de control, y del tipo de controlador.
2. Diseño o selección del controlador. Se realizó en dependencia de la función de transferencia (FT) que se dedujo a partir del balance de masa y energía de la etapa analizada y en correspondencia a cada una de las tecnologías.

Toda la propuesta metodológica se fundamentó a partir de un estudio de caso de la tecnología para la producción de Bagamés (5).

Se consideraron dos alternativas tecnológicas para el diseño de una de las unidades de la planta llamada de "enriquecimiento proteico". La principal diferencia entre ambas alternativas es el tipo de reactor biológico utilizado. La tecnología continua (T.C) emplea un tambor rotatorio y la semicontinua (T.S.C) utiliza un reactor de lecho fijo.

Se empleó como estrategia el diseño de control por retroalimentación (6). Con el objetivo de articular la nueva propuesta al procedimiento base, se identificaron los requisitos necesarios para desarrollar dicho método: el diagrama de flujo correspondiente a cada alternativa tecnológica (5), las variables a controlar, definidas como aquellas que se deben mantener o controlar dentro de algún valor deseado (6), y las variables a manipular, que son aquellas que se utilizan para mantener a la variable controlada en el punto de fijación (punto de control o de régimen) (6).

Por último, se analizó la influencia del sistema de control diseñado sobre los indicadores económicos, para lo cual se siguieron los pasos planteados en el procedimiento base. El análisis del proceso se efectuó para una capacidad de la planta de Bagamés de 100 t/d.

## RESULTADOS

### Procedimiento para el diseño del control automático de procesos integrados al diseño de planta

Se propone una secuencia de acciones para el control de procesos, la cual se muestra en la figura 1. Este módulo se integra con el procedimiento base, en un momento posterior a las tareas relacionadas con la disponibilidad de equipamiento y antes de la estimación económica. Así, los resultados del diseño de control automático están dentro de los análisis económicos previstos en el procedimiento base. A continuación se describen sus pasos.

Paso 1: El propósito de este paso es definir el objetivo del control automático del proceso y clasificarlo en función de las necesidades de la tecnología: suprimir la influencia de perturbaciones externas, asegurar la estabilidad del proceso químico, optimizar el desempeño de este. Posteriormente, se seleccionan las variables controladas, donde juega un papel importante la experiencia, así como la incertidumbre de las variables que reúnan las siguientes propiedades: a) su valor óptimo no debe ser sensible a las perturbaciones, b) debe ser fácil controlarla con precisión, c) su valor tiene que

ser sensible a cambios en las variables manipuladas. Luego, se debe seleccionar la variable (manipulada), que permita mantener la variable controlada en el valor deseado.

Paso 2: Se debe seleccionar una estrategia de control acorde con el equipamiento que caracteriza la tecnología de la planta y también con las variables controladas.

Paso 3: El objetivo de este paso es diseñar el lazo de control y así obtener los parámetros de diseño del mismo. Deben tenerse en cuenta las características de la estrategia de control seleccionada en el paso previo. También se requiere de los balances de masa y energía para obtener la FT. La búsqueda de la FT se recomienda cuando el objetivo del control debe ser riguroso. Por ejemplo, en situaciones en las que se prevé pueda existir rotura del equipo, escape de gases nocivos, daño al medio ambiente y grandes afectaciones al producto o peligro de explosión. No obstante, en caso de que sea necesaria la búsqueda de la FT se pasa a seleccionar el controlador más adecuado para el lazo de control. Se selecciona el controlador de tipo proporcional integral derivativo (PID), el cual se ajusta en función de la FT, de forma práctica.

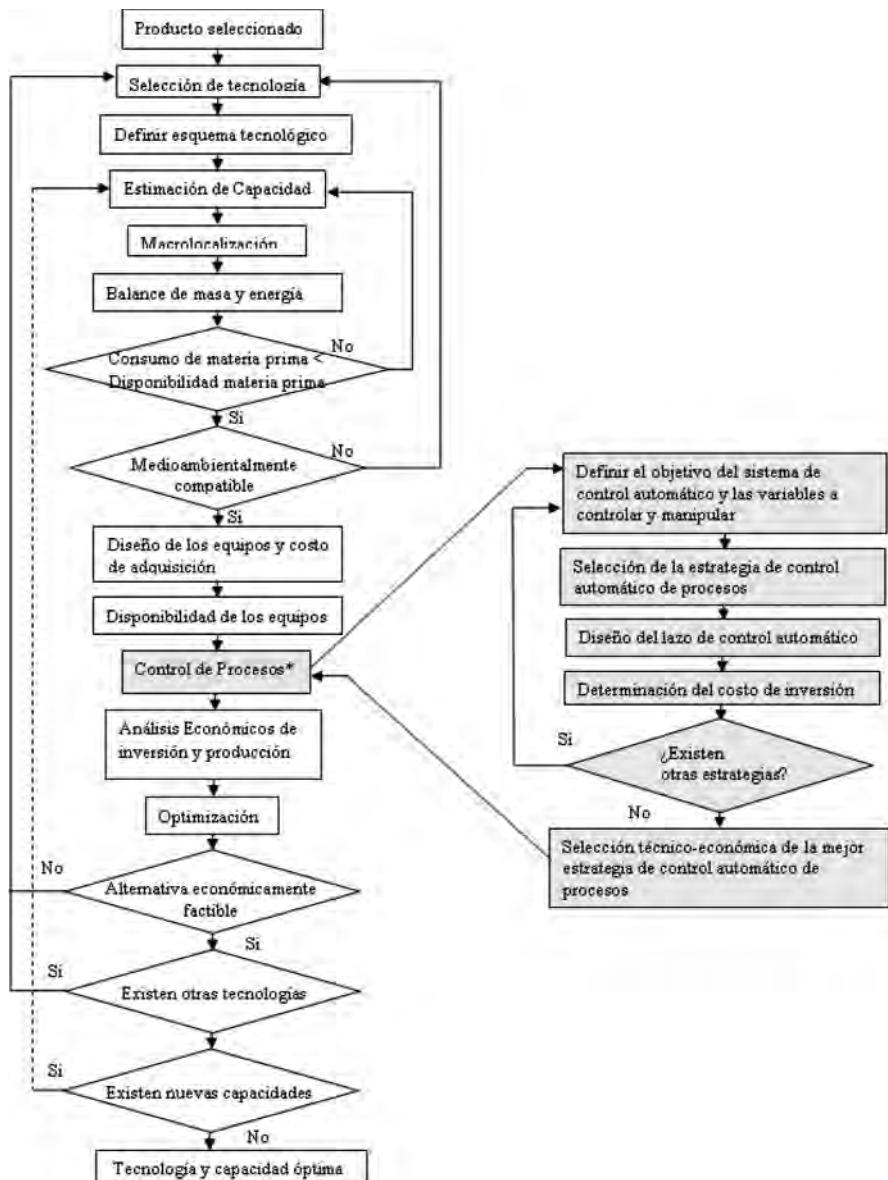
Paso 4: El objetivo es determinar el costo de adquisición e inversión del equipamiento de control seleccionado, a partir de la metodología propuesta por Peters y Timmerhaus (1991) (7) y que forma parte de cada uno de los lazos de control diseñados. Se requiere analizar la factibilidad técnica-económica de estos lazos.

