



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

Tomo 101 (1) | 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina



## Autoridades EEAOC

### Presidente

Ing. Agr. Roberto Sánchez Loria

### Vicepresidente

Lic. Sebastián Budeguer

### Vocales

Ing. Agr. José Ignacio Lobo Viaña

Ing. Agr. Francisco J. Estrada

Dn. Luis Fernando Umana

Dn. Pablo José Padilla

Dn. Juan Carlos Crovella

Dn. José Antonio Linares

Mg. Lic. Catalina Rocchia Ferro

Ing. Bernabé Oscar Alzabé

### Director Técnico

Dr. Hernán Salas López

### Directores Asistentes:

Tecnología Agropecuaria

Dr. Santiago Ostengo

Tecnología Industrial

Ing. Qco. Roberto Marcelo Ruiz

Administración y Servicios

C.P.N. Mariana Barraquero

Recursos Humanos

Lic. José D. Rodríguez Domato

### Editor Responsable

Dr. Hernán Salas López

### Editora de contenidos

Dra. Francisca Perera

### Comisión asesora

Dra. Andrea Peña

Ing. Federico Franck Colombres

### Responsable Técnico OJS

Ing. Jorge Poch

Ing. C. Filippone

### Arte, diseño y diagramación

Diego Lobo

### Corrección

Prof. en Letras Ernesto Klass

### Difusión

D.G. Silvio César Salmoiraghi

### Coordinadora de Publicaciones

Ing. Agr. Victoria González



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

Tomo 101 (1):  
2024

ISSN  
0370-5404

En línea  
1851-3018

EEAOC

	Pag
Análisis de balance de carga y capacidad en la Biofábrica de caña de azúcar del INICA Villa Clara (Cuba)	5
Alternativas para incrementar la eficiencia de establecimiento in vitro de la caña de azúcar ( <i>Saccharum</i> spp.).	13
Ausencia de la bacteria <i>Xanthomonas citri</i> pv. <i>aurantifolia</i> , causante de la cancrrosis tipo B, en frutos cítricos del Noroeste Argentino	23
Evaluación con ajuste lineal de genotipos de poroto ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) negro, blanco y rojo para Tucumán y zonas de influencia	33
Características de las cenizas de bagazo y de residuos agrícolas de cosecha de la caña de azúcar (RAC) de Tucumán, Argentina	39
Sensibilidad de los componentes mayoritarios en la fusibilidad de cenizas de bagazo y RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina	47
Comparative analysis of the production levels in the traditional and the expanding sugarcane planted areas in Tucumán province, Argentina	59
Caracterización y clasificación del bagazo y RAC de caña de azúcar, según índices de comportamiento a partir de su composición química elemental	67



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina



Av. William Cross 3150  
T4101XAC | Las Talitas  
Tucumán | Argentina  
Tel: (54 381) 452 1000  
Fax: (54 381) 452 1008  
direcc@eeaoc.org.ar  
www.eeaoc.org.ar



## **Agradecimiento Revisores**

### **RIAT 101 (1) - 2024**

---

**Ing. Miguel Fernández de Ullivarri**  
Consultor privado

**M.Sc. Ing. Agr. Ernesto R. Chavanne**  
Consultor privado

**M.Sc. Ing. Agr. Margarita María Jaramillo Zapata**  
Universidad Nacional de Tucumán - Facultad de  
Agronomía, Zootecnia y Veterinaria

**Dra. Lic. Marta Z. Galván**  
Investigadora CONICET - [EEA SALTA] Estación  
Experimental Agropecuaria Salta

**Dra. Aida ben Altabef**  
Instituto de Investigaciones Químicas del Noroeste  
Argentino (INQUINOA) / CONICET/UNT

**Dr. Diego Mauricio Yepes Maya**  
Universidade Federal de Itajubá / UNIFEI

---



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
5-12; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

# Análisis de balance de carga y capacidad en la Biofábrica de caña de azúcar del INICA Villa Clara (Cuba)

Miguel Suárez Castellá\*, Rafael Gómez Kosky\*, Aydiloide Bernal Villegas\*, Irenaldo Delgado Mora\* y Edel Toledo Rodríguez\*.

\* Instituto Nacional de Investigación de la Caña de Azúcar, Villa clara (INICA VC). Autopista Nacional Km 246, Municipio de Ranchuelo, Provincia de Villa Clara, República de Cuba. Email: miguel.suarez@azcuba.inicavc.cu

## RESUMEN

La propagación *in vitro* constituye una de las tecnologías más importantes utilizada para la multiplicación masiva de diferentes especies vegetales, con alta calidad genética y fitosanitaria. Estas tecnologías se sustentan en la inducción de procesos fisiológicos (brotación, multiplicación, enraizamiento, etc.) y consisten en técnicas predominantemente manuales que requieren de un trabajo intensivo y se llevan a cabo en establecimientos denominados biofábricas, en las que se producen plantas y semillas mejoradas a gran escala. Una de las actividades gerenciales estratégicas en una Biofábrica es la determinación de la capacidad productiva. El objetivo del presente trabajo es definir métodos de análisis de balance de carga y capacidad de la Biofábrica de caña de azúcar del INICA Villa Clara (Cuba), acorde a las características y exigencias de las tecnologías de propagación *in vitro*. Se estimó la capacidad productiva en las cabinas de flujo laminar, capacidad en la siembra manual de plantines en la fase de aclimatización *ex vitro* y capacidad de esterilización de una autoclave vertical. Se definió como punto crítico y limitante las cámaras de crecimiento, con capacidad para 500.000 explantes al año, ya que la demanda anual es de 1.000.000 de plantas aclimatizadas.

**Palabras clave:** balance de carga y capacidad de producción, biofábrica, propagación *in vitro*

## ABSTRACT

### Load and capacity balance analysis methods in the sugarcane Biofactory of the INICA Villa Clara

*In vitro* propagation is one of the most important technologies used for the massive multiplication of different plant species, with high genetic and phytosanitary quality. These technologies are based on the induction of physiological processes (sprouting, multiplication, rooting, etc.) and are predominantly manual techniques that require intensive work and are carried out in establishments called biofactories in which plants and seeds are produced upgraded on a large scale. One of the strategic managerial activities in a biofactory is the determination of the productive capacity. The objective of this work is to define load balance analysis methods and capacity of the sugarcane biofactory of INICA Villa Clara (Cuba) according to the characteristics and demands of *in vitro* propagation technologies. The productive capacity in the laminar flow cabinets, the capacity in the manual planting of seedlings in the *ex vitro* acclimatization phase and the sterilization capacity of a vertical autoclave were estimated. The growth chambers were defined as a critical and limiting point, with a capacity for 500,000 explants per year, since the annual demand is 1,000,000 acclimatized plants.

**Key words:** load balance and production capacity, biofactory, *in vitro* propagation.

Fecha de  
recepción:  
03/05/2022

Fecha de  
aceptación:  
19/02/2024

**INTRODUCCIÓN**

La propagación *in vitro* es un conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos utilizados para multiplicar plantas asexualmente de forma rápida, eficiente y en grandes cantidades. Es conocido que la calidad del material de propagación utilizado en los diferentes cultivos tiene un alto impacto en los rendimientos agrícolas, por lo que la propagación *in vitro* constituye una de las tecnologías más importantes en la generación masiva de plantas con alta calidad genética y fitosanitaria (Pérez *et al.* 2018; FAO, 2020).

Las tecnologías de propagación *in vitro* se sustentan en operaciones en su mayoría manuales y a la vez en procesos fisiológicos con respuestas no totalmente estandarizadas, siendo ambas características elementos clave para el logro de las metas productivas (Orellana y Suarez, 2017; Romero, 2019). Teniendo en cuenta lo anterior, una de las actividades gerenciales estratégicas es la evaluación de la capacidad productiva de las biofábricas, ya que de esto se definen las potencialidades reales de las mismas (Cristofan, 2020).

Existen diversas definiciones sobre capacidad productiva, en especial la instalada. Una de ellas es la cantidad de máquinas y equipos que una organización posee, así como el potencial de producción que estos equipos permiten alcanzar (Schroeder, 2011; Paredes, 2013; López-Calva, 2019).

La producción masiva de plantas *in vitro* se realiza a través de diversos procesos y operaciones que tienen diferentes capacidades productivas, considerando un determinado período de tiempo. En la literatura científica consultada están definidos los métodos para el análisis de carga y capacidad; sin embargo, las peculiaridades de la producción masiva de plantas *in vitro* requieren de variantes de estos métodos para poder determinar la situación del flujo productivo y en especial, su continuidad en las biofábricas.

Estos balances son de vital importancia para el cumplimiento de los planes. Su desconocimiento genera incumplimientos en la producción de plantas *in vitro* y un inadecuado empleo de los recursos disponibles, que conllevan elevados costos de producción.

El presente trabajo tuvo como objetivo definir los métodos de análisis de balances de carga y capacidad adecuados a las características y exigencias de la tecnología de propagación *in vitro*. Estas fueron aplicadas en la

biofábrica de caña de azúcar del INICA VC. Se determinaron en el proceso las limitantes de la capacidad productiva y se proponen las soluciones a adoptar, así como las medidas correspondientes para el logro de las metas a alcanzar.

**CARACTERÍSTICAS DE LA BIOFÁBRICA OBJETO DE ESTUDIO Y PRINCIPALES CONCEPTOS SOBRE BALANCES DE CARGA Y CAPACIDAD**

**Características de la biofábrica objeto de estudio**

La biofábrica de caña de azúcar objeto de estudio dispone de tres áreas de trabajo, las cuales están adecuadas a las exigencias de las tecnologías de propagación *in vitro* que se aplican: preparación de medios de cultivo, producción *in vitro* y aclimatización (Tablas 1, 2 y 3). Cuenta con cuatro especialistas distribuidos en la dirección de la biofábrica, control de calidad, producción *in vitro* y aclimatización *ex vitro*, respectivamente. Laboran 27 trabajadores: seis operarias de cabinas de flujo laminar (CFL), un auxiliar de CFL, ocho trabajadores en preparación de medios de cultivo y seis trabajadores en el área de aclimatización *ex vitro* tipo umbráculo.

Se emplea la tecnología de propagación *in vitro* vía organogénesis mediante Sistema de Inmersión Temporal (Pérez *et al.*, 1998; Georgiev *et al.*, 2014) para la producción de plantas *in vitro* de caña de azúcar. Esta se combina con la embriogénesis somática en la Fase 0 y I, con la inclusión de un banco de plantas donantes en condiciones semi controladas (Bernal *et al.*, 2021) y el establecimiento *in vitro*, tomando como explante inicial los discos de hojas colocados en un medio de cultivo específico para la regeneración de plantas *in vitro* de caña de azúcar.

Esta tecnología se sustenta en procesos de producción masiva de plantas *in vitro* que garantizan un mínimo de variabilidad genética (0.5 %) debidamente avaladas por los controles de calidad y la valoración de la satisfacción de los clientes, así como por la selección rigurosa de los explantes iniciales como principio básico de la propagación *in vitro*. Además, contemplan la ocurrencia de pérdidas por contaminación y mortalidad en el proceso, y de los productos terminados del 5 %, lo cual se debe tener en cuenta en la definición de las cargas de producción y su balance con las capacidades productivas instaladas.

**Tabla 1.** Estructura del área de preparación de medios de cultivo, procesos y operaciones de la biofábrica.

N	Área de trabajo	Locales existentes	Procesos	Principales equipos	Operaciones
1	Preparación de medios de cultivo	Lavado de frascos y otros insumos	Preparación de frascos para la producción	Lavaderos (4) Estantes	Lavado de cajas, frascos, tapas, platos y tubos de ensayos
		Descontaminación		Mesa de trabajo	Descontaminación de frascos contaminados
		Formulación de medios de cultivo	Elaboración de medios de cultivos para la producción	pH metro Desmineralizador Conductímetro	Preparación de soluciones madre Preparación de medios de cultivo
		Cocción y esterilización		Autoclave vertical Estufa	Esterilización
		Dosificación de medios de cultivo		Cocina Industrial Mesa de trabajo	Cocción y dosificación de medios de cultivo

**Tabla 2.** Estructura del área aséptica, procesos y operaciones de la biofábrica de caña de azúcar.

N	Área de trabajo	Locales existentes	Procesos	Principales equipos y otros	Operaciones
1	Área aséptica	Cuarto de siembra del banco	Establecimiento y conservación <i>in vitro</i>	Cabina de flujo laminar vertical	Banco de germoplasma
		Cámara de crecimiento del banco		Estantes	
		Cuarto de siembra	Manejo del material <i>in vitro</i>	Cabina de flujo laminar vertical	Trabajo en la cabina de flujo laminar
		Cámara de crecimiento para la multiplicación	Desarrollo de las plantas <i>in vitro</i>	Estantes	Trabajo con el material vegetal en la cabina de flujo laminar
		Cámara de crecimiento para el enraizamiento		Estantes	Desarrollo de los brotes <i>in vitro</i> en multiplicación
					Desarrollo de las plantas <i>in vitro</i> en enraizamiento

**Tabla 3.** Estructura del área de aclimatación *ex vitro*, procesos y operaciones de la biofábrica de caña de azúcar.

N	Área de trabajo	Locales existentes	Procesos	Principales equipos	Operaciones
1	Aclimatación de plantas	Edificio de preparación y almacenamiento de insumos	Preparación para la siembra	Manual	Preparación de sustratos para la aclimatación de plantas <i>in vitro</i>
		Umbráculo	Desarrollo de la aclimatación	Canteros Bandejas y platos	Operaciones agrotécnicas de las plantas <i>in vitro</i>
					Aclimatación de plantas <i>ex vitro</i>

### Principales conceptos sobre balances de carga y capacidad

Para la aplicación de los métodos de balances de carga y capacidad se tomaron como ejemplo algunos de los procesos y operaciones más importantes en la producción. Estos fueron los definidos por Paredes (2013). Principales conceptos utilizados:

- **Flujo productivo:** Camino que sigue el material vegetal inicial hasta que se obtiene el producto terminado. Este debe tener un funcionamiento armónico y balanceado de la producción junto a los recursos materiales y humanos que intervienen

- **Carga:** Contenido de trabajo (plan de producción, plan de negocios) que debe ejecutarse en cada proceso del flujo productivo, condicionado por la capacidad.

- **Capacidad:** Lo máximo que puede hacerse en cada proceso que integra el flujo productivo

El flujo de producción masiva de plantas *in vitro* es continuo, sin almacenamiento de la producción, donde la materia prima inicial cambia de estado sistemáticamente (Orellana y Suarez, 2017; Romero, 2019). Se realizaron análisis sobre el flujo productivo existente a través del estudio de las capacidades instaladas, aplicando métodos de análisis de carga y capacidad en algunos de los procesos más influyentes en la producción masiva de plantas *in vitro* de la biofábrica objeto de estudio. Para ello se tuvo en cuenta adecuaciones propias de lo que registra la literatura científica consultada (Chase *et al.*, 2005; Kalenatnick *et al.*, 2006; Naranjo *et al.*, 2019) y generadas por la tecnología de propagación *in vitro*.

Durante los estudios los balances de carga y capacidad de un flujo productivo se presentan tres si-

tuaciones típicas: que la carga (plan de producción) sea igual que la capacidad productiva instalada ( $Q = C$ ), de lo que se concluye que el flujo está balanceado; que la carga (plan de producción) sea menor que la capacidad productiva instalada ( $Q < C$ ), de lo que se concluye que habrá una subutilización de las capacidades; que la carga (plan de producción) sea mayor que la capacidad productiva instalada ( $Q > C$ ), de lo que se concluye que la carga no se podrá cumplir (Heizer *et al.*, 2009).

En correspondencia con lo anterior, en la realización de los análisis de balances de carga y capacidad se utilizaron dos enfoques: según el punto limitante (Teoría de las restricciones); y según la demanda del cliente (Filosofía "Justo a Tiempo") (Ilen, 2010; López-Calva, 2019; Cristofan, 2020).

### Métodos de cálculo de las capacidades productivas de la biofábrica

Las capacidades productivas instaladas se calculan a través de un grupo de expresiones de cálculo para los procesos mecánicos y manuales de la biofábrica. (Tablas 4 y 5).

Para el caso del cálculo de las capacidades productivas instaladas de las cámaras de crecimientos se establecen las siguientes expresiones (Tabla 6).

Para el caso del cálculo de las capacidades productivas instaladas en la fase de aclimatación *ex vitro* se establecieron las siguientes expresiones (Tabla 7).

Las expresiones que muestran las Tablas 4, 5, 6 y 7 se corresponden con las particularidades de las tecnologías de propagación *in vitro* y las características de la biofábrica de caña de azúcar del INICA Villa Clara. Las mismas constituyen una variante respecto a lo que definieron otros autores (Acevedo *et al.*, 2010; Naranjo *et al.*, 2019).

**Tabla 4.** Expresiones de cálculo de las capacidades productivas instaladas de equipos de la biofábrica.

Ejemplos de equipos y procesos manuales	Expresiones para el cálculo de las capacidades instaladas	Definición de los términos
Para equipos: Autoclave vertical Cabinas de flujo laminar	$Ce = d \times t \times h \times (1 - (m/100))$ (en horas / período (donde período: anual, mensual, semanal, otros))	Ce = Capacidad unitaria del equipo en el proceso d = Cantidad de días laborables en el período que se analiza. t = Número de turnos de trabajo por día h = Número de horas laborables por día. m= % del fondo de tiempo destinado para las actividades de mantenimiento
	$Ne = Q / Ce$ (en número de equipos del proceso)	Ne= Cantidad de equipo Q= Carga ( o plan ) de producción en el proceso
	$Ctoteq = Ce \times Nr \times Ne$ (en unidades físicas/ período)	Ctoteq= Capacidad total de equipos Ce = capacidad unitaria de equipo en el proceso Nr = Norma de rendimiento por trabajador en unidades / día Ne=Numero de equipos existente en el proceso
	$AC = (Clim / Ce_i) \times 100$ o $(Clim / De) \times 100$	AC= Índice de aprovechamiento de las capacidades productivas del equipo Clim: Capacidad productiva del proceso limitantes o cuello de botella De: Demanda de producción del cliente

**Tabla 5.** Expresiones de cálculo de las capacidades productivas instaladas de procesos manuales de la biofábrica.

Ejemplos de equipos y procesos manuales	Expresiones para el cálculo de las capacidades instaladas	Definición de los términos
Cabinas de flujo laminar	$Co = d \times h \times (1 - (a/100))$ (en horas / período )	Co= Capacidad unitaria de operario en el proceso d = Cantidad de días laborables en el período que se analiza h = Cantidad de horas laborables por día. a = % de ausencia planificada
	$Co = Nr$ (en unidades físicas / día)	Nr = Norma de rendimiento por trabajador en unidades / día
Proceso de siembra manual de plantas en la fase de aclimatización	$No = Q / Co$	No= Cantidad de operario en el proceso Q= Carga ( o plan ) de producción en el proceso
Autoclave vertical	$Ctoto = Co \times Nr \times No$ (en unidades físicas / período)	Ctoto= Capacidad total de operarios en el proceso Co = Capacidad de operario Nr = Norma de rendimiento por trabajador en unidades / día No= Cantidad de operario en el proceso
	$laj = (Noreq / No) \times 100$ (en por ciento)	laj= Índice de aprovechamiento de la jornada laboral de los operarios en el proceso Noreq= Cantidad de operarios requeridos en el proceso No= Cantidad de operario en el proceso

**Tabla 6.** Expresiones de cálculo de las capacidades productivas instaladas de las cámaras de crecimientos y la fase de aclimatación de la biofábrica.

Área	Procesos	Procedimiento de cálculo	Definición de los términos
Cámaras de crecimientos	Multiplicación y Enraizamiento de las plantas <i>in vitro</i>	Determinación del área neta del frasco (ABF) y el número de explantes por frasco de cultivo (NPF) (en unidades físicas)	ABF= Área neta del frasco de cultivo NPF= Cantidad de explantes por frasco
		Cálculo del área física de un estante $AFE = (A_{BASE} \times ND)$ (en unidades de longitud)	AFE = Área física de un estante $A_{BASE}$ = Área base de un estante ND= Numero de divisiones por estante
		Definición de cantidad de estantes disponibles (NE) (en unidades físicas)	NE= Cantidad de estantes disponibles
		Determinación del área total de estantes disponibles $AETotal = AFE \times NE$ (en unidades de longitud)	AETotal= Área total ocupada por estantes AFE = Área física de un estante NE= Cantidad de estantes disponibles
		Cantidad de ciclos tecnológicos en cámaras de crecimientos $Nciclos = FTA / Tciclo$ (en unidades)	Nciclos = Cantidad de ciclos tecnológicos en cámaras de crecimientos FTA = Fondo de tiempo anual Tciclo=Tiempo del ciclo tecnológico en cámaras de crecimientos
		Cálculo de la capacidad productiva instalada $CCrem = ((AETotal / ABF) \times NPF) \times Nciclos$ (en unidades físicas)	CCrem = Capacidad productiva instaladas en las cámaras de crecimientos ABF= Área neta del frasco de cultivo NPF= Cantidad de explantes por frasco Nciclos = Cantidad de ciclos tecnológicos en cámaras de crecimientos

**Tabla 7.** Expresiones de cálculo de las capacidades productivas instaladas en la fase de aclimatación *ex vitro* de la biofábrica

Procedimiento de cálculo	Definición de los términos
Determinación de la cantidad de canteros disponibles (Ncan), sus dimensiones (Acan), el área de un contenedor (Acon) y el número de plantas por contenedor (Npcon)	Ncan = Número de canteros disponibles (en unidades físicas) Acan = Área de un cantero (en unidades de longitud) Acon= Área de un contenedor para la siembra de plantas <i>in vitro</i> Npcon = Número de plantas por contenedor
Cálculo de la cantidad de ciclo tecnológico de las plantas <i>in vitro</i> al año $Nciclo = (FTA / TC)$ (en unidades físicas)	Nciclo= Cantidad de ciclo tecnológico de las plantas <i>in vitro</i> al año FTA = Fondo de tiempo anual (en días) TC= Tiempo del ciclo tecnológico de las plantas (en días)
Cálculo de la cantidad de plantas <i>in vitro</i> por ciclo tecnológico de aclimatación $Plci = Q / Nciclo$	Plci= Cantidad de plantas <i>in vitro</i> por ciclo tecnológico de aclimatación Q= Carga (o plan) de producción en el proceso Nciclo= Cantidad de ciclo tecnológico de las plantas <i>in vitro</i> al año
Cálculo de la cantidad de contenedores por ciclo $Nconc = (Plci / Npcon)$ (en unidades físicas)	Nconc= Cantidad de contenedores necesarios por ciclo Plci = Número de plantas por ciclo tecnológico de aclimatación de plantas <i>in vitro</i> Npcon = Número de plantas por contenedor
Cálculo de la cantidad de contenedores para plantas <i>in vitro</i> en un cantero $Ncon-can = (Acan / Acon)$ (en unidades físicas)	Ncon-can= Cantidad de contenedores por cantero disponible Acan = Área de un cantero (en unidades de longitud) Acon= Área de un contenedor para la siembra de plantas <i>in vitro</i>
Cálculo de la cantidad de canteros para plantas <i>in vitro</i> por ciclo. $Ncanc = Nconc / Ncon-can$ (en unidades físicas)	Ncanc= Cantidad de canteros para plantas <i>in vitro</i> por ciclo Ncon-can= Cantidad de contenedores por cantero disponible Nconc= Cantidad de contenedores necesarios por ciclo
Cálculo de la capacidad productiva anual instalada de la fase de aclimatación $Caclim = (Nconc \times Npcon) \times Nciclo$ (en unidades físicas)	Caclim= Capacidad productiva anual instalada de la fase de aclimatación Nconc= Cantidad de contenedores necesarios por ciclo Npcon = Número de plantas por contenedor Nciclo= Cantidad de ciclo tecnológico de las plantas <i>in vitro</i> al año

### Resultados de la aplicación del análisis del balance de carga y capacidad de la biofábrica objeto de estudio

Para el desarrollo de este balance de los principales procesos de la biofábrica objeto de estudio se tuvo en cuenta un grupo de datos iniciales (Tabla 8) y mediante expresiones de cálculo definidas en acápites anteriores (Tablas 4, 5, 6 y 7).

**Tabla 8.** Datos de entrada para el balance de carga y capacidad de la biofábrica.

Variables	Datos
Plan anual de producción (Q)	1.000.000 plantas aclimatizadas
Días laborables al año (d)	270 días
Duración de la jornada laboral (h)	8 horas
Número de turnos diarios de trabajo (t)	1 turno

Se realizó el análisis de la capacidad productiva en las cabinas de flujo laminar (CFL) en la biofábrica de caña de azúcar del INICA Villa Clara mediante la Filosofía “Justo a Tiempo” y se recomiendan las mejores variantes a desarrollar para cumplir con la producción y entrega de material propagado.

Con los resultados obtenidos en las Tablas 9, 10 y 11 se procedió al cálculo de las capacidades productivas instaladas. Se determinó, además, el balance de carga y capacidades, empleando un enfoque según el punto limitante (Teoría de las restricciones).

Se tomó como referencias que:

- La demanda anual de 1.000.000 millón de plantas *in vitro* -que para su cumplimiento requiere producir 1.050.000 considerando las pérdidas de producción planificadas- se puede satisfacer, ya que existe una capacidad productiva anual de 5.028.000 de plantas

- Existe subutilización de las capacidades productivas instaladas ( $Q < C$ ), tanto en cabinas de flujo laminar (doble plaza) como de operarias de esos equipos.

A partir de los resultados alcanzados se pueden tener las opciones siguientes para el personal que labora en las Cabinas de Flujo Laminar (CFL), pues con solo

cuatro operarios (el 50% de la mano de obra) es suficiente para cumplir la demanda del año o plan de producción. El resto de puede emplear en otras actividades. A continuación, se muestran variantes a tener en cuenta para lograr un adecuado aprovechamiento de la fuerza de trabajo:

I. Seleccionar las cuatro mejores operarias de CFL para el cumplimiento de la demanda (tanto por su producción como por la calidad) y ponerlas a trabajar en Cabinas de Flujo Laminar (CFL) independientes.

II. A las cuatro operarias de Cabinas de Flujo Laminar (CFL) sobrante se propone reubicarlas en otras actividades tales como limpieza de frascos, preparación de medios de cultivo y auxiliar de CFL. Este personal también quedaría para cubrir las CFL ante inasistencia, vacaciones, etc.

En la Tabla 10 se muestran los datos y operaciones para el cálculo las capacidades productivas instaladas en las cámaras de crecimiento de la biofábrica.

El análisis de la capacidad productiva (Filosofía “Justo a Tiempo”) en las cámaras de crecimientos en la biofábrica indica que la demanda anual de 1.000.000 de plantas aclimatizadas no puede satisfacerse. Esto se debe a que la capacidad de las mismas está limitada a 509.538 plantas *in vitro* por año. Para satisfacer la demanda habría que incrementar la capacidad de las cámaras o construir otra.

Para cumplir con la producción demandada, la dirección de la Biofábrica debe realizar mejoras al proceso productivo e introducir cambios en las tecnologías a emplear para propagar el material vegetal:

- Introducir la embriogénesis somática como tecnología a aplicar durante la propagación *in vitro* de plantas, que genera mayor producción por  $m^2$  de cámaras de crecimientos.

- Realizar estudios de pre inversión con el objetivo de cambiar o modificar los estantes por otros móviles y con mayor cantidad de pisos que permitan reducir las áreas de pasillos.

- Emplear frascos de cultivo de mayor capacidad de explantes y menor área ocupada.

- Introducir los Sistemas de Inmersión Temporal.

A continuación, se muestran en la Tabla 11 los

**Tabla 9.** Cálculo de las capacidades productivas instaladas en cabinas de flujo laminar de la biofábrica de caña de azúcar.

Datos del proceso	Capacidades productivas calculadas
Cantidad de cabinas de flujo laminar existentes (CFL)= 4	2050 horas / año
Cantidad de operarios (No)= 8	2 460 000 plantas <i>in vitro</i> / año
Norma de rendimiento: (Nr) = 1800 explantes / día = 300 explantes/ hora	Cantidad de CFL necesarias = 2 Índice de aprovechamiento del equipo (AC) = 41 %
Índice de mantenimiento de las CFL:(m) = 5 %	2095 horas / año
Índice de ausentismo (a) = 3 %	5.028.000 plantas <i>in vitro</i> /año
	4 operarios
	Índice de aprovechamiento de la fuerza de trabajo (AJL) = 50%

**Tabla 10.** Cálculo de las capacidades productivas instaladas en el proceso de cámaras de crecimientos de la biofábrica.

Datos del proceso	Capacidades productivas calculadas
Área base del estante ( $A_{BASE}$ )= 1.05 m <sup>2</sup>	Área física de un estante= 5.25 m
Numero de divisiones de los estantes (ND)= 5	
Área neta del frasco (ABF) = 0.09 m	
Cantidad de estantes disponibles (NE) = 70	Área total de estantes disponibles= 368 m
Número de explantes por frascos (NPF) = 10	
Fondo de tiempo anual (FTA) = 365 días	Cantidad de ciclos tecnológicos en cámaras de crecimientos = 18
Tiempo de ciclo tecnológico en cámaras de crecimiento ( $T_{ciclo}$ ) = 21 días	Capacidad productiva instalada cámaras de crecimientos = 509 538 plantas <i>in vitro</i> /año

**Tabla 11.** Cálculo de las capacidades productivas instaladas en el proceso en la Fase de aclimatación *ex vitro*.

Datos del proceso	Capacidades productivas calculadas
Cantidad de canteros disponibles ( $N_{can}$ )= 30	$N_{ciclo} = (FTA / TC)$ Cantidad de ciclo tecnológico de las plantas <i>in vitro</i> / año = 6
Área de un cantero ( $A_{can}$ )= 12 m	$Plci = Q / N_{ciclo}$ Cantidad de plantas <i>in vitro</i> / ciclo tecnológico de aclimatación = 166 667
Área de un contenedor ( $A_{con}$ ) = 0.18 m	$N_{conc} = (Plci / N_{pcon})$ Cantidad de contenedores / ciclo = 2778
Número de plantas por contenedor ( $N_{pcon}$ )= 60	$N_{con-can} = (A_{can} / A_{con})$ Cantidad de contenedores / cantero= 67
Fondo de tiempo anual: (FTA) = 365 días	$N_{canc} = N_{conc} / N_{con-can}$ Cantidad de canteros / ciclo = 42
Tiempo de ciclo tecnológico en fase de aclimatación ( $T_{ciclo}$ ) = 60 días	$Caclim = (N_{conc} \times N_{pcon}) \times N_{ciclo}$ Capacidad productiva anual instalada de la fase de aclimatación = 1 000 080 plantas

resultados del cálculo de las capacidades productivas instaladas en la fase de aclimatación de la biofábrica.

Se realizó el cálculo aplicando el enfoque del balance de carga y capacidad según la demanda del cliente (Filosofía “Justo a Tiempo”). El análisis de la capacidad productiva en la fase de aclimatación de la biofábrica de caña de azúcar de INICA Villa Clara indica:

1. Que la demanda anual de 1.000.000 de plantas *in vitro* se puede satisfacer con el área actual, que permite aclimatar 1.000.080 plantas *in vitro*.

2. Existe una adecuada utilización de las capacidades productivas instaladas ( $Q = C$ ).

Como se aprecia, las capacidades productivas calculadas se sustentan en elementos clave tales como normas de trabajo de las operarias de cabinas de flujo laminar en el proceso de siembra, área del envase de cultivo que se emplea en la propagación *in vitro* para las cámaras de crecimiento y área del contenedor de siembra en el área de aclimatación. Por tanto las garantías de la techno-

logía de propagación masiva de caña de azúcar en cuanto a la estabilidad genética de las plantas y las pérdidas en los procesos y productos terminados no influyen en estos valores.

## CONCLUSIONES

El análisis de balance de carga y capacidad en la biofábrica objeto de estudio demostró la validez de las expresiones y procedimientos de cálculo, así como tener informaciones esenciales para la toma de decisiones para el cumplimiento de los planes de producción con la eficiencia requerida.

Del balance de carga y capacidad realizado en algunos de los procesos (de alta dependencia entre ellos) de la biofábrica objeto de estudio, se desprende que las cámaras de crecimientos representan la capacidad limitante en el flujo productivo, lo que implica que existe una sub utilización de las capacidades de las cabinas de flujo laminar y en la fase de aclimatación, en correspondencia con la carga de producción definida.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Acevedo, J.; M. Gómez; J. Urquiaga; A. González; M. Gutiérrez y M. Hernández. 2010.** La Logística Moderna en la Empresa. Editorial Félix Varela. La Habana. Cuba.
- Bernal, A.; P. Machado; D. Núñez; E. A. Toledo; R. Gómez; A. S. Noguera y A. P. Castagnaro. 2021.** Establecimiento de un banco de plantas madre de caña de azúcar en condiciones semicontroladas para la propagación *in vitro*. *Biotecnología Vegetal* 21(1): 53 - 61.
- Cristofan, F. 2020.** Capacidad de producción: ¿cómo se calcula? [En línea] Disponible en <https://elnuevoempresario.com/glosario/capacidad-productiva/#gs.vv5sf9>.
- Chase, R.; Robert, F. y quilano, N. 2005.** Operations Management for Competitive Advantage. Mc Graw Hill : 12-23
- Heizer, J. y Render, B. 2009.** Dirección de la producción y de operaciones. Decisiones estratégicas (8ª Edición). Ed. Pearson. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i1.2540>.
- Ilen, L. 2010.** An Introduction to Stochastic Processes with Applications to Biology. 2 ed. Florida, USA: Chapman & Hall/CRC. 7
- FAO, 2020.** Seguridad alimentaria mundial. Informe anual. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Disponible en <http://www.gestiopolis.com/capacidad-del-sistema-de-produccion>
- Georgiev, V.; A. Schumann; A. Pavlov and T. Bley. 2014.** Temporary immersion systems in plant biotechnology. *Engineering in Life Sciences, Weinheim* 14 (6): 607-62.
- Kalenatick, D.; C. A. López Bello y L. J. González. 2006.** Modelo de ampliación de la capacidad productiva. *Revista Ingeniería - Facultad de Ingeniería, Universidad Distrital Francisco José de Caldas* 14 (2): 12-18.
- López-Calva, L. 2019.** ¿A dónde se fue toda la capacidad productiva? *Tecnología en Marcha* 29 (1).
- Naranjo, M.; L. González; D. Contreras; Y. Torres; Z. Gutiérrez; M. Cepero; A. Lazo; J. Villegas; O. Teruel y R. Chacón. 2019.** Comportamiento de capacidades y mermas en la producción del Instituto Finlay de Vacunas en el año 2017. *VacciMonitor* 28 (2): 55-61.
- Paredes, W., 2013.** "Capacidad del sistema de producción, conceptos generales." From <http://www.gestiopolis.com/capacidad-del-sistema-de-produccion>
- Orellana, P. y M. Suárez. 2017.** Informe del diagnóstico técnico y organizativo realizado en el laboratorio de cultivo de tejido de CEDEVA, Misión Tacaagle, Formosa, Argentina
- Pérez, A.; D. Leyva y C. Gomes. 2018.** Desafíos y propuestas para lograr la seguridad alimentaria hacia el año 2050. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9 (1)
- Pérez, J. 1998.** Aumento de la eficiencia en la micro propagación. En: *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas. Santa Clara, Cuba, pp. 179-191.
- Romero, L. 2019.** Trabajo final integrador presentado como requisito para la aprobación de la Especialización en Biotecnología aplicada a cultivo de tejidos vegetales: "Análisis del comportamiento de la calidad en la producción *in vitro* en instalaciones del CEDEVA Misión Tacaaglé, Formosa. Argentina
- Schroeder, R. 2011.** Administración de operaciones. Conceptos y casos contemporáneos. México DF, Editorial McGraw Hill.



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
13-22; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

# Alternativas para incrementar la eficiencia de establecimiento *in vitro* de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.).

Aydiloide Bernal Villegas, Edel Alejandro Toledo Rodríguez, Yisel Molina Hernández, Mirelys Alejo Sierra, Ada Teresa Aguiar Fernández, Jersy Álvarez Ferreiro, Rafael Gómez-Kosky.

Aydiloide Bernal Villegas <https://0000-00017976-1993/>

Edel Alejandro Toledo Rodríguez<sup>1</sup> <https://0000-0002-0522-7330/>

Rafael Gómez Kosky<sup>1</sup> <https://0000-0003-3656-9824/>

Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA Villa Clara). Autopista Nacional km 246, Ranchuelo Villa Clara, Cuba. CP: 53100 E-mail: aydiloide.bernal@inicavc.azcuba.cu

## ABSTRACT

El presente trabajo tuvo como objetivo analizar alternativas para incrementar la eficiencia de la fase de establecimiento *in vitro* en el proceso de micropropagación de caña de azúcar. Para ello se estudió el empleo como explante de discos de hojas inmaduras de caña de azúcar. Se analizaron dos procedencias del material donante (proveniente de bancos establecidos en campo y de bancos mantenidos bajo condiciones semicontroladas), así como diferentes medios de cultivo. Se estudió, también, el efecto de la posición de los discos de hojas en el medio de cultivo (vertical u horizontal) y de la posición de los discos en el cilindro de hojas sobre la regeneración de plantas *in vitro*. El cultivar utilizado fue C97-445. Se usó material vegetal de ambos bancos de donantes con el empleo como explantes iniciales de ápices caulinares y discos de hojas. Los resultados indican que utilizar discos de hojas obtenidos de plantas madre procedentes de Bancos de Donantes en condiciones semicontroladas permite lograr bajos índices de oxidación fenólica y contaminación microbiana y mayor cantidad de brotes. La mejor combinación de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo fue de 0,5 mg l<sup>-1</sup> de kinetina y 5,0 mg l<sup>-1</sup> de ANA y se demostró que el segmento 4 fue el de mayor número de plantas por disco, y que unido con los segmentos 2 y 3 permitió obtener un total de 55 plantas por cilindro para el cultivar de caña de azúcar C97-445 a los 30 días de cultivo.

**Key words:** brotes *in vitro*, caña de azúcar, condiciones de cultivo, disco de hojas.

## RESUMEN

### Alternatives to increase the *in vitro* establishment efficiency of sugarcane (*Saccharum* spp.).

The objective of this work was to analyze alternatives to increase the efficiency of the *in vitro* establishment phase in the sugarcane micropropagation process. For this purpose, the use of immature sugarcane leaf discs as explants was studied. Two sources of donor material were analyzed (from banks established in the field and from banks maintained under semi-controlled conditions), as well as different culture media. The effect of the position of the leaf discs in the culture medium (vertical or horizontal) and the position of the discs in the leaf cylinder on the regeneration of plants *in vitro* was also studied. The cultivar used was C97-445. Plant material from both donor banks was used with the use of root apices and leaf discs as initial explants. The results achieved indicate that using leaf discs obtained from mother plants from Donor Banks under semi-controlled conditions allows achieving low rates of phenolic oxidation and microbial contamination and a greater number of sprouts. The best combination of growth regulators in the culture medium was 0,5 mg l<sup>-1</sup> of kinetin and 5,0 mg l<sup>-1</sup> of ANA and it was shown that segment 4 had the highest number of plants per disc. Together with segments 2 and 3, it allowed us to obtain a total of 55 plants per cylinder for the sugar cane cultivar C97-445 after 30 days of cultivation.

**Palabras clave:** culture conditions, *in vitro* shoots, leaf disk, sugarcane.

Fecha de  
recepción:  
28/07/2023

Fecha de  
aceptación:  
15/04/2024

## INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial. Está distribuido en 100 países sobre un área de 26 millones de hectáreas de tierras cultivadas, fundamentalmente en las zonas tropicales y subtropicales, por lo que ocupa el lugar 12 de un total de 161 especies de interés agroindustrial (Portal Caña, 2022).

En Cuba, la caña de azúcar se encuentra distribuida a través de todo el territorio nacional en un área de 416.752,9 ha plantadas. Según el censo anual del Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), se encuentran implantados 82 cultivares, 69 de ellos son cubanos y 13 introducidos (Jorge *et al.*, 2022).

La combinación de métodos de propagación convencional con modernas técnicas de propagación *in vitro* constituye una de las estrategias que se emplean en Cuba para obtener la cantidad de “caña semilla” necesaria para satisfacer la demanda de los productores. Perfeccionar el proceso productivo en el laboratorio y su escalado es primordial, para lo cual se hace necesaria la integración de las diferentes fases de la propagación *in vitro* (Thorpe, 2014).

La biotecnología en este cultivo constituye una herramienta importante para el mejoramiento genético y la propagación masiva. Existen dos vías de regeneración de plantas *in vitro*: la organogénesis y la embriogénesis somática (Pérez, 1998). La primera permite obtener, en corto tiempo, gran número de individuos idénticos a la planta original, por lo que resulta indispensable iniciar la propagación con plantas madre o donadoras de tejidos libres de microorganismos patógenos.

Los mayores problemas durante la fase de establecimiento *in vitro* son la contaminación bacteriana y fúngica, presente en la superficie de las hojas y segmentos nodales, así como la oxidación fenólica (North *et al.*, 2012). Esto hace el proceso ineficiente e ineficaz biológica y económicamente; por lo cual se vuelve necesario realizar cambios en la fase para incrementar la eficiencia.

El establecimiento *in vitro* con material procedente del Banco de Donantes en condiciones semicontroladas reduce las pérdidas por contaminación microbiana (Díaz *et al.*, 2020). El empleo de un nuevo método de establecimiento *in vitro* con la regeneración de plantas de forma directa a partir de discos de hojas inmaduras sin formación de callos permitirá la obtención de mayor número de brotes y la disminución del requerimiento de material de partida (Bernal *et al.*, 2021). Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar diferentes variables para incrementar la eficiencia en el establecimiento *in vitro* utilizando como explante discos de hojas inmaduras de caña de azúcar.

## MATERIALES AND MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en la Complejo Científico Productivo de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA VC), perteneciente al Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), en el municipio de Ranchuelo, provincia Villa Clara, Cuba.

El material vegetal utilizado fue la porción apical

de tallos jóvenes del cultivar C97-445 de caña de azúcar. A los cuatro meses de cultivo de los tallos en condiciones semicontroladas, y suspendido el riego por tres días, se tomó la parte apical (cogollos) con el auxilio de un cuchillo desinfectado previamente con etanol al 70%. El material vegetal fue rápidamente sumergido en agua desmineralizada dentro de un frasco plástico y llevado al laboratorio (Biofábrica), donde se comenzó el proceso de desinfección (Bernal *et al.*, 2021).

