

MONITOREO DE LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA EN LOS JUGOS DE MOLINOS, UTILIZANDO LA PRUEBA DE RESAZURINA



Noviembre, 2012

Parola Rivera; José Carlos Méndez
Ingenio Magdalena, Guatemala

Se implementó la prueba de resazurina para determinar la actividad microbiológica en los jugos de molinos y determinar si ocurre un incremento en la actividad microbiológica en los tándem de molinos, A través de esta metodología analítica se determina un coeficiente microbiológico (CM), el cual está en función del tiempo en que se decolora el medio cultivo de resazurina.

A través de análisis de los resultados del CM del jugo del primer molino y el jugo mezclado, se determinó que no existe un incremento de la actividad microbiológica en los tándem de molinos y la caña mecanizada causa incremento en la actividad microbiológica del jugo extraído.

Monitoreo de la Actividad Microbiológica en los Jugos de Molinos, Utilizando la Prueba de Resazurina

1. IDENTIFICACION DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION

Implementar una metodología analítica con la que sea posible realizar un muestreo representativo para cuantificar la actividad microbiológica en los jugos extraídos en molinos, para determinar si existe un incremento de la actividad microbiológica que pueda causar pérdidas de sacarosa.

2. FORMULACION DE HIPOTESIS

Hipótesis nula: Existe un incremento de la actividad microbiológica en los jugos extraídos en los tandems de molinos.

Hipótesis alternativa: No existe un incremento de la actividad microbiológica en los jugos extraídos en los tandems de molinos.

3. OBJETIVOS

3.1 General

- Evaluar si existe un incremento de la actividad microbiológica en los tandems de molinos.

3.2 Específicos

- Medir los cambios en la actividad microbiológica entre el jugo primario y jugo mezclado para evaluar el impacto de la actividad microbiológica de la caña que ingresa al molino e implementar acciones orientadas a la reducción de actividad microbiológica en el tandem.

- Analizar factores a los que se les puede atribuir cambios en la actividad microbiológica en el tandem.

4. INTRODUCCION

La caña de azúcar que ingresa a la fábrica contiene microorganismos (bacterias, levaduras y hongos) provenientes del campo, generalmente el jugo de primera extracción tiene la mayor carga microbiana procedente de la caña que ingresa al tandem. Durante la extracción del jugo en el primer molino y la extracción de jugo en molinos posteriores, a pesar de que transcurre un corto periodo de tiempo, puede ocurrir un incremento en la población microbiana.

El jugo de caña extraído en molinos es un medio favorable para el crecimiento microbiológico debido a las características fisicoquímicas del jugo (nutrientes, actividad de agua, pH, etc) y a las condiciones de temperatura en esta etapa del proceso. El agua de imbibición, puntos de retención de jugo, recirculación, acumulaciones de bagazo en las masas y ductos, etc, también pueden contribuir al incremento de la actividad microbiológica en el tandem de molinos.

Debido a su actividad metabólica los microorganismos degradan la sacarosa para formar glucosa y fructosa, lo cual puede incrementar las pérdidas en el proceso si no se toman acciones para controlar la actividad microbiológica en los jugos. Con una adecuada limpieza y desinfección en los molinos la carga microbiológica

inicial se controla, evitando incremento en la actividad microbiológica del jugo mezclado. En caso contrario, si la limpieza y desinfección no es adecuada, la actividad microbiológica del jugo mezclado incrementa.

Comúnmente se utilizan como indicadores indirectos de la acción microbiológica los azúcares reductores, glucobrix, acidez, pH, caída de pureza y dextranas, con la limitación de que las variaciones en estos parámetros no pueden ser atribuidos únicamente a la actividad microbiológica.

La actividad microbiológica en los jugos se puede determinar indirectamente utilizando un medio de cultivo líquido llamado resazurina, este es un indicador de oxidación-reducción y de pH que vira entre 3,8 (anaranjado) a 6,5 (púrpura), ver Figura 1 en Anexo, la ventaja de esta prueba es que el tiempo en que se obtienen resultados permite tomar acciones operativas oportunas. Esta metodología es ampliamente utilizada en la industria láctea para determinar la calidad microbiológica de la leche y puede ser utilizada de la misma forma para el análisis microbiológico de jugos de caña. La prueba consiste en poner en contacto el indicador de resazurina con el jugo que se desea analizar y medir el tiempo en que la solución se decolora, con este tiempo se calcula un coeficiente microbiológico ($CM = 5/\text{tiempo de decoloración}$), mientras más alto es el valor de CM mayor es la actividad microbiológica en el jugo analizado.