Paso 5: El propósito es analizar otras estrategias de control de procesos aplicadas a la tecnología que se diseña.

Paso 6. Una vez establecidos los criterios comparativos en el paso cuatro se recomienda seleccionar la mejor alternativa de control en función de los intereses del decisor. Se deben comparar, desde el punto de vista técnico y económico, todos los sistemas de control automático propuestos.

### Diseño del control automático para la planta productora de Bagamés: estudio de caso

La tecnología para la producción del Bagamés en su propuesta inicial, analiza el



**Figura 1.** Propuesta del nuevo procedimiento para el diseño del control de procesos.

proceso de enriquecimiento proteico en dos variantes en función del biorreactor (5). Esto da lugar a dos alternativas tecnológicas: tecnología semicontinua (TSC) y tecnología continua (TC). Posteriormente, al aplicarle el procedimiento base se determinó la TC con una capacidad de la planta de 100 t/d, como aquella más viable desde el punto de vista técnico, medioambiental y económico (4). A continuación, se muestran los resultados del diseño al aplicar el módulo de control que se propone.

#### *Definición del objetivo del sistema de control*

El objetivo del sistema de control en las dos tecnologías es el mismo y se define como: "mantener estable el valor de la temperatura en todo el volumen del biorreactor, de forma que se alcancen los valores óptimos promedios de proteína verdadera". Esta tecnología requiere de un control automático enfocado a optimizar el desempeño de los procesos químicos que se generan en la planta de enriquecimiento proteico.

### **Selección de la variable a controlar y la manipulada**

Para ambas tecnologías la variable a controlar es la temperatura y la variable manipulada es el flujo aire específico húmedo a temperatura ambiente. La variable manipulada se regula a partir de la variación de la frecuencia del motor del soplador.

Los valores que se requieren de estas dos variables difieren en ambas tecnologías, debido a las diferencias entre los dos tipos de biorreactores. Estos valores se identificaron a partir de la simulación llevada a cabo por Julián (2008) para la obtención de la cantidad de biomasa con un alto contenido de PV (5) y se muestran en la tabla 1.

### **Selección de la estrategia de control, diseño del lazo de control y equipamiento de control**

Se seleccionó la estrategia de control por retroalimentación debido a que: tiende a corregir cualquier alteración de la variable controlada, es de fácil construcción y es la más barata en el mercado (6).

En la figura 2 se muestra el lazo de control diseñado y acoplado al diagrama de flujo correspondiente a la etapa de enriquecimiento proteico. Sus características técnicas y económicas se muestran en la tabla 2. Como se observa, dentro del equipamiento de control se requiere un sensor-transmisor de temperatura para medir y así controlar la temperatura en el interior del reactor.

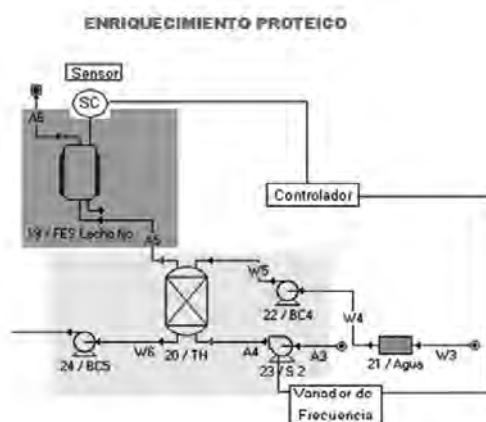
El sensor seleccionado es una termorresistencia PT 100, ya que permite medir la temperatura en el rango necesario (0-70 °C). Por su parte, el controlador PLC se escoge porque cumple con los requisitos que requiere la estrategia de control seleccionada. Tiene entre sus ventajas que permite la conexión directa de una termoresistencia, lo que evita gastos por tener que invertir en un trasmisor. En el caso del controlador PLC, también sigue la política de sustitución de importaciones que Cuba está llevando a cabo. Se cuenta por tanto con dos alternativas de equipamiento de control factibles téc-

nicamente: alternativa 1 (sensor-controlador-variador) y alternativa 2 ( sensor-controlador-variador). Se selecciona la alternativa 1, porque sus características técnicas cumplen con los requisitos del motor del soplador (1,1 kW) y garantiza el flujo de aire húmedo específico requerida por cada tecnología (tabla 2).

## *Factibilidad técnica y económica de la estrategia de control diseñada*

En la tabla 3 se muestra el costo de adquisición para cada uno de los equipos de control (alternativa 1). El sensor constituye el equipo donde se generan las diferencias, lo cual se debe al número de unidades que requieren ambas tecnologías. El diseño de control automático que se propone para la tecnología continua es el mejor por presentar un menor costo de adquisición total (\$ 2 161,87).

El costo total de inversión del sistema de control toma en consideración, no solo el costo del equipamiento, sino también lo previsto en cuanto a accesorios, instalación y ajuste y puesta en marcha (14). A partir de este análisis, la TC tiene un menor costo de inversión, requiriéndose invertir \$7 934,06 y en el caso de la T.S.C. \$13 585,97.



**Figura 2.** Diagrama de flujo de la sección del proceso con la propuesta de control.

**Tabla 1.** Rango de valores (5)

Alternativa tecnológica	Tipo de biorreactor	Rango de temperatura a controlar	Valores de flujo específico de aire a manipular
TC	Tambor rotatorio	35 – 38 °C	2 L/(kg min)
TSC	Lecho de lecho fijo	32 – 34 °C	0,5 L/(kg min)

**Tabla 2.** Características técnico-económicas del equipamiento de control comercializado en Cuba

Alternativa	Equipo	Fabricante	Descripción técnica	Precio (\$)*
1 y 2	Sensor	Burdon Sedeme	Termorresistencia PT 100	154,00
1 y 2	Controlador PLC	SIEMENS	CPU CP22 14ED/10SD	603,03
1	Variador	Schneider	ATV31,1.1KW 240V KIT	317,42
2	Variador	Schneider	ATV31,2.2KW 240V KIT	461,58

\*Precio de venta según CEDAI (Empresa de Automatización Integral)

**Tabla 3.** Costo de adquisición del equipamiento de control para las alternativas tecnológicas diseñadas

Equipo	TSC		TC	
	Unidad	Costo (\$)	Unidad	Costo (\$)
Sensor	16	2 464,00	6	924,00
Controlador PLC	1	603,03	1	603,03
Variador (ATV31,1.1kV 240 V Kit)	2	634,84	2	634,84
Total	19	3 701,90	9	2 161,87

### Análisis económico de la planta diseñada

Posterior al diseño del control automático del proceso (paso 12) y aplicando el procedimiento base, se debe realizar un análisis económico de inversión y producción de la planta. Debe señalarse que, para los efectos del artículo, se han analizado en paralelo las dos tecnologías. Sin embargo, metodológicamente, se plantea un análisis por separado. Este cálculo se realizó considerando el costo de inversión realizado en el acápite 2.3. Como resultado, puede observarse en la tabla 4 que para la TC este costo es de \$ 11 901 744,06 y para la TSC es de \$ 15 568 567,61. Estos resultados difieren de los cálculos realizados en un diseño anterior de la planta, en el que no se consideró el diseño de control automático (4) e indican que el diseño de la planta, considerando la TC con el sistema de control automático, sigue siendo la mejor alternativa desde el punto de vista técnico, económico y medioambiental.