En el laboratorio, a partir de los cogollos, se obtuvieron cilindros de hojas jóvenes de aproximadamente 10,0 a 15,0 cm de longitud y 1,0 cm de diámetro. Después, fueron lavados con detergente doméstico (3 a 5 ml por cada 250 ml de agua) y luego se enjuagó con agua para eliminar el detergente. La primera desinfección se realizó sumergiendo los cilindros, durante un minuto, en recipientes estériles que contenían una solución de etanol al 70%.

En la cabina de flujo laminar se enjuagó el material para eliminar el etanol y luego se lo sumergió en una solución de hipoclorito de sodio al 3,0% (v/v) durante 20 minutos. Posteriormente se realizaron tres enjuagues con agua desmineralizada estéril y se colocó el material en un frasco de cultivo estéril con una solución de 100 mg l<sup>-1</sup> de ácido ascórbico.

A continuación, se procedió a la reducción del tamaño de los cilindros hasta 0,5 cm de diámetro y 5,0 cm de longitud. Este fue el explante inicial que se empleó durante el establecimiento *in vitro* de la caña de azúcar.

Los medios, frascos y tubos de cultivos utilizados en este trabajo fueron esterilizados en autoclave vertical a 121°C y 1,2 kg cm<sup>-2</sup> de presión. Los platos metálicos para el trabajo en la cabina de flujo laminar fueron esterilizados en la estufa a 180°C durante 2 h. El instrumental (pinzas y bisturíes) fue desinfectado en un esterilizador eléctrico modelo DENT-EQ (Alemania) que permaneció dentro de la cámara de flujo laminar horizontal, donde se realizó el manejo del material vegetal en condiciones de esterilidad. Las condiciones de cultivo *in vitro* para todos los experimentos fueron las descritas por Bernal *et al.* (2021).

### Ensayo 1. Efecto del empleo de plantas madre de dos procedencias (Banco de Donantes en condiciones semicontroladas y en campo) y diferentes medios de cultivo en el establecimiento *in vitro*

El objetivo de este experimento fue comparar el establecimiento *in vitro* usando plantas madre desarrolladas en condiciones semicontroladas (Banco de Donantes semicontrolado) y material vegetal proveniente directamente del campo (Banco de Donantes en campo), según la metodología establecida por Jiménez *et al.* (1997). Se utilizó como material vegetal inicial 10 cilindros de hojas de caña de azúcar de aproximadamente 10 cm de longitud por tratamiento.

Los discos de hojas fueron colocados de forma vertical en dos medios de cultivo (M1 y M2), en tubos de cultivo de vidrio de un tamaño de 16 x 2 cm, con 10 ml de medio de cultivo semisólido. El medio de cultivo basal fue el compuesto por las sales Murashige and Skoog (1962) (MS) al 100%, vitaminas Heinz and Mee (1969), 30 g l<sup>-1</sup> de sacarosa y gelificado con 7,0 g l<sup>-1</sup> de agar E (BIOCEN, Cuba). Los reguladores del crecimiento empleados fueron la kine-

tina (Kin) y el ácido naftalen acético (ANA) en sustitución de la 6- bencilaminopurina (6 BAP). Los tratamientos fueron: a) medio basal con Kin 0,5 mg l<sup>-1</sup> + ANA 5,0 mg l<sup>-1</sup> (M1) y b) medio basal con Kin 1,0 mg l<sup>-1</sup> + ANA 5,0 mg l<sup>-1</sup> (M2), según lo referido por Kaur and Sandhu (2015) en combinación con las dos condiciones de procedencia de las plantas madre.

Como control se emplearon ápices caulinares obtenidos de los cilindros, lo cuales se colocaron en medio de cultivo de establecimiento con 6 BAP según Jiménez *et al.* (1997). El pH se ajustó a 5,8 con NaOH (1,0 N) y HCl (1,0 N), previo a la esterilización mediante ebullición a 100°C durante 4 min.

En todos los tratamientos se evaluaron las siguientes variables: 1) número de discos de hojas contaminados (bacterias y/o hongos) y con oxidación fenólica o amarronamiento. Esta evaluación se realizó a los 15 días de cultivo y los datos fueron convertidos a porcentajes. 2) número de brotes por discos, número de brotes con raíces y número total de brotes por cilindro. Esta evaluación se realizó a los 30 días de cultivo.

### Ensayo 2. Efecto de la posición del explante en el medio de cultivo y de la posición del disco de hojas en el cilindro en la regeneración de plántulas *in vitro*

El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de la posición del disco de hoja en el cilindro y de la posición del explante en el medio de cultivo (vertical u horizontal) en la obtención de plantas *in vitro*. Para esto se dividió el cilindro en cinco segmentos de 0,5 cm de diámetro y 1,0 cm de longitud. Se tomó como primer segmento la parte basal del cilindro (Figura 1) y a partir de este se numeraron cuatro más.

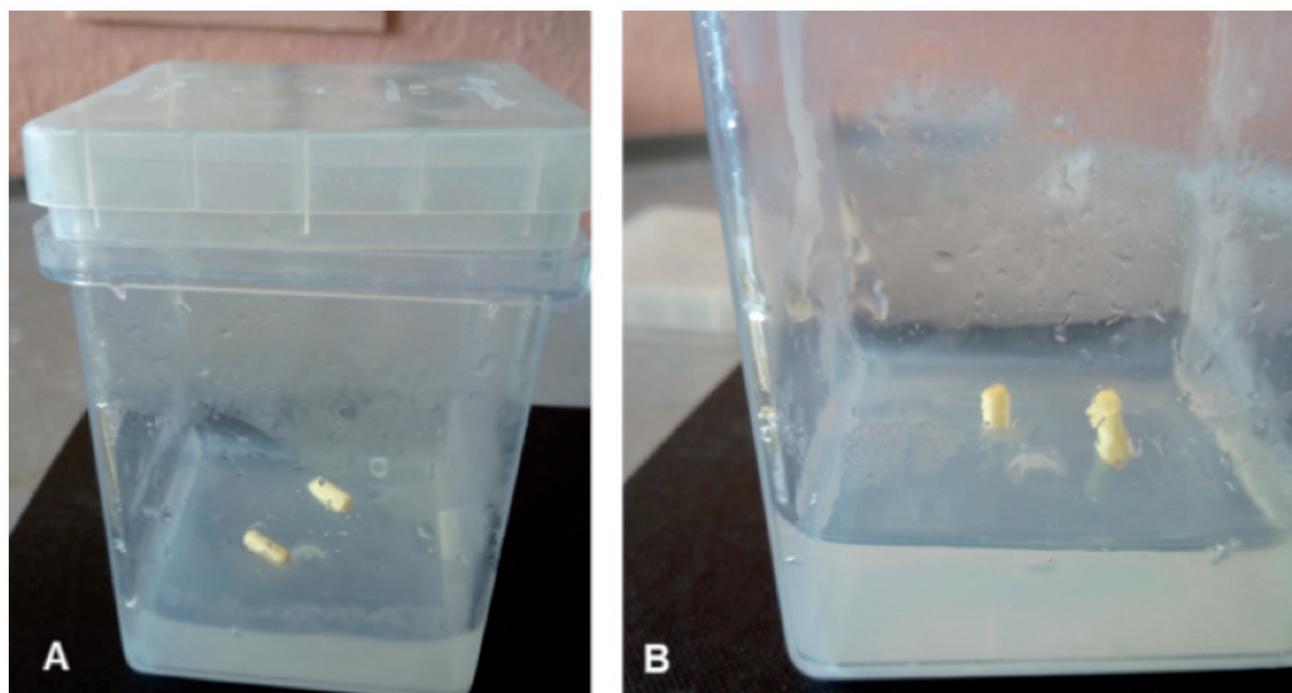
Los discos de hojas fueron colocados en frascos plásticos transparente Magenta® en posición vertical y

horizontal (Figura 2).

Se emplearon 70 discos de hojas de caña de azúcar por cada tratamiento. A los 15 días de cultivo se evaluó el número de discos de hojas contaminados (bacterias y hongos) y con oxidación fenólica o amarronamiento. A los 30 días se evaluó el número de brotes por disco, número de brotes con raíces, altura (cm) y número de hojas de las plantas *in vitro*.



**Figura 1.** Material vegetal de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) del cultivar C97-445 empleados en la obtención de discos de hojas, (A) ápice caulinar y cilindro de hojas inmaduras, (B) secciones del cilindro de hojas para la obtención de los discos y (C) numeración de los discos.



**Figura 2.** Discos del cultivar de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) colocados en el medio de cultivo en posición horizontal (A) y vertical (B).

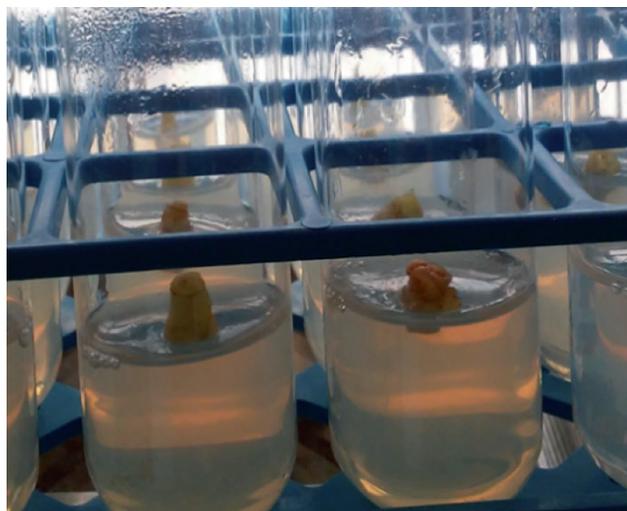
### Análisis estadístico

Los datos originales fueron comprobados para su ajuste a la normalidad mediante prueba de Bartlett-test, con su correspondiente Chi cuadrado. El paquete estadístico utilizado fue STATISTICA sobre Windows versión 8.0 del 2007. Para la evaluación estadística de los resultados se utilizó un ANOVA bifactorial de efecto fijo para la posición del disco en los dos experimentos evaluados. La comparación de medias se realizó mediante la prueba múltiple de rango de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Todos los experimentos fueron repetidos dos veces.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Ensayo 1

Los resultados de este ensayo demostraron la importancia de las condiciones de cultivo del material donante del explante. Así, los discos de hojas procedentes del Banco de Donantes en condiciones semicontroladas tuvieron, en los dos medios de cultivo utilizados, una respuesta significativamente superior para las variables oxidación fenólica, presencia de contaminación por microorganismos y supervivencia de explantes con respecto al tratamiento en el que se utilizaron ápices provenientes del Banco de Donantes en campo (Tabla 1, Figuras 3 y 4). No se observaron diferencias entre los medios de cultivo ensayados.



**Figura 3.** Disco de hojas jóvenes de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) proveniente del material vegetal cultivado en el Banco de Donantes semicontrolado, a los tres días de colocados en medio de cultivo.



**Figura 4.** Disco de hojas jóvenes de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) a los 20 días de colocados en medio de cultivo (A) Material vegetal proveniente del Banco de Donantes en condiciones semicontroladas (B) Material vegetal tomado del Banco de Donantes en campo.

**Tabla 1.** Efecto de la procedencia del material vegetal y el medio de cultivo sobre el establecimiento *in vitro* a partir de discos de hojas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) a los 15 días de cultivo.

Procedencia del material vegetal	Kinetina (mg L <sup>-1</sup> )	ANA (mg L <sup>-1</sup> )	Oxidación explante (%)	Contaminación (%)			Muertos (%)	Vivos (%)
				Bacterias	Hongos	Total		
Banco de Donante semicontrolado	0,5	5,0	0,0 a	0,0	0,0	0,0 a	0,0 b	100 a
Banco de Donante semicontrolado	1,0	5,0	0, a	1,6	0,0	1,60 a	0,0 b	100 a
Banco de Donante en Campo*	6 0,3 mg L <sup>-1</sup>		52,5 c	24,8	7,5	32,4 b	20,0 a	80,0 b

Porcentajes con letras distintas en una misma columna difieren significativamente para  $p < 0.05$  según la Prueba de proporciones (\*) Control (n=50).

Para el caso del durazno (*Prunus persica* (L.) Batsch.) cultivar 'Salcajá', las pruebas demostraron que explantes provenientes de material joven fueron menos susceptibles a oxidarse en comparación con los de mayor tiempo de formación, los cuales se vieron altamente afectados por las heridas ocasionadas al tejido y con ello se favoreció la oxidación (Cabrera, 2003). Esto es debido a que al herir o romper los tejidos se estimula la respiración; además, el material vegetal de mayor edad se encuentra altamente lignificado y al momento de realizar los cortes, estos se vuelven más difíciles; de este modo se ocasionan heridas innecesarias como rasgaduras del tejido en el explante.

En diferentes trabajos se señala el empleo de sustancias antioxidantes durante el proceso de desinfección y en el medio de cultivo. Fueron empleados ácido ascórbico, ácido cítrico, carbón activado y polivinilpirrolidona (PVP) (Franklin *et al.*, 2006; Lakshmanan *et al.*, 2006; Sandhu *et al.*, 2016; Ramasamy *et al.*, 2018).

Según lo informado por North *et al.* (2012), los tejidos meristemáticos jóvenes contienen altos niveles de fenoles que son liberados al medio de cultivo durante el establecimiento *in vitro*. La excreción de estos compuestos está relacionada con los estreses impuestos al tejido debido al corte, heridas, reguladores del crecimiento y los cambios en el ambiente durante el cultivo *in vitro*.

Lal *et al.* (2015) indicaron la conveniencia del tratamiento de los explantes de caña de azúcar con antioxidantes antes de ser colocados en el medio de cultivo o

una vez en él. Además, la frecuente transferencia de los explantes a medio de cultivo fresco y el mantenerlos en la oscuridad durante los primeros siete a diez días fueron recomendados como medidas efectivas en el control de los efectos adversos de los fenoles durante el establecimiento *in vitro*.

En esta misma especie vegetal, Bernal *et al.* (2021) demostraron que la combinación de brotes jóvenes de plantas crecidas en condiciones semicontroladas, con malla para sombra del 50% y suspensión del riego, redujo la producción de fenoles por las plantas. Esto pudo ser debido que en condiciones de luz reducida las plantas tienen menos cloroplastos, lugar donde se sintetizan y acumulan los compuestos fenólicos, los que se encuentran localizados en las membranas de los tilacoides.

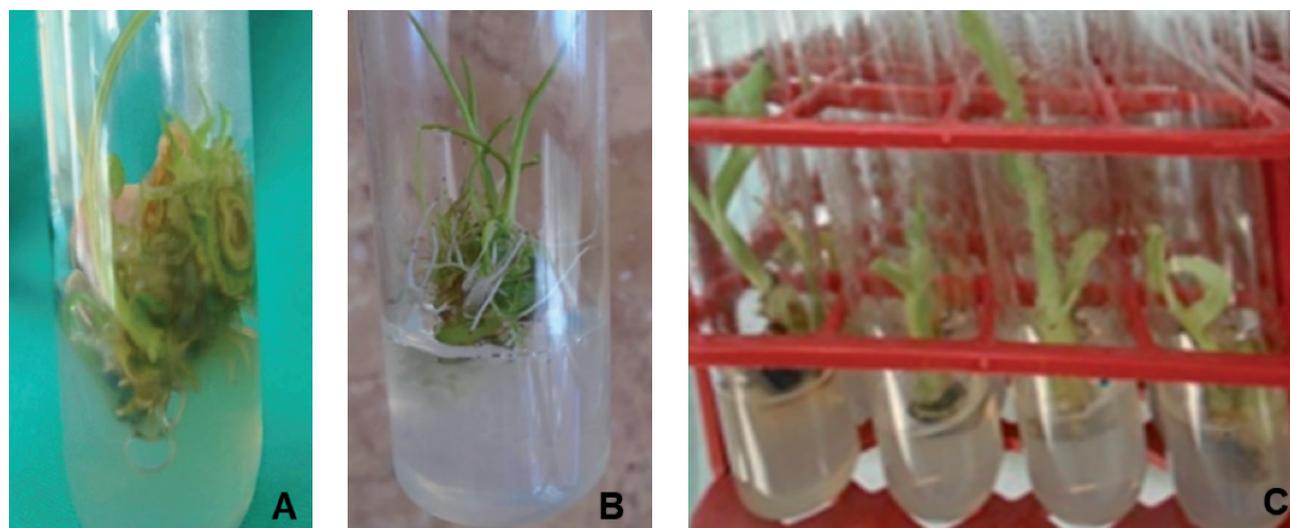
Respecto a las variables número de brotes por disco y número total de brotes por cilindro, el material vegetal (plantas madre) procedentes de banco de donantes en condiciones semicontroladas y con el medio de cultivo M1 superó al resto de los tratamientos con diferencias significativas. Con respecto al control (método de cultivos de ápices), el nuevo método desarrollado a partir de disco de hojas en el medio M1 lo superó en un total de  $49,0 \pm 3,4$  brotes *in vitro* por cilindro (Tabla 2 y Figura 5).

Varios autores como Gill *et al.* (2006), Joshi *et al.* (2013) y Sandhu *et al.* (2016) informaron la regeneración de plantas de forma directa a partir de discos de hojas inmaduras sin formación de callos en diferentes cultivares de caña de azúcar de la India, Estados Unidos de América

**Tabla 2.** Efecto de la procedencia del material vegetal y el medio de cultivo sobre el establecimiento *in vitro* a partir de discos de hojas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) a los 30 días de cultivo.

Procedencia del material vegetal	Kinetina (mg L <sup>-1</sup> )	ANA (mg L <sup>-1</sup> )	Nº de brotes/disco	Número de brotes con raíces (%)	No total de brotes por cilindro
Banco de Donante semicontrolado	0,5	5,0	13,5±2,5 a	100	49,0±3,4 a
Banco de Donante semicontrolado	1,0	5,0	7,3±1,3 b	100	26,5±2,1 b
Banco de Donante en Campo*	6 0,3 mg L <sup>-1</sup>		0	0	1,0±0,5 c

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey y de proporciones para el caso del porcentaje para  $p < 0,05$  (n=50) (\*Control) MG±EE: Media General ± Error Estándar



**Figura 5.** Comparación entre discos de hojas y ápices en la fase de establecimiento *in vitro* de la caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) a los 30 días de cultivo de plantas madres en Banco de Donantes en condiciones semicontroladas. (A) Disco de hojas con brotes *in vitro* (B) Discos de hojas con plantas completas (C) Brotes *in vitro* obtenidos a partir de ápices.

y Australia. Todos obtuvieron como mejor combinación de reguladores de crecimiento la kinetina (0,5 mg l<sup>-1</sup>) y el ANA (5,0 mg l<sup>-1</sup>). La cantidad de brotes por cilindros varió desde 28 hasta 50 brotes *in vitro* en dependencia del cultivar. En todos los casos los materiales vegetales donantes fueron plantas de caña de azúcar creciendo en campo. Los resultados de esta investigación coinciden con lo señalado por estos autores en el cultivar cubano C97-445. Además, en el presente trabajo también se obtuvieron los mayores valores en el número de brotes *in vitro* por disco (13,5±2,5) y número total de brotes *in vitro* por cilindro (49.0±3.4) con la combinación de 0,5 mg l<sup>-1</sup> de kinetina y 5,0 mg l<sup>-1</sup> de ANA en el medio de cultivo.

Los discos de hojas inmaduras procedentes de plantas cultivadas en condiciones semicontroladas tuvieron una mejor respuesta que los discos provenientes de plantas creciendo en campo. Estos resultados apoyan la importancia de la calidad fisiológica y sanitaria del material de partida en el éxito del cultivo *in vitro*.

Antes de la selección de los materiales vegetales para la propagación *in vitro* debe realizarse un pretratamiento mediante fungicidas y bactericidas para minimizar la contaminación en el cultivo *in vitro*. Además, para aumentar las probabilidades de éxito la planta madre debe cultivarse en condiciones de invernadero para mantener la fisiología normal del cultivo, además de minimizar la contaminación *in vitro* (Cassells, 2005).

Al respecto, George and Debergh (2008) refieren que durante la Fase 0 o preparativa se persigue garantizar material vegetal de partida de alta calidad genética y fitosanitaria, la cual permita disminuir los problemas de contaminación por microorganismos para lograr un esquema de propagación *in vitro* real y repetible.

Según Rakesh *et al.* (2011), los explantes tomados de las plantas de campo tienen problemas de contaminación microbiana, ya que lograr la esterilización total es generalmente difícil. El estado fisiológico de la planta donante, además, también influye en la respuesta de los explantes. Al respecto, Tiwari *et al.* (2012) refirieron que los

explantes de plantas cultivadas en invernadero dan mejores resultados para la propagación *in vitro*, ya que la carga de contaminantes es mínima en comparación con los que crecen en condiciones de campo.

Estos autores, asimismo, señalaron que dependiendo de las condiciones climáticas durante el año existen enormes variaciones con respecto a la respuesta de los explantes al cultivo *in vitro* cuando provienen de plantas cultivadas en condiciones de campo.

### Efecto de la posición del disco de hojas en el medio de cultivo para la regeneración de plantas *in vitro*

En todos los tratamientos se logró la formación de brotes (100% de respuesta) independientemente de la posición en el medio de cultivo y el número del disco. Respecto a la variable altura los mejores resultados se alcanzaron en la posición vertical usando el disco 3, y para la posición horizontal con los discos 2 y 3 sin diferencias significativas entre ellos. No obstante, la posición vertical usando el disco 3 y la horizontal con el disco de igual número no tuvieron diferencias significativas respecto a la posición vertical con el disco 1 (Figura 6). La altura promedio de las plantas estuvo por encima de los 3,0 cm, valor adecuado para pasar a la siguiente fase (Multiplicación).

Según informaron Gill *et al.* (2006), la formación de plantas a partir de discos de hojas inmaduras, independiente a la posición en que fueron colocados en el medio de cultivo para esta fase, fue entre un 75-80% en el cultivar de caña de azúcar CP88-1762 a los 45 días de cultivo. Los resultados obtenidos en la presente investigación fueron superiores a los informados por estos autores, habiéndose logrado una respuesta del 100% de los explantes (discos de hojas inmaduras) para el cultivar C97-445.

Con relación al número de hojas, los mayores resultados se obtuvieron en los tratamientos en posición vertical con los discos 3 y 4, este último con un número de hojas similar al disco 5.

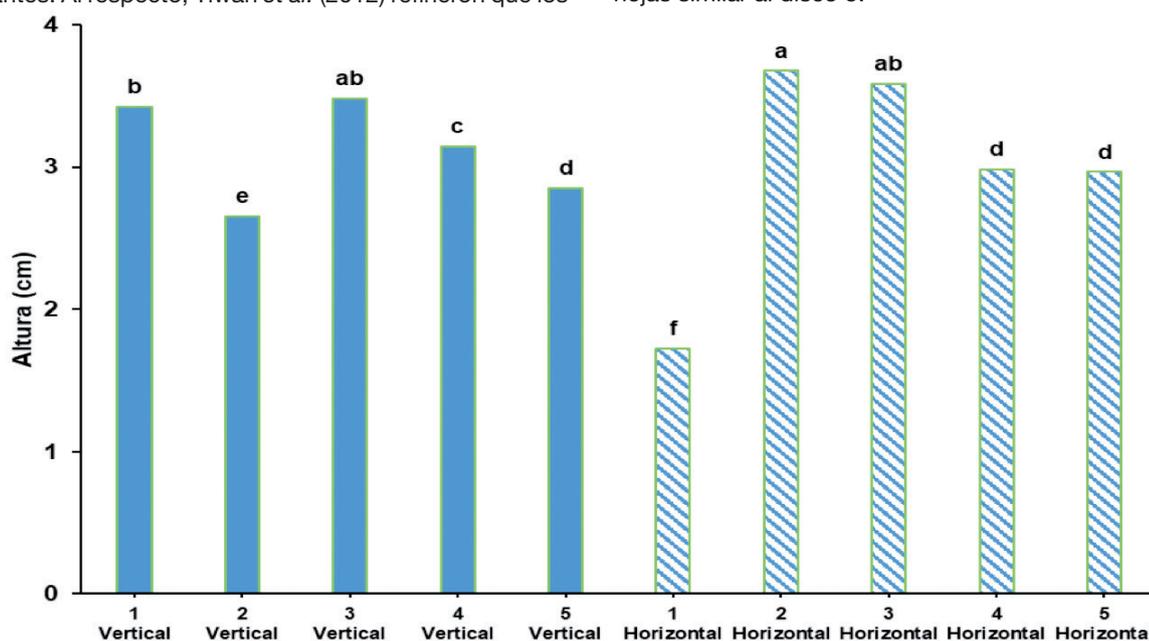


Figura 6. Efecto de la interacción posición del disco y número del disco de hojas inmaduras para la variable altura de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv C97-445) a los 30 días de cultivo.

En la posición horizontal el mayor número de hojas correspondió al disco 2 (Figura 7).

En el caso de la variable número de raíces, los mejores resultados solo fueron alcanzados en la posición vertical y específicamente con los discos 3 y 5, sin diferencias significativas entre ellos, pero sí con el resto de los tratamientos evaluados. La media del número de raíces en ambos tratamientos estuvo por encima de 6 (Figura 8).

Al respecto, Joshi *et al.* (2013) informaron que la mejor posición del disco de hojas para el número de raíces para tres cultivares de caña de azúcar de Canal Point (Florida) fue la horizontal. Los resultados de esta investigación son contrarios a los informados por estos autores, aunque cabe aclarar que estos trabajos se realizaron con diferentes cultivares de caña de azúcar. Diversos autores reconocen la influencia del genotipo en la respuesta del explante

en condiciones *in vitro* de cultivo, tanto en la caña de azúcar como en otras especies, lo cual podría explicar las diferencias reportadas anteriormente (Franklin *et al.*, 2006; Lakshmanan *et al.*, 2006; Taparia *et al.*, 2012; Joshi *et al.*, 2013).

Para la variable número de brotes *in vitro* por explante, la más importante en la fase de establecimiento *in vitro*, los mejores resultados se alcanzaron con el disco 4 para ambas posiciones del explante, sin diferencias significativas entre ellas pero sí con el resto de los tratamientos (Figuras 9 y 10). Las medias del número de brotes fueron 29,0 y 27,5 ±6,75 para la posición vertical y horizontal, respectivamente.

Joshi *et al.* (2013) señalaron que no encontraron para el número de brotes diferencias significativas según la posición del disco en el medio de cultivo (horizontal o

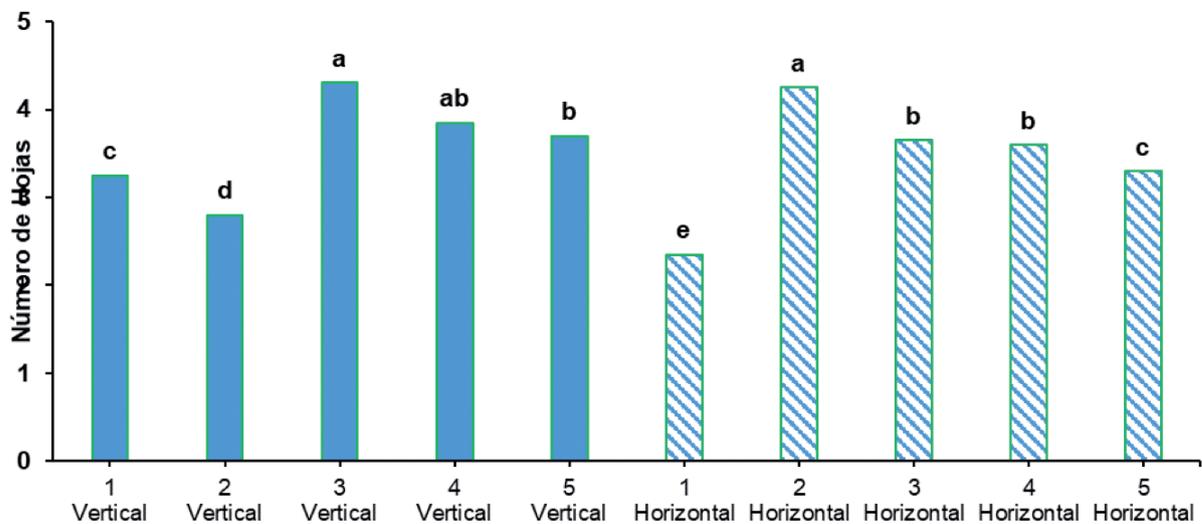


Figura 7. Efecto de la interacción posición del disco y número del disco de hojas inmaduras para la variable número de hojas de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv C97-445) a los 30 días de cultivo.

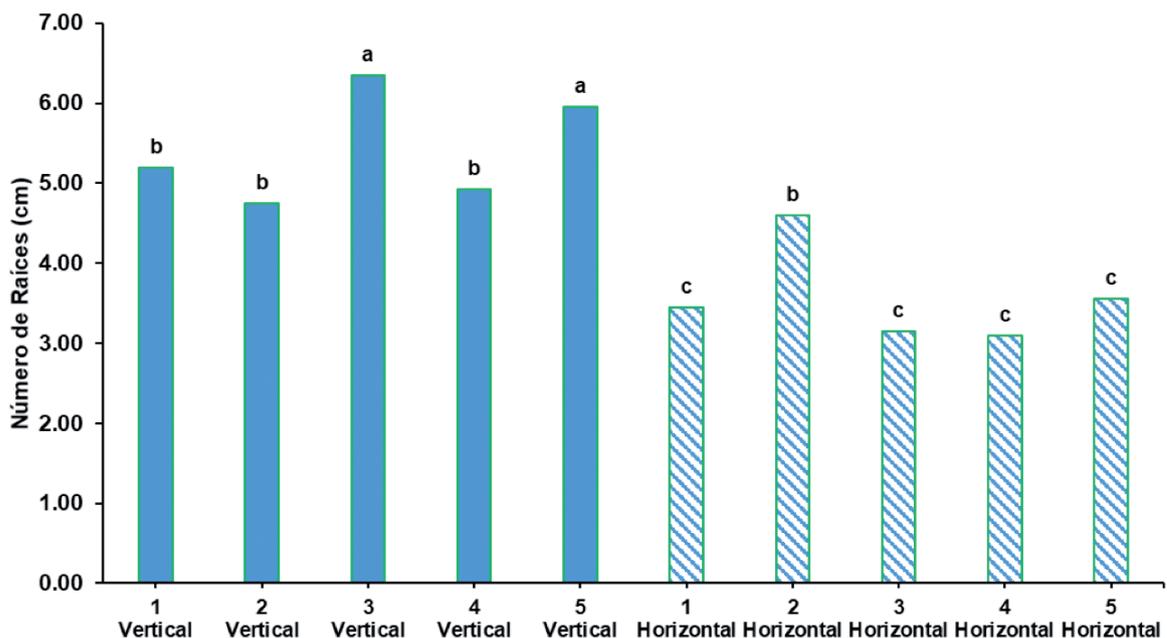


Figura 8. Efecto de la interacción posición del disco y número del disco de hojas inmaduras para la variable número de raíces de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv C97-445) a los 30 días de cultivo.

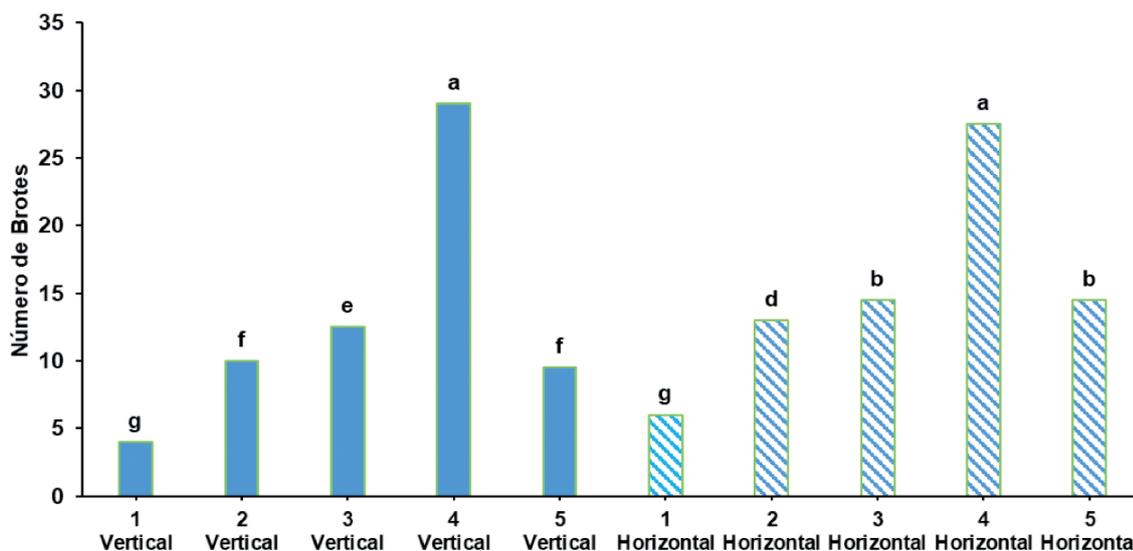


Figura 9. Efecto de la interacción posición del disco y número del disco de hojas inmaduras para la variable número de brotes *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv C97-445) a los 30 días de cultivo.



Figura 10. Brotes *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv. C97-445) obtenidos a partir del cuarto disco del cilindro, a los 30 días de cultivo.

vertical) en tres cultivares de caña de azúcar (CP84-1198, CP88-1762 y CP89-2143). Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan lo informado por estos autores. No obstante, Joshi *et al.* (2013) encontraron los mejores resultados para esta variable en el primer disco con diferencias significativas con el resto. Los valores obtenidos por estos autores fueron 15,5 para CP84-1198; 64,8 para CP88-1762 y 27,0 para CP89-2143.

Sin embargo, Lakshmanan *et al.* (2006) refirieron que en el cultivar de caña de azúcar Q165 los mejores resultados se lograron con los discos 1, 2, 3 y 4 y descartaron los discos 5 y 6. Estos autores señalaron que estos re-

sultados pudieron deberse al transporte polar de la auxina endógena en el cilindro de hojas. Todo parece indicar que los segmentos 2, 3 y 4 tienen la concentración de auxina endógena necesaria para inducir la formación de brotes, unido a la auxina exógena del medio de cultivo.

Para los segmentos 5 y 6 la concentración de la auxina fue crítica, lo cual redujo la cantidad de brotes formados. Para el caso de la presente investigación, tanto en el caso del disco 1 (mucha concentración de auxina endógena) y del disco 5 (baja concentración de auxina endógena) la concentración de este regulador de crecimiento resultó crítica para inducir la regeneración de brotes.

Además, a partir por los resultados obtenidos se pudo inferir que utilizando los discos 2, 3 y 4 en el cultivar C97-445 se alcanzó un alto número de brotes (55 por cilindro). Esto permitió un ahorro de medio de cultivo, mano de obra, tiempo y espacio, lo que hace más eficiente la metodología de establecimiento *in vitro* de la caña de azúcar empleando discos de hojas inmaduras. Es importante señalar que en la presente investigación se utilizó un sistema de regeneración de plantas directa o de un solo paso, de fácil repetitividad (Figura 11).

## CONCLUSIONES

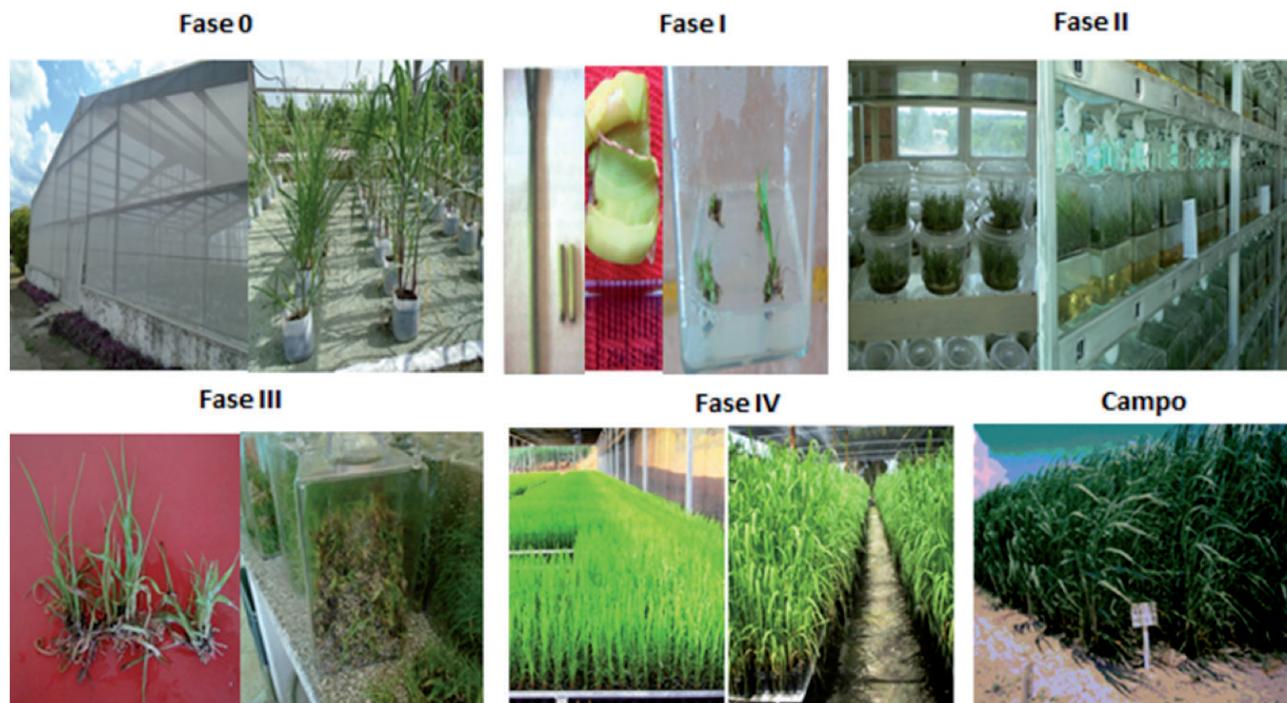
1. El empleo de plantas madre procedentes de un Banco de Donantes en condiciones semicontroladas permite lograr bajos índices de oxidación fenólica y contaminación microbiana y una mayor cantidad de brotes a partir de un cilindro de hojas en comparación a utilizar plantas madres procedentes de un Banco de Donantes en campo.

2. La mejor combinación de medio de cultivo fue de 0,5 mg l<sup>-1</sup> de kinetina y 5,0 mg l<sup>-1</sup> de ANA con los mayores valores en el número de brotes *in vitro* por disco (13,5±2,5) y número total de brotes *in vitro* por cilindro (49,0±3,4) en el cultivar de caña de azúcar C97-445, a los 30 días de cultivo.

3. Se demostró que el segmento 4 fue el de mayor número de plantas por disco; unido con los segmentos 2 y 3 permite obtener un total de 55 plantas en el cultivar

## Actualización del Protocolo

### Fases de la propagación *in vitro* en la caña de azúcar



**Figura 11.** Nueva metodología para la propagación *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) a partir de discos de hojas procedentes de Banco de Donantes en condiciones semicontroladas.

de caña de azúcar C97-445.

4. Los resultados obtenidos en este estudio pueden aplicarse para la propagación masiva *in vitro* de cultivares de caña de azúcar, logrando reducir el período de tiempo requerido y asegurando los estándares de calidad del material obtenido.

#### BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Bernal Villegas, A.; P. Machado Armas; D. Núñez Jaramillo; E. A. Toledo Rodríguez; R. Gómez Kosky; A. S. Noguera y A. Castagnaro. 2021. Establecimiento de un banco de plantas madre de caña de azúcar en condiciones semicontroladas para la propagación *in vitro*. Revista Biotecnología Vegetal 21 (1): 53 - 61.
- Cabrera, A. M. 2003. Efecto de antioxidantes, desinfectantes, medios de cultivo y reguladores del crecimiento en la propagación *in vitro* del cultivo de yemas axilares de melocotón *Prunus persica* (L.) Batsch var Salcajá. Tesis de Grado, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Cassells, A. 2005. Problems in tissue culture: culture contamination. En: Micropropagation. Springer, Netherlands, pp. 31-44.
- Díaz, M. E.; M. Francisca Perera; N. V. Paz; P. Insaurralde Rocco; N. S. Ovejero; A. M. Cerviño; A. P. Castagnaro y A. S. Noguera. 2020. Proceso de producción de vitroplantas de caña de azúcar de pureza genética y sanidad garantizadas en etapa de laboratorio en la EEAOC. Rev. ind. agríc. Tucumán 97 (2): 39-44.
- Duhem, K.; N. Le Mercier and P. Boxus. 1988. Difficulties in the establishment of axenic *in vitro* cultures of field collected coffee and cacao germplasm. Acta Horticulturae 225: 67-75.
- Franklin, G. S.; C. J. Arvinth; M. Sheeba; N. Kanchana and M. Subramonian. 2006. Auxin pretreatment promotes regeneration of sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) mirib segment explants. Plant Growth Regul. 50: 111-119.
- George, E. F. and P. Debergh. 2008. Micropropagation: Uses and Methods. En: E. F. George *et al.*, (eds.). Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition, Springer, O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands pp. 29-64.
- Gill, R.; P. K. Malhotra and S. S. Gosal. 2006. Direct plant regeneration from cultured young leaf segments of sugarcane. Plant Cell Tiss Organ Cult 84: 227-231.
- Heinz, D.J. and G. W. P. Mee. 1969. Plant differentiation from callus tissue of *Saccharum* species. Crop Science. 9: 346-348.
- Jiménez, E.; L. García; M. Suárez y Y. Alvarado. 1997. Instructivo técnico para la micropropagación de la caña de azúcar. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas Santa Clara. Cuba. 119p.
- Jorge, H.; R. González; M. Rodríguez; G. A. Hernández; A. L. Jiménez; H. García; R. González; R. Almeida; S. Guillén; I. Alfonso; F. R. Díaz y I. Torres. 2022. XXVII Reunión Nacional de Variedades, Semillas y Sanidad Vegetal. Revista Cuba Caña, Suplemento Especial: 1-48.