El incremento del CM en el jugo mezclado respecto al CM del jugo extraído por el primer molino indica que ha ocurrido un crecimiento microbiológico en el tándem. De

acuerdo al valor del CM se clasifica como bueno, alerta, malo o crítico (ver anexo).

5. METODOLOGIA

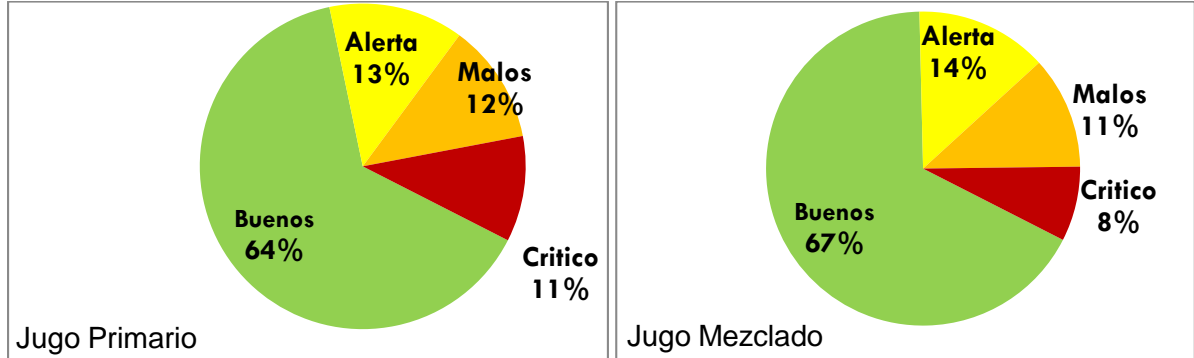
Debido a la simplicidad de la prueba de resazurina fue posible establecer una frecuencia de muestreo de 20 minutos para cada tándem, obteniendo resultados representativos que permitan tomar acciones oportunas para prevenir la descomposición de la sacarosa debido al incremento en la actividad microbiológica en el tándem.

Se tomaron muestras en el tanque de jugo del primer molino y en el tanque de jugo mezclado, en los tres tándem de molinos, para determinar si existe incremento en la actividad microbiológica del jugo en base al porcentaje de muestras con un CM clasificado como malo y crítico (ver anexo), si el porcentaje de muestras con CM malo y crítico es mayor en el jugo mezclado que en el jugo del primer molino, significa que existe un incremento de la actividad microbiológica en el tándem y se deben tomar acciones para que esto no ocurra.

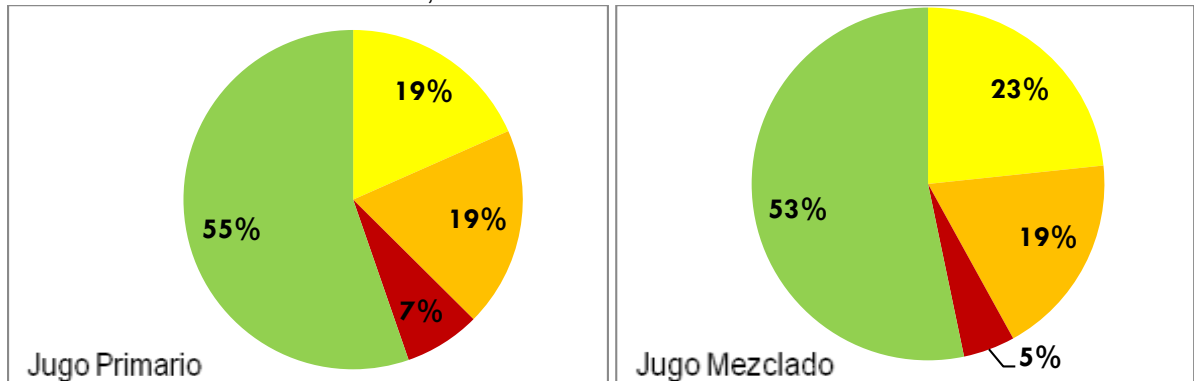
6. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan los resultados de CM de muestras de jugo primario y mezclado en los tres tándem de molinos durante las zafra 11-12 y 12-13.