Específicamente, el análisis económico basado en los indicadores dinámicos VAN y TIR para diez años (tiempo de vida útil de la planta) (4), consideraron dos precios de venta inferiores o similares a los productos de importación (200 \$/t y 250 \$/t). En la tabla 4 puede observarse que ambas tecnologías, para estos precios de venta, tienen un valor del VAN positivo y una TIR adecuada. De igual manera, el período de recuperación al descontado (PRD) de la inversión muestra valores conformes según la tendencia actual de recuperación de las inversiones.

La tecnología y la capacidad seleccionadas se consideran óptimas no solo desde el punto de vista económico, sino también viables desde el punto de vista técnico y compatibles con el medio ambiente. Esto se debe a que la tecnología que metodológicamente es examinada en este paso, ya ha sido analizada según criterios medioambientales (de consumo y de vertimiento) y optimizada según diferentes criterios técnicos (8, 9), en varias etapas de la propuesta metodológica (pasos 5 y 10).

**Tabla 4.** Estimación del costo inversión para las alternativas tecnológicas con el diseño de control automático y sin el diseño.

No.	Componentes	Costo (\$) para la TSC		Costo (\$) para la TC	
		Alternativa 1*	Alternativa 1a**	Alternativa 2*	Alternativa 2a**
1	Equipamiento	7 478 356,57	7 478 356,57	5 718 200,00	5 718 200,00
2	Instalación	2 393 074,10	2 393 074,10	1 829 800,00	1 829 800,00
3	Instrumentación	897 402,78	13 585,97	686 180,00	7 934,06
Costo total		16 452 384,50	15 568 567,61	12 990,00	11 901 744,06
Indicadores dinámicos económicos					
		Precio de venta 200 \$/t		Precio de venta 250 \$/t	
VAN10 (\$)		\$6 914 233,92	7 519 810,65	15 139 780,77	15 745 357,50
TIR10 (%)		25,34	27,16	39,21	41,62
PRD10 (años)		4	- 4	3	- 3

\*Alternativas que no consideran el diseño del control (4); a\*\*Alternativas que consideran el costo de inversión real del sistema de control automático para la TSC y TC.

## DISCUSION

### El diseño del control automático integrado al diseño de plantas

Durante su operación, una planta química debe satisfacer varios requerimientos impuestos por el diseño y por condiciones técnicas, económicas y sociales en presencia de influencias externas (perturbaciones). Estos requerimientos dictan la necesidad de un monitoreo continuo de la operación de una planta química y la intervención externa (control) para garantizar la satisfacción de los objetivos operacionales (10).

El procedimiento que aquí se propone para el diseño del control automático, se concibe dentro del diseño de planta, por lo que constituye un diseño integrado. Este surge como una necesidad para que la tarea de diseño en general se realice de forma óptima. Las consecuencias de no seguir la metodología tradicional de diseño evitan la obtención de diseños del proceso que no alcanzan las especificaciones establecidas, lo que conlleva a realizar costosas modificaciones posteriores para obtener un control adecuado (11). El hecho de que las características de controlabilidad se hayan considerado previamente en las etapas de diseño, permite fijar especificaciones dinámicas del sistema que facilitará la operación y flexibilidad de las mismas, que pue-

den ser gobernadas por un sistema de control automático (1). Otro rasgo distintivo de esta propuesta, es que toma en consideración la factibilidad, tanto técnica como económica, de la estrategia de controlabilidad que se propone sobre la base del costo de inversión del equipamiento involucrado en el lazo de control. Lo anterior, permite que el sistema de acciones aquí propuesto, se pueda integrar al procedimiento base. Esto se debe a que el costo de inversión del equipamiento de control influye en el indicador económico VAN y consecuentemente en la toma de decisiones que este sugiere.

### Aplicación del procedimiento. Estudio de caso

Las variables a controlar y la manipulada juegan un importante papel en el diseño del sistema de control, independientemente de la estrategia de control seleccionada (12). Se puede decir que el objetivo de un sistema automático de control de procesos es ajustar las variables manipulables para mantener las variables controladas en el valor del punto de ajuste (*set point*), sin importar el efecto de las perturbaciones (13). La selección de dichas variables, a partir de lo propuesto en este procedimiento, puede basarse en la experiencia, como también puede hacerse a partir de los requisitos planteados (14) y apoyarse en la expe-

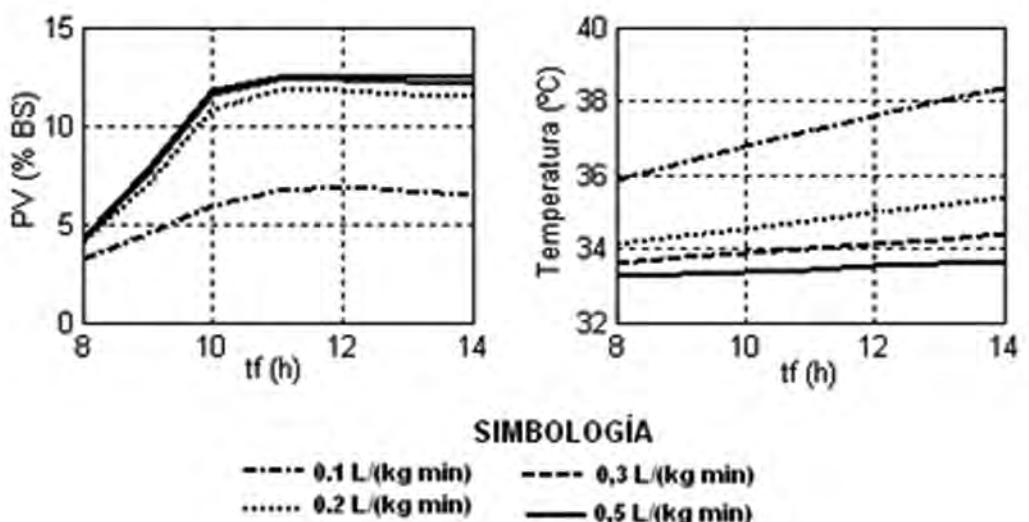
rientación a pequeña escala, como el caso de estudio aquí analizado. La simulación llevada a cabo mostró que para alcanzar el rango de temperatura a controlar en el biorreactor de lecho fijo, se requiere un tiempo de residencia que oscila entre 8 y 14 h para diferentes valores de flujo específico de aire. Como puede observarse en la figura 3, los mejores valores promedios de proteína verdadera (PV) se logran con un flujo de 0,5 L/(kg min), un tiempo posterior a las 10 h y en un intervalo de temperatura entre 32 y 34 °C. En ambas tecnologías se hace pasar el aire por una torre de humidificación para que a la salida contenga un 95 % de humedad. En el caso del biorreactor tambor rotatorio, la temperatura debe mantenerse en un rango de 35 y 38 °C y el aire específico con un flujo de 2 L/(kg min) con una humedad del 95 %. Estos valores se pueden observar en la figura 4.