- Joshi, S.; J. Mukesh; B. L. Tillman; F. Altpeter and M. Gallo. 2013.** Comparative analysis of direct plant regeneration from immature leaf whorl and floral explants for three elite US sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) genotypes. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 49: 674-681.
- Kaur, A. and J. S. Sandhu. 2015.** High throughput *in vitro* micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) from spindle leaf roll segments: Cost analysis for agri-business industry. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 120: 339-350.
- Lakshmanan, P., Geijskes, R.J., Wang, L., Christopher, A.P., Grof, L., Berding, N. and Smith GR, 2006.** Developmental and hormonal regulation of direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum* spp. interspecific hybrids) leaf culture. *Plant Cell Rep.* 25:1007-1015.
- Lal, M.; A. K. Tiwari and G. N. Gupta. 2015.** Commercial scale micropropagation of sugarcane: Constraints and remedies. *Sugar Tech.* 17: 339-347.
- Muhitch, M. and J. Fletcher. 1985.** Influence of culture age and seps treatment on the accumulation of phenolic compounds in suspension cultures. *Plant Physiology* 78: 25-28.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15: 473-497.
- North, J. J.; P. A. Ndakidemi and C. P. Laubscher. 2012.** Effects of antioxidants, plant growth regulators and wounding on phenolic compound excretion during micropropagation of *Strelitzia reginae*. *International Journal Physical Science* 74: 638-646.
- Pérez, J. 1998.** Aumento de la eficiencia en la micropropagación. En: *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Jiménez, E. y D. Agramonte (eds.). Instituto de Biotecnología de las Plan-
- tas. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba, pp.179-191.
- Portal Caña. 2022.** Área cultivada en el mundo con caña de azúcar y principales productores. Disponible en: <http://www.portalcania.com.ar>. [Consultado: 9 de junio de 2022].
- Rakesh, S.; S. Kaur and S. Garg. 2011.** Role of tissue culture technique in high sugarcane production. *International Research Journal Life Science Leaflets* 21(2): 1008-1017.
- Ramasamy, M.; V. Mora; M. B. Damaj; C. S. Padilla; N. Ramos; D. Rossi; N. Solís-Gracia; C. Vargas-Bautista; S. Irigoyen; J. A. Da Silva; T. E. Mirkov and K. K. Mandadi. 2018.** A biolistic-based genetic transformation system applicable to a broad-range of sugarcane and energy cane varieties. *M. Crops and Food* 00:1-17.
- Sandhu, S. J.; M. Kaur; A. Kaur and A. Kalia. 2016.** Single step direct transgenic plant regeneration from adventive embryos of agro-infected sugarcane (*Saccharum* spp.) spindle leaf roll segments with assured genetic fidelity. *Plant Cell Tiss Organ Culture* 12 (3): 234-238.
- Taparia, Y.; W. M. Fouad; M. Gallo and F. Altpeter. 2012.** Rapid production of transgenic sugarcane with the introduction of simple loci following biolistic transfer of a minimal expression cassette and direct embryogenesis. *In Vitro Cell Dev Biol. Plant.* 48:15-22.
- Tiwari, A.; S. Tripathi; M. Lal and S. Mishra. 2012.** Screening of some chemical disinfectants for media sterilization during *in vitro* micro propagation of sugarcane. *Sugar Tech* 14 (4): 364-369.
- Thorpe, T. 2014.** History of Plant Tissue Culture. *Methods in Molecular Biology*, En: Loyola-Vargas, V. M. and F. Vázquez-Flota (eds.). *Plant Cell Culture Protocols*, Second Edition, Totowa, pp. 411.



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
23-32; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

# Ausencia de la bacteria *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*, causante de la cancrrosis tipo B, en frutos cítricos del Noroeste Argentino

M. Eugenia Acosta\*, C. Valeria Martínez\*, José E. Galindez\* y Gabriela M. Fogliata\*

\*Sección Fitopatología, EEAOC. Email: meacosta@eeaoc.org.ar

## RESUMEN

La cancrrosis tipo B (*Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*) se reportó en la región del litoral, Argentina, en 1927, donde -con infecciones esporádicas- sólo fue importante en frutos de limón. La introducción de la cancrrosis tipo A (1974), causada por *Xanthomonas citri* pv. *citri*, patotipo más agresivo de la bacteria, hizo que el tipo B desapareciera entre los años 1978 y 1990. En el Noroeste Argentino (NOA), se detectó la cancrrosis tipo A en el año 2002 y no se encontraron reportes que evidenciaron la presencia de la cancrrosis tipo B. La Dirección de Información Estratégica Fitosanitaria (DIEF), perteneciente al Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Argentina (Senasa), considera que la cancrrosis B está ausente en el país y así lo reconocen los principales países adonde se exportan frutos cítricos argentinos, excepto China, que la incluyó entre las plagas de preocupación para el comercio de cítricos. Debido a la presencia de cancrrosis tipo A en el NOA y a que ambos patotipos producen síntomas similares, nuestros objetivos fueron determinar la condición de *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* (cancrrosis tipo B) en el NOA y validar técnicas moleculares de alta especificidad y sensibilidad que permitan diferenciar ambos patotipos. Para el patotipo B, se ajustó y validó la PCR convencional con una sensibilidad de  $1 \times 10^5$  UFC/ml, a partir de colonias puras. Para el patotipo A, se ajustó y validó la PCR en tiempo real (qPCR) con una sensibilidad de  $1 \times 10^2$  UFC/ml, utilizando colonias puras de la bacteria. Se analizaron 839 muestras de frutos cítricos de Tucumán, Salta y Jujuy para el patotipo B. El 20% de las mismas fueron analizadas además para el patotipo A. No se detectó la presencia del patotipo B en la totalidad de las muestras cítricas analizadas, y el 20% analizado con qPCRs resultó positivo para el patotipo A. Los resultados del presente estudio son una evidencia de la ausencia de la cancrrosis tipo B en frutos cítricos del NOA y confirman que la cancrrosis presente corresponde al patotipo A. Las técnicas moleculares ajustadas y validadas constituyen una herramienta para el diagnóstico específico, sensible y rápido de cancrrosis, ante la presencia de síntomas sospechosos de la enfermedad en frutos cítricos destinados a la exportación hacia países con restricciones cuarentenarias.

**Palabras clave:** enfermedad bacteriana, diagnóstico molecular, patotipo.

## ABSTRACT

### Absence of *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*, causing B-type citrus canker, in citrus fruits from Northwestern Argentina

The B-type citrus canker was reported in 1927 in the Northeast of Argentina and it was important only in lemon fruit with sporadic infections. In 1974 the introduction of the more aggressive A-type citrus canker (*Xanthomonas citri* pv. *citri*) caused the disappearance of the B-type between 1978 and 1990. In the Northwest of Argentina, the A-type citrus canker was detected in 2002 and no reports were found that prove the presence of the B-type citrus canker. The Dirección de Información Estratégica Fitosanitaria (DIEF), belonging to the Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria of Argentina (Senasa) considers that canker B is absent in the country and this is recognized by the main countries to which Argentine citrus fruits are exported, except China, which included it among the pests of concern for the citrus trade. Due to the presence of canker A in the NOA and that both pathotypes produce similar symptoms, our objectives were to determine *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* (canker B) condition in the NOA region, and to

Fecha de  
recepción:  
10/04/2024

Fecha de  
aceptación:  
22/07/2024

validate highly specific and sensitive molecular techniques that allow the differentiation of both pathotypes. For pathotype B, conventional PCR was adjusted and validated with a sensitivity of  $1 \times 10^5$  CFU/ml from the pure colonies. For pathotype A, real-time PCR (qPCR) was adjusted and validated with a sensitivity of  $1 \times 10^2$  CFU/ml, using colonies. A total of 839 samples of citrus fruits from Tucumán, Salta and Jujuy were analyzed for pathotype B, and the 20% of them were also analyzed for pathotype A. The presence of pathotype B was not detected in all of the citrus samples analyzed, and the 20% analyzed with qPCRs were positive for pathotype A. The results of the present study are evidence of the absence of type B canker in citrus fruits from the NOA and confirm that the canker present corresponds to pathotype A. The adjusted and validated molecular techniques constitute a tool for the specific, sensitive and rapid diagnosis of canker in the presence of suspicious symptoms of the disease in citrus fruits destined for export to countries with quarantine restrictions.

**Key words:** bacterial disease, molecular diagnostic, pathotype.

## ■ INTRODUCCIÓN

La cancrrosis de los cítricos es una enfermedad causada por la bacteria *Xanthomonas citri*, la cual presenta diferentes patotipos. Las cepas de *Xanthomonas* patógenas para los cítricos se han reclasificado como especies distintas y difieren en rango de hospedantes e importancia económica. El patotipo A causa la cancrrosis tipo A o asiática, que es la más agresiva y ampliamente distribuida a nivel mundial. Este patógeno ha sido reclasificado como *X. citri* pv. *citri* (sinónimos *X. citri* subsp. *citri* o *X. axonopodis* pv. *citri*) (Stall *et al.*, 1981; Vauterin *et al.*, 1990; 1995). Se han identificado cepas atípicas de *X. citri* subsp. *citri*, denominadas cepas A\* y A<sup>v</sup>, reportadas en Asia y en Florida, EE.UU., respectivamente (Vernière *et al.*, 1998; EFSA PLH Panel, 2014). El patotipo B corresponde a *X. citri* pv. *aurantifolii* (sinónimo *X. fuscans* subsp. *aurantifolii*), agente causal de la cancrrosis tipo B o sudamericana, que fue descrita en Argentina como falsa cancrrosis en 1927-1929 en la región del Noreste Argentino (NEA), en las provincias de Corrientes y Entre Ríos (Schaad *et al.*, 2005). El patotipo B también fue reportado en Paraguay y Uruguay (Gottwald, 2000) y comparte el mismo nombre con el patotipo C, agente causal de la cancrrosis tipo C o de lima, que sólo fue reportada en Brasil (Stall *et al.*, 1981; Stall and Civerolo, 1991).

En la Argentina, la cancrrosis de los cítricos fue reportada por primera vez en 1928 en el litoral, correspondiendo al tipo B, que debido a su baja agresividad no se dispersó a otras áreas y desapareció entre los años 1978 y 1990 con la introducción en 1974 de la cancrrosis tipo A, que es más agresiva (Goto *et al.*, 1980; Canteros de Echeñique *et al.*, 1985). A partir de ese momento la enfermedad se volvió endémica en la región del NEA, luego de que fallaran los intentos de erradicación (Canteros *et al.*, 2017).

En el Noroeste Argentino (NOA), se reportó la cancrrosis tipo A en el año 2002, inicialmente en dos focos, uno al norte de Salta y otro en la provincia de Tucumán (Ramallo *et al.*, 2005); y no se encontraron reportes que mencionen la presencia del patotipo B.

La Dirección de Información Estratégica Fitosanitaria (DIEF), perteneciente al Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Argentina (Senasa), considera que la cancrrosis A está presente en el país y que la cancrrosis B está ausente, tal como lo informa en su portal del

Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de Plagas (SINAVIMO) y así lo reconocen los principales países adonde se exportan frutos cítricos argentinos, excepto China, que incluyó a la cancrrosis B entre las plagas de preocupación para el comercio de cítricos.

La importancia de la cancrrosis para la Argentina es la restricción a la exportación de frutas cítricas hacia los principales mercados de destino, como ser la Unión Europea (UE), donde está ausente, y los EE.UU., donde está presente aunque bajo control oficial. Para estos mercados, en caso de detectar síntomas sospechosos en etapas previas a la exportación, existen procedimientos a seguir que incluyen análisis para identificar la bacteria causante de la enfermedad. Estos análisis no diferencian los patotipos de la bacteria, lo cual no es un inconveniente ya que todos ellos son cuarentenarios en dichos territorios.

Para la exportación de fruta cítrica a China, mercado de reciente apertura y con potencial de crecimiento, los frutos deben estar libres de cancrrosis tipo B, ya que para dicho mercado solo es cuarentenario el patotipo B (Senasa, 2004). A tal efecto se requiere disponer de un procedimiento que pueda diferenciar el patotipo B del patotipo A.

La observación de sintomatología no contribuye a la diferenciación de los patotipos presentes, ya que estos producen síntomas similares, visualmente indistinguibles.

Si bien se han desarrollado varias técnicas de diagnóstico basadas en PCR para la identificación de cepas de cancrrosis de los cítricos aisladas en medio de cultivo y de extractos de lesiones en hojas y frutos (Egel *et al.*, 1991; Cubero and Graham, 2002, 2005; Cubero *et al.*, 2001; Rademaker *et al.*, 2005; Coletta-Filho *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2006; Ibrahim *et al.*, 2015), sus cebadores no permiten distinguir o detectar todos los patotipos de *Xanthomonas* que afectan a los cítricos. Los análisis para patotipos específicos son escasos, como ser los desarrollados por Hartung *et al.* (1993) que sólo detecta el patotipo A; y Fonseca *et al.* (2019), que permitiría diferenciar el patotipo A del B.

En este escenario de restricciones a la exportación de fruta cítrica argentina hacia China -la falta de estudios del patotipo B en el NOA, y el hecho de no disponer hasta el presente de un procedimiento que diferen-

cie ambos patotipos-, nuestro objetivo fue determinar la condición de *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* (cancrosis B) en el NOA, previo al ajuste y validación de técnicas moleculares específicas para diferenciar los patotipos A y B.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de muestras cítricas

Personal de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEOC) recolectaron muestras de frutos de limón en la provincia de Tucumán. La distribución porcentual de las mismas por departamento fue establecida según la superficie implantada en cada uno. Para ello, se tuvieron en cuenta los datos de la campaña 2022, que indican un total de 47.310 ha, distribuidas en 11 departamentos, siendo Burruyacú el de mayor cantidad cultivada de la provincia con un 34,2%; seguido de Tafí Viejo con 10,9%; Famaillá y Monteros con 9,6% y 9,1% respectivamente; luego Chicligasta con 8,1%; La Cocha con 7,4% y finalmente Lules, Cruz Alta, Juan Bautista Alberdi, Río Chico y Yerba Buena, con porcentajes menores entre 5,3% a 2,9% (Carreras Baldrés *et al.*, 2022).

Además, en el Laboratorio de la Sección Fitopatología de la EEOC se recibieron muestras cítricas remitidas por Senasa que provenían de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy. El número de muestras a analizar fue establecido por la DIF según el programa RiBESS+ en EFSA statistical models.

Todas las muestras de frutos cítricos recolectadas y recibidas presentaban síntomas característicos de cancrrosis.

### Extracción de ADN

Previo al procesamiento de las muestras, se realizó la extracción de ADN de aislados de *Xanthomonas* spp., que fueron usados como testigos para el ajuste de las técnicas moleculares (Tabla 1).

Para la extracción de ADN de los aislados bacterianos, se siguieron las metodologías descriptas por Robène *et al.* (2020) con algunas modificaciones:

- **Shock térmico de suspensión bacteriana:** se preparó una suspensión bacteriana ( $1 \times 10^8$  UFC/ml) mi-

diendo la densidad óptica (DO) a 600 nm en espectrofotómetro (GeneQuant pro) a partir de un cultivo puro de la bacteria, de 24 h de crecimiento en medio líquido Luria Bertani (LB) cuya composición es: bacto triptona 10 g/l; extracto de levadura 5 g/l y NaCl 10 g/l. En un microtubo de 1,5 ml se colocó 1 ml de la suspensión  $1 \times 10^8$  UFC/ml y se incubó durante 2 min a 95°C en baño térmico y posteriormente se almacenó en el freezer.

- **Extracción con kit de comercial de suspensión bacteriana mezclada con tejido vegetal cítrico:** se pesó 0,1 g de cáscara sana de limón, previamente desinfectado con etanol 96°. Se colocó en una bolsa de extracción de ADN (Bioreba) y se agregaron 10 ml de buffer TRIS-HCl (10 mM pH 7,2). Se maceró el material vegetal con homogeneizador de tejidos (Homex 6, Bioreba AG) y posteriormente se recuperó el macerado de tejido vegetal que fue utilizado para preparar la mezcla con la suspensión bacteriana.

A partir de un cultivo puro de la bacteria de 24 h de crecimiento en LB líquido, se preparó una suspensión bacteriana ( $1 \times 10^9$  UFC/ml) a una DO a 600 nm. A partir de la suspensión concentrada y utilizando el macerado de tejido vegetal, se preparó otra suspensión de concentración  $1 \times 10^8$  UFC/ml, la cual fue identificada como XccT 10<sup>8</sup>. Posteriormente, para la extracción de ADN se siguieron las instrucciones del manual de uso del kit de extracción comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega).

Para las muestras cítricas de campo se realizó la extracción de ADN directamente a partir de una lesión de cancrrosis presente en el fruto. Se desinfectó la superficie del fruto con etanol 96° y se extrajo la lesión con bisturí que fue cortada en cuatro porciones y colocadas en microtubo de 1,5 ml. Se agregaron 125 µl de buffer de homogenización (buffer PBS 0,02 M: tween 20 0,5%; polivinilpirrolidona 2,0%; albúmina de suero bovina 0,2%), y se dejó difundir 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente para la extracción de ADN se siguieron las instrucciones del manual de uso del kit de extracción comercial Wizard Genomic DNA Purification.

La calidad e integridad del ADN genómico obtenido fue evaluada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, seguida por tinción con bromuro de etidio (0,5 µg/ml) y visualizada bajo luz UV (Sambrook *et al.*, 1989). La cantidad se estimó por comparación con un ADN de concentración conocida utilizado como patrón.

**Tabla 1.** Datos de los aislados de *Xanthomonas* spp. utilizados en el ajuste de las diferentes técnicas moleculares, Sección Fitopatología, EEOC.

Especies de <i>Xanthomonas</i>	Identificación	Origen geográfico	Hospedero	Aislado por:	Conservado en:
<i>X. citri</i> pv. <i>aurantifolii</i> , patotipo B	FDC 1561 (IBSBF 409)	Entre Ríos, Argentina	<i>Citrus limon</i>	D. Zagory	Fundecitrus, Araraquara, Brasil
	FDC 1565 (IBSBF 1583)	Entre Ríos, Argentina (1990)	<i>Citrus limon</i>	B.I. Canteros	
	FDC 1631 (11122)	Entre Ríos, Argentina (1994)	<i>Citrus limon</i>	Sin dato	
<i>X. citri</i> pv. <i>citri</i> , patotipo A	Xcc 1 col	Tucumán, Argentina	<i>Citrus limon</i>	C. V. Martínez	EEOC, Tucumán, Argentina
	Xcc 2 col	Tucumán, Argentina	<i>Citrus limon</i>	C. V. Martínez	
	XccT 10 <sup>8</sup>	Tucumán, Argentina	<i>Citrus limon</i>	C. V. Martínez	
<i>X. albilineans</i>	2 y 3	Tucumán, Argentina	<i>Saccharum officinarum</i>	R. P. Bertani	EEOC, Tucumán, Argentina
<i>X. axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>	510-2	Tucumán, Argentina	<i>Phaseolus vulgaris</i>	S. Mamani	

## Identificación del patotipo de *Xanthomonas citri* por técnicas moleculares

### • PCR para el patotipo B

Para la puesta a punto de la PCR específica de *X. citri* pv. *aurantifolii* se siguió el trabajo de Fonseca *et al.* (2019). Se llevaron a cabo reacciones en un volumen final de 25  $\mu$ l, conteniendo 2,0 mM de  $MgCl_2$ ; 1x buffer *Taq* (Invitrogen); 0,2 mM de cada dNTP; 0,2  $\mu$ M de cada cebador; 1,25 U/ $\mu$ l de *Taq* polimerasa; 1  $\mu$ l de ADN genómico (entre 50 y 100 ng) y agua libre de nucleasas hasta completar el volumen final. La amplificación fue realizada con los cebadores XauBm F (5'-TCGATCGCACGGACTACTTG-3') y XauBm R (5'-AAAATGCGGCTCTCCCTCTC-3') que amplifican parte de un gen de una proteína hipotética (434 pb). El programa de amplificación empleado en el equipo MiniAmp Plus Thermal Cycler (Applied Biosystems) fue: 3 min de desnaturalización inicial a 94°C; seguida de 30 ciclos de 45 s a 94°C, 45 s a 59°C, 45 s a 72°C y una extensión final de 5 min a 72°C. Como controles positivos se utilizaron muestras de ADN de *X. citri* pv. *aurantifolii*, identificados como FDC 1561, FDC 1565 y FDC 1631. Como controles negativos se utilizaron la mezcla de reactivos sin la adición de ADN "NTC" (*No Template Control*, por sus siglas en inglés) y ADN extraído de suspensión bacteriana del patotipo A (Xcc 1 col.).

Para evaluar la especificidad de la técnica se utilizaron muestras de ADN de diferentes patógenos aislados de cítricos pertenecientes al Laboratorio de Fitopatología, como así también de otras especies de *Xanthomonas* que afectan a otros cultivos: *Candidatus Liberibacter asiaticus* (HLB), *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* (CVC), *Phomopsis citri* (melanosis), *Elsinoe* sp. (sarna de los cítricos), *Phyllosticta citricarpa* (mancha negra de los cítricos) y *Colletotrichum* sp. (antracnosis), *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (bacteriosis común del poroto) y *X. albilineans* (escaldadura de la hoja en caña de azúcar).

Se determinó el límite de detección (LD) a partir de ADN bacteriano del patotipo B; para ello, se realizaron diluciones seriales 1:10, de  $1 \times 10^8$  UFC/ml hasta 1 UFC/ml del control positivo (FDC 1565).

### • PCR cuantitativo en tiempo real para el patotipo A

Para la detección específica de *X. citri* pv. *citri*, patotipo A, se realizó la técnica de PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR) con los cebadores J-RTp3 (5'-ACCGTCCCCTACTTCAACTCAA-3'), J-RTp4 (5'-CGCACCTC-GAACGATTGC-3') y sonda TaqMan J-Taqp2 (5'-6-FAM/ATGCGCCAGCCCAACGC-/TAMRA-3') (sonda Xcc) según Cubero and Graham (2005) con algunas modificaciones. Se agregó un juego de cebador-sonda, COXf (5'-GTATGCCACGTGCGATTCCAGA-3'), COXr (5'-GCCA-AACTGCTAAGGGCATTTC-3') y COXp (5'-HEX/ATCCA-GATGCTTACGCTGG/BHQ-2A-3') que amplifica para la citocromo oxidasa vegetal (COX, por sus siglas en inglés) como control interno para evaluar la calidad y cantidad de los ADN extraídos (Li *et al.*, 2006). Para la optimización de la qPCR se evaluaron diferentes concentraciones de: sondas Xcc y COXp a 100, 120, 140, 160, 180 y 200 nM; cebadores J-RTp3/J-RTp4 y COXf/COXr a 150, 200, 250, 300, 350 y 400 nM. Asimismo, diferentes cantidades de ADN (1  $\mu$ l, 2  $\mu$ l y 5  $\mu$ l de ADN puro) y diferentes

temperaturas de "annealing" fueron consideradas usando el termociclador C1000 Thermal Cycler/CFX96 Real Time System (Bio Rad).

Se llevaron a cabo reacciones en un volumen final de 25  $\mu$ l, conteniendo Premix Ex *Taq* (Takara) (1x), sondas, cebadores, ADN y agua libre de nucleasas, hasta completar el volumen final. Como controles positivos se utilizaron muestras de ADN de *X. citri* pv. *citri*, patotipo A, identificadas como Xcc 1 col., Xcc 2 col. y XccT  $10^8$ . Como controles negativos se utilizaron la mezcla de reactivos sin la adición de ADN "NTC" y ADN extraído de tejido vegetal cítrico sano.

Para determinar la especificidad de la qPCR se utilizaron como controles negativos ADN de *X. citri* pv. *aurantifolii* (patotipo B) y ADN de diferentes patógenos aislados de cítricos, incluyendo otras especies de *Xanthomonas* que afectan otros cultivos: *Ca. L. asiaticus* (HLB), *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (CVC), *P. citri* (melanosis), *Elsinoe* sp. (sarna de los cítricos), *P. citricarpa* (mancha negra de los cítricos), *Colletotrichum* sp. (antracnosis), *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (bacteriosis común del poroto) y *X. albilineans* (escaldadura de la hoja en caña de azúcar).

### • Curva de calibración de qPCR con sonda TaqMan

Para determinar si las condiciones de la qPCR fueron las óptimas, se realizó una curva de calibración a partir de ADN patotipo A (XccT  $10^8$ ). Se realizaron diluciones seriales 1:10, de  $1 \times 10^8$  UFC/ml hasta 1 UFC/ml, y se calculó la eficiencia de la reacción. Cada dilución fue sembrada por triplicado.

Asimismo, para determinar el límite de detección (LD) de la qPCR, se realizaron diluciones seriadas 1/10 de una muestra de ADN extraído a partir de una lesión ( $1 \times 10^8$  UFC/ml) previamente cuantificada. Cada dilución fue sembrada por triplicado.

### • Análisis de muestras de campo

Para poder identificar el patotipo de *Xanthomonas citri* presente en las muestras de frutos cítricos de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy, se analizaron los ADN extraídos mediante PCR específica para la detección de *X. citri* pv. *aurantifolii*, patotipo B.

En cada reacción se utilizó como control positivo de amplificación ADN de *X. citri* pv. *aurantifolii* (FDC 1565); como controles negativos se utilizaron un "NTC", ADN del patotipo A (Xcc 2 col.) y de *X. albilineans* 3. Los resultados fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa 1,5% y se visualizaron con luz UV luego de la tinción con bromuro de etidio. Finalmente, se seleccionaron al azar el 20% de las muestras, con resultado negativo para el patotipo B, que fueron analizadas por qPCR para confirmar la presencia del patotipo A.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Recolección de muestras cítricas

Durante el monitoreo correspondiente a la campaña 2022 se recolectaron 155 muestras de frutos de limón, provenientes de 11 departamentos de la provincia de Tucumán. De las cuales 41 muestras pertenecían al

departamento Burruyacú, 18 a Tafí Viejo, 14 a Famaillá, 14 a Monteros, 14 a Cruz Alta, 11 a J. B. Alberdi, 10 a Chicligasta, 10 a La Cocha, 10 a Lules, 9 a Yerba Buena y 4 a Río Chico.

Adicionalmente, 684 muestras cítricas fueron remitidas por Senasa (que incluyeron frutos de limón, naranja, mandarina y pomelo). De ellas, 507 pertenecieron a la provincia de Tucumán, 268 muestras del departamento Burruyacú, 56 de Tafí Viejo, 55 de Juan Bautista Alberdi, 40 de Famaillá, 36 de Chicligasta, 16 de La Cocha, 12 de Lules, 9 de Yerba Buena, 8 de Río Chico, 5 de Cruz Alta y 2 de San Miguel de Tucumán. De Salta, 169 muestras cítricas donde 99 pertenecían al departamento Anta, 65 de Orán, 5 de Metán; y 8 muestras de la provincia de Jujuy, 5 del departamento Santa Bárbara y 3 de Ledesma.

Los frutos cítricos presentaban lesiones de cancrrosis de 2 a 5 mm de diámetro, consistencia corchosa,

algunas con presencia de un halo aceitoso, con apariencia característica de la enfermedad (Figura 1).

#### Extracción de ADN

Con las dos metodologías empleadas se logró obtener ADN a partir de la suspensión bacteriana de tres aislados del patotipo B, tres aislados del patotipo A, dos aislados de *X. albilineans* y uno de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*.

Se obtuvieron muestras de ADN de un total de 839 lesiones de cancrrosis extraídas de los frutos cítricos. El ADN extraído, usando el kit de extracción comercial, resultó de buena calidad e integridad, según los fragmentos visualizados en gel de agarosa al 1% (Figura 2). Las cantidades de ADN obtenidas oscilaron entre 100 y 500 ng/μl.

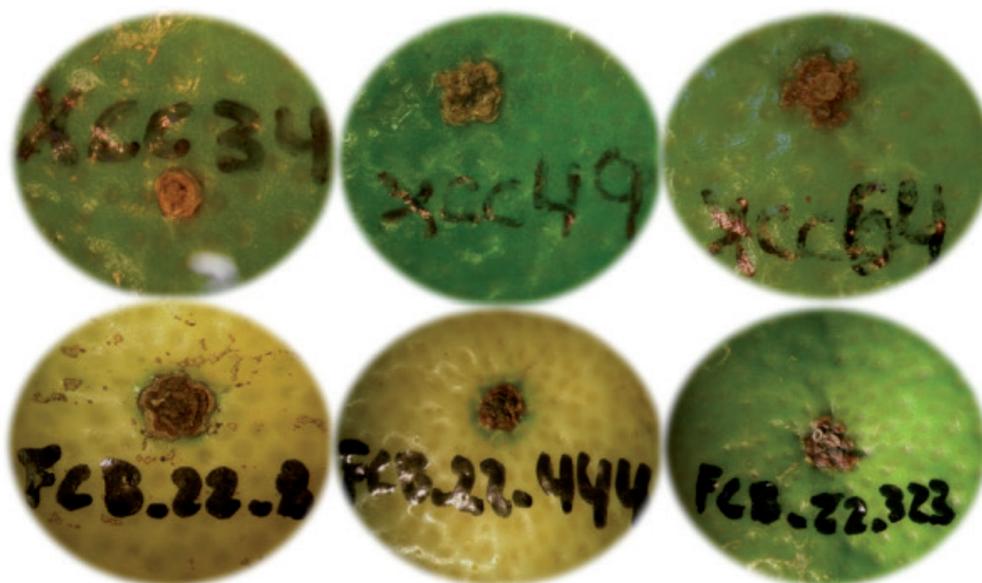


Figura 1. Síntomas de cancrrosis en frutos cítricos provenientes de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy, campaña 2022. Sección Fitopatología, EEOC.

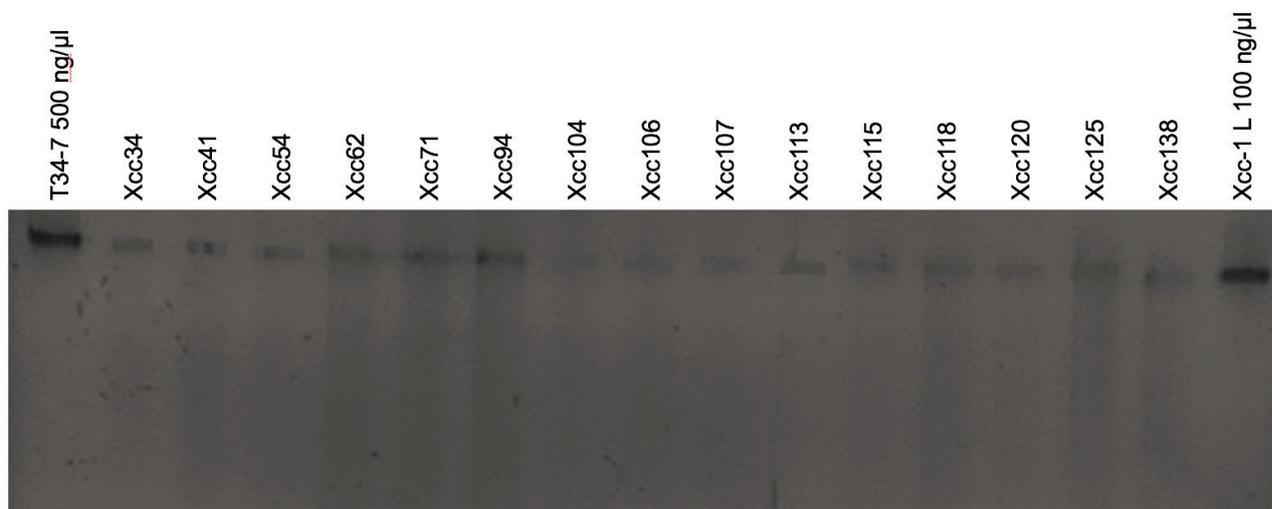


Figura 2. Fragmentos de ADN extraídos de las lesiones de cancrrosis visualizados en gel de agarosa 1%, Sección Fitopatología, EEOC.

### Identificación del patotipo de *Xanthomonas citri* por técnicas moleculares

#### • PCR para el patotipo B

Las reacciones de PCR específica de Fonseca *et al.* (2019) lograron amplificar un único fragmento de ADN de aproximadamente 434 pb en el control positivo de *X. citri* pv. *aurantifolii*. El LD de la PCR para identificar el patotipo B fue de  $1 \times 10^5$  UFC/ml (Figura 3). La técnica mostró especificidad al no amplificar fragmentos de ADN en la muestra del patotipo A (Xcc 1 col.), ni en los controles negativos como ser *Ca. L. asiaticus* (HLB), *X. fastidiosa* subsp. *pauc*a (CVC), *P. citri* (melanosis), *Elsinoe* sp. (sarna), *P. citricarpa* (M negra), *Phomopsis citri* y *Colletotrichum* sp., *X. axonopodis* pv. *phaseoli* y *X. albilineans* 2, ni en el NTC (Figura 3).

La técnica de PCR desarrollada por Fonseca *et al.* (2019) resultó accesible y económica, y permitió obtener buena calidad de análisis. El ajuste y validación de la técnica de PCR para diferenciar el patotipo B del A se realizó sin mayores inconvenientes. La sensibilidad de la PCR con un LD de  $1 \times 10^5$  UFC/ml fue similar al obtenido por Fonseca *et al.* (2019), donde su LD fue de  $1,5 \times 10^5$  UFC/ml. Otra ventaja de la técnica es que permite la detección de todos los patotipos en la misma reacción de PCR (PCR multiplex), donde una muestra puede ser sometida a una reacción de PCR con todos los cebadores, reduciendo el tiempo de obtención del resultado, lo cual no fue evaluado en el presente trabajo.

#### • PCR cuantitativo en tiempo real para el patotipo A

El ajuste, optimización y validación de la qPCR desarrollada por Cubero and Graham (2005) permitió detectar en forma específica al patotipo A. Las condiciones óptimas de la reacción fueron logradas al adicionar 1  $\mu$ l de ADN a la mezcla constituida por la solución de Premix Ex Taq (Takara) (1x); cebadores J-RTpth3, J-RTpth4 y

COXf/r (400 nM); sondas Xcc (160 nM) y COXp (140 nM) y agua libre de nucleasas, con un volumen final de 25  $\mu$ l. El programa de amplificación ajustado consistió de un ciclo inicial a 95°C por 10 min, seguido de 41 ciclos a 95°C por 15 s y 58,6°C a 30 s (hibridación y extensión).

La eficiencia de la reacción fue de 98% con una pendiente de -3,370. La precisión del ensayo fue alta ( $R^2=0,999$ ) en las diluciones del control positivo estándar realizadas basado en el análisis de regresión lineal. El valor de fluorescencia fue de 10.998, con un umbral de 864,518 (Figura 4). La técnica de qPCR mostró ser específica para detectar *X. citri* pv. *citri* (patotipo A) ya que no hubo amplificación en ninguno de los controles negativos utilizados. Según el trabajo de Cubero and Graham (2005), el diseño de los cebadores fue a partir del gen *pth*, el cual está presente en otras *Xanthomonas* spp, pero se basaron en resultados previos obtenidos con cepas de los patotipos A, A<sup>w</sup>, A\*, B y C; y también con *X. axonopodis* pv. *citrumelo* (Cubero and Graham, 2002). Si bien los autores reportaron que la técnica es específica para detectar la bacteria causante de la canchrosis de los cítricos, cualquiera fuese su patotipo, en el presente trabajo solo se pudo detectar al patotipo A, los controles correspondientes al patotipo B no produjeron curvas de amplificación.

La reacción usando diluciones del ADN de la lesión cuantificada mostró alta sensibilidad. El LD de la qPCR fue de  $1 \times 10^2$  UFC/ml, correspondiendo a un ciclo umbral Ct (por sus siglas en inglés-cycle threshold) promedio de 34,98. El valor de fluorescencia fue de 9.901, con un umbral de 554,667 (Figura 5).

Los coeficientes de correlación de la curva de calibración indicaron una fuerte relación entre la concentración de la bacteria y el Ct en la reacción. Además, la eficiencia de amplificación fue alta en un amplio rango de concentración de la bacteria, arrojando un LD de  $1 \times 10^2$  UFC/ml, demostrando su alta sensibilidad. El agregado de un juego de cebador-sonda que amplifica para el COX, permitió una ventaja adicional para poder evaluar la cali-

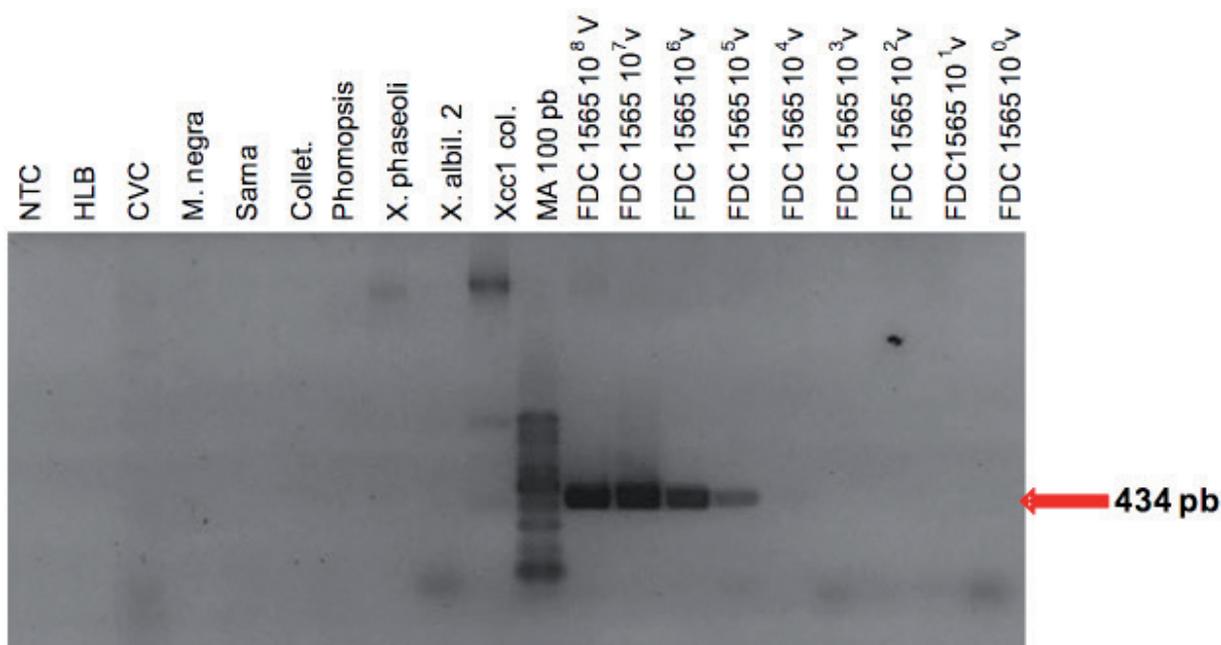


Figura 3. Fragmentos de ADN obtenidos con los cebadores XauBm F/XauBm R en gel de agarosa 1,5%. LD de *X. citri* pv. *aurantifolii* y controles negativos, Sección Fitopatología, EEAOC.

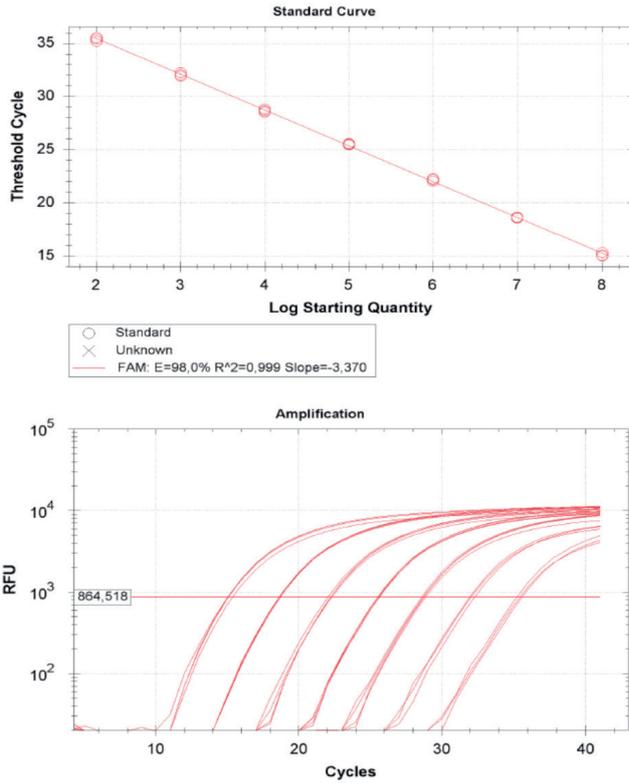


Figura 4. Curva de calibración con sonda TaqMan, para *X. citri* pv. *citri* (patotipo A) a partir de diluciones seriales de ADN de XccT  $10^8$  (Standard: O), Sección Fitopatología, EEOC. EEOC.

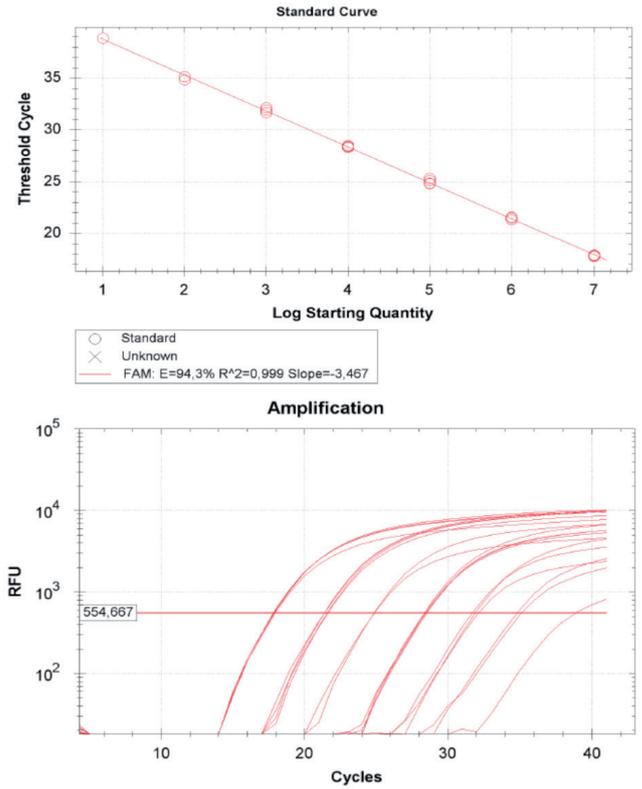


Figura 5. Determinación del LD mediante curva de amplificación con sonda TaqMan para *X. citri* pv. *citri* (patotipo A) a partir de diluciones seriales del ADN extraído de una lesión cuantificada, Sección Fitopatología, EEOC.

dad y cantidad de los ADN extraídos (Li *et al.*, 2006).

- **Análisis de muestras de frutos cítricos**  
No se detectó la presencia de la bacteria *X. citri*

pv. *aurantifolii*, patotipo B en las 839 muestras analizadas de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy. El control positivo FDC 1565 amplificó un fragmento de 434 pb, no así los controles negativos utilizados (Figura 6).