Grafica No. 1 Resultados de CM, zafra 11-12



Grafica No. 2 Resultados de CM, zafra 12-13

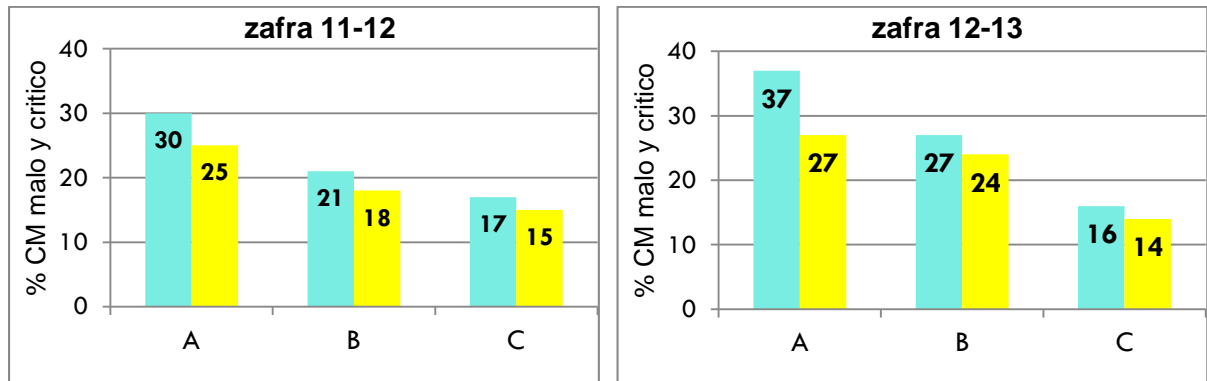


En la zafra 12-13 disminuyeron las muestras con CM clasificado como bueno, lo cual puede ser indicador de una mayor actividad microbiológica de la caña que ingresó al ingenio comparado con la zafra 11-12.

Con los resultados de CM obtenidos al realizar las pruebas de resazurina en muestras de jugo del primer molino y muestras de jugo mezclado, se determinó el porcentaje de muestras con CM clasificado como malo y crítico respecto al total de muestras analizadas.

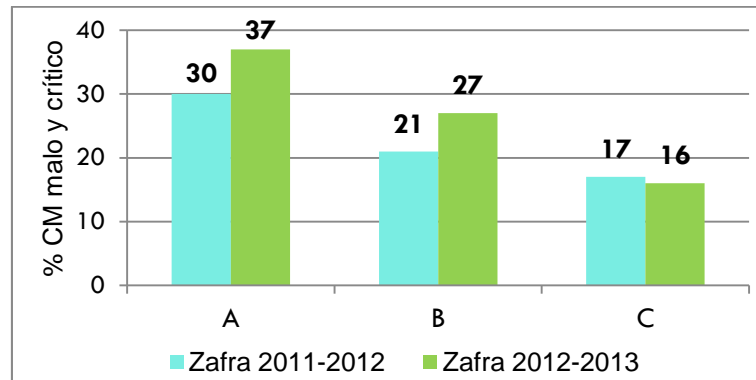
Para determinar si ocurre un incremento de la actividad microbiológica en el tándem, se compara el porcentaje de CM clasificado como malo y crítico en jugo del primer molino con el porcentaje de CM clasificado como malo y crítico en el jugo mezclado, la Grafica No. 3 muestra que en los tres tándem de molinos disminuye el porcentaje de CM clasificado como malo y crítico en el jugo mezclado respecto al jugo del primer molino, esto ocurre tanto en la zafra 11-12 como en la zafra 12-13. Con los resultados obtenidos es posible concluir que la actividad microbiológica en el tándem de molinos está determinada por la población microbiológica en el jugo del primer molino proveniente de la caña que ingresa a cada tándem, lo cual indica que las actividades de limpieza y desinfección son efectivas.

Grafica No. 3 Porcentajes de CM de Jugo Primario y Jugo Mezclado por Tándem



Al analizar comparativamente el comportamiento de la actividad microbiológica en cada tándem (ver gráfica No. 4) se observa que el porcentaje de muestras con un CM clasificado como malo y crítico es significativamente mayor en el tándem A respecto a los otros dos tándem, en las dos zafras analizadas, este comportamiento en el jugo del primer molino puede estar influenciado por la actividad microbiológica de la caña o algún incremento en la preparación de caña.