Los reactores son sensibles a las varia-

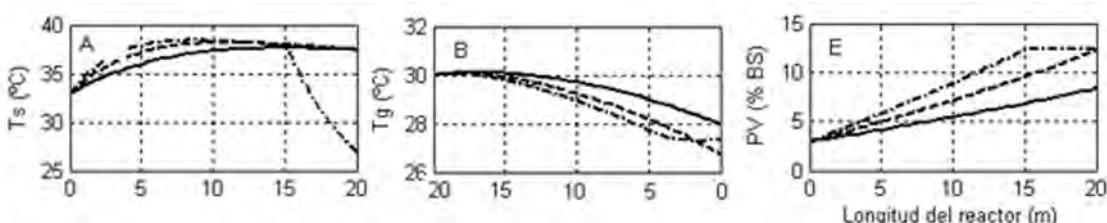
ciones del flujo específico de aire en el intervalo investigado. Se destaca que el flujo de aire ejerce un control significativo sobre la temperatura del sólido. Este resultado es similar con el obtenido en un sistema como este pero semicontinuo (15), donde se predice un comportamiento favorable de la temperatura del sistema, que implica mejores resultados en cuanto al crecimiento de la biomasa, a medida que se incrementa la velocidad del aire, si este tiene humedad relativa por encima de 90 %.

### Análisis de las alternativas

En Cuba, los residuos de la industria azucarera se han utilizado comúnmente de forma natural o procesada en la alimentación animal. Se han obtenido diferentes productos enriquecidos proteicamente por fermentación en estado sólido (FES), pero las tecnologías empleadas en su producción presentan limitaciones que han impedido su comercializa-



**Figura 3.** Sensibilidad del sistema ante las variaciones de tiempo de residencia y flujo específico de aire para la T.S.C adaptado (5).



**Figura 4.** Influencia del tiempo de residencia para el biorreactor continuo tambor rotatorio: 6 h (-), 10 h (--) y 14 h (-.-), con un flujo específico de aire de 2 L/(kg min). Flujos a contracorriente adaptados (5).

ción. Durante el diseño de plantas para determinar el valor de la inversión, se estima el valor de la instrumentación y control a partir de un porcentaje del costo de adquisición del equipamiento. Es conveniente calcularlo, para que sea lo más real y exacto posible. En el estudio de caso presentado, se disminuye considerablemente esta partida y, por consiguiente, el costo total de la inversión.

Como se ha planteado, la TC es la alternativa tecnológica más factible desde el punto de vista económico, se necesitan invertir \$12 579 990,00. Sin embargo, al diseñar y calcular de forma real esta partida, se reduce el costo de inversión en un 5,39 %. Esto se debe a que los cálculos realizados en trabajos previos (7) asumieron un 50 % del rango destinado al costo de adquisición del equipamiento de control (4). Al realizarse el diseño del sistema de control se mejoró la precisión, ya que fue posible tener en cuenta el costo de adquisición de cada uno de los equipos.

Como se comentó anteriormente, el procedimiento planteado en este artículo se integra con el procedimiento base, por lo que los pasos siguientes al módulo de control permiten identificar la mejor alternativa desde el punto de vista técnico, económico y medioambiental. Al agregar el módulo de control automático, la planta puede considerarse segura, capaz de optimizar el desempeño de los procesos químicos que se generan en la planta de enriquecimiento proteico. El PRD de la TSC (4 años) es ligeramente superior a la TC (3 años). Esto puede deberse a que la inversión es alta y los precios son bajos. En la toma de decisiones, para este estudio de caso, debe tenerse en cuenta que es un producto de alto valor proteico (5) que utiliza residuos agroindustriales y que tiene gran demanda en el territorio. La existencia de equipamiento disponible permite que se pueda reutilizar y asimilar la tecnología a un menor costo de inversión, la existencia de materias primas locales que estabilizarían el suministro y disminuirían las importaciones. Todo esto disminuye los costos de producción y garantiza la seguridad alimentaria sin depender de productos importados.

Se demuestra que el diseño de control automático de procesos disminuye el costo total de inversión y asegura una alta eficiencia y calidad del producto (16).

## CONCLUSIONES

El control automático que requiere un proceso puede integrarse con las tareas del diseño de una planta química, a través del procedimiento aquí planteado. El diseño de la controlabilidad del proceso siguiendo los seis pasos del procedimiento, permite disponer del costo de inversión real, lo cual incide en la toma de decisión final. Este diseño corrobora lo planteado sobre su influencia en la disminución del costo total de inversión y aseguramiento de una alta eficiencia y calidad del producto. Las alternativas tecnológicas que se diseñen pueden ser comparadas y así tener elementos para seleccionar aquella que presente mejores indicadores técnico-económicos y que garantice la compatibilidad con el medio ambiente y la seguridad de la planta.

En el caso específico de la planta de Bagamés, la tecnología continúa con el sistema de control automático del proceso y se presenta como la mejor alternativa desde el punto de vista técnico, económico y medioambiental. También es una planta segura, ya que el diseño de su sistema de control se enfocó a optimizar el desempeño de los procesos químicos que se generan en la planta de enriquecimiento proteico.

## REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS

1. Perkins, J. R.; Kumar P. R. Stable distributed real-time scheduling of flexible manufacture/assambly/disassambly system. IEEE Trasnations on Automatic Control AC-34: pp.139-48, 1989.
2. Grosch, R.; Mönnigmann M.; Marquardt; W. Integrated design and control for robust performance: Application to an MSMPR crystallizer. Journal of Process Control 18: pp. 173-188., 2008.
3. Gutiérrez, G. Diseño Integrado y Síntesis de Procesos aplicado al Proceso de Fangos Activados. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid, 2000.
4. Pérez, A.; Cervantes E.; Julian M. C.; González, E.; Gómez, A.; Oquendo, H.; et al. Procedimiento para enfrentar tareas de diseño de procesos de la industria azucarera y sus derivados. Revista Mexicana de Ingeniería Química 12(2): pp. 333-349, 2012.