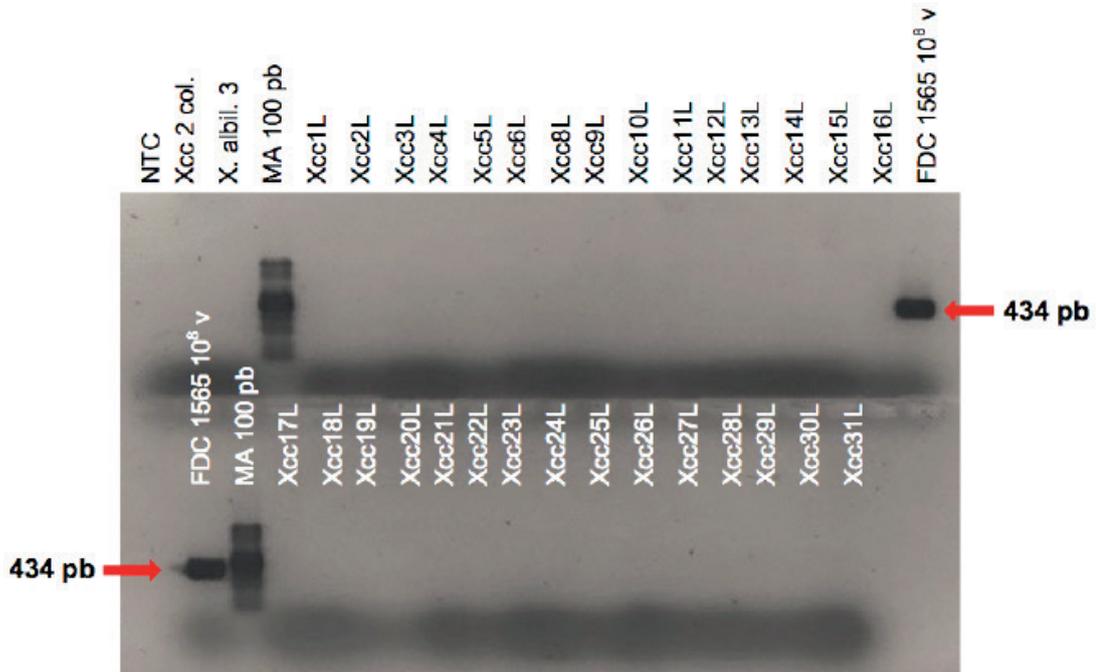


Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa 1,5% de PCR con los cebadores XauBm F/XauBm R usando ADN extraídos de lesiones de canchros en frutos cítricos, Sección Fitopatología, EEOC.

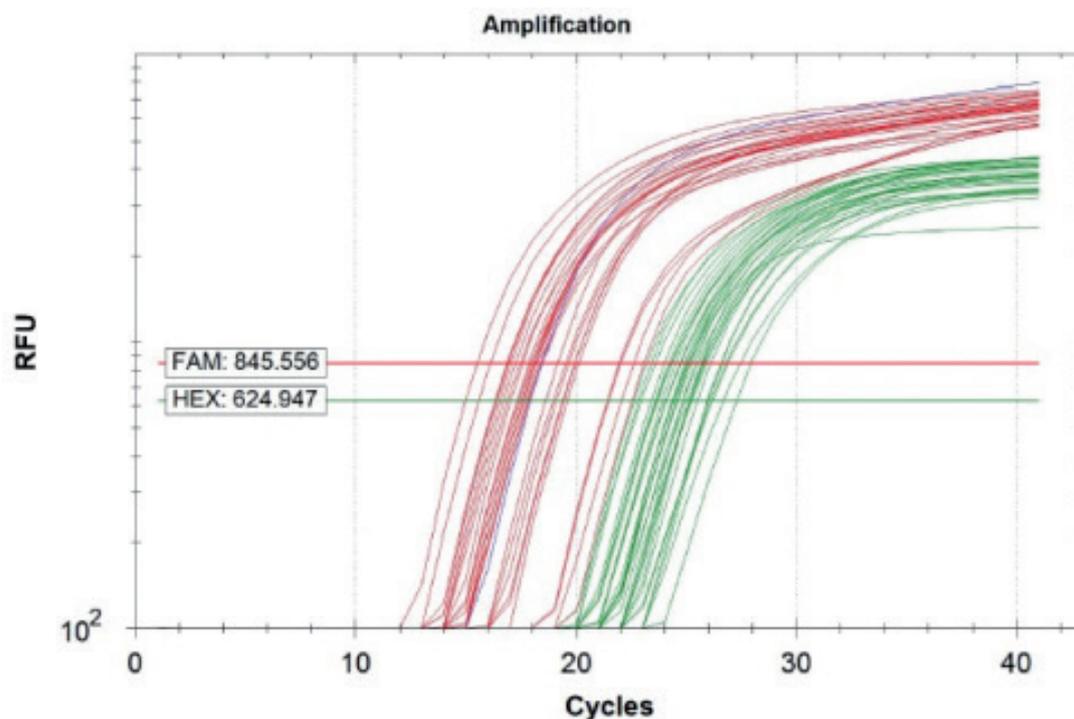


Figura 7. Curvas de amplificación de muestras de ADN extraído de frutos cítricos con síntomas de cancrrosis (curvas rojas) y de ADN vegetal utilizado como control interno (curvas verdes), resultados de la técnica de qPCR para *X. citri* pv. *citri* (patotipo A). Sección Fitopatología, EEAOC.

Las 168 muestras de ADN de lesiones de cancrrosis, que representan el 20% de la totalidad de muestras analizadas y que resultaron negativas para el patotipo B, produjeron curvas de amplificación para el patotipo A con la técnica de qPCR (Cubero and Graham, 2005) (Figura 7). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Ramallo *et al.* (2005), basados solamente en muestras de frutos de limón de Tucumán; sin embargo, en el presente estudio se logró ampliar las variedades cítricas y las zonas productoras monitoreadas, confirmando que la bacteria causante de la cancrrosis de los cítricos del NOA es *Xanthomonas citri* pv. *citri*, patotipo A.

### CONCLUSIONES

Ninguna de las muestras de frutos cítricos analizadas resultó positiva para *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* (cancrosis tipo B). Las muestras a su vez resultaron positivas para *Xanthomonas citri* pv. *citri* (cancrosis tipo A). Estos resultados, sumado a la falta de reportes de cancrrosis tipo B en la región, sugieren la ausencia del patotipo B en la región NOA y confirman que los síntomas de cancrrosis presentes corresponden al patotipo A.

Las técnicas moleculares ajustadas y validas de PCR convencional para el diagnóstico *X. citri* pv. *aurantifolii*, patotipo B, y la qPCR para la detección de *X. citri* pv. *citri*, patotipo A, mostraron una especificidad y sensibilidad adecuadas para realizar un diagnóstico confiable y específico en frutos cítricos que puede ser utilizada en los programas de exportación que lo requieran.

El presente estudio aporta información sobre el patotipo de *Xanthomonas citri* que afecta al cultivo de cí-

tricos en el NOA, y contribuirá a las actividades realizadas en el marco de los programas de exportación de fruta cítrica fresca a China, donde el patotipo A está presente, y requiere que la fruta argentina que se exporte a dicho país esté libre del patotipo B. Además, brindará una herramienta de diagnóstico de rutina para analizar las muestras con destino a otros mercados, donde se considere cuarentenario a uno o ambos tipos de cancrrosis.

### BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Canteros, B. I.; A. M. Gochez and R. C. Moschini. 2017. Management of Citrus Canker in Argentina, a Success Story. *Plant Pathology Journal* 33 (5): 441-449.
- Canteros de Echenique, B. I.; D. Zagory and R. E. Stall. 1985. A medium for cultivation of the B-strain of *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, cause of cancrrosis B in Argentina and Uruguay. *Plant Disease* 69: 122-123.
- Carreras Baldrés, J. I.; C. Fandos; F. J. Soria; P. Scandaliaris; D. Figueroa; N. Aranda y H. Salas. 2022. Estimación del área implantada con cítricos en Tucumán en 2022 y comparación con años precedentes. *Reporte Agroindustrial* 257, ISSN 2346-9102.
- Coletta-Filho, H. D.; M. A. Takita; A. A. de Souza; J. R. Neto; S. A. Destefano; J. S. Hartung and M. A. Machado. 2006. Primers based on the rpf gene region provide improved detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in naturally and artificially infected citrus plants. *Journal of Applied Microbiology* 100: 279-285.

- Cubero, J. and J. H. Graham. 2005.** Quantitative Real-Time polymerase chain reaction for bacterial enumeration and allelic discrimination to differentiate *Xanthomonas* strains on citrus. *Phytopathology* 95: 1333-1340.
- Cubero, J. and J. H. Graham. 2002.** Genetic relationship among worldwide strains of *Xanthomonas* causing canker in citrus species and design of new primers for their identification by PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 1257-1264.
- Cubero, J.; J. H. Graham and T. R. Gottwald. 2001.** Quantitative PCR method for diagnosis of citrus bacterial canker. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 2849-2852.
- EFSA, PLH Panel. 2014.** Panel (EFSA Panel on Plant Health) Scientific opinion on the risk to plant health of *Xanthomonas citri* pv. *citri* and *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* for the EU territory. *EFSA Journal* 12 (2): 3556.
- Egel, D. S.; J. H. Graham and R. E. Stall. 1991.** Genomic relatedness of *Xanthomonas campestris* strains causing diseases of Citrus. *Applied and Environmental Microbiology* 57 (9): 2724-2730.
- Fonseca, N. P.; E. B. Felestrino; W. L. Caneschi; A. B. Sanchez; I. F. Cordeiro and C. G. C. Lemes et al. 2019.** Detection and identification of *Xanthomonas* pathotypes associated with citrus diseases using comparative genomics and multiplex PCR. *PeerJ* 7: e7676.
- Goto, M.; T. Takahashi and M. A. Messina. 1980.** A comparative study of the strains of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* isolated from citrus canker in Japan and cancris B in Argentina. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 46: 329-338.
- Gottwald, T. R. 2000.** Citrus canker. The Plant Health Instructor. Sociedad Americana de Fitopatología. Actualizado 2005. <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/prokaryotes/Pages/CitrusCanker.aspx>.
- Gottwald, T. R.; J. H. Graham y J. E. Cardoso. 2013.** Cancro cítrico. The Plant Health Instructor. Sociedad Americana de Fitopatología. [En Línea] DOI 10.1094/PHI-I-2013-0507-01. Disponible en <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/prokaryote/pdlessons/Pages/CitrusCankerPort.aspx> (consultado junio 13 2023).
- Hartung, J. S.; J. F. Daniel and O. P. Pruvost. 1993.** Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* by the polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 1143-1148.
- Li, W.; J. S. Hartung and L. Levy. 2006.** Quantitative real-time PCR detection and quantification of *Candidatus Liberibacter* species associated with citrus huanglongbing. *J. Microbiol. Methods* 66: 104-115.
- Ibrahim, Y. E.; A. A. Saleh; M. H. El-Komy and M. A. Al-Saleh. 2015.** Detection of viable *Xanthomonas citri* pv. *citri*, the causal agent of citrus canker, in commercial fruits by isolation and PCR-based methods. *Journal of Phytopathology and Pest Management* 2: 55-66.
- Park, D. S.; J. W. Hyun; Y. J. Park; J. S. Kim; H. W. Kang; J. H. Hahn and S. J. Go. 2006.** Sensitive and specific detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* by PCR using pathovar specific primers based on hrpW gene sequences. *Microbiology Research* 161: 145-149.
- Ramallo, J.; N. E. Vázquez de Ramallo y L. D. Ploper. 2005.** En: Resumen XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología (pp. 216), Córdoba, Argentina.
- Rademaker, J. L. W.; F. J. Louws, M. H. Schultz; U. Rossbach; L. Vauterin; J. Swings and F. J. Brujin. 2005.** A comprehensive species to strain taxonomic framework for *Xanthomonas*. *Phytopathology* 95: 1098-1111.
- Robène, I.; V. Maillot-Lebon; A. Chabirand; A. Moreau; N. Becker y A. Moumène et al. 2020.** Development and comparative validation of genomic-driven PCR-based assays to detect *Xanthomonas citri* pv. *citri* in citrus plants. *BMC Microbiology*: 1-13.
- Sambrook, J.; E. F. Fritsch and T. Maniatis. 1989.** Molecular cloning: a laboratory manual (2° Ed.). Cold spring harbor laboratory press.
- Schaad, N. W.; E. Postnikova; G. H. Lacy; A. Sechler; I. Agarkova; P. E. Stromberg; V. K. Stromberg and A. K. Vidaver. 2005.** Reclassification of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (ex Hasse, 1915) Dye 1978 forms A, B/C/D, and E as *X. smithii* subsp. *citri* (ex Hasse) sp. nov. nom. rev. comb. nov., *X. fuscans* subsp. *aurantifolii* (ex Gabriel, 1989) sp. nov. nom. rev. comb. nov., and *X. alfalfae* subsp. *citrumelo* (ex Riker and Jones) Gabriel et al., 1989 sp. nov. nom. rev. comb. nov.; *X. campestris* pv. *malvacearum* (ex Smith 1901) Dye 1978 as *X. smithii* subsp. *smithii* nov. comb. nov. nom. nov.; *X. campestris* pv. *alfalfae* (ex Riker and Jones, 1935) Dye 1978 as *X. alfalfae* subsp. *alfalfae* (ex Riker et al., 1935) sp. nov. nom. rev.; and —var. “fuscans” of *X. campestris* pv. *phaseoli* (ex Smith, 1987) Dye 1978 as *X. fuscans* subsp. *fuscans* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 28, 494-518.
- Senasa. 2004.** Protocolo de requisitos fitosanitarios para la exportación de fruta fresca cítrica entre la secretaria de agricultura, ganadería, pesca y alimentos de la republica argentina y la administración general de supervisión de calidad, inspección y cuarentena de la república popular China. [En Línea] Disponible en [http://www.senasa.gov.ar/sites/default/files/ARBOL\\_SENASA/INFORMACION/PORTAL\\_CERTI/china\\_2\\_citricos-china.pdf](http://www.senasa.gov.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/INFORMACION/PORTAL_CERTI/china_2_citricos-china.pdf) (consultado junio 13 2023).
- Stall, R. E. and E. L. Civerolo. 1991.** Research relating to the recent outbreak of citrus canker in Florida. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29: 399-420.
- Stall, R. E.; G. M. Marcó and B. I. Canteros. 1981.** Pathogenicity of three strains of the citrus canker organism on grapefruit. En Proc. 5th Int. Conf. Plant Pathog. Bact. (pp. 334-340). Cali, Colombia.
- Vauterin, L.; B. Hoste; K. Kersters and J. Swings. 1995.** Reclassification of *Xanthomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 472-489.
- Vauterin, L.; J. Swings; K. Kersters; M. Gillis; T. W. Mew and M. N. Schroth et al. 1990.** Towards an improved taxonomy of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 40 (3): 312-316.

**Vernière, C; J. S. Hartung; O. P. Pruvost; E. L. Civero-  
lo; A. M. Alvarez; P. Maestri and J. Luisetti. 1998.**  
Characterization of phenotypically distinct strains of  
*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* from Southwest  
Asia. European Journal of Plant Pathology 104: 477-  
487.

A small decorative graphic consisting of several small squares in shades of blue and grey, arranged in a cluster.



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
33-38; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

# Evaluación con ajuste lineal de genotipos de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) negro, blanco y rojo para Tucumán y zonas de influencia

Clara M. Espeche\*, Lucas E. Tarulli\*, Mario R. Devani\* y L. Daniel Ploper\*\*

\*Sección Granos, EEAOC, \*\* Sección Fitopatología, EEAOC. Email: cespeche@eeaoc.org.ar.

## RESUMEN

El poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) es un cultivo regional para el noroeste de Argentina (NOA) siendo una alternativa estival importante para zonas semiáridas. Su rendimiento presenta fluctuaciones a través de los años, con un promedio de 1172 kg/ha para las últimas 10 campañas. Estas variaciones son el resultado de la conjunción de diversos factores bióticos y abióticos, siendo de estos últimos los más importantes en la región la sequía estacional y las altas temperaturas. La obtención de variedades con alto potencial de rendimiento y amplia adaptación, permitiría mitigar la problemática mencionada. El objetivo de este trabajo fue estudiar la adaptabilidad de cinco genotipos de poroto negro, siete de rojo y cinco de blanco, la mayoría pertenecientes al programa de mejoramiento del Proyecto Legumbres Secas de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), evaluados en Ensayos Comparativos de Rendimiento (ECR) durante el período 2016-2022, en diferentes localidades del NOA. Considerando los índices ambientales y por ajuste lineal, se analizó la estabilidad del rendimiento de los genotipos considerados. Los resultados mostraron que existen genotipos de comportamiento adaptables en los tres colores analizados. Las variedades de poroto negro lograron mayor productividad que los otros colores analizados para la zona en estudio, mientras que los genotipos de poroto blanco presentaron la más baja.

**Palabras clave:** ajuste lineal, adaptabilidad y estabilidad, genotipos de poroto.

## ABSTRACT

### Evaluation with linear adjustment of black, white and red beans (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for Tucuman and areas of influence

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is grown in northwestern Argentina (NWA), being an important alternate summer crop for semi-arid areas. Its yield fluctuates over the years, with an average of 1172 kg/ha for the past 10 seasons. These variations are the result of the interaction of various biotic and abiotic factors; seasonal drought and high temperatures which are important factors. Obtaining varieties with high yield potential and broad adaptation would allow the mitigation of the aforementioned problem. The objective of this work was to study the adaptability of five genotypes of black, seven red and five white beans, most of them belonging to the breeding program of the Dry Legumes Project of the Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) evaluated in Comparative Yield Tests (ECR) during the period 2016-2022 in different locations of NWA. Considering the environmental indices and using a linear adjustment, the stability of the performance of the genotypes considered was analyzed. The results showed that there were genotypes with adaptable behavior in the three colors analyzed. In the area under study. Black bean varieties presented higher productivity than the other colors analyzed while white bean genotypes had the lowest productivity.

**Key words:** linear adjustment, adaptability and stability, genotype.

Fecha de  
recepción:  
23/10/2023

Fecha de  
aceptación:  
26/06/2024

## INTRODUCCIÓN

El poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) es un cultivo regional para el noroeste de Argentina (NOA) y representa una importante alternativa estival para zonas semiáridas donde no es posible la siembra de otros cultivos de verano, como la soja y el maíz.

El rendimiento de este cultivo es muy fluctuante. Según datos de la Dirección de Producción Agrícola, en 2021 se sembraron alrededor de 523.000 hectáreas de poroto en el NOA con una producción de 758.750 t. Esto significa un rinde promedio de 1450 kg/ha. Sin embargo, los rendimientos a lo largo de los últimos 10 años fueron muy variables, con un mínimo de 664 kg/ha y 1450 kg/ha como máximo, con un promedio de 1172 kg/ha.

Los bajos rendimientos son el resultado de la conjunción de diversos factores bióticos y abióticos en la región. De estos últimos, los más importantes son la sequía estacional y las altas temperaturas. Este cultivo requiere durante su ciclo entre 350 a 400 mm de agua para lograr una producción satisfactoria. Con respecto a las temperaturas, el rango tolerable es de 15 – 29°C y la temperatura media es de 21°C (Fancelli, 2016). Entre los factores bióticos se pueden mencionar las enfermedades virales como el complejo mosaico dorado-mosaico enano. Entre las fúngicas, la mancha angular causada por *Pseudocercospora griseola* la mustia hilachosa producida por *Thanatephorus cucumeris*, y entre las enfermedades de origen bacteriano, la bacteriosis común (*Xanthomonas axonopodis*) es la más importante en la región.

La obtención de variedades con alto potencial de rendimiento, amplia adaptación y tolerancia a los principales factores bióticos y abióticos es una alternativa factible para mitigar la problemática mencionada; y es también uno de los objetivos del Proyecto Legumbres Secas de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). Para tal propósito se evalúan líneas y nuevas variedades en diferentes ambientes, con el objetivo de identificar genotipos sobresalientes, con características agronómicas superiores y mayor productividad que las de uso actual.

En la selección de mejores genotipos es necesario considerar las características agronómicas superiores, el rendimiento y la adaptación. Una vía para determinar la adaptación de genotipos en diferentes ambientes es mediante estudios de estabilidad del rendimiento (López Salinas *et al.*, 2011).

Para facilitar la interpretación de los resultados, en esta investigación definimos **adaptabilidad** como la capacidad de un genotipo de dar mayores respuestas a condiciones de mejor calidad ambiental; en tanto que **estabilidad** del rendimiento se refiere a su capacidad para proporcionar un comportamiento muy previsible, incluso con los cambios ambientales (Borém, 2001).

El objetivo de este trabajo fue evaluar, a través del índice ambiental y el ajuste lineal, el comportamiento de variedades comerciales y líneas avanzadas de poroto negro, blanco y rojo en diferentes ambientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis se utilizaron los resultados de los ensayos de poroto que conduce el Proyecto Legumbres Secas de la EEAOC, en diferentes localidades de Tucumán y zonas de influencia durante el período 2016-2022. Las localidades de evaluación fueron: San Agustín (departamento Cruz Alta, provincia de Tucumán), Los Altos (departamento Santa Rosa, provincia de Catamarca), Pozo Hondo (departamento Jiménez, provincia de Santiago del Estero) y Joaquín V. González (departamento Anta, provincia de Salta).

Como las localidades no se repitieron todos los años del período 2016-2022, se consideraron las combinaciones Localidad-Año como ambientes diferentes, quedando definidos 12 ambientes de prueba.

Los genotipos evaluados corresponden a variedades y líneas avanzadas de los Ensayos Comparativos de Rendimiento (ECR) de cada uno de los colores analizados, teniendo en cuenta para este estudio las que se repitieron en los 12 ambientes. En la Tabla 1 se presentan algunas características de las 17 variedades y líneas avanzadas estudiadas.

Al rendimiento promedio para cada ambiente, obtenido al promediar el rendimiento de los 17 genotipos, se lo denomina Índice Ambiental (IA), obteniéndose así 12 IA, uno para cada ambiente de prueba (Loc-Año). Los índices ambientales se ubicaron en el eje de las abscisas, ordenados de menor a mayor, y sobre ellos se localizaron en el gráfico los puntos de los valores de rendimiento logrados por esas variedades en cada ambiente. Estos rendimientos se ubicaron en el eje de las ordenadas, también dispuestos de manera creciente. Así, para cada ambiente se obtuvo una nube de puntos, que a su vez sirvieron de

**Tabla 1.** Principales características de las variedades y líneas de poroto, evaluadas en 4 localidades del NOA, durante el período 2016-2022.

Color de grano	Variedad/genotipo	Obtendor	Categoría
negro	TUC 300	EEAOC	variedad
	TUC 510	EEAOC	variedad
	TUC 550	EEAOC	variedad
	TUC 560	EEAOC	variedad
	TUC 570	EEAOC	variedad
blanco	Alubia Cerrillos	INTA Salta	variedad
	Leales INTA 10	INTA Leales	variedad
	BG 91-9	Productor local	variedad
	BG 91-9 x BG 2-2	Cruza EEAOC	línea
	CT x BG 2-2	Cruza EEAOC	línea
rojo	TUC 190	EEAOC	variedad
	T- Anita	Cruza EEAOC	línea
	T-AL	Cruza EEAOC	línea
	T-AR	Cruza EEAOC	línea
	TUC 180	EEAOC	variedad
	TUC 362	EEAOC	línea
	TUC 296	EEAOC	línea

base para poder realizar el ajuste lineal de los materiales. La pendiente de la recta obtenida indicó el comportamiento del genotipo, información que permitió determinar la “estabilidad” (pendiente similar o menor a la unidad) y “adaptabilidad” (valor de la pendiente superior a 1) de cada material, en función de la variación de su rendimiento por cada unidad de variación en el potencial productivo del ambiente (Figura 1).

En la Tabla 2 se presentan los milímetros de lluvia acumulados mensuales del período enero–junio, fecha de siembra y cosecha, y los milímetros de lluvia aportados durante el ciclo del cultivo.

## RESULTADOS

### Índice ambiental

Considerando los IA obtenidos de cada ambiente de prueba, se definieron siete ambientes favorables: JVG 2019, JVG 2018, SA 2022, SA 2017, SA 2016, SA 2019 y PH 2019; y cinco ambientes desfavorables: LA 2017, JVG 2020, SA 2021, PH 2018 y SA 2018. En la Figura 2 se muestra el rendimiento promedio (IA) para cada ambiente y los milímetros de lluvia registrados durante el ciclo del cultivo en cada caso.

El rendimiento promedio general fue 1450 kg/ha; por encima de este valor se ubicaron los ambientes favorables y por debajo, los desfavorables. Los IA más altos correspondieron a JVG 2019 y JVG 2018, con 2326 y 1947 kg/ha, respectivamente; en ambos casos no se contó con los registros de los aportes de lluvia durante el ciclo del cultivo. Si consideramos los siguientes ambientes favorables -SA 2022, SA 2016, SA 2019 y PH 2019-, los milímetros recibidos por el cultivo durante su ciclo fueron inferiores a los requeridos teóricamente (300 mm); pero si se observa en la Tabla 3 cómo fueron las distribuciones de los mm, en términos generales fueron uniformes siendo importantes los aportes en el mes de marzo, momento en que el cultivo para las zonas analizadas estaba iniciando la etapa reproductiva.

Los ambientes en los que el cultivo tuvo la menor productividad

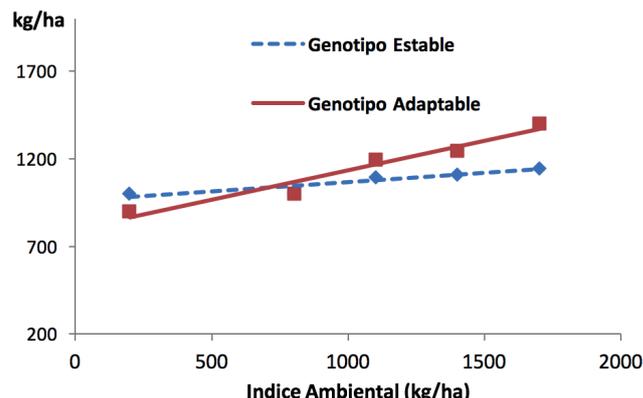


Figura 1. Ilustración de genotipo estable y adaptable.

fueron SA 2018 y PH 2018, con rendimientos promedio de 690 y 725 kg/ha, respectivamente. Si tenemos en cuenta el aporte hídrico durante el ciclo del cultivo en cada caso, el valor estuvo por debajo de los requerimientos del cul-

Tabla 2. Precipitaciones mensuales acumuladas y acumuladas del ciclo del cultivo para cada uno de los ambientes, evaluadas en cuatro localidades del NOA durante el periodo 2016-2022.

Ambiente	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Fecha de siembra	Fecha de cosecha	mm durante el ciclo
SA 2016	1230	105	52	40	16	26	03-feb	31-may	185
SA 2017	73	200	260	51	29	4	07-feb	09-jun	524
LA 2017	82	169	335	100	31	2	14-feb	22-jun	548
JVG 2018*							20-feb	12-jun	
SA 2018	311	81	50	125	22	0	05-feb	19-jun	280
PH 2018	256	87	12	63	44	0	14-feb	28-jun	180
JVG 2019*							06-feb	10-jun	
SA 2019	247	50	160	99	30	5	15-feb	19-jun	297
PH 2019	166	113	173	49	0	0	13-feb	12-jun	222,
JVG 2020*							13-feb	12-jun	
SA 2021	76	155	78	34	38	13	05-feb	04-jun	304
SA 2022	92	82	84	76	2	5	02-feb	03-jun	244

\*La localidad de Joaquín V. González no tiene registro de las precipitaciones.

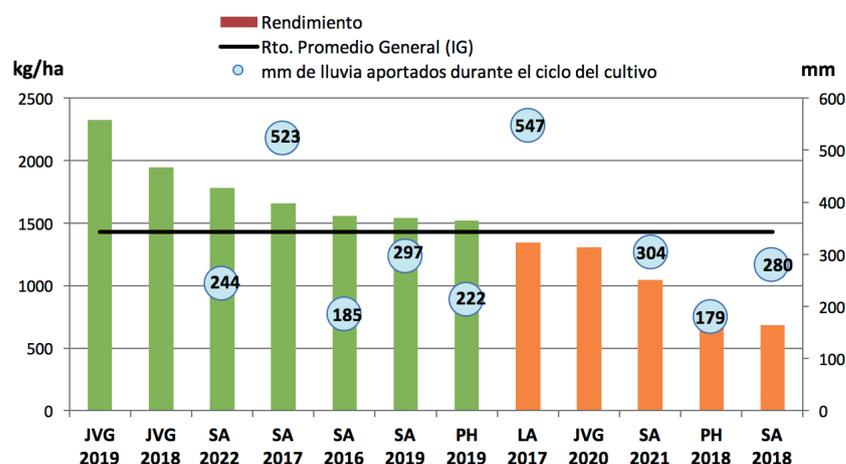


Figura 2. Índices ambientales (columnas verdes representan ambiente favorables, columnas anaranjadas representan ambientes desfavorables), rendimiento promedio general y milímetros de lluvia acumulada durante el ciclo del cultivo, en cuatro localidades del NOA, durante el período 2016-2022.

tivo; además, la distribución de las precipitaciones indica que la misma no acompañó en los momentos clave del cultivo. En el caso de SA 2018 hubo un exceso hídrico en abril (125 mm), lo cual va en detrimento del rendimiento; en PH 2018, en el mes de marzo solo ocurrieron 12 mm, fenómeno que afectó al cultivo en estadio inicio de floración.

**Comportamiento de las variedades por Ajuste Lineal**

**• Variedades de poroto negro**

Para este análisis se tuvieron en cuenta 12 ambientes de prueba. Las variedades TUC 570 y TUC 510 se comportaron como adaptables, presentando esta última la menor productividad cuando la calidad ambiental dis-

minuía. Por el contrario, en mejores condiciones tuvo una alta productividad con relación al resto de las variedades. TUC 560, TUC 550 y TUC 300 presentaron un comportamiento estable, ofreciendo TUC 560 la mayor productividad entre estas en todos los ambientes (Figura 3).

**• Variedades de poroto rojo**

De los siete genotipos de poroto rojo, tres se comportaron como adaptables y cuatro como estables (Figura 4). Entre los adaptables, T-AL presentó la mayor respuesta frente a las diferentes condiciones del ambiente, obteniendo el menor rinde en ambientes de baja calidad; y al contrario, a medida que mejoraron las condiciones del ambiente, logró un rendimiento superior al de los otros seis genotipos evaluados. Los restantes genotipos de comportamiento adaptable fueron TUC 190 y TUC 180.

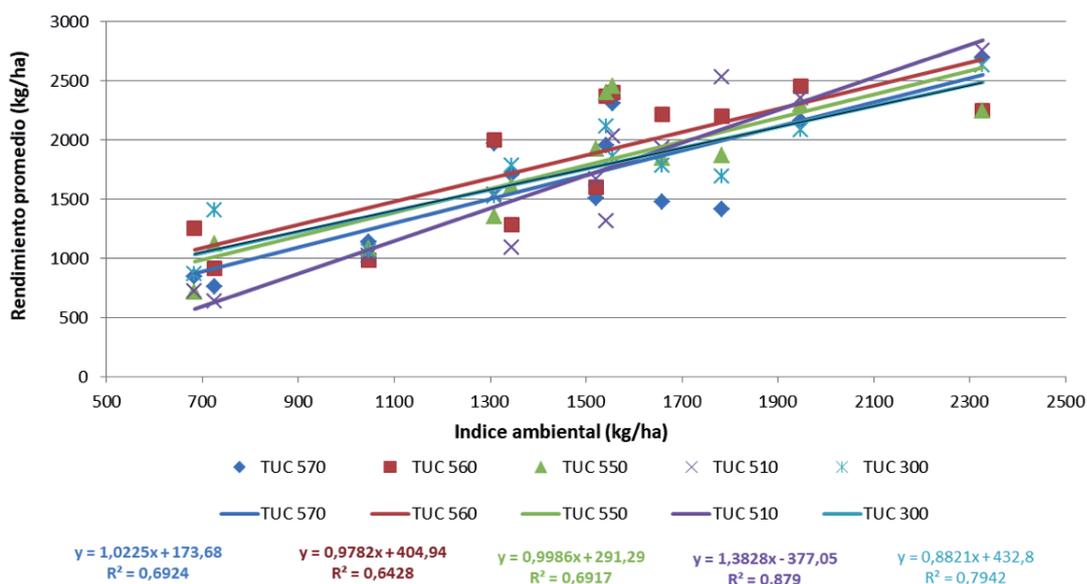


Figura 3. Ajuste lineal de las variedades de poroto negro, en cuatro localidades del NOA, durante el período 2016-2022.

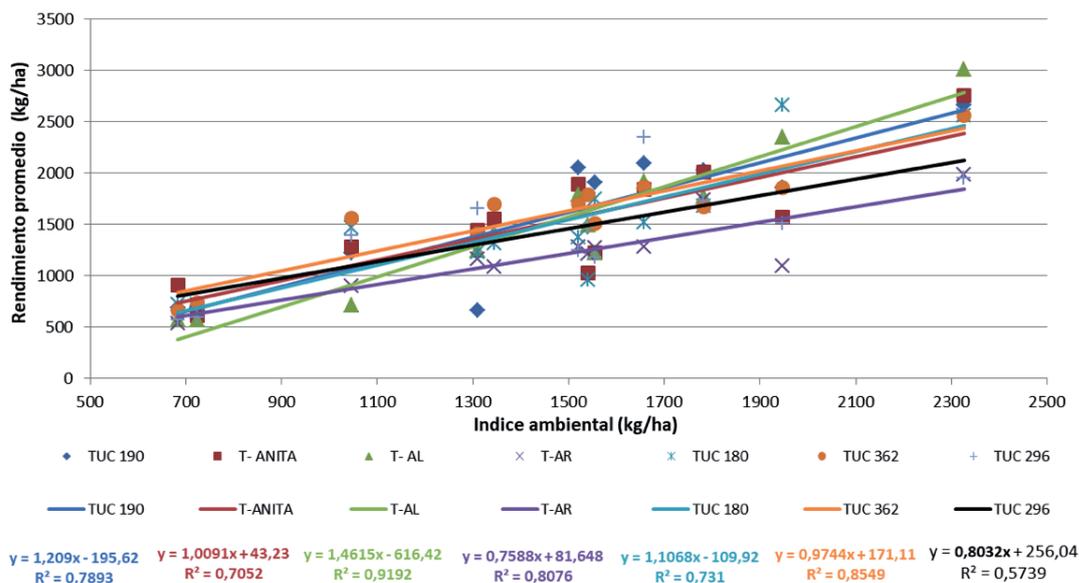


Figura 4. Ajuste lineal de las variedades de poroto rojo en cuatro localidades del NOA, durante el período 2016-2022.

Entre los estables, T-Anita, T-AR, TUC 362 y TUC 296, puede mencionarse que T-AR presentó la menor productividad en todos los ambientes, siendo esta una característica poco deseable en una variedad. TUC 362 presentó la mayor productividad en ambientes de baja calidad y cuando mejoró el ambiente se mantuvo estable, sin presentar un mayor incremento en el rendimiento.

• **Variedades de poroto blanco**

De las variedades de este grupo solo una presentó un comportamiento adaptable: la línea CT x BG 2-2, la cual en situaciones desfavorables obtuvo una productividad inferior a las otras variedades, que presentaron un comportamiento estable. En mejores condiciones, esta línea superó marcadamente al resto (Figura 5).

Entre las variedades de comportamiento estable,

Leales INTA 10 presentó la mejor productividad en todas las condiciones.

**Resumen del comportamiento de las 17 variedades evaluadas**

En la Figura 6 se observan las 17 variedades analizadas ubicadas en la gráfica en función del rendimiento promedio (eje de las ordenadas) y la pendiente de la ecuación (eje de las abscisas). El rendimiento promedio fue de 1450 kg/ha, ubicándose hacia la derecha del mismo las variedades con mayor potencial de rinde; y hacia la izquierda, las de menor potencial. Con respecto a la pendiente de la recta, por encima de 1 están las variedades adaptables y por debajo (menor a la unidad), las estables.

Se observa que las variedades de poroto negro

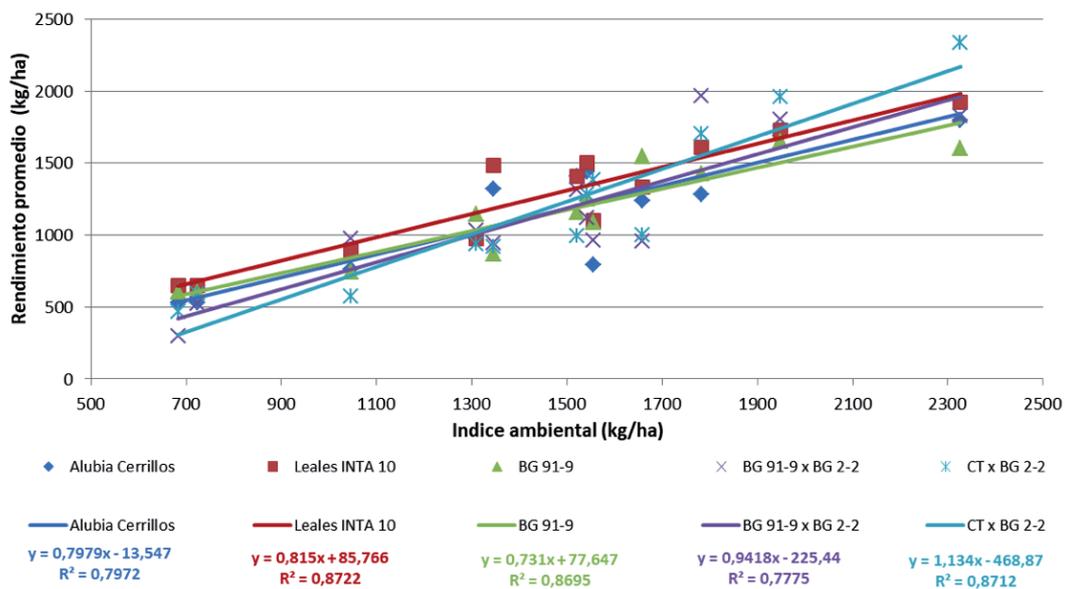


Figura 5. Ajuste lineal de las variedades de poroto blanco, en cuatro localidades del NOA, durante el período 2016-2022.

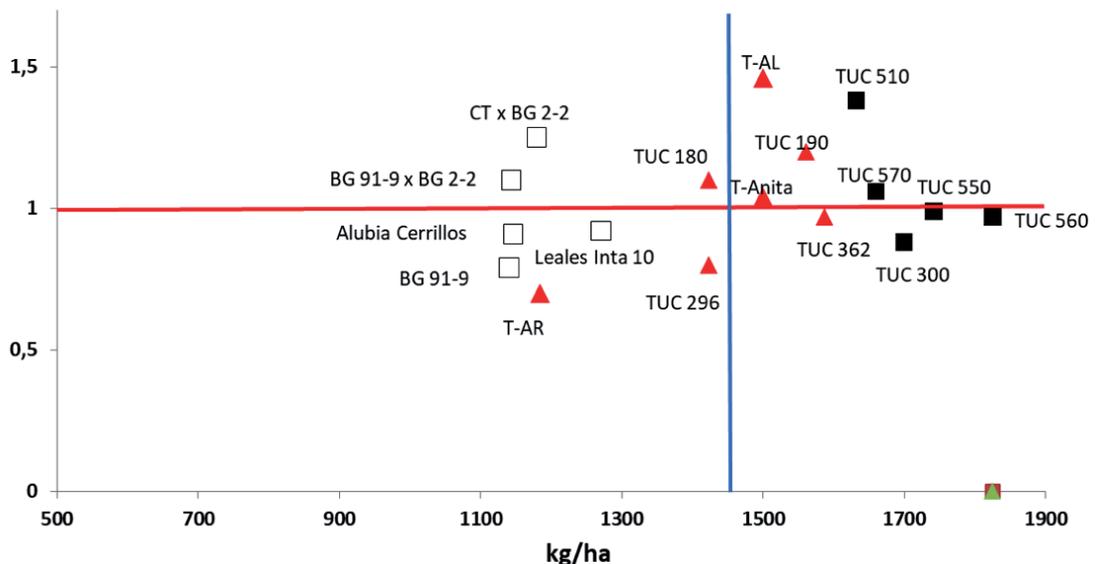


Figura 6. Ubicación de las variedades de poroto negro (representados por cuadros negros), rojo (representados por triángulos rojos) y blanco (representados por cuadros blancos) de acuerdo a su potencial de rendimiento y a su estabilidad. Durante el período 2016-2022 en cuatro localidades del NOA.

presentan mayor potencial de rendimiento que el resto de los otros colores analizados, mientras que las variedades de poroto blanco presentaron los menores rendimientos. Por otro lado, en los tres colores se encontraron variedades de comportamiento estable y adaptable. En este sentido, si el objetivo es identificar variedades que aseguren la productividad en el tiempo, las ubicadas en el cuadrante derecho inferior son las sugeridas (TUC 560, TUC 550, TUC 300 y TUC 362), mientras que las que están por encima de estas (TUC 570, TUC 510, TUC 190, T- AL y T- Anita) son de alto potencial de rendimiento con una respuesta diferencial a la mejora del ambiente.

## ■ CONCLUSIONES

El rendimiento del cultivo de poroto presenta grandes variaciones en función del ambiente.

Puede atribuirse la productividad del poroto en gran medida al aporte de agua durante el ciclo del cultivo; sin embargo, en algunos casos esta no llega a explicar la mayor o menor productividad obtenida, por lo que hay factores que hacen al ambiente, como las temperaturas y aspectos del manejo agronómico, entre otros, que no fueron contemplados en este análisis.

La distribución de las precipitaciones durante los meses del cultivo también es un factor que influye en el rendimiento, ya que el exceso o déficit hídrico en algunas etapas resulta en detrimento del rinde.

Con respecto al comportamiento de los genoti-

pos, en los tres colores se encontraron genotipos estables y adaptables.

Las variedades de poroto negro presentaron mayor adaptación y productividad que los otros colores analizados para la zona en estudio.

Los genotipos de poroto blanco tuvieron menor productividad que los otros colores considerados en este análisis.

## ■ BIBLIOGRAFÍA CITADA

**Borém, A. 2001.** Interação genótipo x ambiente, adaptabilidade e estabilidade de comportamento. In: Melhoramento de Plantas. 3. ed. Viçosa, Editora UFV, pp. 109-135.

**Fancelli, A. L. 2016.** Aspectos fisiológicos relevantes e influyentes en la productividad. En: Vizgarra, O. N.; C. M. Espeche y L. D. Ploper (eds). Manual técnico del cultivo de poroto para el Noroeste Argentino. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán 2016, pp. 288.

**López Salinas, E.; J. A. Acosta Gallegos; O. H. Tosquy Valle; R. A. Salinas Pérez; B. M. Sánchez García; R. Rosales Serna; C. González Rivas; T. Moreno Gallegos; B. Villar Sánchez; H. M. Cortinas Escobar y R. Zandate Hernández. 2011.** Estabilidad de rendimiento en genotipos mesoamericanos de frijol de grano negro en México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 2: 29-40.