Grafica No. 4 Porcentajes de CM en el Jugo Primario por Tándem

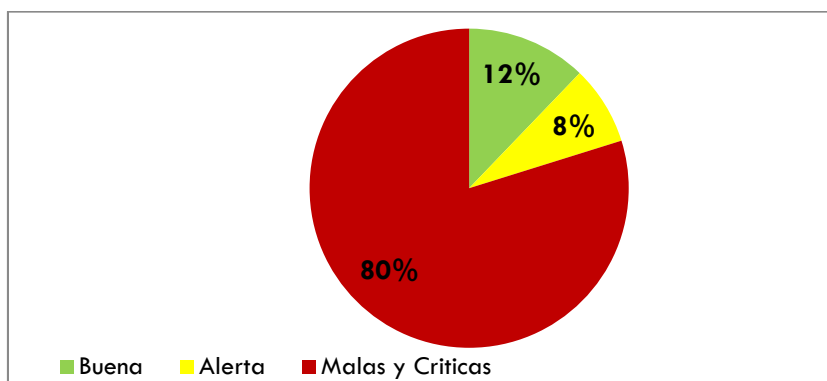


No se tiene definido ningún criterio de origen o calidad para el ingreso de la caña que se encuentra en patio a algún tándem específico, únicamente se tiene definido que por razones operativas la caña mecanizada ingresa prioritariamente al tándem A mientras que la caña barrida que se retorna al proceso ingresa al tándem B. Al evaluar posibles causas que podrían originar variaciones en la actividad microbiológica en la caña que ingresa a cada tándem se analizó la posibilidad de que la caña mecanizada tenga mayor actividad microbiológica, el aporte de la caña mecanizada respecto al total de caña molida es del 6.34%.

Para determinar si existe alguna relación entre el incremento de la actividad microbiológica y la caña mecanizada, se empezó a registrar cuales muestras de jugo tenían como origen este tipo de caña para analizar el comportamiento de su actividad microbiológica, 80% de los jugos analizados de caña mecanizada tienen un CM clasificado como malo. Comparando con un 23-26% de muestras con CM clasificado como malo para todas las muestras de jugo, sin importar si se trata de caña larga o mecanizada, se concluye que la actividad microbiológica de la caña mecanizada es significativamente mayor a la actividad

microbiológica de la caña larga, factor que puede incidir en que el tándem A tenga una mayor actividad microbiológica respecto a los otros dos tándem.

Grafica No. 5 Resultados de CM en Caña Mecanizada



7. CONCLUSIONES

- La actividad microbiológica en los tándem de molinos está determinada por la población microbiológica en el jugo del primer molino proveniente de la caña que ingresa a cada tándem.
- La caña mecanizada tiene una actividad microbiológica significativamente mayor que la caña larga.
- La caña mecanizada que ingresa al tándem A es la causa de una mayor actividad microbiológica respecto a los otros dos tándem.

8. RECOMENDACIONES

- Mantener el programa de control microbiológico en los tres tándem, como medida de control para la evitar incrementos en la actividad microbiológica.
- Analizar otras posibles causas de incremento en la actividad microbiológica en el tándem de molinos.
- Evaluar los procedimientos de limpieza y desinfección en los

tándem, para definir medidas con las cuales se pueda reducir la actividad microbiológica de la caña que ingresa al tándem.

- Evaluar un sistema de dosificación de bactericidas en base a un monitoreo de la reducción de coeficientes microbiológicos (CM) en el jugo mezclado.

9. BIBLIOGRAFIA

- **Blanco Otto.** Implementación del test de resazurina como prueba rápida para estimar el número de microorganismos presentes en el jugo de caña, Universidad de San Carlos de Guatemala. Trabajo de graduación, Octubre 1995
- **Núñez Osbel.** Control microbiológico en caña y tándem, resultados preliminares. Artículo, Universidad del Valle de Guatemala, 2007.
- **Rein Peter.** Ingeniería de la caña de azúcar. Editorial Bartens, Berlín 2012

- **Serrano Laura Serrano Galvis.** Determinación de las poblaciones microbianas en el proceso de extracción de jugo de caña de azúcar en Ingenio Manuelita. Trabajo de Investigación Universidad Javeriana, Bogotá D.C. Colombia 2006.
- **Zemanate Avirama David Alejandro, Grass Ramirez Jose Fernando.** Relación de resultados de pruebas de resazurina y conteo de células somáticas para la determinación de la calidad higiénica de la leche y los efectos de elevados números de células somáticas en la calidad de la leche procesada. Artículo Facultad de Ciencias Agropecuarias, Colombia 2005.

Menor que 1.75	Bueno
De 1.75 a 2.00	Alerta
De 2.00 a 2.50	Malo
Mayores a 2.50	Crítico

Fuente: Instructivo de control Microbiológico en jugos a través del test de resazurina, O. Núñez 2011

10. ANEXOS



Figura 1. (1) Tubo con Resazurina, (2) Resazurina con jugo, (3) Resazurina decolorada.

Reacción de la resazurina

resazurina	resofurina	dihidroresorufina
$CH_{12}H_7NO_4$	$\rightleftharpoons CH_{12}H_7NO_3$	$\rightleftharpoons CH_{12}H_8NO_3$
Azul	Rosado	Incoloro

Clasificación del coeficiente Microbiológico (CM)

Coeficiente Microbiológico (CM)	Resultado
---------------------------------	-----------