5. Julián, M. C. Diseño tecnológico de una planta para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar. Tesis para la obtención del Grado Científico de Doctor en Ciencias Técnicas. Universidad de Camagüey, 2008.
6. Corripio, A. Control automático de procesos. 1ra. edición. México: Editorial Limusa, SA de CV, 1991.
7. Peters, S.; Timmerhaus, K. Plant Design and Economics for Chemical Engineers. . 5ta ed. Singapore: McGraw-Hill Chemical Engineering Series, 1991.
8. Halima, I.; Carvalhob, A.; Srinivasana, R.; Matosb, H.A.; Gani, R. A combined heuristic and indicator-based methodology for design of sustainable chemical process plants. Computers and Chemical Engineering 35: pp. 1343-58, 2011.
9. Pérez, A.; González, E.; Oquendo, H.; Galindo, P. Criterios para la toma de decisiones en los procesos inversionistas. Revista Centro Azúcar. 2011(3):7-13, 2011.
10. Corripio, A. Desingn and Aplication of Process Control Systems. United States of America: Instrument Society of America, 1998.
11. Sheffield, R. Integrated Process and Control SystemDesign. Chem Eng Progress: pp. 30-35, 1992.
12. Moriari, M. Integrated plant control: A solution at hand or a research topic for the next decade? CPC-II1982. pp. 467-495.
13. Larsson, T., Skogestad S. Plantwide control-A review and a new design procedure. Modeling, Identification and Control 21(4):209-40, 2000.
14. Larsson, T.; Govatsmark, M.S.; Skogestad, S.; Yu, C.C. Control structure selection for reactor, separator and recycle processes. Industrial and Engineering Chemistry Research 42: pp. 1225-1234, 2003.
15. Mitchell, D. The potential for establishment of axial temperature profiles during SSF in rotating drum bioreactors. Biotechnology and Bioengineering 80(1)2002.
16. Dimian, A.C.; Sorin, C. Chemical Process Design. Computer-Aided case study. Weinheim, Germany: Wiley VCH, 2008.

## La trehalosa. Parte III. Un oligosacárido asociado a la resistencia de la caña luego del corte

Eduardo Lorenzo Ramos-Suárez<sup>1</sup>, Susana Ravelo-Bravo<sup>1</sup>, Yusnel Cutiño-Tejeda<sup>2</sup>

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)  
Vía Blanca 804 y Carretera Central, La Habana, Cuba  
2. ETICA Güiro Marrero, Pablo Noriega, Quivicán, Mayabeque, Cuba  
lorenzoe27@yahoo.com

### **RESUMEN**

*Durante los estudios realizados para determinar la capacidad de formación de oligosacáridos, de un total de 92 variedades de caña, se pudo demostrar que entre las 14 más propensas a formar oligosacáridos, nueve eran capaces de formar la trehalosa, un oligosacárido asociado a la resistencia de la gramínea entre el corte y el retoño. Se estudia la capacidad de las enzimas de la caña para transformar diversos azúcares, la mayoría normalmente presentes en sus jugos, en el oligosacárido trehalosa, azúcar que le puede ofrecer a la caña la protección necesaria luego del corte. Con este propósito, se ha usado el soporte cromatográfico HYDROMAG, el que permite el aislamiento y la determinación de los oligosacáridos presentes en los jugos de caña sin la interferencia de la sacarosa y los monosacáridos. Los resultados de estos estudios permiten proponer la incorporación como criterio de selección de variedades, su capacidad de producir trehalosa, de manera de elegir las más resistentes luego del corte.*

**Palabras clave:** trehalosa, caña, variedades, HYDROMAG, AIS.

### **ABSTRACT**

*During this research work, carry out with the propose of find out the formation of oligosaccharides in 92 cane varieties, it was possible to demonstrate that 14 of them have an unusual capacity to form this sugars, even more it was assessed that 9 of them were able to form the oligosaccharide trehalose, that is to say an especial one, that is able to improve the cane resistance during the period between the cutting and the sprouting. In this work the capacity of sugarcane enzymes for transforming the different sugars present in its juices in trehalose is studied. With this purpose the chromatographic media known as HYDROMAG has been used, media that allow the isolation and determination of the oligosaccharides present in cane juices without any interference of sucrose or any monosaccharide present in juices.*

*The result obtained allowed propose the cane juices trehalose concentration level as a sugarcane variety selection criteria that allow select those ones more resistant after cutting.*

**Keywords:** trehalose, cane, varieties, HYDROMAG, SAS.

## INTRODUCCIÓN

Las transformaciones de la caña después del corte han resultado ser uno de los factores que tradicionalmente han conspirado contra la producción eficiente de azúcar. Esta problemática incluso se agudizó con la incorporación de nuevas variedades de caña (1). Generalmente, se ha aceptado que los microorganismos constituyen uno de los factores dominantes que determinan las pérdidas de sacarosa y formación de impurezas, especialmente las dextranas, las que de una u otra forma hacen menos eficiente la fábrica de azúcar (2). Se informan fenómenos indeseables como: el aumento de la viscosidad de los productos intermedios y finales de la fábrica, la reducción de la velocidad de cristalización de la sacarosa, la disminución de la capacidad de la fábrica, la producción de azúcares crudos más coloreados y graves deformaciones en el hábito de los cristales (3, 4).

No obstante, un estudio más detallado del peso de los procesos enzimáticos que ocurren en la caña luego del corte ha demostrado, por otra parte, que en sus jugos actúan enzimas (transferasas) con capacidad de formar diversos oligosacáridos a partir de la sacarosa (5), o de hidrolizarla (hidrolasas) y, además, polimerasas capaces de convertir a los monosacáridos en polímeros parecidos a las dextranas. Estudios recientes muestran que los azúcares formados por estas enzimas, en especial los llamados AIS (Azúcares -de bajo peso molecular- que impurifican la Sacarosa), son capaces de alterar la morfología del cristal de sacarosa, para dar lugar a la aparición del conocido "cristal aguja". Entre los azúcares detectados se hallaron la D-xilosa, la lactosacarosa, la rafinosa y la 1-kestosa. Se demostró que los dos primeros azúcares son los mayormente responsables de la deformación de los cristales de azúcar en las fábricas de nuestro país (4, 5).

Según recientes investigaciones, la velocidad de formación de AIS, luego del corte de una variedad dada de caña, o la Velocidad de Autodegradación de la Caña (VAC), a través de la conversión por su sistema enzimático de la sacarosa, presente en sus jugos en otros azúcares o AIS, es proporcional a su concentración inicial en sus jugos, AIS<sub>0</sub>, en el momento del corte ( $VAC = 0,8 \text{ AIS}_0 + 1$ ). Se halló que la concentración de AIS<sub>0</sub> debe

estar normalmente por debajo de 1 % Bx y resultan "peligrosas" las variedades que posean valores superiores a este índice. Esta afirmación se basa en la alta velocidad de conversión de la sacarosa en AIS que se produciría durante el período entre el corte y la molida de observarse valores superiores de AIS en los jugos de caña en el momento del corte, y también por la influencia negativa de los azúcares que se forman en la caña sobre el proceso de fabricación de azúcar.