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
39-46; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

# Características de las cenizas de bagazo y de residuos agrícolas de cosecha de la caña de azúcar (RAC) de Tucumán, Argentina

Marcos A. Golato\*, Cynthia E. Gutierrez\*, Gimena del Huerto Zamora Rueda\*, Gabriela Juárez\*\*, Norma Kamiya\*\*, Dora Paz\* y Marcelo R. Ruíz\*

\*Sección Ingeniería y Proyectos Agroindustriales, \*\*Sección Química de Productos Agroindustriales, EEAOC.  
Email: mgolato@eeaoc.org.ar

## RESUMEN

El uso de biomasa combustible en calderas de vapor de la industria azucarera requiere evaluar sus características fisicoquímicas y energéticas debido a la variabilidad climática y el tipo de caña. Este estudio presenta los resultados de la caracterización de cenizas de bagazo de caña de azúcar y residuos de cosecha (RAC) de Tucumán, Argentina. Se analizaron 18 muestras provenientes de la variedad de caña LCP 85-384, a las cuales se les determinaron contenidos de cenizas, cloro (Cl) y azufre (S) siguiendo normas ASTM. Además, se determinaron contenidos de aluminio (Al), calcio (Ca), hierro (Fe), magnesio (Mg), potasio (K), silicio (Si), sodio (Na) y titanio (Ti), mediante técnicas de espectroscopia de absorción atómica (AAS) y espectroscopia de emisión atómica (AES). El contenido de fósforo (P) se determinó por colorimetría. En cenizas de bagazo, los principales componentes fueron: Si (241,1 g/kg), K (42,2 g/kg), Al (38,0 g/kg), Ca (11,0 g/kg) y Fe (7,8 g/kg), equivalentes a %SiO<sub>2</sub> (54,25%), %Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (7,84%), %K<sub>2</sub>O (5,29%), %CaO (1,60%) y %Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (1,2%). En las cenizas de RAC, los elementos principales fueron: Si (257,5 g/kg), K (119,1 g/kg), Ca (53,3 g/kg), Mg (14,9 g/kg) y Na (5,7 g/kg), equivalentes a %SiO<sub>2</sub> (55,09%), %K<sub>2</sub>O (14,34%), %CaO (7,46%), %MgO (2,47%) y %Na<sub>2</sub>O (0,8%). Estos resultados servirán como referencia para futuros análisis y para estimar el posible comportamiento de las cenizas en las calderas de vapor.

**Palabras clave:** biomasa, composición química, combustión.

## ABSTRACT

### Characteristics of bagasse ash and agricultural residues from sugar cane harvest (RAC) in Tucumán, Argentina

The use of biomass fuel in steam boilers in the sugar industry requires evaluating its physicochemical and energetic characteristics due to climatic variability and the type of cane. This study presents the results of the characterization of sugarcane bagasse ash and harvest residue (RAC) from Tucumán, Argentina. Eighteen samples from the LCP 85-384 cane variety were analyzed, determining ash, chlorine (Cl), and sulfur (S) contents following ASTM standards. Additionally, aluminum (Al), calcium (Ca), iron (Fe), magnesium (Mg), potassium (K), silicon (Si), sodium (Na), and titanium (Ti) contents in ashes were determined using atomic absorption spectroscopy (AAS) and atomic emission spectroscopy (AES) techniques. Phosphorus (P) content was determined by colorimetry. In bagasse ash, the main components were: Si (241.1 g/kg), K (42.2 g/kg), Al (38.0 g/kg), Ca (11.0 g/kg), and Fe (7.8 g/kg), equivalent to %SiO<sub>2</sub> (54.25%), %Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (7.84%), %K<sub>2</sub>O (5.29%), %CaO (1.60%), and %Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (1.2%). In RAC ashes, the main elements were: Si (257.5 g/kg), K (119.1 g/kg), Ca (53.3 g/kg), Mg (14.9 g/kg), and Na (5.7 g/kg), equivalent to %SiO<sub>2</sub> (55.09%), %K<sub>2</sub>O (14.34%), %CaO (7.46%), %MgO (2.47%), and %Na<sub>2</sub>O (0.8%). These results will serve as a reference for future analyses and to estimate the possible behavior of the ashes in steam boilers.

**Key words:** biomass, chemical composition, combustion.

Fecha de  
recepción:  
04/12/2023

Fecha de  
aceptación:  
18/09/2024

## INTRODUCCIÓN

Con el objetivo de mejorar la matriz energética de los procesos productivos, de manera de volverlos más sustentables y amigables con el medioambiente, se ha comenzado a tener mayor interés en el uso de la biomasa como fuente de energía. Actualmente, nuestro país posee un gran potencial para el aprovechamiento de diversas fuentes de biomasa debido a la producción agrícola, forestal y agroindustrial de que se dispone. Se estima una producción de biomasa seca proveniente de residuos foresto industrial mayor a 2 t/año, residuos de plantaciones (poda, raleo y tala rasa) mayor a 5 t/año, aprovechamiento sustentable de bosques nativos de más de 9 t/año y residuos agrícolas y agroindustriales, superior a 9 t/año. Esto hace un total de más de 25 t/año, equivalente a 6200 MW de potencia (Probiomasa, 2020). Si se considera la zafra 2016, la superficie plantada con caña de azúcar en Tucumán fue de 274.180 ha (Fandos *et al.*, 2016), adoptando un rendimiento conservador para este cultivo de 56,6 t/ha; y considerando que el 78% son tallos molibles y el 30% de bagazo en caña, la cantidad de bagazo anual equivaldría a 13,24 t/ha cosechada. Asimismo, considerando las necesidades agronómicas del suelo de acuerdo a recomendaciones técnicas de Tortora *et al.* (2013) y Fernández de Ullivarri *et al.* (2012), y a la eficiencia de la maquinaria recolectora/densificadora utilizada (Casen *et al.*, 2012; 2015), se determinó que el RAC seco factible de recolectar fue de 1.245.283 t, equivalente a 4,69 t/ha para la zafra 2014.

Para lograr un sistema de generación estable es importante conocer sobre las tecnologías de combustión y adecuarlas a las necesidades impuestas por el combustible que se desea utilizar. En particular, cuando se trata de residuos agroindustriales o de cultivos energéticos, la composición química resulta diferente al resto de las biomásas. Estos combustibles tienen mayor contenido de minerales, en particular sodio (Na), potasio (K), fósforo (P) y cloro (Cl); altos contenidos de cenizas de bajo punto de fusión y alto potencial corrosivo (Melissari, 2012; Pronobis, 2005). Según Feijóo *et al.* (2015) y Golato *et al.* (2017), es factible aprovechar el RAC como combustible adicional en calderas de vapor de la industria azucarera. No obstante, debido al elevado contenido de cenizas y la mayor cantidad de elementos básicos en su composición elemental, podrían presentarse bajas temperaturas de fusión en relación a las cenizas de bagazo. Además, podrían ocasionar un aumento de los depósitos en el hogar de la caldera o producir problemas de escorificación e incrustaciones en tubos y en partes internas del generador de vapor (Golato *et al.*, 2022).

En el presente trabajo se muestran los resultados de una caracterización elemental realizada en cenizas de bagazo y de RAC de caña de azúcar de Tucumán (Argentina) y una comparación con los resultados encontrados para estas biomásas de otras regiones del mundo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron y procesaron nueve muestras de bagazo provenientes de ingenios tucumanos y nueve muestras de RAC recolectadas de campos cañeros

durante las zafras azucareras 2016, 2017, 2018 y 2019. Todas las muestras analizadas pertenecen a la variedad de caña LCP 85-384. Se determinaron los componentes mayoritarios de las cenizas, según Pronobis (2005). Los metales considerados fueron: aluminio (Al), calcio (Ca), hierro (Fe), magnesio (Mg), potasio (K), silicio (Si), sodio (Na), titanio (Ti) y fósforo (P). Además, se determinaron los contenidos de cloro total (Cl) y azufre total (S) en las muestras de cenizas por ser elementos promotores de la corrosión y formación de depósitos en las superficies de intercambio de calor (Ojeda *et al.*, 2022).

### Determinación del contenido de cenizas

El contenido de cenizas se determinó en base seca a partir de las muestras de biomásas recolectadas, empleando un horno tipo mufla marca ORL. Se trabajó a 550°C, durante ocho horas y hasta alcanzar peso constante, siguiendo la norma ASTM D 5142 modificada.

### Determinación de cloro en cenizas

Para la determinación del contenido de Cl se siguió la metodología propuesta en la norma ASTM E 776-87 modificada, según Gutierrez *et al.* (2016). La modificación a la norma consistió en la realización de una valoración por precipitación, usando como indicador una solución de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), como indica el "Standard Methods" (2012) para la determinación de cloruros en agua, en vez de la valoración potenciométrica establecida en la norma original.

### Determinación de azufre en cenizas

Para la determinación del contenido de S se siguió la metodología propuesta en la norma ASTM D 3177-02, creada originalmente para carbón mineral. Para ello se siguió el método B, también llamado "método de lavado de la bomba", donde se determinó el contenido de S mediante la combustión de una muestra de biomasa en bomba calorimétrica, según Mistretta *et al.* (2019).

### Determinación de fósforo en cenizas

Para la determinación del contenido de P se determinó por colorimetría, siguiendo la metodología SMWW Part 4500-P-C, propuesta en el "Standard Methods" para agua y aguas residuales (SM, 2017).

### Análisis de metales en cenizas

Las determinaciones de los contenidos de metales se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Metales, de la Sección Química de los Productos Agroindustriales de la Estación Experimental Agroindustrial (EEAOC), mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica (EAA); salvo el K, que se realizó por emisión atómica (EEA), basada en la norma ASTM D 3682-01 modificada para biomasa.

Como punto de partida se procedió a la descontaminación de todo el material utilizado; este fue lavado con detergente no iónico y enjuagado varias veces con agua desionizada, para luego ser descontaminado con

ácido nítrico y enjuagado con agua desionizada. La preparación previa al análisis consistió en digestiones de las cenizas de las biomásas ensayadas, una por vía seca (cenizas carbonatadas) y otra por vía húmeda (en medio ácido).

Para el análisis de Ca, Fe, Mg, K y Na se siguió la metodología propuesta por Feng *et al.* (1999). Se prepararon cenizas carbonatadas de las muestras a partir de 0,5 g de las muestras iniciales y se calcinaron dos veces en mufla a 550°C durante 2 h. Luego se solubilizaron en ácido nítrico y se diluyeron a 50 ml en matraz de vidrio. Asimismo, para el análisis del Al, Si y Ti se realizó una digestión ácida. Para ello se pesó 0,1 g de muestra de ceniza original que se colocó en tubos de teflón, se agregó 4 ml de ácido nítrico concentrado y se calentó en baño termostático entre 95° y 100°C hasta la eliminación de los vapores pardos. Posteriormente, se agregó 2 ml de ácido fluorhídrico (HF) al 48%, continuando el calentamiento en el baño termostático por 15 min más. Se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó a 25 ml en matraz de plástico.

Las concentraciones se determinaron por aspiración directa en la llama de las muestras digeridas, previa realización de una curva de calibración donde se esta-

bleció la relación Absorbancia-Concentración del analito. Para ello, se prepararon soluciones estándares de los metales a partir de estándares comerciales de 1000 mg/L trazables a NIST. Para la estabilización de estos estándares se utilizó ácido nítrico. En todos los casos se emplearon reactivos grado pro-análisis y agua desionizada de 18,2 MΩ cm.

Las absorbancias se leyeron en un espectrómetro de absorción atómica, marca PerkinElmer, modelo Analyst 100, empleando las condiciones estándares que se indican en Tabla 1, según lo indicado por Golato (2021).

#### Determinación de la concentración de óxidos en cenizas

Las determinaciones de los contenidos de los óxidos mayoritarios en las cenizas de bagazo y de RAC de caña de azúcar se realizaron según la estequiometría de las reacciones de oxidación de los metales, siguiendo la norma ASTM D 3682-01, conforme a la concentración de metales encontrados en dichas cenizas. La Tabla 2 muestra un resumen de las ecuaciones estequiométricas supuestas y las fórmulas utilizadas para las determinacio-

Tabla 1. Condiciones estándares para las determinaciones por EAA y EEA (Golato, 2021).

Metal	Longitud de onda [nm]	Método/Llama	Curva de calibración [mg/L] (lineal) [mg/L]	Se adiciona
Aluminio	309,3	EAA/Nitroso-acetileno	5, 10, 15 y 20	0,1 % de cloruro de potasio
Calcio	422,7	EAA/Aire-acetileno	1,5, 2,5 y 5,0	0,1 % de cloruro de potasio y 0,1 % de cloruro de lantano
Hierro	248,3	EAA/Aire-acetileno	0,25, 0,50, 1,0 y 1,5	Sin adicionales
Magnesio	285,2	EAA/Aire-acetileno	0,25, 0,50 y 1,0 (no lineal)	0,1 % de cloruro de potasio y 0,1 % de cloruro de lantano
Potasio	766,5	EEA/Aire-acetileno	0,1, 0,3 y 0,5	0,1 % de cloruro de lantano
Silicio	251,6	EAA/Nitroso-acetileno	20, 50 y 100	1,0 % de ácido fluorhídrico (HF)
Sodio	589,0	EAA/Aire-acetileno	0,1, 0,3 y 0,5	0,1 % de cloruro de potasio
Titanio	364,3	EAA/Nitroso-acetileno	10, 20 y 50	0,1 % de cloruro de potasio

Tabla 2. Ecuaciones utilizadas en la determinación de %Óxido a partir de los elementos mayoritarios encontrados en cenizas (Golato, 2021).

Elemento mayoritario	Peso atómico (metal/no metal) [g/mol]	Peso molecular (óxido) [g/mol]	Reacción estequiométrica (oxidación)	%Óxido
Silicio (Si)	28,08	60,07	$\text{Si} + \text{O}_2 \rightarrow \text{SiO}_2$	$\% \text{SiO}_2 = \text{Si} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{SiO}_2}}{\text{PA}_{\text{Si}} \cdot 10}$
Aluminio (Al)	27,00	102,00	$4 \text{ Al} + 3 \text{ O}_2 \rightarrow 2 \text{ Al}_2\text{O}_3$	$\% \text{Al}_2\text{O}_3 = \text{Al} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{Al}_2\text{O}_3}}{2 \cdot \text{PA}_{\text{Al}} \cdot 10}$
Titanio (Ti)	47,90	79,90	$\text{Ti} + \text{O}_2 \rightarrow \text{TiO}_2$	$\% \text{TiO}_2 = \text{Ti} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{TiO}_2}}{\text{PA}_{\text{Ti}} \cdot 10}$
Hierro (Fe)	55,8	159,2	$4 \text{ Fe} + 3 \text{ O}_2 \rightarrow 2 \text{ Fe}_2\text{O}_3$	$\% \text{Fe}_2\text{O}_3 = \text{Fe} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{Fe}_2\text{O}_3}}{2 \cdot \text{PA}_{\text{Fe}} \cdot 10}$
Calcio (Ca)	40,08	56,08	$2 \text{ Ca} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ CaO}$	$\% \text{CaO} = \text{Ca} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{CaO}}}{\text{PA}_{\text{Ca}} \cdot 10}$
Magnesio (Mg)	24,3	40,3	$2 \text{ Mg} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ MgO}$	$\% \text{MgO} = \text{Mg} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{MgO}}}{\text{PA}_{\text{Mg}} \cdot 10}$
Sodio (Na)	22,98	61,97	$4 \text{ Na} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ Na}_2\text{O}$	$\% \text{Na}_2\text{O} = \text{Na} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{Na}_2\text{O}}}{2 \cdot \text{PA}_{\text{Na}} \cdot 10}$
Potasio (K)	39,1	94,2	$4 \text{ K} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ K}_2\text{O}$	$\% \text{K}_2\text{O} = \text{K} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{K}_2\text{O}}}{2 \cdot \text{PA}_{\text{K}} \cdot 10}$
Fósforo (P)	30,97	141,94	$4 \text{ P} + 5 \text{ O}_2 \rightarrow 2 \text{ P}_2\text{O}_5$	$\% \text{P}_2\text{O}_5 = \text{P} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{P}_2\text{O}_5}}{2 \cdot \text{PA}_{\text{P}} \cdot 10}$
Azufre (S)	32,06	80,06	$2 \text{ S} + 3 \text{ O}_2 \rightarrow 2 \text{ SO}_3$	$\% \text{SO}_3 = \text{S} \left[ \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right] \cdot \frac{\text{PM}_{\text{SO}_3}}{\text{PA}_{\text{S}} \cdot 10}$

nes de los porcentajes de óxidos (%Óxido), a partir de los elementos correspondientes y de sus pesos moleculares, considerando una reacción completa, según lo indicado por Golato (2021).

### ■ RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra los resultados obtenidos de la concentración de elementos mayoritarios encontrados en cenizas de bagazo y RAC de caña de azúcar, analizadas en el presente estudio. Los valores se encuentran expresados en gramo [g] del elemento por kilogramo [kg] de ceniza en base seca. La Figura muestra que los elementos de mayor proporción en cenizas de bagazo fueron el Si (241,1 g/kg), K (42,2 g/kg), Al (38,0 g/kg), Ca (11,0 g/kg) y Fe (7,8 g/kg); y en cenizas de RAC fueron el Si (257,5 g/kg), K (119,1 g/kg), Ca (53,3 g/kg), Mg (14,9 g/kg) y Na (5,7 g/kg).

Las concentraciones de Si y Al les infiere a las cenizas características ácidas, por lo que es de esperar que las mismas mantengan iguales propiedades en su estructura final. Por otro lado, es probable que el elevado contenido de K, en combinación con Si, Ca y Mg, influya negativamente en la estructura química final de las escorias por su condición alcalina, lo que traería aparejado problemas de fusibilidad a elevadas temperaturas, según lo observado por Nogués *et al.* (2010).

Comparando las cenizas de ambas biomásas, es de esperarse que el RAC presente cenizas con características más básicas respecto al bagazo, debido a los mayores contenidos de elementos alcalinos encontrados en esta biomasa, lo que provocaría menores temperaturas de fusión en las cenizas, según lo indicado por Vamvuka *et al.* (2017). La Figura 2 muestra las correspondientes con-

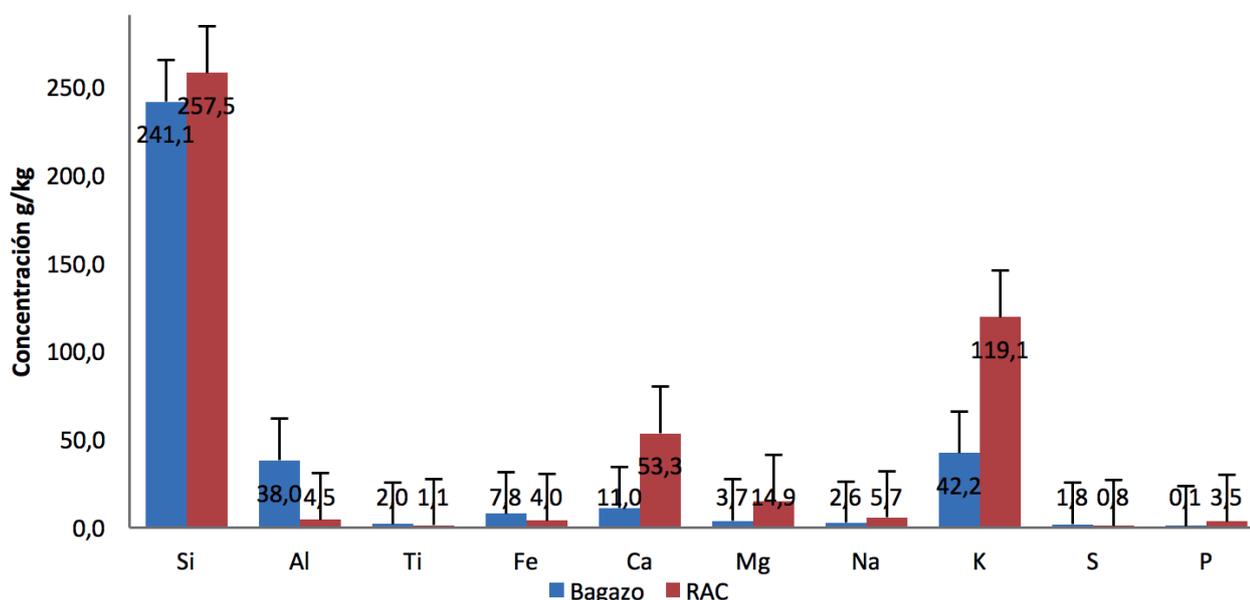


Figura 1. Concentración de elementos mayoritarios en cenizas de bagazo y RAC de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

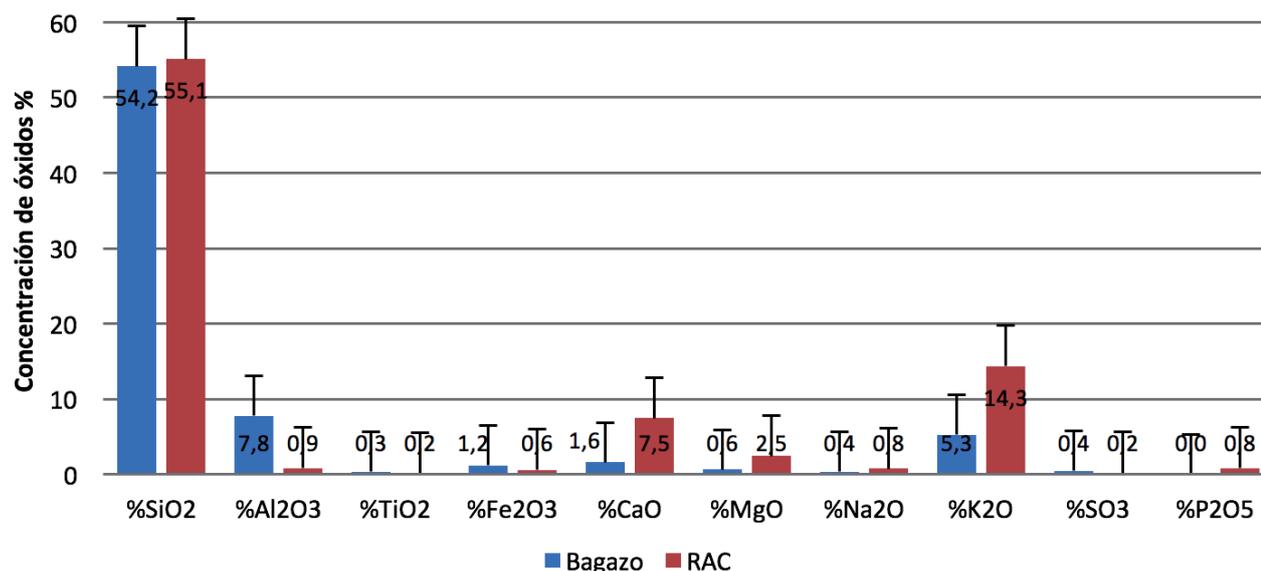


Figura 2. Concentración de óxidos mayoritarios en cenizas de bagazo y RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

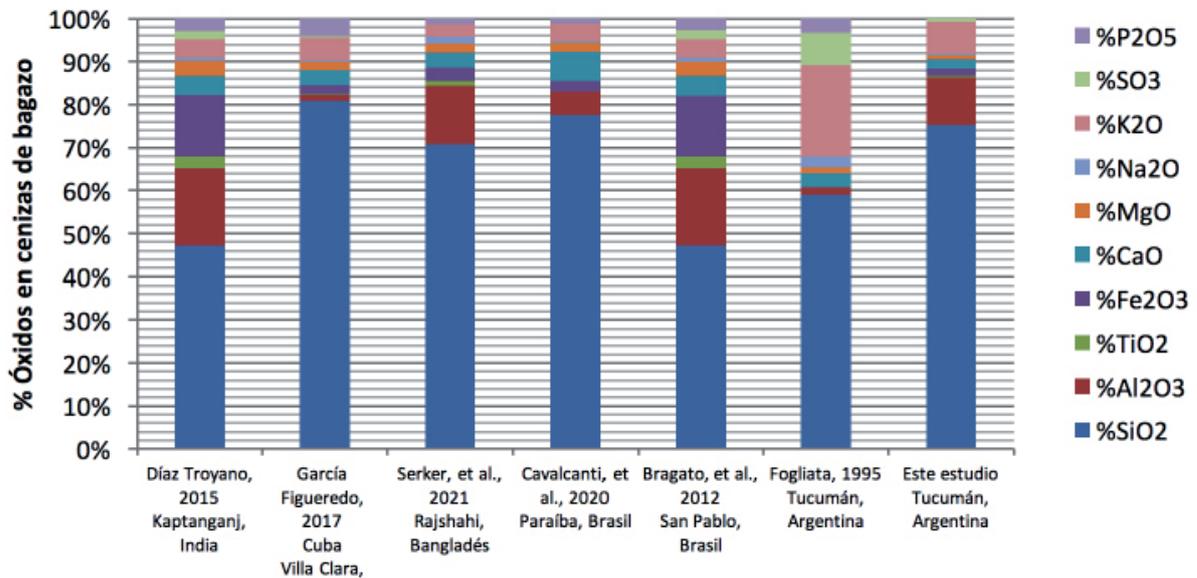


Figura 3. Composición química de cenizas de bagazo de caña de azúcar para diferentes regiones del mundo. Elaboración propia.

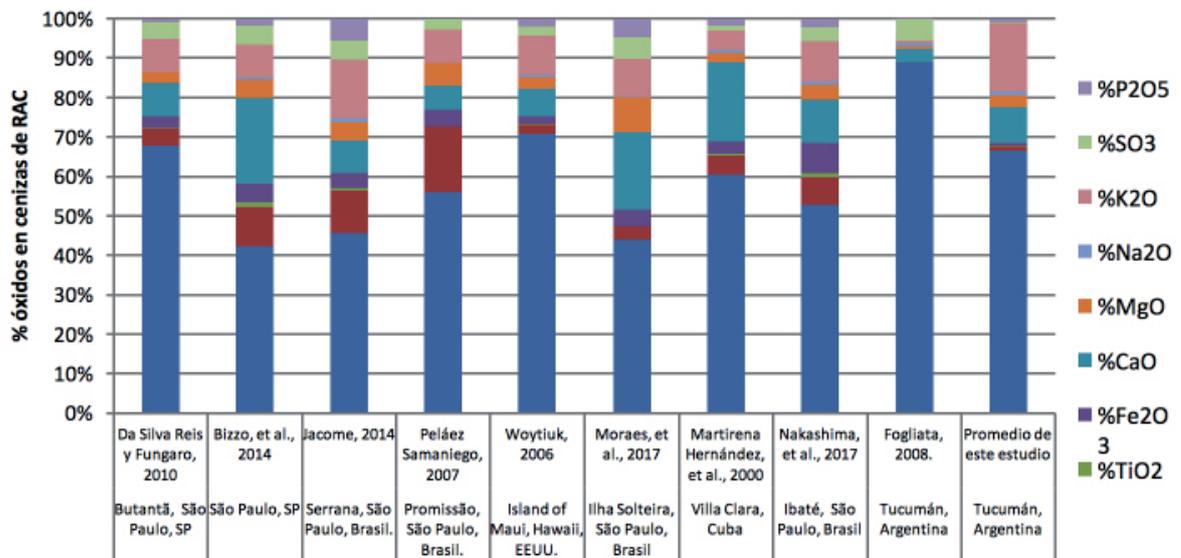


Figura 4. Composición química de cenizas de RAC de caña de azúcar para diferentes regiones del mundo. Elaboración propia.

centraciones promedio de los elementos mayoritarios (expresados como óxidos). Además, se indica el error típico como índice de dispersión para cada elemento analizado.

La Figura 3 muestra una comparación entre los óxidos mayoritarios encontrados en los bagazos de este estudio en relación a los informados por otros autores para diferentes regiones del mundo. Es importante observar que existen diferencias significativas entre los mismos, incluso para bagazos de nuestra región, según puede constatarse con los datos informados por Fogliata (1995). Este hecho podría deberse a diferencias en la variedad de caña de azúcar, tipo de cosecha, rendimiento de la máquina cosechadora, tipo de zona agroecológica (suelos diferentes), acondicionamiento de la biomasa para su estudio, técnicas diferentes de análisis, etc. No obstante, los valores informados se encuentran en igual orden de magnitud a los considerados de referencia.

La Figura 4 muestra una comparación promedio entre los óxidos mayoritarios encontrados en RAC de este estudio en relación a los informados para otras regiones del mundo. Aquí también se pueden observar diferencias significativas entre los parámetros analizados por similares causas a las indicadas para bagazo. No obstante, estos resultados se encuentran en igual orden de magnitud a los tomados de referencia.

## CONCLUSIONES

Se observó que los principales componentes en las cenizas de bagazo de caña de azúcar fueron: Si (241,1 g/kg), K (42,2 g/kg), Al (38,0 g/kg), Ca (11,0 g/kg) y Fe (7,8 g/kg); los óxidos mayoritarios equivalentes fueron: SiO<sub>2</sub> (54,2%), Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (7,8%), K<sub>2</sub>O (5,3%), CaO (1,6%) y

Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (1,2%). Con respecto al RAC, las cenizas presentaron los siguientes elementos principales: Si (257,5 g/kg), K (119,1 g/kg), Ca (53,3 g/kg), Mg (14,9 g/kg) y Na (5,7 g/kg); y los óxidos mayoritarios fueron: SiO<sub>2</sub> (55,1%), K<sub>2</sub>O (14,3%), CaO (7,5%), MgO (2,5%) y Na<sub>2</sub>O (0,8%). Comparando ambas biomásas, se puede observar que el RAC en promedio posee 6,8% más de Si en relación al bagazo. El contenido promedio de Al en bagazo fue 8,4 veces mayor en relación al RAC (38 g/kg vs. 4,5 g/kg). Estos elementos (Si y Al) infieren a las cenizas características ácidas, formadoras de estructuras vítreas compuestas por silicatos, donde la fusibilidad de las mismas dependerá de las concentraciones de los elementos alcalinos presentes, según lo indicado por Chong *et al.* (2019). Con respecto a los componentes alcalinos, el RAC presentó 4,84 veces mayores concentraciones de Ca en relación al bagazo (53,3 g/kg vs. 11,0 g/kg). Los contenidos de Mg en RAC también fueron mayores en aproximadamente cuatro veces (14,9 g/kg vs. 3,7 g/kg); y la concentración de K en RAC también resultó mayor en 2,84 veces (119,1 g/kg vs. 42,2 g/kg). Por ello, es de esperarse que la utilización de RAC como combustible de caldera tendría menores temperaturas de fusión de cenizas en relación al bagazo, ya que los elementos alcalinos infieren a las cenizas la formación de eutécticos de bajos puntos de fusión, según lo indicado por Vamvuka *et al.* (2017) en biomasa y lo observado por Golato *et al.* (2022a) para bagazo y RAC de Tucumán, Argentina.

Estos resultados servirán de base de comparación para futuros análisis de las biomásas estudiadas; además, a partir de los mismos podrían determinarse los índices de comportamiento de las cenizas que brindan las relaciones de deposición teórica que tendrían en el interior del hogar de una caldera de vapor, según Febrero Garrido (2015) y Pronobis (2005).

#### ■ AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Ing. Agr. Eduardo Romero y al Ing. Agr. Sergio Casen, de la Sección Agronomía de Caña de Azúcar por su colaboración en el muestreo de RAC de los diferentes campos cañeros de la provincia de Tucumán.

#### ■ BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Bizzo, W. A., P. C. Lenço, D. J. Carvalho y J. Paulo Soto Veiga, 2014.** The generation of residual biomass during the production of bio-ethanol from sugarcane, its characterization and its use in energy production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 29: 589–603.
- Bragato M., J. Kulbushan, J. B. Carlson, J. A.S. Tenório y Y. A. Levendis, 2012.** Combustion of coal, bagasse and blends thereof: Part I: Emissions from batch combustion of fixed beds of fuels, *Fuel*, Volume 96: pp 43-50, ISSN 0016-2361. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.12.072>.
- Casen, S. D.; E. Romero; F. Leggio; A. Torres Bugeau; D. Perez; V. Paredes y E. Feijoo. 2015.** Manejo de los residuos agrícolas de la cosecha de caña de azúcar. Disponibilidad potencial y alternativas de enfardado. *Revista Avance Agroindustrial* 36 (4): 20-26.
- Casen, S. D.; L. A. Marto; M. M. Medina; R. E. Romero; A. Torres Bugeau y D. Perez. 2012.** Evaluación del desempeño de dos enfardadoras para la recolección de residuo agrícola de cosecha (RAC) de caña de azúcar en Tucumán. Disponible en: <http://www.eeaoc.org.ar/upload/contenido/pdf/20121122111107000000.pdf> Consultado en febrero de 2021.
- Chong, H.; J. Bai; A. Ilyushechkin; H. Zhao; L. Kong; H. Li; Z. Bai; Z. Guo and W. Li. 2019.** Effect of chemical composition on the fusion behaviour of synthetic high-iron coal ash. *Fuel* (253): pp. 1465-1472. ISSN 0016-2361, Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.05.135> Consultado en diciembre de 2021.
- Da Silva Reis, T. V. y D. A. Fungaro. 2010.** Termoquímica de palha de cana-de-açúcar. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). Disponible en: <https://www.ipen.br/biblioteca/2010/resumos/16173.pdf>
- Díaz Troyano; M. 2015.** Análisis de viabilidad técnica de un proyecto de valorización energética de residuos. Criterios básicos de diseño. *Combustión Biomass Service, S.L.(CBS)*. Puerto de Santa María, Cádiz, España. Disponible en: <https://cupdf.com/document/viabilidad-biomasas.html>
- Fandos, C.; P. Scandaliaris; J. I. Carreras Baldrés; F. J. Soria y H. Salas. 2016.** Estimación del área implantada con cítricos en Tucumán en 2016 y comparación con años precedentes. Relevamiento satelital de cultivos de la provincia de Tucumán. *Reporte agroindustrial* 129. Disponible en: <http://www.eeaoc.org.ar/publicaciones/categoria/22/651/Estimacion-del-area-implantada-con-citricos-en-Tucuman-en-2016-y-comparacion-con-anos-precedentes.html> Consultado en diciembre de 2021.
- Febrero Garrido, L. 2015.** Contribuciones en la investigación de las cenizas y del ensuciamiento en calderas de combustión de biomasa: técnicas analíticas y contraste experimental. Tesis doctoral. *Escola de Enxeñería Industrial. Universidade de Vigo*. España. Disponible en: <http://www.investigacion.biblioteca.uvigo.es/xmlui/handle/11093/354>. Consultado en enero de 2022.
- Feijóo, E.; M. A. Golato; F. J. Franck Colombres; D. Paz y G. J. Cárdenas. 2015.** Características energéticas de los residuos agrícolas de la cosecha en verde de la caña de azúcar. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán (RIAT)* 92 (2): 23-32.
- Feng, W.; S. Wu; A. Wharmby and A. Wittmeier. 1999.** Microwave digestion of plant and grain standard reference materials in nitric and hydrofluoric acid for multi-elemental determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom* (14): 939 – 946.
- Fernández de Ullivarri, J; P. Digonzelli; M. Medina; F. Pérez Alabarce; F. Leggio Neme y A. Marto. 2012.** Efecto del residuo de la cosecha en verde de la caña de azúcar sobre la humedad del suelo en el este de Tucumán, R. Argentina. *Revista Avance Agroindustrial* 33 (2): 17-22.
- Fogliata, F. A. 1995.** Agronomía de la caña de azúcar.

- Tecnología, Costos y Producción. Ed. El Graduado. Tomo 1: pp. 187-189.
- Fogliata F. A., 2008.** Biocombustibles. Una mirada hacia el 2010. Su impacto en el país y en el NOA. 1. ed., Ed. El Graduado. Tucumán. Argentina.
- García Figueredo, Y. 2017.** Tesis "Desarrollo y caracterización de un material compuesto de matriz de aluminio". Grupo de Física de los Materiales. Facultad de Matemática, Física y Computación. Departamento de Física. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Santa Clara, Cuba. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/8703/Tesis%20YadelvysV.F.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Golato, M. A.; C. E. Gutierrez; G. del H. Zamora Rueda; G. Juárez; N. Kamiya y D. Paz. 2022.** Estudio preliminar de los índices de comportamiento y fusibilidad de las cenizas de bagazo y de los residuos de cosecha de la caña de azúcar (RAC) de Tucumán, Argentina. XXII Reunión Técnica Nacional de la Caña de Azúcar. Tucumán, Argentina.
- Golato, M. A.; C. E. Gutierrez; G. del H. Zamora Rueda; N. Kamiya y D. Paz, 2022a.** Estudio de la variación de las temperaturas de fusión de cenizas de bagazo y de residuos de cosecha de la caña de azúcar (RAC) de Tucumán, Argentina en función de sus componentes ácidos y básicos. XXII Reunión-Técnica Nacional de la Caña de Azúcar. Tucumán, Argentina.
- Golato, M. A., 2021.** Estudio de la variación de la temperatura de fusión de cenizas de calderas de biomasa en función de sus componentes ácidos y básicos. Tesis final para obtener el título de Magister en Ingeniería Bioenergética. Universidad Tecnológica Nacional (UTN). Facultad Regional Tucumán (FRT). Tucumán, Argentina. Disponible en: [https://ria.utn.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12272/6079/Tesis%20de%20Maestr%C3%ADa%20Goloto%202021\\_versi%C3%B3n%20final-final.pdf?sequence=1](https://ria.utn.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12272/6079/Tesis%20de%20Maestr%C3%ADa%20Goloto%202021_versi%C3%B3n%20final-final.pdf?sequence=1). Consultado enero 2022.
- Golato M. A.; E. A. Feijóo; F. J. Franck Colombres; D. Paz y G. J. Cárdenas. 2017.** Estudio preliminar del aprovechamiento de los residuos agrícolas de cosecha de la caña de azúcar como combustible adicional para calderas bagaceras de Tucumán (Argentina). Revista industrial y agrícola de Tucumán (RIAT) 94 (2): 21-31.
- Gutiérrez, C.; M. G. Mistretta; G. Zamora Rueda; F. Peralta; M. A. Golato; M. Coronel; M. Ruiz y G. J. Cárdenas. 2016.** Contenido de cloro total en residuos agrícolas de cosecha de caña de azúcar (RAC) en Tucumán. Revista industrial y agrícola de Tucumán (RIAT) 93 (2): 19 - 25.
- Jacome, D. L. F., 2014.** Caracterização Físicoquímica das Cinzas de Palha de Cana de Açúcar Através de Análises Térmicas Simultâneas (STA). Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/296874497.pdf>
- Martirena Hernandez, J. F.; S. Betancourt; B. Middendorf; A. Rubio; L. Martinez; J. López y R. González. 2000.** Propiedades puzolánicas de desechos de la industria azucarera (primera parte). Materiales de Construcción - MATER CONSTR. 50: 71-78. Disponible en: 10.3989/mc.2000.v50.i260.392.
- Melissari, B. 2012.** Comportamiento de Cenizas y su Impacto en Sistemas de Combustión de Biomasa. Memoria de Trabajos de Difusión Científica y Técnica (10): 69-82.
- Mistretta, M. G.; C. Gutiérrez; G. Zamora Rueda; F. Peralta; M.A. Golato; D. Paz; G. J. Cárdenas y M. Ruiz. 2019.** Contenido de azufre total del residuo agrícola de la cosecha de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Revista industrial y agrícola de Tucumán 96 (1): 49 - 54.
- Moraes, J. C. B.; J. L. Akasaki; M. M. Tashima; L. Soriano; M. V. Borrachero y J. Payá. 2017.** Utilización de la ceniza de la paja de caña de azúcar (CPC) como puzolana en sustituciones parciales del cemento Portland. Asociación Española de Materiales Compuestos (AEMAC), vol 2 (1): 6-9. Disponible en: <http://revista.aemac.org/>
- Nakashima, G. T.; M. Provedel Martins, A. L. Santiago Hansted, H. Yamamoto, F. Minoru Yamaji. 2017.** Sugarcane trash for energy purposes: ¿Storage time and particle size can improve the quality of biomass for fuel?, Industrial Crops and Products, Volume 108: 641-648, ISSN 0926-6690. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.017>.
- Nogués, F. S; D. García Galindo y A. Rezeau. 2010.** Energías Renovables. Energía de la Biomasa. 1º Edición, Volumen 1 Prensa Universitaria de Zaragoza, Zaragoza-España.
- Ojeda, W.; F. Ospina; T. Pantoja y N. Gil. 2022.** Caracterización de depósitos generados en la combustión de RAC, bagazo y carbón en calderas del sector azucarero colombiano. XII Congreso Tecnicaña. Yumbo, Valle del Cauca, Colombia. pp. 948-960.
- Peláez Samaniego, M. R. 2007.** Uso de biocombustível da pirólise rápida da palha de cana em um motor de ciclo Otto. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica. Comissão de Pós-graduação em Engenharia Mecânica. Disponible en: <https://repositorio.unicamp.br/Busca/Download?codigoArquivo=473172>
- Perkin Elmer Instruments Inc. 2000.** Manual Part Number 0303-0152 Realse E, Norwalk, USA. Proyecto para la promoción de la energía derivada de biomasa (Probiomasa), 2020. Proyecto UTF/ARG/020/ARG. Banco de proyectos. Disponible en: [http://www.probiomasa.gob.ar/sitio/es/bp\\_mapa.php](http://www.probiomasa.gob.ar/sitio/es/bp_mapa.php) Consultado en enero de 2022.
- Pronobis, M. 2005.** Evaluation of the influence of biomass co-combustion on boiler furnace slagging by means of fusibility correlations. Biomass and Bioenergy 28: pp. 375-383. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096195340400193X> Consultado en diciembre de 2021.
- Serker, N. K.; R. U. Hafiz; A. H. M. Ashashanur Rahman y M. Ashikuzzaman. 2021.** Suitability of using sugarcane bagasse ash as partial replacement of cement in concrete. 5th International Conference on Advances in Civil Engineering (ICACE 2020). CUET, Chattoqram, Bangladesh. Disponible en: <https://>

[www.researchgate.net/publication/349832430](http://www.researchgate.net/publication/349832430)

**Tortora, M. L.; L. Vera; N. Grellet Naval; J. Fernández de Ullivarri; P. A. Digonzelli y E. R. Romero. 2013.**

Efecto de la cobertura con residuo agrícola de cosecha sobre el desarrollo de microorganismos de importancia agronómica y ambiental. Revista Avance Agroindustrial 34 (4): 32-26.

**Vamvuka, D.; M. Trikouvertis; D. Pentari; G. Alevizos and A. Stratakis. 2017.** Characterization and evaluation of fly and bottom ashes from combustion of residues

from vineyards and processing industry. Journal of the Energy Institute, 90 (4): 574-587. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.joei.2016.05.004>. Consultado en febrero de 2022.