No obstante, no solo el nivel de AIS debe determinar la selección o no de una variedad para la producción de azúcar. Es necesario, además, tener en cuenta qué azúcares se forman, dado que se ha determinado que la D-Xilosa y la lactosacarosa resultan especialmente perjudiciales para el proceso de producción de azúcar.

En la primera parte de estos estudios se pudo demostrar que la trehalosa es uno de los oligosacáridos que se acumula luego del corte de la caña (6, 7, 8). En una segunda parte se pudo determinar que la trehalosa se formaba en 6 variedades de un total de 11 estudiadas (6,7). En general, hoy se sabe que entre las 14 variedades más autodegradables detectadas entre las 92 estudiadas, 9 forman trehalosa. No obstante, al estudiarse la influencia de los oligosacáridos de la caña sobre el hábito del cristal de sacarosa, se observó que el componente aislado (con volumen de elusión correspondiente a la trehalosa) no alteraba prácticamente el hábito del cristal de sacarosa (6, 7). En el presente trabajo se muestran los azúcares hallados en los jugos de las variedades más propensas a autodegradarse.

Como se conoce, la trehalosa es el único azúcar capaz de proteger las biomoléculas del estrés ambiental. Este disacárido está ampliamente distribuido en la naturaleza y es estable, inodoro y no-reductor. La trehalosa ha demostrado ser un estabilizador de enzimas, proteínas, biommasas, preparaciones farmacéuticas y órganos para el trasplante. La trehalosa se ha aprobado como un aditivo alimenticio en Europa y los Estados Unidos (9).

La presencia de la trehalosa en la caña y su formación entre el corte y el retoño de la planta puede asociarse, en primera aproximación, a mecanismos de defensa de la planta. En este trabajo se estudia la capacidad del sistema enzimático de la caña de

transformar diversos sustratos, presentes en sus jugos, en trehalosa.

## MATERIALES Y METODOS

Los experimentos se realizaron usando cañas frescas de varias variedades que mostraban una alta tendencia a autodegradarse luego del corte (10). Las cañas se cortaron manualmente en los campos aledaños al central "Fajardo", Mayabeque, Cuba, las que se desfibraron y prensaron inmediatamente.

La separación cromatográfica de los azúcares se realizó usando una columna de hidroxiapatita esférica con un tamaño de partícula de 50-60 micras (11, 12). El material disperso en alcohol al 85 % se empleó en la preparación de una columna semi-preparativa de 2,5 x 12 cm, con una capacidad máxima de 30 mg de oligosacáridos.

Para determinar la concentración de oligosacáridos en las muestras se empleó la columna anterior, siguiendo la metodología ya reportada (12). La separación y cuantificación de los oligosacáridos presentes en los jugos se realizó empleando un gradiente alcohólico lineal de: de 90 a 30 % en un volumen total de 500 cm<sup>3</sup>, usando una velocidad de flujo de 4 cm<sup>3</sup>/min. En todos los casos, se empleó el método colorimétrico que usa la mezcla antrona-sulfúrico para la detección y estimación de la concentración de los oligosacáridos.

En los ensayos para valorar la capacidad del sistema enzimático de la caña para transformar los azúcares (los monosacáridos y la propia sacarosa), en la mezcla de oligosacárido que se observa en sus jugos luego del corte, se utilizaron columnas de varias dimensiones (25 x 2,5 cm., 45 x 5 cm.) rellenas con bagazo, las que fueron tratadas convenientemente para que retuvieran las enzimas. A través de las columnas se pasaron, con la ayuda de una bomba peristáltica en ciclo cerrado y por diferentes períodos de tiempo (1 a 6 días), siropes de diferentes azúcares (sacarosa, maltosa, glucosa) a pH que se fijaron entre 4 y 7, y a temperatura que oscilaron entre 40 y 70 °C.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La trehalosa,  $\alpha$ -D-glucopiranosil  $\alpha$ -D-glucopiranósido, es un oligosacárido no redu-

tor constituido por dos unidades de glucosa unidas por un enlace:  $\alpha$  (1→1). Es particularmente estable al calentamiento y al medio ácido. Se ha aislado en más de 80 especies, que incluyen plantas, algas, hongos, levaduras, bacteria, insectos, y otros invertebrados. La trehalosa se sintetiza en un proceso de dos etapas por las enzimas trehalosa 6-fosfato sintasa, TPS, y trehalosa 6-fosfato fosfatasa, TPP, y es degradada por la trehalasa.

En la actualidad, aún no se entiende a cabalidad el proceso de regulación de la acumulación de sacarosa en los organismos. No obstante, se ha implicado en el proceso de regulación del flujo de carbono en bacterias, hongos y recientemente en las plantas, a varios componentes del metabolismo de la trehalosa. En general, se han propuesto distintas funciones de la presencia de trehalosa: como fuente de carbono, como agente protector del estrés (por ejemplo sequías, salinidad del suelo y estrés oxidativo), y como una molécula señal o reguladora del metabolismo y el crecimiento de la planta.

De igual forma, también a su derivado fosfatado en posición 6 se le atribuyen propiedades reguladoras de la distribución del carbono. Aunque no parece estar vinculada directamente la trehalosa a la acumulación de sacarosa, pueden estar asociados el 6-fosfato de trehalosa o las enzimas del metabolismo de esta.

Recientemente, en cinco variedades de caña de azúcar se han hallado niveles de trehalosa en los entrenudos que varían entre 10<sup>4</sup>-10<sup>3</sup> mg/gramo de materia fresca, niveles de concentración que no permiten considerar a la trehalosa como fuente de carbono o como un agente protector del estrés (8).

Se ha tratado de incrementar el contenido de trehalosa en varias plantas como son el arroz y la caña de azúcar. Por ejemplo, en el arroz trangénico (logrado expresando genes de fusión de *E. coli*, TPS y TPP) se acumula trehalosa hasta 1 mg/g de su peso fresco. En la caña se ha logrado, recientemente, introducir el gen de la *Grifola frondosa* trehalosa sintasa; la planta transgénica acumula hasta 8,805-12,863 mg/g de peso fresco (7-10 % de los sólidos en el jugo), lo cual es notable si se compara con las cantidades prácticamente indetectables en la caña no trangénica. La caña trangénica obtenida mostró alta resistencia a la sequía, sin alterar sus índices fisiológicos. No obstante, se desconoce la

razón del aumento de tolerancia de estas líneas trangénicas en las que se logra una mayor presencia del disacárido.

Por otra parte, hoy conocemos que la caña luego del corte aumenta su capacidad de formación de diversos oligosacáridos. Se puede expresar esta tendencia por el nivel de oligosacáridos en sus jugos, (AIS<sub>o</sub>), en el momento de su madurez o corte. Normalmente el nivel de AIS<sub>o</sub> en las variedades de caña oscila alrededor de 1 % p/p de los sólidos en el jugo, valores mayores (que pueden alcanzar el 10 % de los sólidos) indican una tendencia especial de la variedad de caña a "autodegradarse" o a formar diferentes oligosacáridos a partir de la sacarosa (hasta un 20 % de los sólidos). Estos azúcares, en general, resultan perjudiciales (10, 13) para el proceso de fabricación de azúcar. No obstante, al estudiarse la influencia de los oligosacáridos de la caña sobre el hábito del cristal de sacarosa se observó que el componente aislado (con volumen de

elusión correspondiente a la trehalosa) no alteraba prácticamente el hábito del cristal de sacarosa (6, 7).

La posibilidad de que la caña forme trehalosa luego del corte en cantidades apreciables, como un mecanismo de respuesta al estrés durante la etapa de siembra y retoño, resulta atractivo tanto desde el punto de vista fisiológico como industrial. En el segundo caso, incorporaría un constituyente interesante en las mezclas de oligosacáridos producidos a partir de la caña, dadas las propiedades que este azúcar agrega a los alimentos. La trehalosa al ingerirse se hidroliza a glucosa adsorbiéndose en el intestino delgado. Este azúcar protege y preserva las estructuras de las células en los alimentos y ayuda en el proceso de congelación y masticado de muchos productos alimenticios, ya que asiste en el mantenimiento de la textura deseada en ellos. Es también estable al calor y no participa en la reacción Maillard.

**Tabla 1.** Composición de los AIS<sub>o</sub> de 14 variedades de caña que resultaron formadoras de oligosacáridos, entre las 92 estudiadas

VARIEDAD		Trehalosa (**) 160 cm <sup>3</sup>	Isómero de la kestosa (**) 366 cm <sup>3</sup> "P"	Xilosa 140 cm <sup>3</sup>	Isómero de la kestosa 180 cm <sup>3</sup> "P"	Rafinosa 240 cm <sup>3</sup> "P"	1- kestosa 280 cm <sup>3</sup> "P"	Lacto- sacarosa 376 cm <sup>3</sup> "P"
1	J 60-5	1,12	-	1,12	-	0,88	1,74	1,74
2	C86-12	0,89	-	0,98	-	0,56	0,64	0,98
3	C1616-75 757777575	-	1,42	-	-	-	1,56	1,72
4	C636-70	1,30	-	0,65	-	-	1,52	1,24
5	TY-8628	-	1,92	0,92	-	-	0,98	1,98
6	C227-59	1,42	-	1,20	-	-	1,32	1,42
7	J64-11	1,49	-	1,30	0,65	-	1,72	1,72
8	C128-83		1,36	1,36	-	-	1,30	1,20
9	C132-81	-	-	-	1,60	1,10	1,40	0,24
10	C88-523	1,12	-	1,20	-	-	1,40	1,48
11	C90-317	-	-	-	1,30	1,70	1,40	1,62
12	C88-381	0,92	-	-	-	0,62	0,70	-
13	C89-147	1,02	-	0,52	-	0,80	-	0,62
14	C89-148	0,58	-	0,68	-	1,1	0,72	0,62

(\*) Absorbancia máxima obtenida para cada componente al separar unos 20 mg de los AIS de cada variedad de caña con HYDROMAG, usando un gradiente lineal de un 90 a un 40 % de alcohol en un volumen total de 500 cm<sup>3</sup>. Las 11 primeras variedades son cañas planta de 11-12 meses de edad, se seleccionaron entre un total de 76 estudiadas de un semillero. Las últimas 3 variedades, son 1er retoño de 12 meses, que se detectaron entre 16 seleccionadas de otro semillero. Todas fueron sembradas en terrenos ferralíticos del sur de La Habana.

(\*\*) La separación de la trehalosa y uno de los dos restantes isómeros de las kestosas (salen juntos en el gradiente 90 a 40 % entre 86-92 cm<sup>3</sup>) se realizó en una columna similar, usando un segundo gradiente de 90 a 70 % de alcohol en un volumen total de 500 cm<sup>3</sup>.

Aunque la trehalosa aparece en muy bajas concentraciones, en los jugos de la caña de azúcar, la formación de oligosacáridos que se observa en la caña después del corte y durante la extracción industrial de los jugos indica que se debe esperar un incremento de la concentración de este disacárido (5,9). La presencia de la trehalosa entre los oligosacáridos que forman la caña luego del corte, aumenta el espectro de propiedades como edulcorante de la mezcla de estos azúcares, por lo que puede resultar aún más atractiva para la industria alimentaria.

En la tabla 1 se observan los diferentes azúcares que aparecen en los jugos de cañas con notable tendencia a autodegradarse luego del corte. Entre ellos, la trehalosa y dos azúcares (xilosa y lactosacarosa) asociados notoriamente con la aparición de los cristales sacarosa alargados, conocidos como aguja, durante la producción de azúcar. En la tabla se señalan, además, con una "P" los azúcares que son prebióticos, es decir, que mejoran la salud del hombre.

La aparición de estos azúcares después del corte de la caña y en especial la trehalosa invita a explorar las posibilidades que brindan las enzimas de la caña para transformar los azúcares presentes en sus jugos en este valioso disacárido.

Para ello se utilizaron dos columnas llenas con bagazo de dimensiones distintas, que poseían camisetas para controlar la temperatura por circulación de agua.

En la tabla 2 se aprecia la cinética de formación del oligosacárido al pasar un sirope de sacarosa al 50 % a una temperatura de 40 °C y pH 4,5 por dos columnas de bagazo, una que retenía las enzimas de la variedad Ba 77-418 y la otra de la CP 52-43. Es evidente que la máxima formación de oligosacáridos en ambos casos se logra a las 96 horas.

En la tabla 3 se constata la formación del oligosacárido que se logra a diferentes temperaturas al pasar por una columna de bagazo un sirope de sacarosa a pH 4,5 durante 96 h, tiempo y pH que coincide con los obtenidos en corridas anteriores. Como se aprecia, a temperaturas alrededor de 40 °C se logran las mayores formaciones de oligosacáridos.

En la tabla 4, en similares condiciones, se pasan por una columna de 2,5 x 25 cm. siropes de sacarosa o glucosa ambos al 50 %.

**Tabla 2.** Cinética de formación del oligosacárido en dos variedades

Tiempo horas	BA 77-418	CP 52-43
	Oligosacáridos % Bx	
0	1	1
24	2,08	1,53
48	3,05	2,71
72	3,96	4,10
96	4,77	5,28
120	3,80	2,59

Columna de bagazo (2,5 x 25 cm.), sirope de sacarosa 50 %, tratamiento a 40 °C, pH 4,5. Se reporta el aumento relativo de la concentración de oligosacárido con relación al contenido inicial en el sirope que eluye de la columna.