**Woytiuk, K. 2006.** Sugar Cane Trash Processing for Heat and Power Production. Master's Thesis. Department of applied physics and mechanical engineering. Lulea University of Technology, Lulea, Switzerland. Disponible en: <https://www.divaportal.org/smash/get/diva2:1027772/FULLTEXT01.pdf>





Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
47-57; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

# Sensibilidad de los componentes mayoritarios en la fusibilidad de cenizas de bagazo y RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina

Marcos A. Golato\*, Gimena Del H. Zamora Rueda\*, Cynthia E. Gutierrez\*, Andrea N. Peña Malavera\*\*, Dora Paz\* y Marcelo Ruíz\*

\*Sección Ingeniería y Proyectos Agroindustriales; \*\*ITANOA. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) de Tucumán, Argentina. Email: mgolato@eeaac.org.ar; ccruz@eeaac.org.ar

## RESUMEN

La calidad del bagazo y de los residuos de cosecha de la caña de azúcar (RAC) como combustibles para calderas de vapor dependen de diferentes factores, entre ellos la variedad de caña, el tipo de suelo y cosecha, la época del año y las condiciones climáticas, entre otros. Estos parámetros influyen comportamientos diferentes en el hogar de un generador de vapor a lo largo de la zafra. El objetivo del presente trabajo es mostrar los resultados de un estudio de sensibilidad de los componentes mayoritarios encontrados en cenizas de bagazo y RAC, provenientes de ingenios azucareros y campos cañeros de Tucumán, Argentina. Se procesaron 30 muestras de bagazo y 30 muestras de RAC de la variedad de caña LCP 85-384, durante las zafras de 2016 a 2019. Se analizó la fusibilidad de las cenizas según ASTM D-1857 y se determinaron los contenidos de metales mayoritarios, según ASTM D 3682-01, SMWW Part 4500-P-C (2017) y ASTM D 3177-02 modificado. El estudio de sensibilidad de los elementos químicos se realizó fortificando muestras de cenizas de bagazo y RAC, utilizando óxidos comerciales puros. Los resultados de composición de cenizas se correlacionaron con las temperaturas de fusión de las mismas. Las cenizas de bagazo en atmósfera oxidante (AO) presentaron una correlación negativa entre DT y %SiO<sub>2</sub>; el incremento de %K<sub>2</sub>O provocó un aumento en la temperatura de inicio de fusión (DT) hasta el 5,4%; luego disminuyó. En atmósfera reductora (AR), la correlación fue negativa entre DT y %SiO<sub>2</sub>; no se observó influencia del %K<sub>2</sub>O en el rango evaluado. Las cenizas fortificadas de RAC mostraron correlaciones positivas entre DT y %Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %SiO<sub>2</sub> y %TiO<sub>2</sub>. En RAC fortificado bajo AR, el %CaO, %SO<sub>3</sub> y %K<sub>2</sub>O influyeron negativamente en DT. Estos hallazgos resaltan el impacto de los componentes de las cenizas en las propiedades de fusibilidad de las mismas, destacando la importancia de controlar la cantidad de material inorgánico en el combustible y las temperaturas de combustión en el interior del hogar de las calderas de vapor.

**Palabras clave:** biomasa, composición química, combustión.

## ABSTRACT

### Sensitivity of major components in the ash fusibility of bagasse and agricultural harvest residues (AHR) of sugarcane in Tucumán, Argentina

The quality of bagasse and sugarcane harvest residues (AHR) as fuels for steam boilers depends on various factors, such as cane variety, soil type, harvest method, time of year, weather conditions, and more. These parameters influence different behaviors in a steam generator's furnace throughout the harvest season. The objective of this study is to present the results of a sensitivity analysis of the major components found in bagasse and AHR ashes from sugar mills and cane fields in Tucumán, Argentina. Thirty samples of bagasse and thirty samples of AHR from the LCP85-384 cane variety were processed during the 2016 to 2019 harvest seasons. The fusibility of the ashes was analyzed according to ASTM D-1857, and the major metal contents were determined according

Fecha de  
recepción:  
04/12/2023

Fecha de  
aceptación:  
23/08/2024

to ASTM D 3682-01, SMWW Part 4500-P-C (2017), and modified ASTM D 3177-02. The sensitivity analysis of the chemical elements was performed by fortifying bagasse and AHR ash samples with pure commercial oxides. The ash composition results were correlated with their fusion temperatures. Bagasse ashes in an oxidizing atmosphere (OA) showed a negative correlation between DT and %SiO<sub>2</sub>; an increase in %K<sub>2</sub>O led to a rise in the initial fusion temperature (DT) up to 5.4%, after which it decreased. In a reducing atmosphere (RA), there was a negative correlation between DT and %SiO<sub>2</sub>, with no influence of %K<sub>2</sub>O observed within the evaluated range. Fortified AHR ashes showed positive correlations between DT and %Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %SiO<sub>2</sub>, and %TiO<sub>2</sub>. In AHR fortified under RA, %CaO, %SO<sub>3</sub>, and %K<sub>2</sub>O negatively affected DT. These findings highlight the impact of ash components on fusibility properties, emphasizing the importance of controlling the amount of inorganic material in the fuel and the combustion temperatures within the steam boiler furnaces.

**Key words:** biomass, chemical composition, combustion.

## INTRODUCCION

Existen diversas biomásas del tipo lignocelulósicas de origen residual, provenientes de actividades agrícolas y procesos agroindustriales, que pueden ser aprovechadas para la generación de energía en calderas de vapor bagaceras. Entre las más importantes se encuentran los propios residuos de cosecha de la caña de azúcar (RAC), ya que presentan buena disponibilidad, cantidad y características respecto a cualquier otra biomasa de la región (Golato *et al.*, 2017). No obstante, el RAC aún no es aprovechado totalmente, debido principalmente al elevado costo de inversión necesario para su recolección, densificación, transporte y distribución (Feijoó *et al.*, 2015). Asimismo, Melissari (2012) y Liu *et al.* (2013) indicaron la importancia de rediseñar o adecuar los generadores de vapor alimentados con biomásas residuales, ya que se encontrarían sujetos a factores que resultarían relevantes de analizar, dada la gran variedad de características que presentan las regiones en cuanto a calidad de los suelos, clima, tecnología de recolección, etc.

Además, según lo observado por Fernández Llorente y Carrasco García (2005) y Baxter *et al.* (1998), durante la combustión de biomasa en calderas de vapor existen problemas frecuentes asociados a la existencia de cenizas con fracciones de componentes inorgánicos, que influyen notoriamente en el proceso de incineración y que les confieren características físicas y químicas indeseables, relacionadas con fenómenos de corrosión, erosión, deposición y escorificación. Estos fenómenos fueron observados en generadores de vapor de nuestra región y se deberían a las características que presentan las cenizas de bagazo y de RAC de caña de azúcar que poseen componentes ácidos (CA) y básicos (CB), los cuales afectan a las temperaturas de fusión de las mismas, según lo observado por Golato *et al.* (2023).

Niu *et al.* (2010) y Melissari (2014) indicaron que los CA de algunas biomásas lignocelulósicas se encuentran formados por sales de silicio (Si), aluminio (Al) y titanio (Ti), las que normalmente se identifican como sus correspondientes óxidos (SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y TiO<sub>2</sub>). Del mismo modo, los CB se encuentran formados por sales de hierro (Fe), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K) y también se identifican como óxidos (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CaO, MgO, Na<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>O). En el caso del fósforo (P), si bien su óxido (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) es

ácido, según Pronobis (2005), por su comportamiento se considera en conjunto con los CB.

Las características ácidas o básicas de las cenizas tienen que ver con su reactividad y capacidad para formar compuestos ácidos o básicos, dependiendo de la forma en que aquellas se encuentran, la presencia y la cantidad de otros componentes químicos y de la atmósfera que las rodea. Algunos metales, como el Al y el Fe, pueden formar compuestos ácidos cuando se oxidan en presencia de agua o ácido sulfúrico. El Si puede formar ácido silícico (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>) en ciertas condiciones cuando es expuesto al vapor de agua y al dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Otros metales, como Ca, Mg, Na y el K, son comúnmente encontrados en forma de óxidos o hidróxidos en las cenizas y podrían provocar propiedades básicas en aquellas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se procesaron 30 muestras de bagazo y 30 muestras de RAC, provenientes de ingenios y campos cañeros tucumanos, respectivamente, durante las zafas azucareras 2016, 2017, 2018 y 2019. Todas las muestras analizadas pertenecieron a la variedad de caña LCP85-384. Las muestras de bagazo fueron tomadas a la salida de los molinos de caña, inmediatamente antes del ingreso del combustible en las calderas de vapor. Las muestras de RAC se recolectaron aproximadamente a los 15 días posteriores a la cosecha de la caña. Éstas se secaron en estufa eléctrica, marca ORL, con circulación de aire forzado y control automático de temperatura a 105°C, hasta alcanzar peso constante. Posteriormente se acondicionaron a tamaño uniforme (diámetro promedio menor a 2 mm), utilizando un molino de cuchillas, marca Fritsch, modelo Pulverisette 19. Los estudios de caracterización se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ensayos y Mediciones Industriales (LEMI) de la Sección Ingeniería y Proyectos Agroindustriales y en el Laboratorio de Metales de la Sección Química de los Productos Agroindustriales, ambos pertenecientes a la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes (EEAOC) de la provincia de Tucumán, Argentina.

Se consideraron como mayoritarios los elementos Si, Al, Ti, Fe, Ca, Mg, Na y K, P y S, cuyos contenidos se determinaron por espectrometría de absorción atómica

(EAA), según ASTM D 3682-01; salvo los contenidos de K, que fueron determinados por emisión atómica (EEA); el P, que se determinó por colorimetría, según SMWW Part 4500-P-C (SM, 2017); y el S, que se realizó según ASTM D 3177-02 modificado (Mistretta et al., 2019). Para el cálculo de los correspondientes contenidos de óxidos en cenizas ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{SO}_3$  y  $\text{P}_2\text{O}_5$ ), se consideró la estequiometría de las reacciones de oxidación de los metales indicados, según Golato *et al.* (2023).

### Análisis de la fusibilidad de las cenizas

Las determinaciones de fusibilidad de cenizas se realizaron con un equipo automatizado marca LECO, modelo AF700, que cumple con la norma ASTM D1857 (ASTM, 2010). Esta define cuatro temperaturas características: inicial de deformación (DT), ablandamiento (ST), semiesfera (HT) y fluidización (FT). El equipo se ajustó para una velocidad de calefacción de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  y tiempos de duración de ensayo de cuatro horas por cada seis muestras analizadas. Todas las determinaciones se realizaron en atmósfera oxidante (AO) y en atmósfera reductora (AR). Las muestras de cenizas se obtuvieron por calcinación en mufla eléctrica, marca ORL, a  $550^\circ\text{C}$  durante ocho horas, hasta peso constante.

### Sensibilidad de los óxidos en la fusibilidad de las cenizas

Para conocer la influencia de las concentraciones de los óxidos mayoritarios encontrados en las cenizas de bagazo y RAC sobre la fusibilidad de las mismas, se realizó una fortificación de las muestras de cenizas de las biomásas en estudio, con óxidos comerciales puros, en las cuales se tuvo en cuenta iguales relaciones de concentración de los elementos inorgánicos mayoritarios encontrados en las biomásas originales. Luego, se varió

la concentración de cada elemento en un rango a partir del promedio de los valores encontrados en las muestras originales analizadas, considerando un porcentaje aproximado por arriba y por debajo del mismo, según la variación observada en bibliografía para similares biomásas de otras regiones. En total se formularon 30 muestras fortificadas por medio gravimétrico, utilizando una balanza analítica marca Shimadzu, modelo AUJ 220, con capacidad máxima de 220 g y resolución de 0,1 mg.

Posteriormente se realizaron análisis de la fusibilidad de las cenizas fortificadas, y se correlacionaron los resultados con las composiciones químicas de estas muestras haciendo uso de un análisis estadístico multivariado, siguiendo la metodología propuesta por Balzarini *et al.* (2015), por medio del software de análisis estadístico "InfoStat v.2019p". Para el estudio de sensibilidad se utilizó una matriz de diagramas de dispersión (SPlotM) para AO y otro para AR. Además, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) utilizando un gráfico "biplot" para examinar los datos en un espacio de menor dimensión al espacio original de las variables, y correlacionar las dependencias de las mismas entre ellas. Para analizar las correlaciones entre la fusibilidad y los óxidos en cenizas se consideraron relaciones cuadráticas entre estos, según lo observado por Golato *et al.* (2021).

## RESULTADOS

La Figura 1 muestra una comparación de las concentraciones de los óxidos mayoritarios encontrados en cenizas de bagazo y RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina (Golato *et al.*, 2023). El componente de mayor proporción encontrado en las biomásas analizadas fue el  $\text{SiO}_2$  (mayor al 50%), seguido de  $\text{K}_2\text{O}$  y  $\text{Al}_2\text{O}_3$  en bagazo y de  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  y  $\text{MgO}$  en RAC. Si bien los CA son mayoría en las cenizas analizadas, el bagazo presentó una mayor cantidad (62,43%) en relación al RAC (56,12%), por lo que

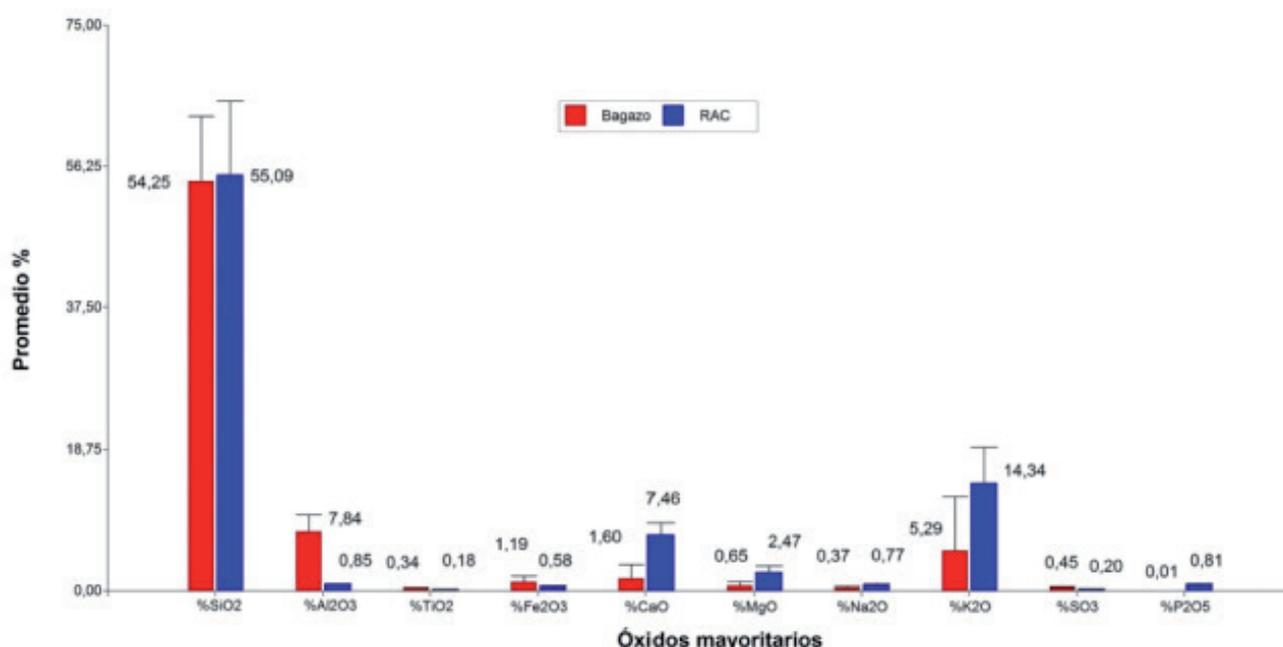


Figura 1. Óxidos mayoritarios en cenizas de bagazo y RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina, según Golato *et al.* (2023).

se espera que las cenizas de estas biomásas presenten características diferentes de fusión. Además, los contenidos de  $K_2O$  influyen negativamente en la estructura química final de las escorias por su propiedad alcalina, lo que provocaría menores temperaturas DT en las cenizas de RAC en relación a las de bagazo (Golato *et al.*, 2021).

En las Figuras 2 y 3 pueden verse los resultados del análisis de fusibilidad de las cenizas de bagazo y RAC trabajando en AO y AR.

En las Figuras 4 y 5 se observan las concentraciones de óxidos logrados con las muestras de cenizas fortificadas de bagazo y RAC formuladas para este estudio. Se puede observar las concentraciones promedio de los óxidos en las muestras de cenizas originales de bagazo (muestra M0B en Figura 4) y de RAC (muestra M0R en Figura 5), según Golato (2021).

En la Tabla 1 se indican los rangos de las concentraciones logradas con las cenizas fortificadas de bagazo y RAC a partir del estudio realizado inicialmente por Golato (2021). Estos rangos representan las zonas en los que fueron evaluados los diferentes componentes de las cenizas en relación a su fusibilidad.

La Figura 6 muestra cómo los CA afectan la fusibilidad de las cenizas fortificadas de bagazo en condiciones de AO. Se encontró que el  $\%Al_2O_3$  tuvo una correlación positiva con DT a bajas concentraciones (hasta 14,2%); luego, a medida que la concentración aumentó la temperatura disminuyó. En cambio, el  $\%SiO_2$  tuvo una correlación negativa con DT, ya que su aumento redujo esta temperatura. Respecto a ST, HT y FT, se observó una

Tabla 1. Rango de concentraciones de óxidos logrados con cenizas fortificadas de bagazo y RAC. Elaboración propia.

Óxidos mayoritarios	Rango de concentraciones evaluado en bagazo [%]	Rango de concentraciones evaluado en RAC [%]
$Al_2O_3$	6,71 a 21,68	0,30 a 1,60
$SiO_2$	7,66 a 54,25	48,90 a 62,20
$TiO_2$	0,10 a 0,90	0,34 a 14,03
$Fe_2O_3$	1,19 a 14,06	0,10 a 1,10
CaO	1,60 a 13,26	1,70 a 12,80
MgO	0,65 a 14,55	1,10 a 6,00
$Na_2O$	0,37 a 13,88	0,40 a 1,60
$K_2O$	1,92 a 9,35	9,50 a 19,40
$SO_3$	0,45 a 3,53	0,00 a 1,00
$P_2O_5$	0,01 a 8,24	0,10 a 2,10

disminución de las mismas hasta 41% de concentración de  $\%SiO_2$  (muestra M6); a partir de ésta la correlación se volvió positiva. El  $\%TiO_2$  también tuvo una correlación positiva con DT en todo el rango analizado (0,10% a 0,90%). ST y HT disminuyeron significativamente con el aumento del óxido, mientras que FT disminuyó ligeramente hasta la mitad del rango (aproximadamente 0,5%), para luego aumentar ligeramente la temperatura indicada.

La Figura 7 muestra la influencia de los CA en cenizas fortificadas de bagazo para condiciones de AR. Se encontró que el  $\%Al_2O_3$  tiene una correlación positiva con DT en todo el rango evaluado (6,71% a 21,68%). ST, HT y FT mostraron una correlación negativa para este óxido en bajas concentraciones (hasta 14,2%); luego se torna

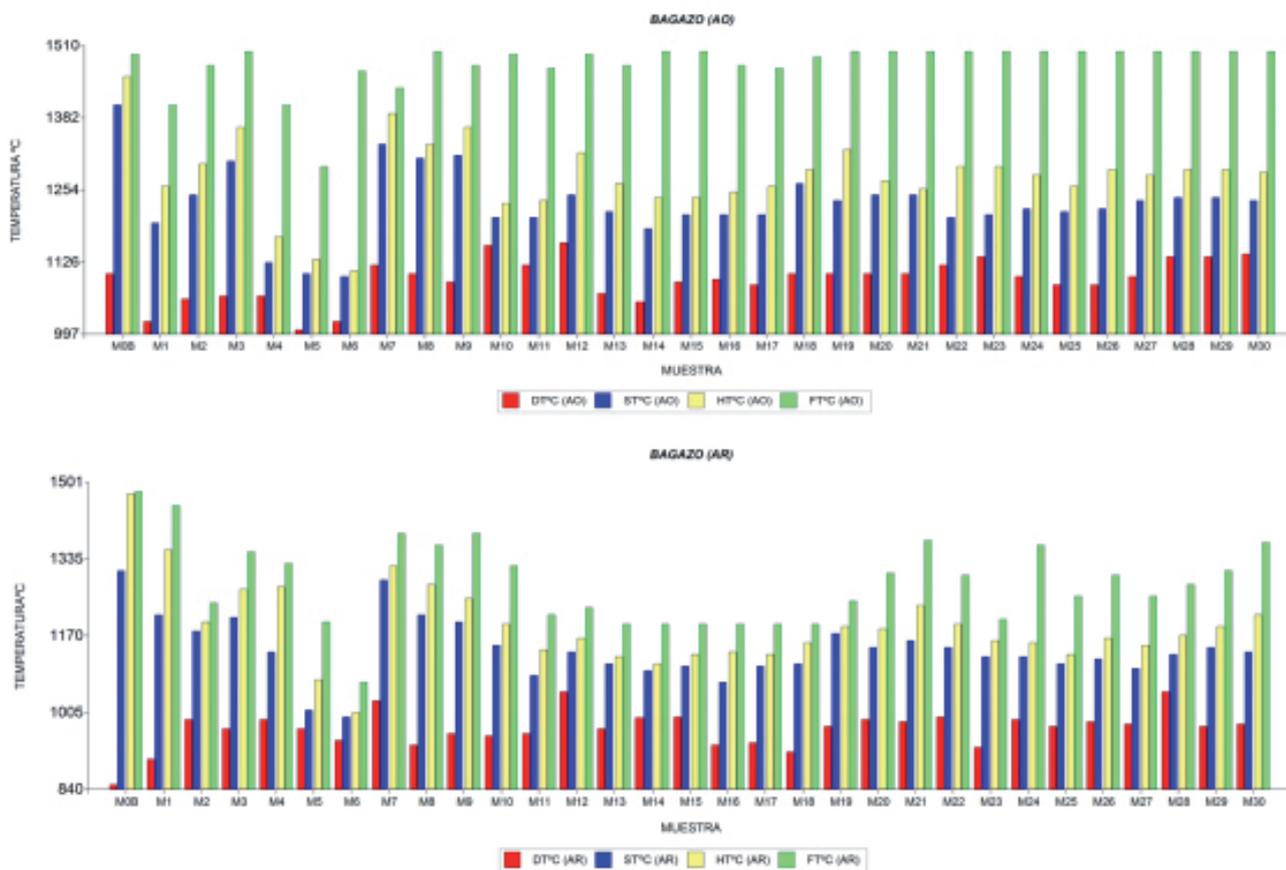


Figura 2. Resultados del análisis de fusibilidad de las cenizas fortificadas de bagazo de Tucumán, Argentina, trabajando en AO y AR.

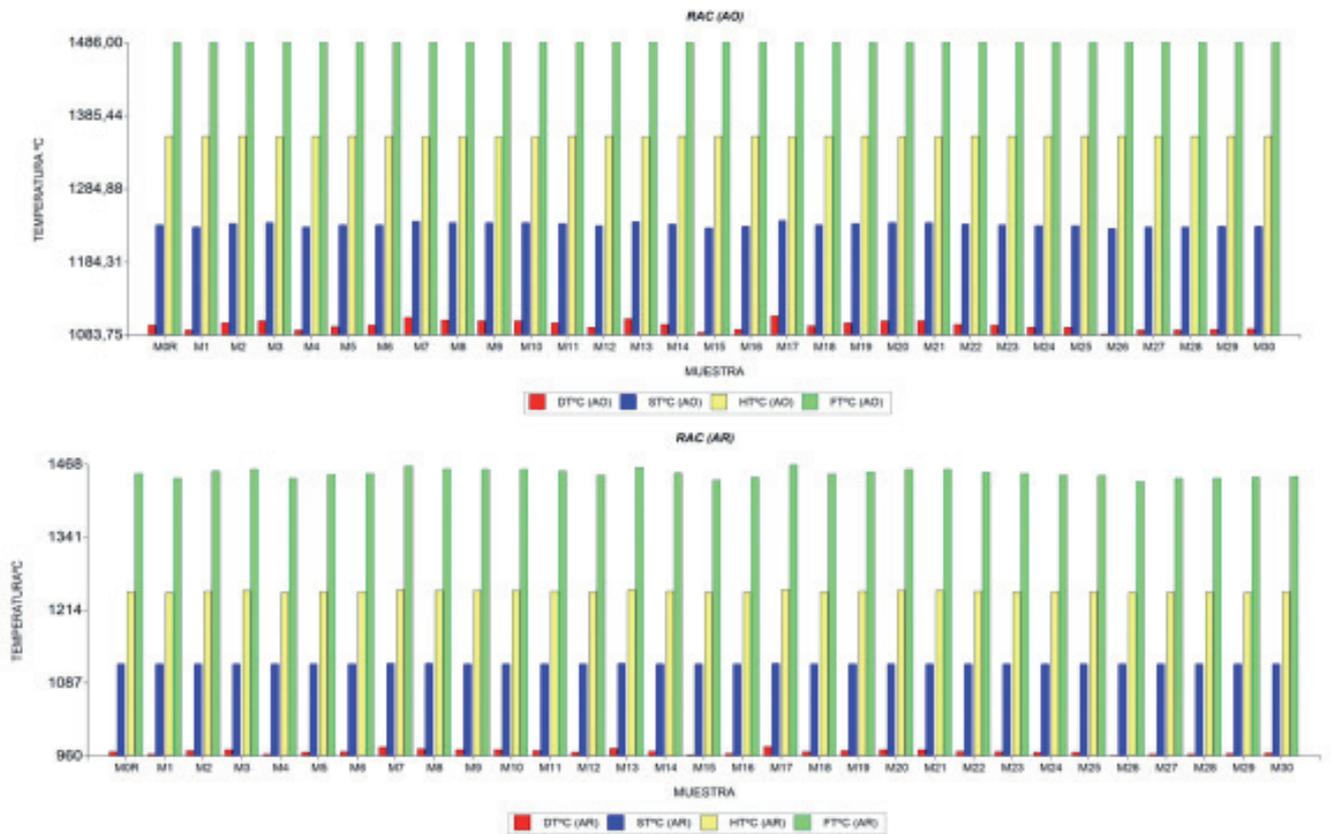


Figura 3. Resultados del análisis de fusibilidad de las cenizas fortificadas de RAC Tucumán, Argentina, trabajando en AO y AR.

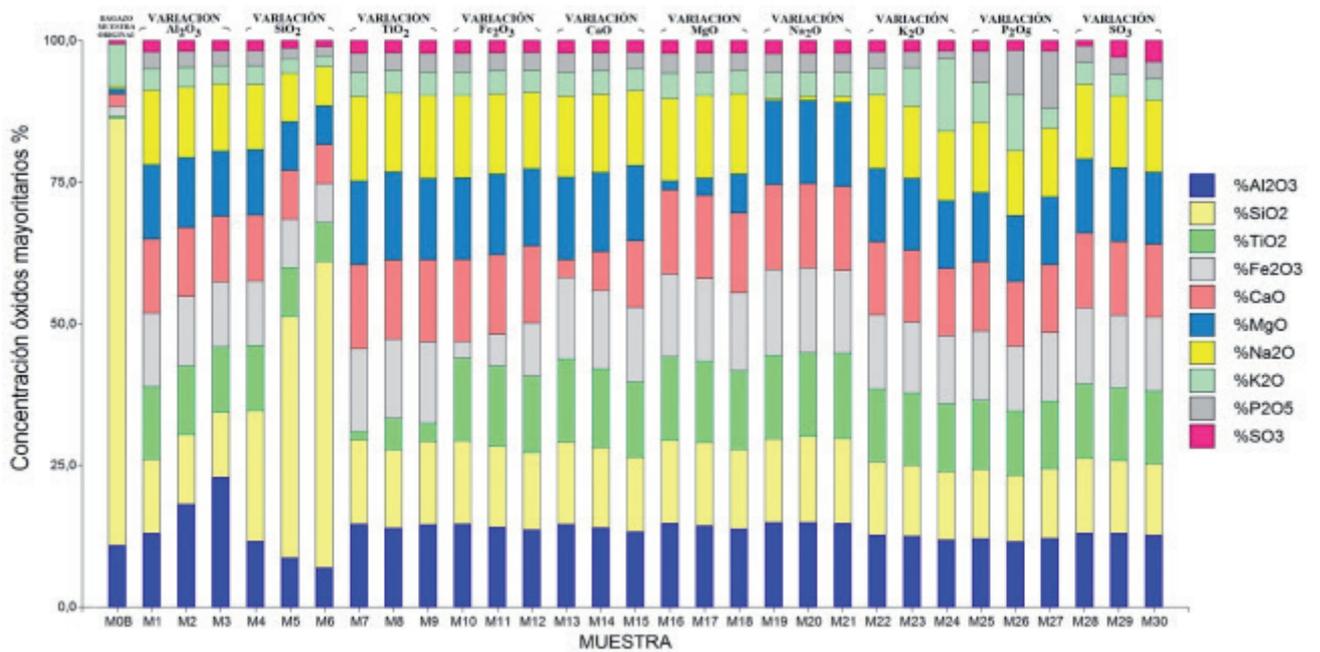


Figura 4. Variación de la concentración de óxidos mayoritarios en cenizas fortificadas de bagazo para este estudio. Elaboración propia.

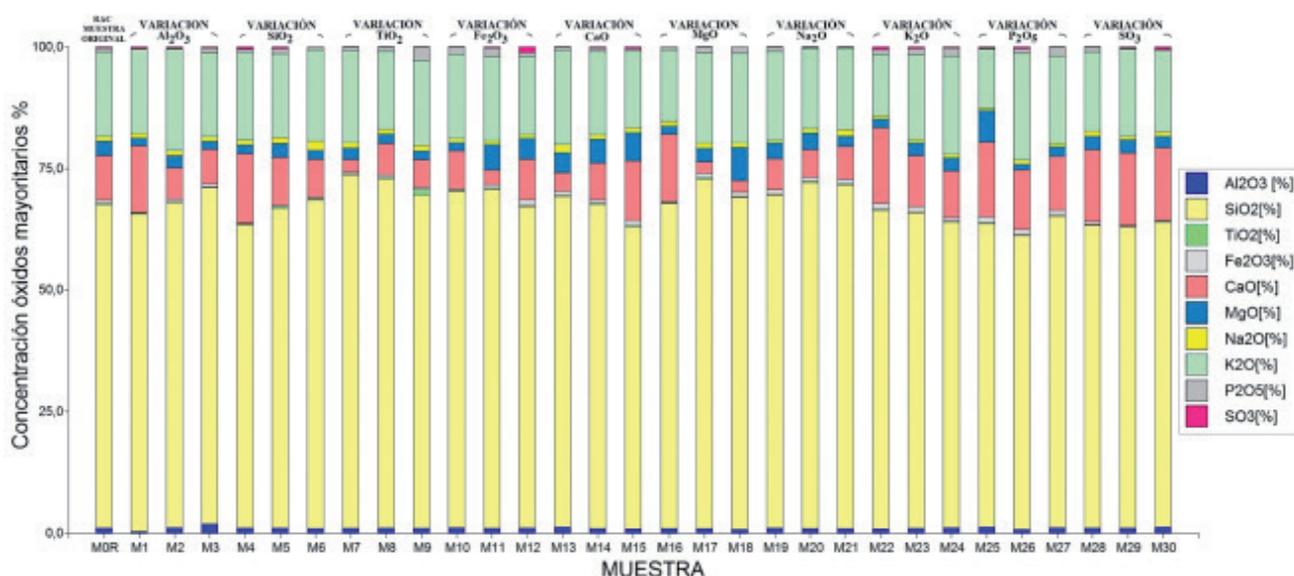


Figura 5. Variación de la concentración de óxidos mayoritarios en cenizas fortificadas de RAC para este estudio. Elaboración propia.

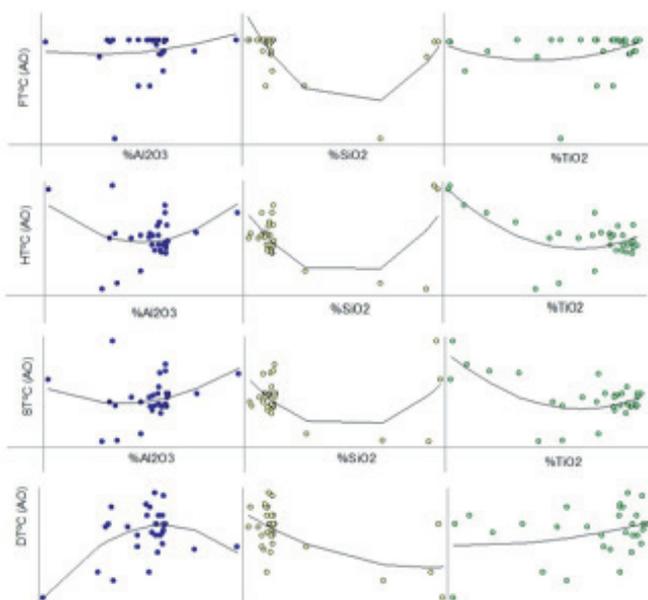


Figura 6. Sensibilidad en AO de CA en la fusibilidad de cenizas fortificadas de bagazo de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

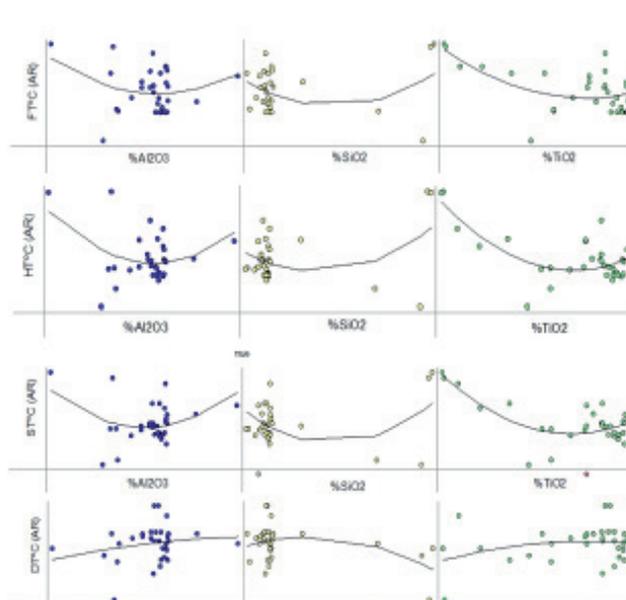


Figura 7. Sensibilidad en AR de CA en la fusibilidad de cenizas fortificadas de bagazo de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

ron positivas con el aumento de la concentración de este óxido. Con respecto al  $\%SiO_2$ , el aumento de éste influyó negativamente en DT para el rango analizado (7,66% a 54,25%). ST, HT y FT también presentaron correlaciones negativas para bajas concentraciones de  $\%SiO_2$  (hasta 31%) y aumentos de las temperaturas para concentraciones mayores. En cuanto a  $\%TiO_2$  en cenizas, su influencia fue similar a la observada en AO, excepto en el caso de FT, donde se observó una correlación negativa en todo el rango analizado.

La Figura 8 muestra la sensibilidad de los CA en la fusibilidad de las cenizas de RAC fortificadas bajo condiciones de AO. El  $\%Al_2O_3$  presentó una correlación positiva con DT y ST en todo el rango analizado (0,3% a 1,6%),

no obstante HT presentó una correlación ligeramente positiva hasta alrededor de 0,95% del óxido en ceniza, luego se tornó negativa. En cuanto al  $\%SiO_2$ , se observaron aumentos ligeros en DT y ST en el rango analizado (48,90% a 62,20%), pero HT mostró una correlación negativa. FT no presentó variaciones con el aumento de este óxido. Por otro lado, el aumento de concentración de  $\%TiO_2$  resultó en incrementos en DT y ST; y una correlación negativa para HT. Al igual que en los casos anteriores, FT no mostró cambios con el aumento de  $\%TiO_2$ .

La Figura 9 muestra la sensibilidad de los CA en la fusibilidad de las cenizas fortificadas de RAC bajo condiciones de AR. Se observa cómo DT, HT y FT mantuvieron una correlación positiva con el aumento de  $\%Al_2O_3$ ,

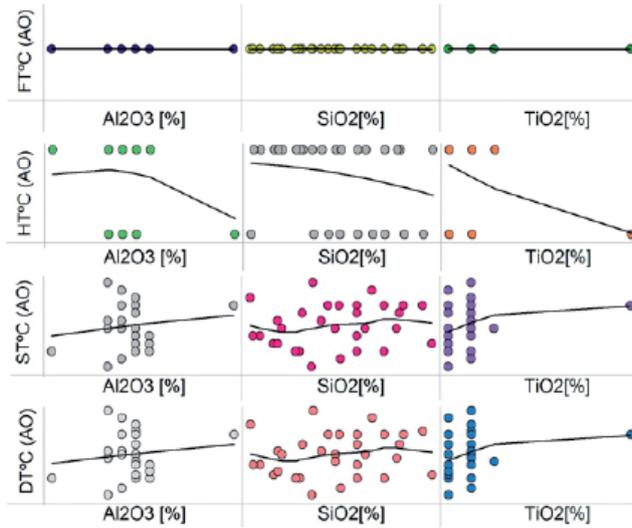


Figura 8. Sensibilidad en AO de CA en la fusibilidad de cenizas fortificadas de RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

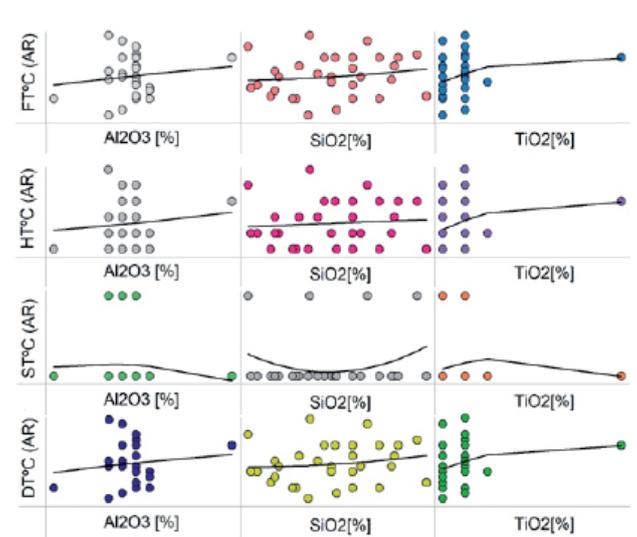


Figura 9. Sensibilidad en AR de CA en la fusibilidad de cenizas fortificadas de RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

mientras ST presentó una tendencia a disminuir en el rango analizado. En cuanto al %SiO<sub>2</sub>, se observaron aumentos ligeros en DT, HT y FT, mientras que ST mostró una correlación negativa para bajas concentraciones del óxido (hasta 55,5%), y aumentos de temperatura para mayores concentraciones. Por otro lado, el aumento en la concentración de %TiO<sub>2</sub> provocó incrementos en DT, HT y FT; y correlación negativa de ST para elevadas concentraciones del óxido.

La Figura 10 muestra la sensibilidad de los CB sobre la fusibilidad de cenizas fortificadas de bagazo trabajando en AO. Se observó una correlación positiva entre DT y la mayoría de los CB en cenizas de bagazo, a excepción del %K<sub>2</sub>O, que presentó un aumento en DT hasta aproximadamente el 5,4% del óxido en ceniza; luego la

correlación fue negativa. En general, ST, HT y FT resultaron elevadas para bajas concentraciones de CB, a excepción también del %K<sub>2</sub>O, que presentó menores temperaturas para bajas concentraciones y con correlaciones positivas con el aumento de la concentración de este óxido.

La Figura 11 muestra la sensibilidad de los CB sobre la fusibilidad de cenizas fortificadas de bagazo trabajando en AR. En general, se observó que el aumento de los CB provocó incrementos en DT en el rango de concentraciones evaluado. No se apreciaron variaciones en DT con el aumento de %K<sub>2</sub>O en AR. Para las mayores y menores concentraciones de CB del rango evaluado, se observaron las mayores temperaturas ST, HT y FT, con disminuciones de éstas para concentraciones logradas en la mitad del rango. Para el caso del %K<sub>2</sub>O, se observó una

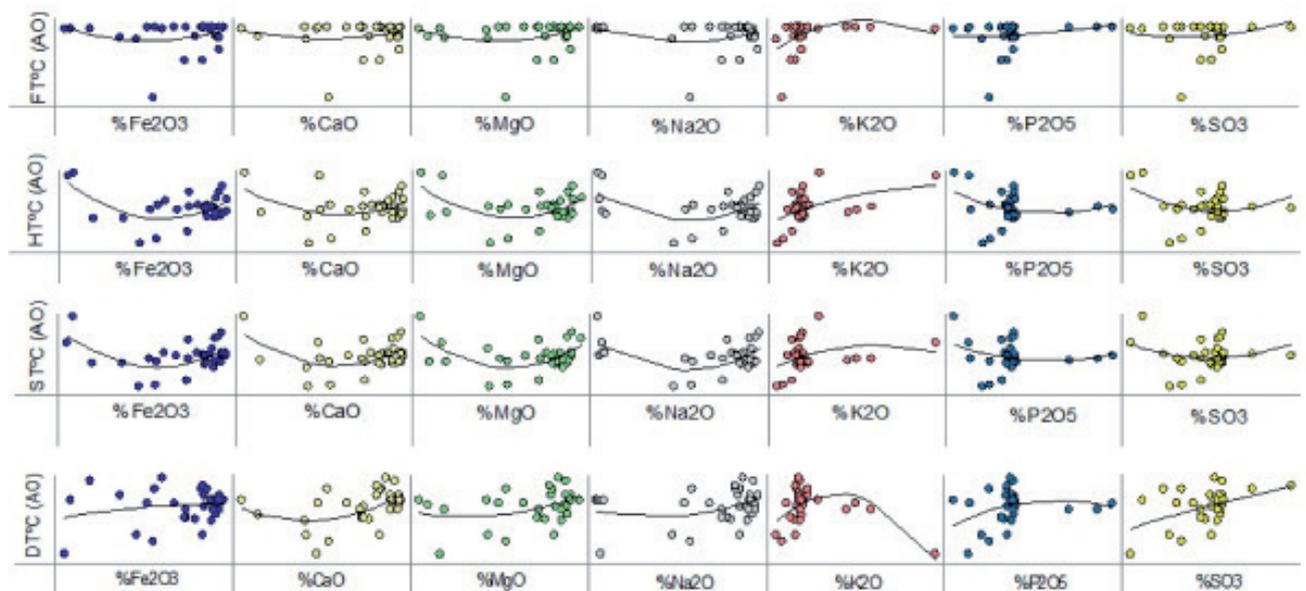


Figura 10. Sensibilidad en AO de CB en la fusibilidad de cenizas fortificadas de bagazo de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

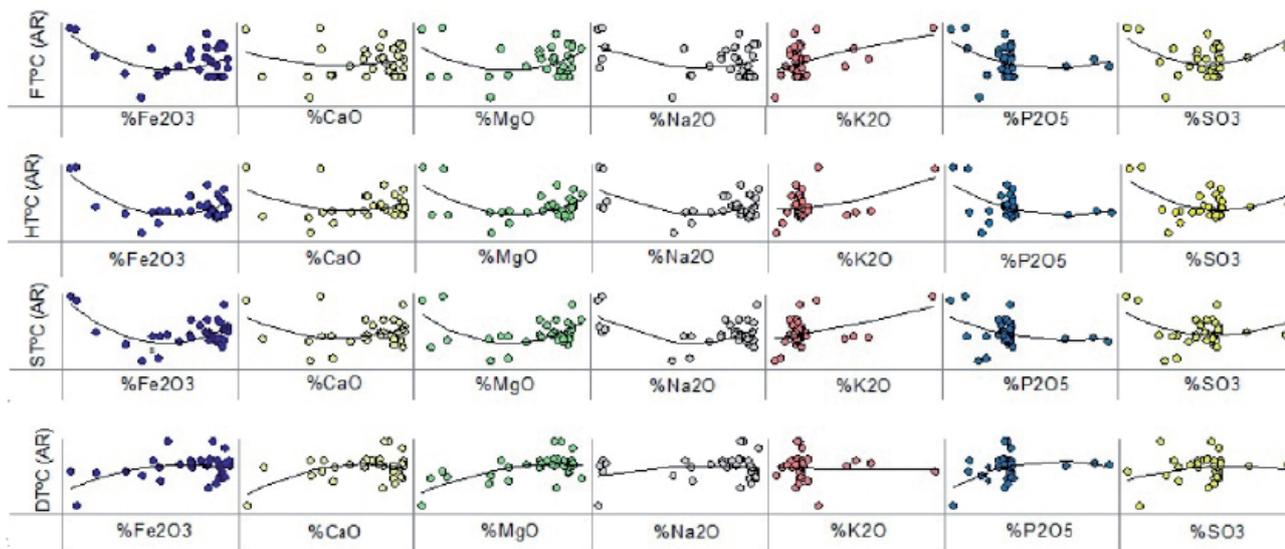


Figura 11. Sensibilidad en AR de CB en la fusibilidad de cenizas fortificadas de bagazo de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

correlación positiva de estas temperaturas con el incremento del óxido en ceniza.