**Tabla 3.** Efecto de la temperatura en la formación de oligosacáridos a partir de sacarosa

Temperatura °C	70	50	40	Ambiente
Formación relativa a 40 °C	0,69	0,97	1,0	0,95

Columna de bagazo (5x 45 cm), sacarosa al 50 %, 96 h de tratamiento a pH 4,5

**Tabla 4.** Formación relativa de azúcares a partir de glucosa y sacarosa

Azúcar formado:	Glucosa / sacarosa
Trehalosa	1,34
Xylosa	0,77
Rafinosa	0,57
1-kestosa	0,38
Lactosacarosa	1,0

Columna de bagazo (2,5 x 25 cm.), 96 h de tratamiento a siropes de glucosa o sacarosa a 50 ° Bx, 40 °C y pH 4,5

Como se puede apreciar, se forma mayor porcentaje de trehalosa al utilizar glucosa y menor o igual concentración de los otros azúcares. Este resultado evidencia que el suministro de glucosa favorece la formación de trehalosa, disacárido constituido por dos moléculas glucosidas: α-D-glucopiranósido, α-D-glucopiranósido. Incluso el uso de un disacárido reductor formado por glucosa, como es la maltosa, se pudo apreciar que no eleva

la formación del disacárido por encima de lo observado usando glucosa. Puede observarse la tabla 5.

**Tabla 5.** Cinética de formación de trehalosa

Tiempo (horas)	Glucosa	Maltosa
	Trehalosa % Bx	
0	1,0	1,0
24	3,1	3,2
48	6,1	4,3
72	8,64	4,8
96	13,3	5,33
<b>120</b>	<b>18,6</b>	<b>6,1</b>
144	13,7	3,2

Columna de bagazo (2,5 x 25 cm), sirope de glucosa o maltosa al 50 % tratamiento a 40 °C, pH 4,5.

**Tabla 6.** Cinética de formación de trehalosa

Tiempo, h	Veces que aumenta el contenido de trehalosa
<b>0</b>	<b>1,0</b>
<b>24</b>	<b>4,4</b>
<b>48</b>	<b>5,9</b>
<b>72</b>	<b>7,9</b>
<b>96</b>	<b>9,1</b>
<b>120</b>	<b>11,6</b>
<b>144</b>	<b>10,3</b>

Columna de bagazo (2,5 x 25 cm.), sirope de glucosa y maltosa al 50 %, (36 g de maltosa y 18 de glucosa en 54 cm<sup>3</sup> del buffer), tratamiento a 40 °C, pH 4,5

En la tabla 6 se emplea un sirope formado por una mezcla de glucosa y maltosa. En este caso se observó un ligero incremento de la formación de trehalosa.

Como se aprecia en las tablas 5 y 6, a diferencia de la sacarosa, al pasar por la columna siropes de glucosa y maltosa individualmente o como mezcla 1:1 el máximo rendimiento de trehalosa se logra a las 120 horas y no a las 96.

En general, los resultados presentados en este trabajo indican que las enzimas presentes en la caña poseen la capacidad de

transformar la sacarosa, la glucosa y otros azúcares en trehalosa, en condiciones similares a las que pueden darse entre el corte y el retoño de la caña, período donde la presencia de la trehalosa en sus jugos le confieren una mayor resistencia. Las condiciones experimentales utilizadas en este trabajo imitan o reproducen las que pueden darse luego del corte y permiten simular las transformaciones de los componentes de sus jugos durante ese período, en las variedades que poseen la capacidad de formar trehalosa.

Es recomendable, según estos estudios, la selección de variedades capaces de acumular trehalosa como vía de garantizar una mayor resistencia de la caña después del corte.

## CONCLUSIONES

1. La caña de azúcar puede formar cantidades apreciables de trehalosa entre el corte y el retoño. Esto se evidencia al observarse la formación de este disacárido al poner en contacto las enzimas de la caña con diversos azúcares normalmente presentes en sus jugos. Por esta vía la caña puede hacerse más resistente al estrés al que normalmente se somete, entre el momento del corte y el retoño.
2. La capacidad de formación de trehalosa en la caña debe incorporarse como un criterio de selección de las variedades más resistentes al estrés entre el corte y el retoño.
3. El empleo de las enzimas de la caña ofrece una vía prometedora para diversificar la producción de edulcorantes en la industria azucarera cañera.
4. Las variedades de cañas propensas a formar varios oligosacáridos si bien no deben emplearse para la fabricación de azúcar (sacarosa) deben ser consideradas como variedades de interés para el desarrollo y diversificación de la industria azucarera cañera.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ravelo, S.; Ramos, E.L.; Mejías, R. Sugar cane deterioration and its implication in the factory. Int. Sugar J. (93): pp.82-86, 1991

2. Ravelo, S.; Ramos, E.L.; Torres, B.M. Origin of oligo and polysaccharides in cane juices and their effect on sugar mill efficiency. In: Proc of the XXI ISSCT Congress, Bangkok, Thailand, 1992.
3. Ravelo, S. La calidad del azúcar crudo y los azúcares que impurifican la sacarosa en los jugos de caña. CubaAzúcar 32 (2): pp. 39-41, 2003.
4. Ramos, E. L. La D-Xilosa, un monosacárido relacionado con las deformaciones morfológicas del cristal de sacarosa CubaAzúcar 31:pp. 16-18, 2002.
5. Ramos, E. L. Los oligosacáridos y la eficiencia agroindustrial azucarera Parte I-IV CubaAzúcar 39 (1-4): 38-41, 62-64, 52-55, 58-62. Parte V, 30 (1): 12-15. Parte VI, 30 (2): 16-19. Parte VII, 32 (3): 31-34, 2000-2003.
6. Ramos, E. L.; Ravelo, S. La trehalosa. Parte I. Su presencia en la caña de azúcar. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar 43 (2), 2009.
7. Ramos, E. L.; Ravelo, S.; Gutiérrez, S. Los oligosacáridos y la eficiencia agroindustrial azucarera. Parte VI. Los oligosacáridos y la morfología del cristal de sacarosa. CubaAzúcar 30 (2): pp. 16-19, 2001.
8. Schiraldi, C.; Di Lernia, I.; De Rosa, M. Trehalose production: exploiting novel approaches. Trends Biotechnol 20 (10): pp. 420-425, 2002.
9. Ramos, E. L., Ravelo, S., Pino, S. La auto-degradación de la caña de azúcar un factor a considerar en la selección de variedades." Parte I y II, CD de las Memorias 49 Congreso ATAC, 2006.
10. Ravelo, S.; Ramos, E.L. HYDROMAG, un soporte cromatográfico diseñado para la separación de monosacáridos y oligosacáridos. ATAC, 66 (2): pp. 20-24, 2005.
11. Ravelo, S.; Ramos, E.L. An analytical procedure for the oligosaccharide determination in sugarcane products. XXII ISSCT Congress, Cartagena de Indias, Colombia, 1995.
12. Bosch, S. Trehalose and carbon partitioning in sugarcane. Thesis presented for the PhD degree (Plant Biotechnology) at the University of Stellenbosch, 2005.
13. Higashiyama, T. Novel functions and applications of trehalose Pure Appl. Chem., 74 (7): pp. 1263-1269, 2002.