La Figura 12 muestra los resultados del estudio de sensibilidad de los CB en la fusibilidad de cenizas fortificadas de RAC bajo condiciones de AO. Se observó que para valores medios de  $\%Fe_2O_3$  se obtuvieron temperaturas elevadas de DT y ST, mientras que en los extremos del rango evaluado (0,10% a 1,10%) se obtuvieron las temperaturas más bajas. Se encontraron correlaciones negativas entre  $\%CaO$  y las temperaturas DT y ST. Además, se encontró una correlación positiva de HT con el aumento de este óxido y no se observaron variaciones en FT con cambios en la concentración de CB.

La Figura 13 muestra los resultados del estudio de sensibilidad de los CB en la fusibilidad de las cenizas fortificadas de RAC bajo condiciones de AR. Se obser-

vó que para concentraciones medias de  $\%Fe_2O_3$  (0,6%) y  $\%MgO$  (3,5%), se obtuvieron las mayores temperaturas de DT, ST, HT y FT. Además, se encontró una correlación negativa entre  $\%CaO$  y estas temperaturas. Es importante destacar la correlación negativa existente entre  $\%K_2O$  y DT, ST, HT y FT, ya que a concentraciones elevadas de este componente, las temperaturas mencionadas registraron valores más bajos.

La Figura 14 muestra el gráfico “biplot” del ACP; en ella se observa la correlación negativa del  $\%SiO_2$  respecto a DT en AO. Además, muestra la independencia de este óxido sobre ST y HT. Mientras tanto, existe un aporte positivo (principalmente del  $\%Al_2O_3$ ,  $\%CaO$  y  $\%MgO$ ) sobre DT. Se destaca la correlación positiva de  $\%K_2O$  sobre HT, ST y en menor medida sobre FT. Además, se observa la baja influencia en esta atmósfera del  $\%K_2O$  sobre DT.

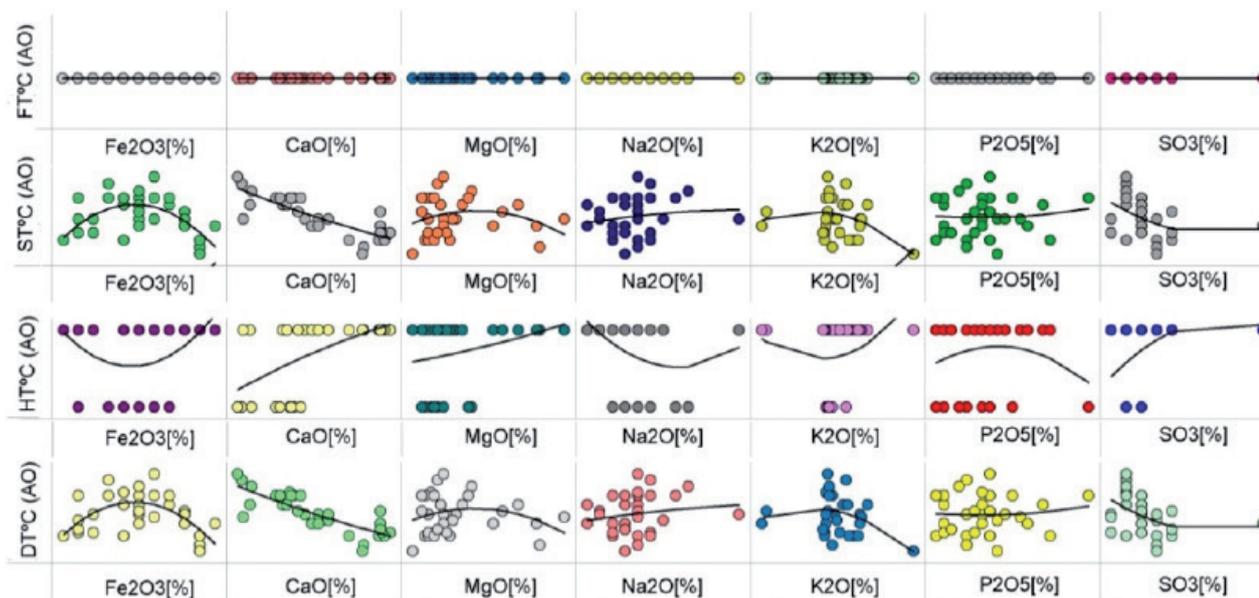


Figura 12. Sensibilidad en AO de CB en la fusibilidad de cenizas fortificadas de RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

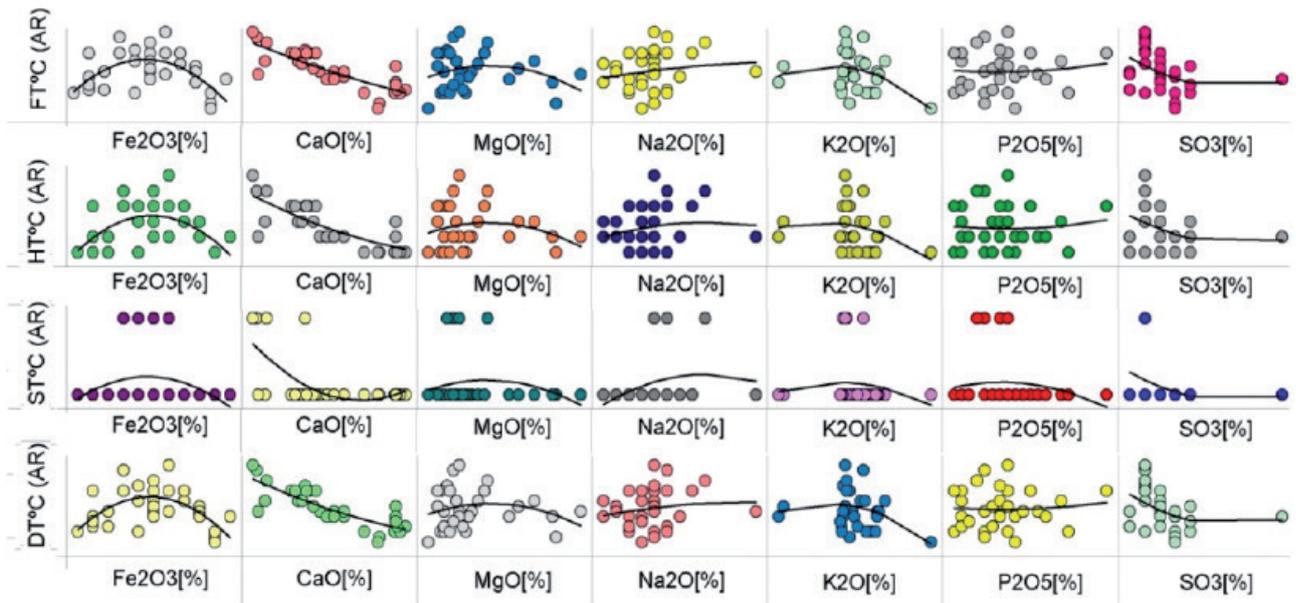


Figura 13. Sensibilidad en AR de CB en la fusibilidad de cenizas fortificadas de RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

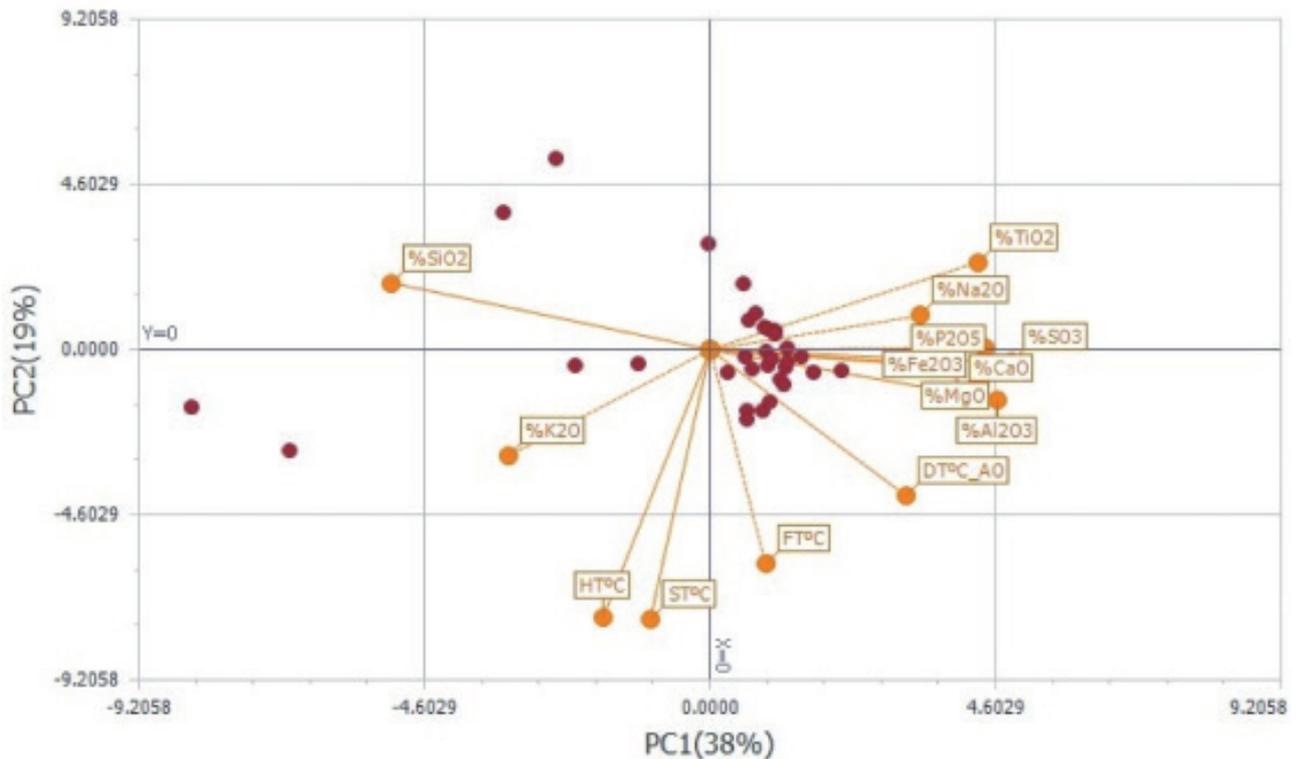


Figura 14. Incidencia de óxidos mayoritarios en la fusibilidad en AO de cenizas fortificadas de bagazo de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

La Figura 15 muestra la correlación negativa del %SiO<sub>2</sub> y %K<sub>2</sub>O respecto a DT para cenizas fortificadas de bagazo trabajando en AR. Se observó que para este tipo de atmósfera existen correlaciones positivas entre ST, HT y FT, en relación a la concentración de %K<sub>2</sub>O. Estas últimas temperaturas resultaron independientes de las concentraciones de %SiO<sub>2</sub>.

La Figura 16 muestra una correlación positiva del %Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, %Ti<sub>2</sub>O, %SiO<sub>2</sub> y %Na<sub>2</sub>O con DT y ST e independencia de %Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %MgO y %K<sub>2</sub>O respecto a las temperaturas mencionadas para cenizas de RAC trabajando en AO. Además, se determinó una correlación negativa del %CaO y %SO<sub>3</sub> sobre DT y ST. Para los rangos de concentraciones evaluados de CB, no presentaron influencia sobre FT.

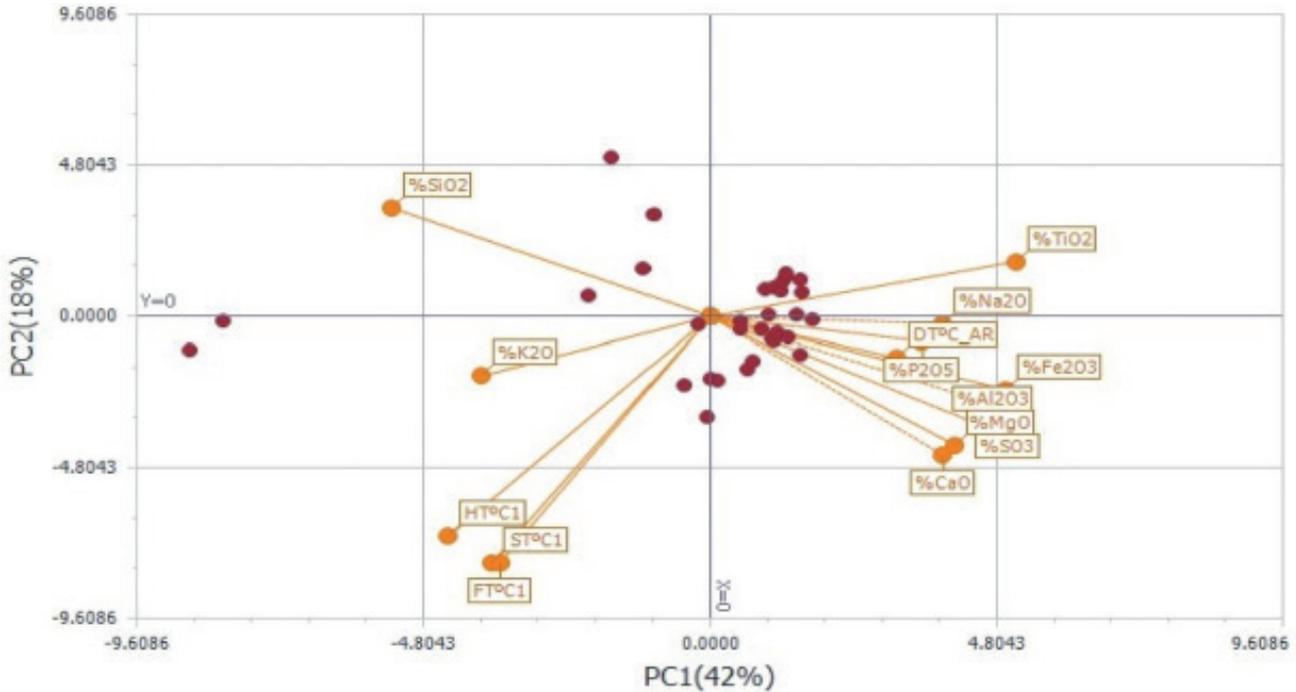


Figura 15. Incidencia de óxidos mayoritarios en la fusibilidad en AR de cenizas fortificadas de bagazo de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

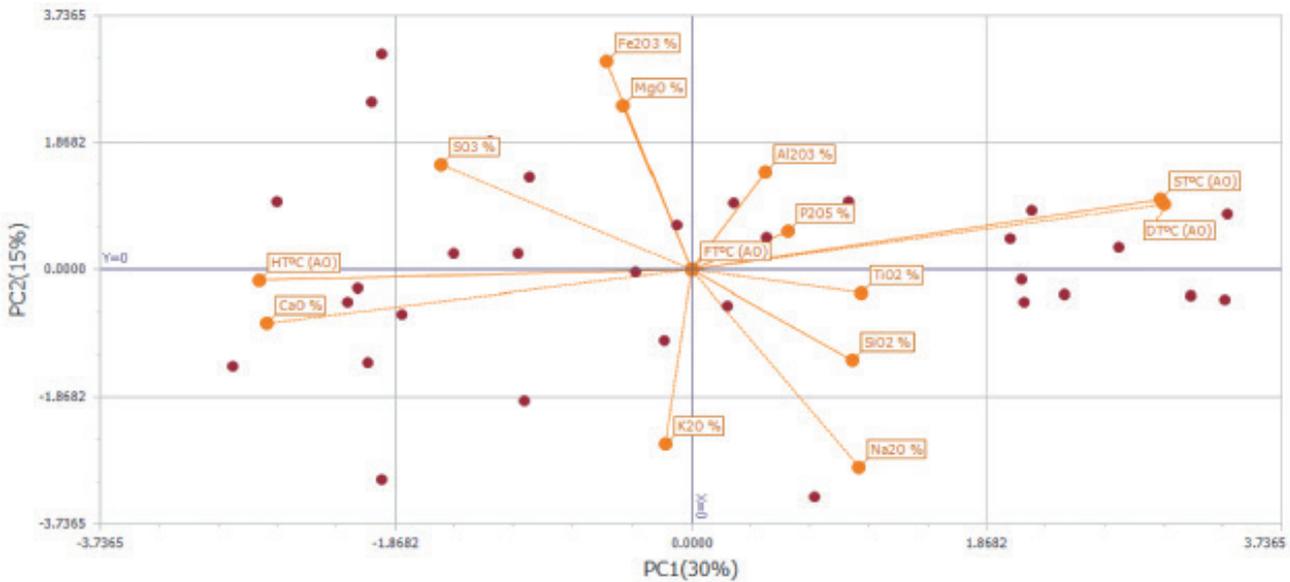


Figura 16. Incidencia de óxidos mayoritarios en la fusibilidad en AO de cenizas fortificadas de RAC de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. Elaboración propia.

**CONCLUSIONES**

Se demostró que el comportamiento de las cenizas depende principalmente de su composición, por lo que resulta imprescindible su caracterización química para evaluar el desempeño de éstas en el interior del hogar de una caldera de vapor. En el presente estudio se encontró que las cenizas de bagazo de caña de azúcar, trabajando en condiciones de AO, presentaron correlaciones negativas entre DT y %SiO<sub>2</sub> para el rango de concentración analizado (7,66% a 54,25%). Las temperaturas ST,

HT y FT dependerán de la concentración de %SiO<sub>2</sub>. Se observó que desde 7,66% hasta 20,00% la dependencia fue negativa; mientras que para mayores concentraciones (hasta 54,25%), la correlación fue positiva. Con el aumento de la concentración de %K<sub>2</sub>O en cenizas de bagazo en AO (entre 1,92% y 3,71% aprox.), se observó una correlación positiva con DT. Para mayores concentraciones de %K<sub>2</sub>O (hasta 9,35%), se observó una correlación negativa para esta misma temperatura. El aumento de %Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %CaO y %MgO en cenizas de bagazo trabajando en AR contribuyó positivamente en DT, mientras que %K<sub>2</sub>O no

presentó influencia para el rango de concentraciones analizado (1,92% a 9,35%). Además, en AR se encontró una correlación negativa para el %SiO<sub>2</sub> con respecto a DT y mostró una influencia positiva de %K<sub>2</sub>O en ST, HT y FT. Las cenizas de RAC trabajando en AO poseen una correlación positiva entre %Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %SiO<sub>2</sub> y %Ti<sub>2</sub>O con respecto a DT y ST. El %Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> presentó correlaciones variables en DT y ST según las concentraciones del óxido (entre 1,19% y 6,43%, la influencia resultó positiva, mientras que entre 6,43% y 14,06% fue negativa). Asimismo, para AO se encontraron correlaciones negativas entre %CaO y las temperaturas DT y ST. Se encontró una influencia negativa del %K<sub>2</sub>O en las temperaturas DT, ST, HT y FT, operando en AR. Estos resultados señalan la influencia de los CB en las propiedades de fusibilidad de las cenizas de RAC en condiciones de AR, y subrayan la importancia de considerar las concentraciones de %Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, %MgO, %CaO y %K<sub>2</sub>O para controlar las temperaturas en los procesos de combustión y manejo de cenizas.

### ■ AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dr. Norma Kamiya, la Fca. Gabriela Juárez y la Lic. Raquel Dellmans, de la Sección Química de los Productos Agroindustriales de la EEOC, por su colaboración en las determinaciones de los elementos químicos presentes en las cenizas de bagazo y RAC de caña de azúcar.

### ■ BIBLIOGRAFÍA CITADA

- ASTM D1857-04. 2010.** Standard Test Method for Fusibility of Coal and Coke Ash. American Society for Testing and Materials (ASTM). 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959. USA.
- Balzarini, M.; C. Bruno; M. Córdoba y I. Teich. 2015.** Herramientas en el Análisis Estadístico Multivariado. Escuela Virtual Internacional CAVILA. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Baxter, L. L.; T. R. Miles; T. R. Miles Jr.; B. M. Jenkins; T. Milne; D. Dayton; R. W. Bryers and L. L. Oden. 1998.** The behavior of inorganic material in biomass-fired power boilers: field and laboratory experiences. *Fuel Processing Technology* 54: 47-78.
- Feijóo, E. A.; M. A. Golato, F. J. Franck Colombres, D. Paz y G. J. Cárdenas. 2015.** Características energéticas de los residuos agrícolas de la cosecha en verde de caña de azúcar de Tucumán. *Rev. Ind. Agríc. Tucumán* 92 (2): 23-32.
- Fernández Llorente, M. J. y J. E. Carrasco García. 2005.** Comparing methods for predicting the sintering of biomass ash in combustion. *Revista Fuel* 84, pp. 1893-1900.
- Golato, M. A.; E. A. Feijóo; F. J. Franck Colombres; D. Paz y G. J. Cárdenas. 2017.** Estudio preliminar del aprovechamiento de los residuos agrícolas de cosecha de la caña de azúcar como combustible adicional para calderas bagaceras de Tucumán (Argentina). *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 94 (2): 21 - 31.
- Golato, M. A.; G. Zamora Rueda; C. Gutierrez; M. G. Mistretta; D. Paz y M. Ruiz. 2021.** Características de la fusibilidad de cenizas de bagazo y de residuos de cosecha de caña de azúcar (RAC) de Tucumán - Argentina. *Revista industrial y agrícola de Tucumán. Tomo 98 (2):* 21-27.
- Golato, M. A.; C. E. Gutierrez; G. del H. Zamora Rueda; G. Juárez; N. Kamiya; D. Paz y M. Ruiz. 2023.** Características de las cenizas de bagazo y de residuos agrícolas de cosecha de la caña de azúcar (RAC) de Tucumán, Argentina. *Revista industrial y agrícola de Tucumán (RIAT); en prensa.*
- Liu, B.; Q. He; Z. Jiang; R. Xu and B. Hu. 2013.** Relationship between coal ash composition and ash fusion temperatures. School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Hamnkou Road, Nanjing, Jiangsu, PR China. *Fuel* 105: pp. 293-300.
- Melissari, B. 2012.** Comportamiento de Cenizas y su Impacto en Sistemas de Combustión de Biomasa. Memoria de Trabajos de Difusión Científica y Técnica (10): 69-82.
- Melissari, B. 2014.** Ash related problems with high alkali biomass and its mitigation - Experimental evaluation. Memoria Investigaciones en Ingeniería 12. ISSN 2301-1092; ISSN (En línea) 2301-1106. Consultado 20/04/23.
- Mistretta, M. G.; C. Gutierrez; G. Zamora Rueda; F. Peralta; M. A. Golato; D. Paz; G. J. Cárdenas y M. Ruiz. 2019.** Contenido de azufre total del residuo agrícola de la cosecha de caña de azúcar de Tucumán, Argentina. *Revista industrial y agrícola de Tucumán* 96 (1): 49 - 54.
- Niu, Y.; H. Tan; X. Wang; Z. Liu; H. Liu; Y. Liu y T. Xu. 2010.** Study on fusion characteristics of biomass ash. State Key Laboratory of Multiphase Flow in Power Engineering, Xi'an Jiaotong University. Shaanxi, China. *Bioresource Technology* 101: 9373-9381.
- Standard methods for examination of water and wastewater (SMWW). 2017.** Vanadomolybdophosphoric Acid Colorimetric Method Bibliography. Part 4500-P C. 23rd. Edition: 4-161/4-162.





Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
59-65; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

\* Trabajo  
presentado en  
el XXXI ISSCT  
Congress

Fecha de  
recepción:  
01/03/2024

Fecha de  
aceptación:  
20/03/2024

# Comparative analysis of the production levels in the traditional and the expanding sugarcane planted areas in Tucumán province, Argentina

Carmina Fandos\*, Federico J. Soria\*, Pablo Scandaliaris\*, Javier I. Carreras Baldrés\* y Eduardo R. Romero\*

\* Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán, Argentina. Email: carminaf@eeaoc.org.ar

## ABSTRACT

In recent years, different factors have combined to create a favourable scenario for the expansion of sugarcane in Tucumán province, R. Argentina. This expansion implied the replacement of other plantations, especially grain crops, which are located mainly to the east and south of the area traditionally used for sugarcane crops, in regions with a higher probability of frost and lower rainfall. The zoning of agricultural areas allows for differential treatments depending on the variables that limit production potential. It requires information from different years, which can be obtained quickly through remote sensing and GIS. This paper aimed to distinguish the traditionally sugarcane planted area from the expansion area in Tucumán province, and to differentiate the production zones (low, intermediate and high) in both regions. A multi-temporal analysis of categorized images was conducted using GIS techniques. The thematic layers showing sugarcane crops by levels production for different years and the productive zoning generated from these layers were used as a baseline. Thematic coverages of the agrological regions were also used. The expansion of sugarcane plantations took place to the north, east and south of the traditional sugarcane area, covering mostly the agrological region of the Chacopampeana plain and, to a lesser extent, the Deprimida plain and the Pedemonte.

The environmental conditions in the expansion area led to the assumption of lower yields than in the traditional sugarcane area. However, higher percentages of intermediate and high production zones were found than in the traditional sugarcane area, which showed that proper management of the sugarcane crop is a major factor influencing the yield of sugarcane fields in Tucumán.

GIS analysis produced numerical and geographic information that is useful for crop statistics and serves as the basis for several studies of agronomic and economic nature.

**Key words:** Zoning, Remote sensing, GIS.

## RESUMEN

### Análisis comparativo del nivel productivo en el área cañera tradicional y en el área de expansión en la provincia de Tucumán, Argentina

En los últimos años, una serie de factores se conjugaron para crear un escenario propicio a la expansión del cultivo de caña de azúcar en la provincia de Tucumán.

La ampliación del área con cañaverales implicó la sustitución de otros cultivos, especialmente de los cultivos de granos, los cuales se localizan principalmente al este y sur del área tradicionalmente destinada a cultivos de caña de azúcar, en zonas con mayores probabilidades de ocurrencia de heladas y menores milímetros de lluvia.

La zonificación de las áreas agrícolas posibilita el tratamiento diferencial de cada zona de acuerdo a las variables que limitan el potencial productivo. Requiere de la información de distintas campañas, la cual puede ser obtenida rápidamente mediante el uso de la teledetección y los SIG.

Los objetivos del presente trabajo fueron distinguir el área tradicionalmente destinada al cultivo de caña de azúcar del área de expansión en la provincia de Tucumán, y diferenciar las zonas de producción (baja, intermedia y alta) en ambas regiones.

El trabajo se realizó mediante un análisis multitemporal de imágenes categorizadas, empleando técnicas de SIG. Las coberturas temáticas utilizadas como base fueron las imágenes categorizadas surgidas de las clasificaciones digitales de caña de azúcar, la zonificación productiva generada a partir de dichas capas y las coberturas correspondientes a las regiones agrológicas de la provincia de Tucumán.

La expansión de los cañaverales se realizó hacia el norte, este y sur del área cañera tradicional, abarcando mayormente la región agrológica de la Llanura chacopampeana y en menor medida, la Llanura deprimida y el Pedemonte.

Las condiciones ambientales en la zona de expansión, caracterizadas por mayor probabilidad de ocurrencia de heladas severas, menores precipitaciones y cultivos de secano, permitían presuponer menores rendimientos que en el área cañera tradicional. Sin embargo se constataron mayores porcentuales de zonas de producción intermedia y alta que en el área cañera tradicional, lo que puso de manifiesto que el manejo adecuado del cultivo de caña de azúcar es un factor de gran incidencia en los rindes de los cañaverales tucumanos.

Los mapas temáticos generados constituyen una herramienta de gran utilidad para la elección de las prácticas agrícolas más adecuadas que aporten a la sustentabilidad del sistema productivo cañero. Por otra parte, sirven de base para análisis posteriores que incluyan otras variables de tipo ambiental, agronómico o económico.

**Palabras clave:** Zonificación, Teledetección, SIG.

## INTRODUCTION

The sugarcane planted area in the Tucumán province comprises the agro-ecological regions of Pedemonte, Deprimida and Chacopampeana plains (Zuccardi and Fadda, 1985). In each of these regions, the climatic, physiographic and edaphic characteristics are different, strongly influenced by the mountain range that runs from south to north, which generates different conditions and aptitudes for sugarcane crops. One of the most important variables is water resources: rainfall volumes, number of rainy days and relative humidity generally decrease from the west (Pedemonte) to the east (Fernández de Ullivarri *et al.*, 2015). In some localities of the Pedemonte, annual rainfall reaches 1,500 mm, while in the east of the Tucumán province it averages 700-800 mm (Romero *et al.*, 2015), which in principle would mean a lower productive potential, especially in drought years.

Another very important factor for sugarcane production is the occurrence of frost, which can cause sugar losses of up to 25%, as a result of a reduction in the quantity, and mainly the quality, of the raw material. The level of sugar loss is notably different between the Pedemonte, where even areas with a low probability of frost can be found, and the east, where they occur every year and with high degrees of severity (Leggio Neme *et al.*, 2015).

Both the importance of water for sugarcane growth, and the intensity of cold spells for defining sugar losses, mark in principle a differential in the productive capacity between the west and the east, which led the sugarcane planted area of Tucumán to lean preferentially towards the west, over in its 200 years of activity as an attempt to avoid the negative effects of periods of water

deficit and intense cold spells.

The constant changes in crop production scenarios, mainly of an economic and productive nature, determine not only variations in the planted area but also rotations with other agricultural species.

Statistics on the sugarcane planted area in Tucumán show that in 1965 there were 210,000 ha. Between 1966 and 1968, 11 of the 27 sugar mills in the province were closed down. As a result of the deteriorating economic situation, the planted area was reduced to 135,600 ha in 1968 (Osatinsky, 2012).

There was then a period of stability between 1974 and 1992, with around 250,000 ha planted, until the last of these years when sugar activity was deregulated at the national level, causing a new economic crisis, which led to a reduction in the cultivated area to 183,390 ha by 2001 (Pérez *et al.*, 2019).

In recent years, the implementation of a national biofuels programme has been a decisive factor in the expansion of sugarcane crops in the Tucumán province. The opportunity for growth in sugarcane agro-industrial activity generated important investments in the fields, such as modern harvesting machinery, a notable increase in transport capacity, agrochemical applications, cultivation and soil preparation equipment, all of which resulted in a significant improvement in the productivity of the sugarcane fields by lowering costs and improving the quality and quantity of material per unit of surface area.

In addition, equipment was incorporated in the factories to reduce the cost of sugar production and technology, and capacity for alcohol production was acquired. It could be said that, as a whole, the agro-industry undertook a structural change in production that allowed it to advance in terms of efficiency and sustainability.

The result of these important changes was an improvement in the crop's profitability, associated with favourable prices, and the possibility of its use for biofuel production, backed by national law 26.093/06, which regulates and promotes the production and sustainable use of biofuels, and law 26.334/08, which promotes bioethanol production (Molina *et al.*, 2010; Fossati *et al.*, 2021).

In this process, sugar cane recovered and surpassed the 250,000 ha cultivated area that it had for many decades in the 20th century, before the abrupt fall from 1990 onwards. Thus, in 2021, the net harvestable area under sugarcane in Tucumán reached 276,400 ha (Fandos *et al.*, 2021).

The expansion of the area with sugarcane fields and the replacement of other crops, generated a process of expansion of sugarcane crops in Tucumán's grain-growing area in the last two decades, but mainly in the periods 2012-2014 and 2018-2020 (Fandos *et al.*, 2020).

It is worth mentioning that the displaced grain-growing area of the Tucumán province is located mainly to the east and south of the area traditionally used for sugarcane crops and generally has a higher probability of frost occurrence and lower rainfall millimeters. Figure 1 shows the average annual rainfall between the 2012/2013 and 2020/2021 growing seasons in localities belonging to the traditional sugarcane area (1A) and the traditional grain area (1B). The overall average for each area is also added. In both areas, the localities are situated from west to east and there is a negative gradient towards the east. If we also take into account that in practically the entire expansion area sugarcane crops are rainfed (Sanzano, 2014), it can be inferred that the environmental conditions in the expansion area are not the most appropriate for achieving high sugarcane yields.

The zoning of agricultural areas enables the

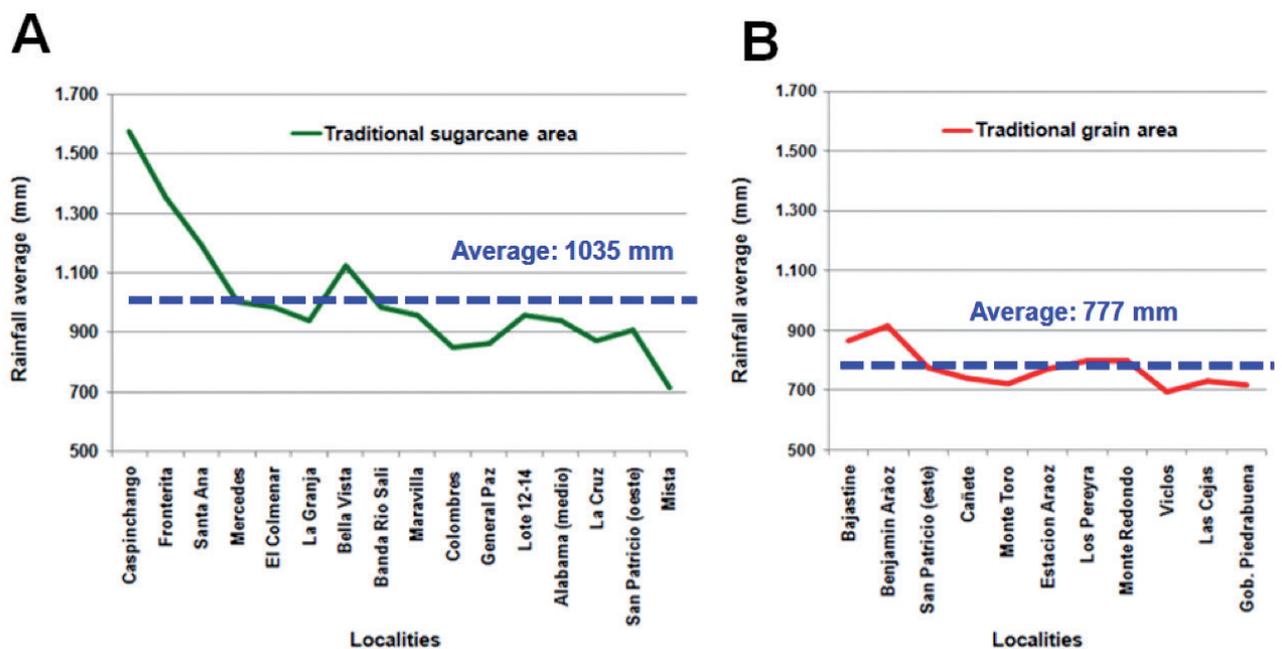
differential treatment of each zone according to the variables that limit productive potential. It requires information from different growing seasons, which can be obtained quickly through the use of remote sensing and GIS. At the local level, Fandos *et al.* (2022) carried out a zoning of the sugarcane area of Tucumán, according to production levels, using a multi-temporal analysis of categorised images applying GIS techniques.

This work aimed to differentiate the area traditionally devoted to sugarcane crops from the expansion area in the Tucumán province, and to differentiate the production zones (low, intermediate and high) in both regions.

## MATERIALS AND METHODS

The scope of this study includes the area cultivated with sugarcane in the Tucumán province, Argentina (Figure 2). It comprises the agro-ecologic al regions of Pedemonte, Deprimida and Chacopampeana plains (Zuccardi and Fadda 1985). The climate is subtropical with a distinct dry season and is characterized by warm temperate climatic conditions, hot and humid summers, and dry winters. The rainfall regime is monsoonal, with 50% to 60% of the total rainfall recorded between December and March.

The study was carried out by a multitemporal analysis of categorised images (Chuvienco, 2008), using GIS techniques. These categorized images are digital thematic maps in raster format generated from classifications of the images acquired by remote sensors. Thematic layers of sugarcane crops for the 2001 and 2021 growing seasons, analysed in Fandos *et al.* (2012) and Fandos *et al.* (2021) were used as a baseline. Thematic layers were generated from multispectral classifications of Landsat 8 OLI and Sentinel 2A and 2B MSI satellite images, obtained from



**Figure 1.** Average annual rainfall between the 2012/2013 and 2020/2021 growing seasons in localities of the traditional sugarcane planted area (1A) and the traditional grain planted area (1B). Tucumán, Argentina. Source: own elaboration with data taken from <https://agromet.eeoc.gov.ar>

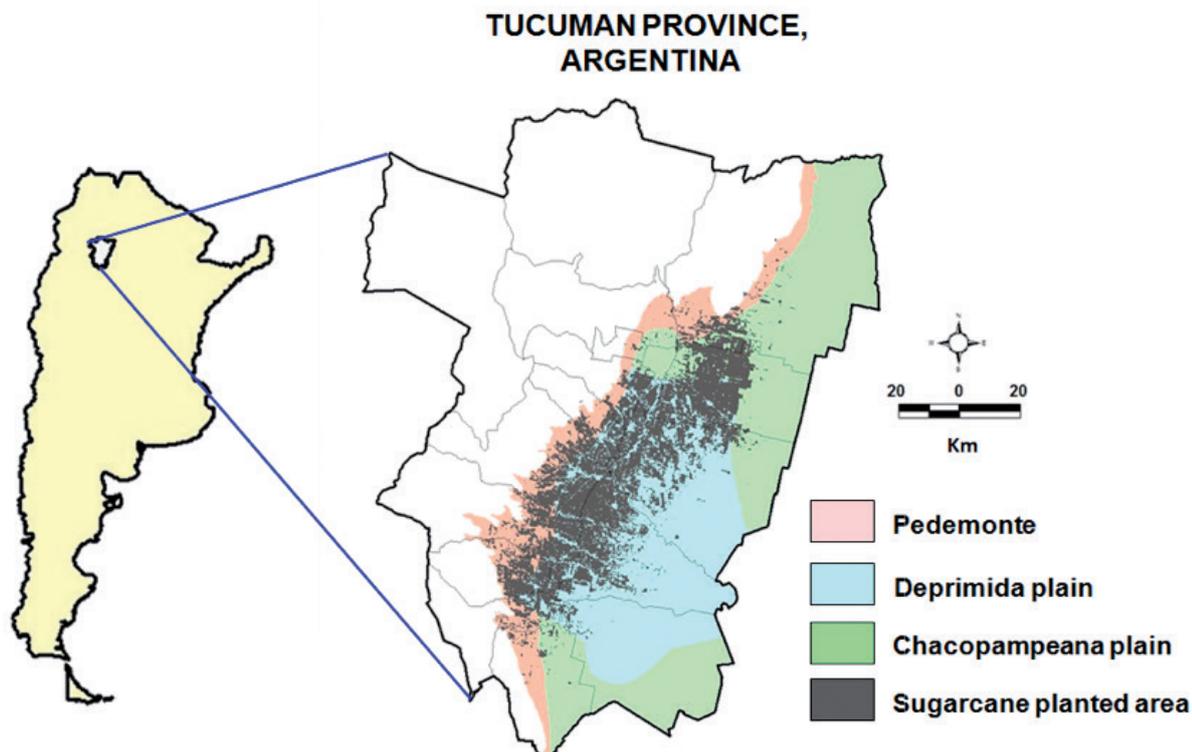


Figure 2. Location of studied area. Tucuman province, Argentina.

<https://catalogos.conae.gov.ar/landsat8/> and <https://scihub.copernicus.eu/dhus/#/home>, respectively. These satellite images were geometrically corrected with a reference system corresponding to the map projection: Posgar 94, Datum WGS 84. The sensors used are passive, i.e. they receive energy from an object illuminated by an external source, usually the sun. Multispectral classifications were made by analyzing the spectral bands located in the Red, Near Infrared and Middle Infrared, where vegetation has its greatest spectral response. The bands analyzed were 4, 5 and 6 from the Landsat 8 OLI satellite, and 4, 8 and 11 from Sentinel 2A and 2B MSI.

The coverage with sugarcane zoning area according to production levels (Fandos et al., 2022) was also used as a baseline. To obtain this layer, sugarcane classifications according to production levels between 2011 and 2020 were used as a basis. The layers contained three categories, according to cultural yield: low, medium and high. For the analysis, pixels corresponding to the low, medium and high levels were assigned the values 1, 10 and 100, respectively. For the sugarcane area zoning, three production zones were considered: low, medium and high. The assignment of classes to each zone was made considering the highest value, depending on whether it was located in the unit, ten or hundred. Classes with no predominance of values were assigned by prioritising the lowest production level.

In the present work, the coverage corresponding to zoning by production levels was updated, incorporating information on production levels for the 2021 growing season (Fandos et al., 2021).

The coverage of production zones was then superimposed with those corresponding to the area

occupied with sugarcane crops in 2001 and 2021, which allowed the differentiation of production zones in the initial area of the study and in the expansion area.

Subsequently, the coverage of production zones was superimposed with that corresponding to the agrological regions of the Tucumán province (Zuccardi and Fadda, 1985).

The software used was ERDAS Imagine (version 8.4.) and ARC GIS (version 9.0).

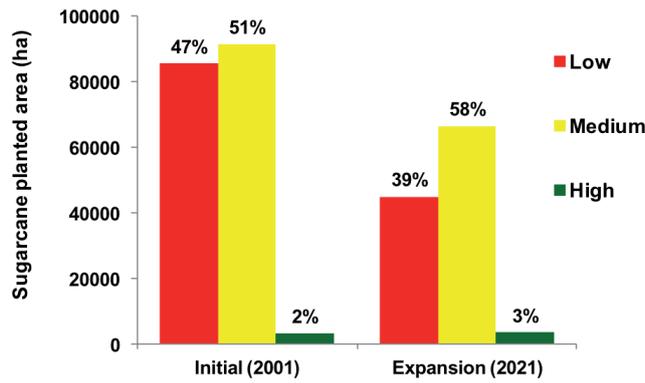
## RESULTS AND DISCUSSION

Figure 3 shows the initial sugarcane plantation area in 2001 and the sugarcane crop expansion area as surveyed in 2021, with the different production zones discriminated from one another.

The spatial distribution of the production zones in the initial sugarcane area and in the area of recent expansion, according to agrological regions, is shown in Figure 4.

Figure 4 shows that, although low production zones are present throughout the sugarcane area, they are predominant in the central sector of the Deprimida plain. This may be associated with the presence of a water table relatively close to the soil surface which suffers lacks of a defined drainage network in the eastern sector. This combination leads to the accumulation of excess water, which is detrimental to the productive quality of the soil (Sanzano, 2019).

In the Chacopampeana plains, low yields could be associated with the growing water deficit towards the east and a low structural stability of the soils due to low silt



**Figure 3.** Sugarcane area according to production zones in the initial sugarcane area of the study (2001) and in the recent expansion area. Tucumán, Argentina.

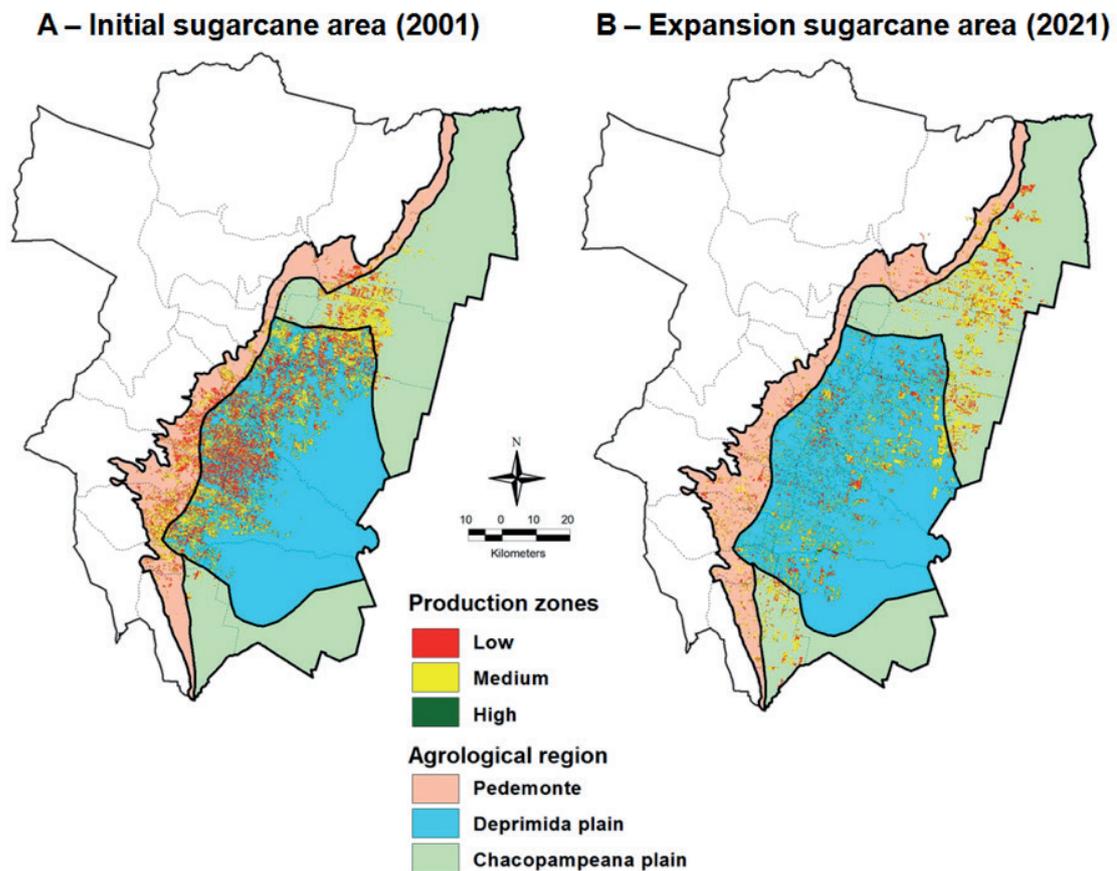
contents. This generates conditions conducive to large-scale surface runoffs that cause moderate to severe water erosion processes. In the Pedemonte region, low yields could be related to the lack of adequate management to mitigate the negative effects of torrential rainfall, which, together with steep slopes and soils with low water retention capacity, generates soil losses due to water erosion (Sanzano, 2019).

The higher percentages of zones with intermediate

and high production in the expansion area contradict the theory that meteorological conditions would not be the most appropriate for achieving high sugarcane yields (Figure 1). The explanation could be that, in addition to the physical and chemical aspects of the soil, the yield of most sugarcane fields in Tucumán is greatly influenced by aspects related to crop management, which is conditioned, in turn, by the size of the plots and land tenure regime. It is exactly crop management what allows either overcoming physiographic and edaphic limitations, or simply not taking advantage of environments suitable for sugarcane growths.

The traditional sugarcane planted area has more than 200 years of uninterrupted production in general, while the expansion area has a productive background mainly in the cultivation of soybeans. It has been shown that the impact of sugarcane/soybean rotation under the conditions analysed is very important. There are precedents that indicate that the rotation of sugarcane fields with soybean results in improved sugarcane yields during its life cycle, as well as better conservation of the soil resources (Giancola *et al.*, 2012). Garside *et al.* (2001) indicated that properly managed soybean crops can improve the yield of the ensuing sugarcane crop cycle by 20% to 30% in the first and second harvests, respectively.

Another factor to consider is new production technologies, such as green cane harvesting and management of the cane field with crop residues, which



**Figure 4.** Spatial distribution of sugarcane production areas according to agrological regions. A: Initial study area (2001). B: Recent sugarcane expansion area. Tucumán, Argentina.

have been shown to have an important impact on production levels, especially in areas with lower water availability (Fernandez de Ullivarri *et al.*, 2021).

In addition, the incorporation of the mechanical harvesting system has made it possible to prioritise harvesting in areas with the greatest presence and incidence of cold weather on raw material quality. At this point, it is important to highlight that mechanised harvesting must be carried out at the optimum speed and in suitable soil conditions to minimise the risk of damage to stubble, which can lead to reduced cane longevity (Fernandez de Ullivarri *et al.*, 2015).

Finally, it is worth mentioning that in the sugarcane expansion area there is a predominance of medium and large producers, who apply maximum levels of technology in the management and harvesting of sugarcane. In this sense, intermediate and high production areas prevail in the region of the Chacopampeana plain, the northern and southern sector of the Deprimida plain and the southern sector of the Pedemonte, coincidentally with departments where producers or sugarcane companies have a larger economic scale and a diversified production base (Benedetti *et al.*, 2019), together with negotiating power in the market. By contrast, in the traditional zone a significant percentage is managed by small producers, mainly in the central sector of the Deprimida plain. This area is characterized by small-scale sugarcane production with low technology, family labour (Santillán *et al.*, 2012) and a high concentration of sugarcane burning (Carreras Baldrés *et al.*, 2021). It is worth mentioning that smallholding is a constraint to both the incorporation of technology and the adoption of good agricultural practices, as this type of farming is rooted in traditional monoculture and ancestral cultural practices (Giancola *et al.*, 2012).

## CONCLUSIONS

Sugarcane crops expanded towards the north, east and south of the traditional sugarcane planted area, covering mostly the agrological region of the Chacopampeana plain and, to a lesser extent, the Deprimida plain and the Pedemonte.

The environmental conditions in the expansion area, characterised by a higher probability of severe frosts, lower rainfall, and rainfed crops, led to the assumption of lower yields than in the traditional sugarcane planted area. However, higher percentages of intermediate and high production zones were found than in the traditional sugarcane planted area, which showed that proper management of the sugarcane crop is a major factor influencing yields of sugarcane fields in Tucumán.

In some cases, sugarcane field management makes it possible to overcome physiographic and edaphic limitations; in other cases, good environments for sugarcane cultivation are not taken advantage, and this is greatly influenced by the size of the plots and the land tenure system, which condition access to new management technologies.

The thematic maps generated facilitate the identification of different production zones in the different agrological regions, which is a very useful tool for choosing

the most appropriate and sustainable agricultural practices for sugarcane production. On the other hand, they serve as a basis for subsequent analyses that include other environmental, agronomic or economic variables.

## ACKNOWLEDGMENTS

Jorge Scandaliaris for his contributions to this work.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Benedetti PE; Morales C and Moreno RA. 2019.** Dinámica de plantación de caña de azúcar y rotación de cultivos a partir de sensores remotos, campaña 2018-2019. Ediciones INTA. Tucumán. Accessed 26 Oct. 2020. <https://inta.gob.ar/documentos/dinamica-de-plantacion-de-cana-de-azucar-y-rotacion-de-cultivos-a-partir-de-sensores-remotos-campa-2018-2019>.
- Carreras Baldrés JI, Fandos C, Soria FJ, Scandaliaris P and Fernández de Ullivarri J. 2021.** Monitoreo satelital de la quema de cañaverales en la provincia de Tucumán, R. Argentina, durante el período 2013-2020. Proceedings XIX Simposio Internacional SELPER. Santiago de Chile.
- Chuvienco E. 2008.** Teledetección ambiental. La observación de la tierra desde el espacio (3 ed.). (Planeta, Ed.). Barcelona, España.
- Fandos C, Soria FJ, Carreras Baldrés JI and Scandaliaris P. 2012.** Estudio de la dinámica de la rotación soja/caña de azúcar en Tucumán mediante teledetección y SIG. Período analizado: años 2001 a 2011. Proceedings XVIII SATCA. Tucumán.
- Fandos C, Soria FJ, Scandaliaris P, Carreras Baldrés JI and Devani MR. 2020.** Expansión del cultivo de caña de azúcar sobre el área granera tucumana en el período 2006-2020. Avance Agroindustrial 41 (4) 32-34. Accessed 15 Jan. 2021. <https://www.eeaoc.gob.ar/?publicacion=expansion-del-cultivo-de-cana-de-azucar-sobre-el-area-granera-tucumana-en-el-periodo-2006-2020>
- Fandos C, Scandaliaris J, Scandaliaris P, Carreras Baldrés JI, Soria FJ, Giardina J et al. 2021.** Área cosechable y producción de caña de azúcar y azúcar para la zafra 2021 en Tucumán. Reporte Agroindustrial 217 EEAOC. Relevamiento satelital de cultivos en la provincia de Tucumán. Accessed 21 Sep. 2021 <https://www.eeaoc.gob.ar/?publicacion=relevamiento-satelital-de-cultivo-sen-la-provincia-de-tucuman>
- Fandos C, Soria FJ, Scandaliaris P and Carreras Baldrés JI. 2022.** Delimitación de zonas de producción homogénea en caña de azúcar y relación con regiones agrológicas. Proceedings 2 CLAP 2022. Accessed 31 Mar. 2022. <https://intercloudy.contilatam.com/1730/login-event>
- Fossati G, Pérez D, Paredes V, Rodríguez G, Ruíz M and De Boeck G. 2021.** Producción y precio doméstico del bioetanol de caña de azúcar en la Argentina durante el período 2009-2021. Reporte Agroindustrial EEAOC 220. Accessed 03 Jan. 2022 <https://www.>

- [eeaoc.gob.ar/?publicacion=bioeconomia](http://eeaoc.gob.ar/?publicacion=bioeconomia)  
**Fernández de Ulivarri J, Tonatto M, Romero ER, Scandaliaris J; Leggio Neme F; Alonso L. G, et al. 2015.** Chapter D4: Cosecha de la caña de azúcar. In: Guía técnica del cañero. Digonzelli PA, Romero ER and Scandaliaris J (eds.). EEAOC.
- Fernández de Ulivarri J; Medina M, Criado A, Tortora L, Romero ER and Digonzelli PA. 2021.** Análisis de la temperatura y humedad del suelo y rendimiento cultural en dos sistemas de manejo del cañaveral en Tucumán – Argentina. *Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán* 98 (1): 13-20.
- Garside AL, Bell MJ, Berthelsen JE and Halpin NV. 2001.** Species and management of fallow legumes in sugarcane farming systems. *Proceedings 10th Australian Agronomy Conference (10th AAC)*. Accessed 11 Jun. 2014. [www.survey.regional.org.au](http://www.survey.regional.org.au)
- Giancola SI, Morandi JL, Gatti N, Di Giano S, Dowbley V and Biaggi C. 2012.** Causas que afectan la adopción de tecnología en pequeños y medianos productores de caña de azúcar de la Provincia de Tucumán: enfoque cualitativo. Serie: Estudios socioeconómicos de la adopción de tecnología. Accessed 17 May. 2017. <https://www.inta.gov.ar>
- Leggio Neme MF, Romero ER, Digonzelli P, Giardina J, Fernández de Ulivarri J, Tonatto J et al. 2015.** Chapter B5: Heladas. In: Guía técnica del cañero. Digonzelli PA, Romero ER and Scandaliaris J (eds.). EEAOC.
- Molina CF and C Intartaglia. 2010.** Biometanización: una alternativa tecnológica para el tratamiento de las vinazas de destilerías de alcohol en Tucumán. *Rev. Avance Agroindustrial* 31 (1): 37-41.
- Romero ER, Digonzelli P, Leggio Neme MF, Sanchez Ducca A, Fernández de Ulivarri J, Tórtora L et al. 2015** Chapter A3: La caña de azúcar y el agua. In: Guía técnica del cañero. Digonzelli PA, Romero ER and Scandaliaris J (eds.). EEAOC.
- Osatinsky A. 2012.** Estructura productiva, actividad azucarera y mercado de trabajo en Tucumán (1930-1970). *Revista de Historia Americana y Argentina* 47: 41-71. Accessed 09 May. 2022 [https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/8483/02-osatinsky-rhaya-v47n1.pdf](https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/8483/02-osatinsky-rhaya-v47n1.pdf)
- Pérez D, Paredes V, Rodriguez G and Scandaliaris J. 2019.** Economic and production indicators of the sugar industry in Tucumán, Argentina, 1994-2017. *Proceedings of the XXX International Society of Sugar Cane Technologists*. Argentina.
- Santillán J, Scaia E, Nestasio B, Valdez I, Perea J and Bas Nahas S. 2012.** Plan de Desarrollo Territorial de Tucumán. Accessed 10 Feb. 2014. <https://www.rides.producciontucuman.gov.ar>
- Sanzano A. 2014.** Agricultura de secano: la economía del agua. *Avance Agroindustrial* 35 (2) 9-16. Accessed 15 Jan. 2021. <https://www.eeaoc.gob.ar/?publicacion=agricultura-de-secano-la-economia-del-agua>
- Sanzano A. 2019.** Suelos productivos de Tucumán, buenas prácticas. *Avance Agroindustrial*. 40 (1) 30-40. Accessed 15 Jan. 2021 <https://www.eeaoc.gob.ar/wp-content/uploads/2019/06/avance40-1-suelos-productivos-de-tucuman.pdf>
- Zuccardi RB and Fadda GS. 1985.** Bosquejo Agrológico de la Provincia de Tucumán. *Miscelánea* 86. 63 p. Facultad de Agronomía y Zootecnia de la U.N.T. Tucumán. Argentina.





Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 101 (1):  
67-74; 2024



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

Corresponde a un  
trabajo técnico  
presentado en el  
XII Congreso de  
Tecnicaña 2022

Fecha de  
recepción:  
05/04/2023

Fecha de  
aceptación:  
15/04/2024

# Caracterización y clasificación del bagazo y RAC de caña de azúcar, según índices de comportamiento a partir de su composición química elemental

Gimena del H. Zamora Rueda\*; Marcos A. Golato\*; Walter D. Machado\* y Dora Paz\*

\*Sección Ingeniería y Proyectos Agroindustriales, EEAOC. Email: gzamora@eeaoc.org.ar

## RESUMEN

En la actualidad existe una tendencia creciente del uso de energías renovables para la producción de energía limpia con el fin de mitigar los efectos del cambio climático. El objetivo de este estudio fue caracterizar físico, química y energéticamente el bagazo de caña de azúcar y el residuo agrícola de cosecha de caña de Tucumán, Argentina. Se realizó, además, una clasificación de estas biomásas por medio del diagrama de Van Krevelen y de un diagrama ternario C-H-O. Para ello se analizaron 20 muestras por duplicado de la zafra 2019, según normas estandarizadas. Se realizaron análisis inmediatos, composición química elemental, poder calorífico superior (PCS) y fusibilidad de cenizas, y se determinaron las relaciones molares, oxígeno/carbono (O/C) e hidrógeno/carbono (H/C) para la confección de los diagramas mencionados. El bagazo mostró menor porcentaje de cenizas (4,93% base seca) en relación al RAC (12,36%), mayor contenido de sólidos volátiles (77,93% base seca) y mayor PCS (17.893 kJ/kg base seca). Las relaciones molares resultaron en promedio de  $O/C = 0,89$   $H/C = 1,83$  para bagazo y  $O/C = 0,86$  y  $H/C = 1,58$  para RAC. Estas relaciones se encuentran dentro de los valores observados en bibliografía para estas biomásas combustibles. Las biomásas estudiadas se ubican en la parte superior del diagrama, presentando mayores relaciones O/C y H/C que la madera. Se recomienda estudiar la cinética de los procesos de pirólisis y gasificación de estas biomásas.

**Palabras clave:** biomasa lignocelulósica, aprovechamiento energético, biocombustible, gasificación, pirólisis.

## ABSTRACT

### Tucumán sugar cane by-products: characterization and classification of bagasse and RAC according to oxygen and hydrogen indices

Currently, there is a growing trend of using renewable energies for the production of clean energy, in order to mitigate the effects of climate change. The objective of this study was to physically, chemically and energetically characterize sugarcane bagasse and agricultural sugarcane harvest residue, from Tucumán, Argentina. Furthermore, carry out a classification of these biomasses using the Van Krevelen diagram and a ternary C-H-O diagram. To do this, 20 duplicate samples from the 2019 harvest were analyzed, according to standardized norms. Immediate analyzes were carried out, elemental chemical composition, higher heating value (PCS), ash fusibility and the molar ratios, oxygen/carbon (O/C) and hydrogen/carbon (H/C) were determined to prepare the diagrams mentioned. The bagasse showed a lower percentage of ash (4.93% dry basis) in relation to the RAC (12.36%), a higher content of volatile solids (77.93% dry basis) and a higher PCS (17,893 kJ/kg dry basis). The molar ratios resulted in an average of  $O/C = 0.89$  and  $H/C = 1.83$  for bagasse and  $O/C = 0.86$  and  $H/C = 1.58$  for RAC. These relationships are within the values observed in the literature for these fuel biomasses. The biomasses studied are located at the top of the diagram, presenting higher O/C and H/C ratios than wood. It is recommended to study the kinetics of the pyrolysis and gasification processes of these biomasses.

**Key words:** lignocellulosic biomass, energy use, biofuel, gasification, pyrolysis.

## INTRODUCCION

En la actualidad, los combustibles fósiles tienen un peso significativo en la matriz energética mundial. Según la Agencia Internacional de Energía (AIE), el 31,49% de la energía generada a nivel mundial proviene del petróleo; el 26,88% del carbón; el 22,84% del gas natural; el 4,95% de energía nuclear y el 13,84% restante, de fuentes de energías renovables (AIE, 2018). Por este motivo resulta necesario realizar grandes esfuerzos para contrarrestar la enorme dependencia de las fuentes de energías no renovables, grandes generadoras de Gases de Efecto Invernadero (GEI) que deberán ser reemplazadas paulatinamente por fuentes de energías limpias y sustentables, con el objetivo de equilibrar la matriz energética actual. Una alternativa posible sería el reemplazo de combustibles fósiles por fuentes de energías renovables, entre las cuales se destacan las biomásas, ya sean de origen agrícola o industrial. La utilización, desarrollo y aprovechamiento energético de éstas deben ser planteados de manera estratégica, apuntando a una solución integral y tratando de disminuir el consumo intensivo de combustibles fósiles.

Se consideran biomasa “las sustancias orgánicas que tiene su origen en los compuestos de carbono formados en la fotosíntesis” (Nogués *et al.*, 2010).

En Tucumán- Argentina, más del 90% de la caña de azúcar se cultiva en las regiones del Pedemonte, la Llanura Central o Deprimida y la Llanura Chaco-pampeana. Estas regiones, aunque se encuentran a corta distancia unas de otras, poseen características de suelo, clima y relieve muy contrastantes (Digonzelli *et al.*, 2015). La cosecha de la caña en la provincia de Tucumán se realiza normalmente entre los meses de mayo y noviembre. El tipo de cosecha es mecanizada en verde (93,2%) y mediante el uso de cosechadoras integrales (Digonzelli *et al.*, 2015). Según Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes (EEAOC), durante la zafra azucarera 2019 la superficie neta cosechada de caña de azúcar fue de 275.290 ha, de las cuales se obtuvo un total de 15.150.000 t de caña de azúcar (EEAOC, 2019).

En la provincia de Tucumán se encuentran operativos 15 ingenios de caña de azúcar, que utilizan el bagazo como subproducto generado durante la molienda de la caña de azúcar para la obtención de biomasa combustible. La misma es del tipo lignocelulósica, constituida por fibra, sólidos insolubles, sólidos solubles y agua. Durante la zafra 2018/2019 se obtuvieron 4.235.162,61 t de bagazo disponible para energía (EEAOC, 2019).

Otro subproducto de la caña de azúcar para aprovechamiento energético es el residuo agrícola de la cosecha de caña de azúcar (RAC), biomasa que queda en campo posterior a la cosecha. Para determinar el RAC seco factible de ser recolectado se utilizó como base el coeficiente de biomasa residual promedio entre variedades de 151 kg RAC/t caña, determinado por Casen *et al.* (2015). El RAC seco hace referencia a la cantidad de residuo expresada en peso de materia seca por unidad de superficie que queda en campo. Si el valor de RAC factible de recolectar se corrige por el 15% de humedad, y luego a ese total se lo afecta por el 55%, que es el porcentaje factible de recolectar por la máquina, se puede estimar un valor del RAC disponible de 1,27 millones de

toneladas (Casen *et al.*, 2015).

Para poder caracterizar una biomasa como combustible es de vital importancia conocer parámetros físicos, químicos y energéticos. Los parámetros físicos, que son la densidad real y la aparente junto con la fusibilidad de cenizas, influyen en la selección y el diseño de los equipos, el manejo del material y la necesidad de pre-tratamiento. Los parámetros químicos comprenden el análisis inmediato (humedad, cenizas, sólidos volátiles y carbono fijo) y el análisis elemental (carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, azufre y cloro), los cuales determinan el comportamiento de la biomasa durante los procesos de transformación química y termoquímica. Por último, el poder calorífico es un parámetro energético que determina la energía química del combustible que puede ser transformada directamente en energía térmica mediante un proceso termoquímico de oxidación (combustión), el cual establece la cantidad de energía aprovechable (Nogués *et al.*, 2010).

El estudio de las relaciones molares, como el índice de oxígeno e hidrógeno elemental propuesto por Van Krevelen en 1950 para la clasificación y representación de los combustibles, ha cobrado cada vez más relevancia en el ámbito de la bioenergía (Cortés, 2006; Guachi Cabrera, 2019; Kumar *et al.*, 2019; Van Krevelen, 1950). Este diagrama es útil para definir la calidad de un material orgánico como posible combustible, y su clasificación en función de esa calidad en relación a su capacidad de reacción y el impacto que provoca en el medioambiente. El índice de oxígeno e hidrógeno elemental se construye ubicando en un par de ejes coordenados la relación molar O/C (oxígeno/carbono), también denominado índice de oxígeno, y la relación molar H/C (hidrógeno/carbono), también denominado índice de hidrógeno (Jenkins *et al.*, 1998). La relación O/C define el grado de reactividad que tendrá la biomasa durante su combustión, mientras que la relación H/C ayuda a elegir correctamente un combustible desde el punto de vista energético. Es importante considerar la relación O/C, ya que un mayor contenido de O en la biomasa permitirá una combustión más eficiente con menor consumo de aire para la combustión. Por su parte, relación H/C resulta de relevancia para la generación de energía y reducción de las emisiones de CO<sub>2</sub>. Una mayor cantidad de C dará lugar a un mayor PCI y por lo tanto una mayor cantidad de CO<sub>2</sub> (Rojas González y Barraza Burgos, 2012).

En los diagramas ternarios puede representarse el proceso de conversión más conveniente en función de los contenidos de C-H-O obtenidos de un análisis elemental del combustible. Por ejemplo, la carbonización o pirólisis lenta mueve el producto hacia el carbono mediante la formación de residuo carbono sólido. La pirólisis rápida mueve los productos hacia el hidrógeno y los aleja del oxígeno, lo que implica un producto más rico en hidrocarburos. La gasificación con oxígeno mueve el producto gaseoso hacia la esquina del oxígeno, mientras que la gasificación con vapor aleja el proceso de la esquina del carbono. Un proceso de hidrogenación mueve los productos hacia el hidrógeno, provocando la formación de un gas combustible (Basu, 2013).

El objetivo de este estudio fue mostrar los resultados de las características físicas, químicas y energéticas del bagazo y el RAC de caña de azúcar de Tucumán,

Argentina, con especial interés en las determinaciones de las relaciones O/C y H/C y su clasificación por medio de diagramas que ayuden a interpretar rápidamente la calidad combustible, y el proceso termoquímico más adecuado para su aprovechamiento en comparación con otros tipos de combustibles sólidos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Las biomásas en estudio fueron bagazo de caña de azúcar proveniente de diferentes ingenios tucumanos y RAC, recolectados en campo en las diferentes zonas agroecológicas de Tucumán, Argentina. Se recolectaron 20 muestras por cada biomasa analizada y fueron procesadas y caracterizadas en el Laboratorio de Evaluaciones Energéticas de Biomasa (LEEB), pertenecientes a la Sección Ingeniería y Proyectos Agroindustriales de la EEOC. Todas las determinaciones analíticas se realizaron por duplicado.

Inicialmente las muestras se secaron en estufa a 105°C hasta peso constante y se picaron en un molino marca FRISTCHER, modelo Pulverisette 19, con malla de tamizado de 1 mm. En la Tabla 1 se muestran las técnicas utilizadas y las normas de referencia.

Para el cálculo de PCI en base húmeda (b.h.) se utilizó la Ecuación 1 (Feijóo *et al.*, 2015).

Para la clasificación de las biomásas en estudio como combustibles para calderas, según los índices de oxígeno e hidrógeno, se utilizó primeramente el diagrama de Van Krevelen y luego un diagrama ternario C-H-O. Para la construcción del primer diagrama se determinaron las relaciones molares O/C y H/C para cada una de las biomásas analizadas, siguiendo la metodología de refe-

rencia (Cortés, 2006; Jenkins *et al.*, 1998). Las fracciones molares de los elementos se determinaron tomando las fracciones másicas de C, H, y O, obtenidas del análisis de composición elemental, y se relacionaron con los correspondientes pesos moleculares de los elementos analizados. El diagrama ternario es una herramienta complementaria al diagrama de Van Krevelen, donde las tres esquinas del triángulo representan al carbono, al oxígeno y al hidrógeno puros, es decir, 100% de concentración. Los puntos dentro del triángulo representan una mezcla ternaria de estos tres elementos. El lado opuesto a un vértice del triángulo representa una concentración 0% de ese componente. De este modo, la composición elemental de un combustible queda definida por un punto sobre el área del triángulo. Una biomasa combustible está más cerca de los rincones del hidrógeno y del oxígeno, lo que significa que la biomasa contiene más hidrógeno y más oxígeno que el carbón mineral (Basu, 2013).

La Figura 1 muestra la secuencia seguida para el análisis y determinación de los parámetros encontrados en el presente estudio, según lo indicado en Tabla 1.

#### Ecuación 1

$$PCI = PCS \times (1 - w) - 2442 \times [9 \times H \times (1 - CZ) \times (1 - w) + w] \quad Ec.(1)$$

Dónde:

PCI: poder calorífico inferior en base húmeda [kJ/kg]

PCS: poder calorífico superior [kJ/kg]

H: contenido de hidrógeno, en composición centesimal.

w: contenido de humedad, en composición centesimal.

CZ: contenido de cenizas en composición centesimal.

Tabla 1. Parámetros analizados en las muestras de biomásas ensayadas en el estudio. Elaboración propia.

Análisis	Equipo	Procedimiento utilizado
Análisis inmediato	Humedad (w)	Estufa ORL, con circulación de aire forzada ASTM D5142-02 modificada
	Cenizas (CZ), Sólidos volátiles (SV) Carbono fijo (CF) en base seca (b.s.)	Analizador termogravimétrico automatizado y con atmósfera controlada, marca LECO, modelo TGA701. ASTM D5142-02 modificada
Análisis energético	Poder calorífico superior (PCS) en b.s.	Bomba Calorimétrica automatizada, marca IKA, modelo C500. ASTM D240-00 y ASTM D2015-96.
	Poder calorífico inferior (PCI) en base húmeda (b.h.)	Cálculo mediante W, CZ, PCS y contenido de hidrógeno. Feijóo et al., 2015
Análisis elemental	Cloro (Cl) en b.s.	Bomba Calorimétrica automatizada, marca IKA, modelo C500. ASTM E 776-87 modificada.
	Carbono (C), Nitrógeno (N), Hidrógeno (H), Oxígeno (O) y Azufre (S) en b.s.	Analizador de composición elemental, marca LECO, modelo CHONS 628 ASTM D 3176-15 y ASTM D5373-02
Análisis de temperatura de fusibilidad de ceniza	Temperaturas de inicio de deformación (DT), ablandamiento (ST), semiesfera (HT) y de fluidización (FT).	Analizador de fusibilidad de cenizas con atmósferas controladas (oxidantes y reductoras), marca LECO, modelo AF 700. ASTM D1857-94

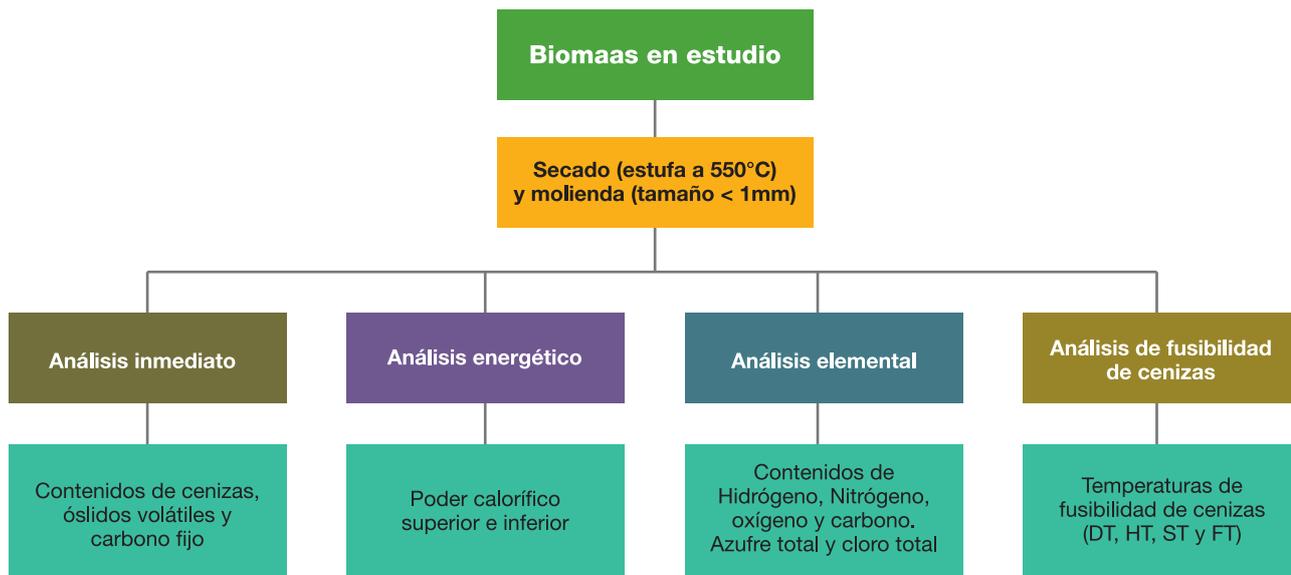


Figura 1. Diagrama de secuencia de los parámetros analizados en el presente estudio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 informa los resultados promedio de los análisis inmediatos, elementales, energéticos y los índices de oxígeno e hidrógeno elemental para las muestras de bagazo y RAC de Tucumán. Además, en la Tabla se muestra una comparación de los resultados de las biomasa en estudio respecto de los otros valores encontrados en bibliografía. Se puede observar que de las biomasa analizadas, la que presentó mayor contenido promedio de humedad ( $w$ ) fue el bagazo (51,79%), seguido por el RAC (15,78%). Cabe destacar que la humedad de un combustible es importante no tan solo desde el punto de vista logístico para aquellas biomasa que deban ser transportadas a granel, sino también debido a la influencia negativa que genera en el proceso de combustión de las mismas. El RAC presentó mayores contenidos de CZ (promedio 12,36%) en relación al bagazo (promedio 4,93%). Un elevado contenido de cenizas influye en la calidad de la combustión (menor PCS) y en la cantidad de paradas de la caldera para su limpieza, ya que habrá una mayor proporción de material inorgánico que habrá que retirar del hogar. Con respecto al contenido de sólidos volátiles (SV), el bagazo presentó la mayor cantidad promedio del mismo (77,93%), mientras que en el RAC fue 9,35% menor (70,64%). En relación al carbono fijo (CF), el bagazo presentó un valor medio de 17,14%, muy cercano al obtenido en RAC (17,00%). En cuanto a los análisis energéticos, el mayor PCS se obtuvo para el bagazo (17.893 kJ/kg) y un menor valor para el RAC (16.668 kJ/kg), debido principalmente al mayor contenido de material inerte (cenizas) que acompaña a esta última biomasa durante el proceso de combustión; esto disminuye la cantidad de energía desarrollada por unidad de masa. El mayor PCI fue obtenido para el RAC (12.726 kJ/kg), seguido del bagazo (6706 kJ/kg). Esto se debe principalmente al elevado contenido de humedad que acompaña a este último, que provoca una disminución de la cantidad de energía química disponible. Los resultados consignados coinciden con los observados en bibliografía y valores encontrados en la región en

zafras anteriores (Bizzo *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2016; Zamora Rueda *et al.*, 2019).

Los resultados del análisis de la composición elemental de las biomasa arrojaron que el bagazo presentó menores valores del contenido de carbono, lo cual desde el punto de vista ambiental se traduce en menores emisiones de  $\text{CO}_2$  a la atmósfera. Asimismo, el bagazo presentó menores contenidos de cloro y azufre, por lo que los gases producto de la combustión tendrían contenidos más bajos de cloruro de hidrógeno y de óxido de azufre. Estos resultados son semejantes a los informados por Bizzo *et al.* (2014), Cruz *et al.* (2016) y Zamora *et al.* (2019). En cuanto a los resultados de las relaciones molares para las biomasa estudiadas, los valores para bagazo fueron de  $\text{O/C} = 0,89$  y  $\text{H/C} = 1,83$ . Para RAC fueron de  $\text{O/C} = 0,86$  y  $\text{H} = 1,58$ . Estos resultados coinciden con los observados por Guachi Cabrera (2019), que indicó valores promedio para bagazo de  $\text{O/C} = 0,90$  y  $\text{H/C} = 1,90$ . Asimismo, Kumar *et al.* (2019) informaron valores promedio de  $\text{O/C} = 0,75$  y  $\text{H/C} = 1,60$  para igual biomasa. No se encontraron relaciones molares para RAC. Además, Kumar *et al.* (2019) estudiaron la relación  $\text{H/C}$  para diferentes tipos de biomasa para ser aprovechada en procesos de pirólisis. Estos autores indicaron que el bagazo de caña de azúcar se encuentra en una zona apropiada para el desarrollo de este proceso termoquímico, ya que posee valores adecuados de  $\text{H/C}$  y cuenta con una estructura lignocelulósica conveniente. Los resultados obtenidos de SV (ver Tabla 2) son representativos al tipo de biomasa lignocelulósicas evaluadas, donde poseen en promedio alrededor de 70% de SV, resultando aptas para los procesos termoquímicos. Es importante destacar que la cantidad de materia volatilizada durante un proceso termoquímico está relacionada con el contenido elemental de C, H y O; cuanto mayor sea la relación  $\text{H/C}$ , mayor será el contenido de volátiles; y éste disminuirá cuando mayor sea la relación  $\text{O/C}$ . Asimismo, la cantidad de volátiles (SV) influye en la degradación térmica del combustible y en el desempeño de un determinado proceso termoquímico, ya sea combustión, gasificación y/o pirólisis (Guachi Cabrera, 2019; Kumar *et al.*, 2019).

**Tabla 2.** Resultados del análisis inmediato, elemental, energéticos y relaciones molares para bagazo y RAC de Tucumán y comparados con otros autores. Elaboración propia.

Análisis inmediato	Bagazo			RAC		
	Este trabajo	Bizzo <i>et al.</i> (2014)	Zamora <i>et al.</i> (2019)	Este trabajo	Bizzo <i>et al.</i> (2014)	Zamora <i>et al.</i> (2019)
w (% base húmeda)	51,79		52,54	15,78	7,50	16,20
CZ(% base seca)	4,93	5,13	5,77	12,36	82,25	12,51
SV (% base seca)	77,93	80,81	77,21	70,64	10,10	70,81
CF ( % base seca)	17,14	19,18	16,65	17,00		16,69
<b>Análisis elemental (% base seca)</b>						
C	42,74	42,61	43,90	43,46	42,50	43,96
H	6,51	5,92	5,80	5,72	6,02	5,41
N	0,19	0,63	0,40	0,69	0,60	0,10
O	50,49	50,90	41,20	49,92	50,20	50,46
S	0,19	0,24	0,16	0,25	0,24	0,07
Cl	0,09	0,10	0,14	0,18	0,44	-
<b>Análisis energético (kJ/kg)</b>						
PCS (base seca)	17.893	1.772	17.584	16.668	17.100	16.419
PCI (base húmeda)	6.706		6.538	12.726	-	-
Índice de hidrógeno y oxígeno	Guachi Cabrera, 2019		Kumar <i>et al.</i> (2019)			
H/C	1,83	1,90	1,60	1,58	-	-
O/C	0,89	0,90	0,75	0,86	-	-

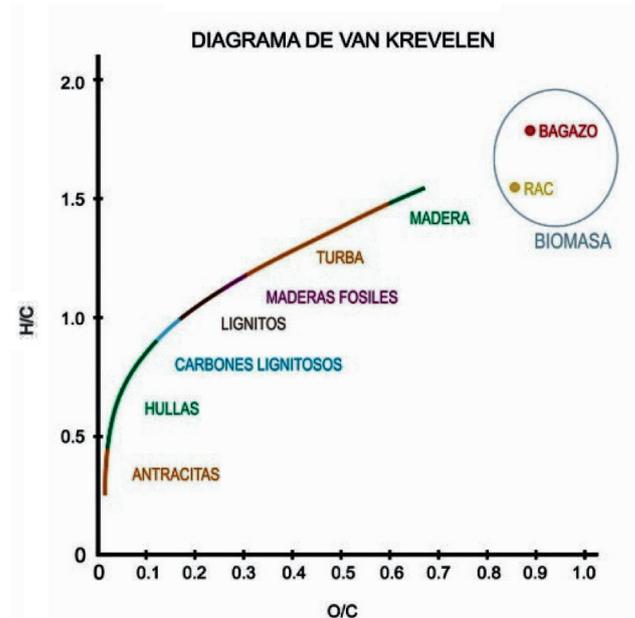
La Figura 2 muestra en el diagrama de Van Krevelen una comparación entre diferentes combustibles sólidos y el grupo de biomásas en estudio. En el diagrama se puede observar cómo los combustibles evaluados quedan representados en una región típica para los combustibles lignocelulósicos, los cuales poseen elevadas relaciones de O/C y H/C. Las biomásas estudiadas se ubican en la parte superior del diagrama, presentando mayores relaciones O/C y H/C, por arriba de la madera (0,89 y 1,83 vs. 0,65 y 1,50, respectivamente). Desde el punto de vista ambiental, una menor cantidad de C da lugar a menores emisiones de CO<sub>2</sub>, por lo que la combustión del bagazo tendría menor impacto en el medioambiente en comparación con el RAC. Asimismo, la presencia de un mayor contenido de H en la biomasa implica una mayor formación de agua durante la combustión, por lo que a menores valores de H, mayor será el PCI del combustible. Este hecho se refleja en los resultados mostrados en Tabla 2.

Con respecto al índice de oxígeno O/C, se encontró en promedio una mayor relación para el bagazo (0,89) respecto al RAC (0,86). Es importante indicar que si bien un mayor índice de oxígeno implicaría un menor PCS, debido al menor contenido de C, la mayor concentración de oxígeno mejora la reactividad del combustible, permitiendo una combustión más eficiente. Esto se vio reflejado en los resultados de PCS obtenidos para el bagazo (17.893 kJ/kg) en comparación con el RAC (16.663 kJ/kg). La mayor reactividad del bagazo se estimó en aproximadamente 3,37% respecto al RAC. Estos resultados verifican que las biomásas ensayadas son aptas para ser utilizadas en procesos de conversión termoquímica como la gasificación y la pirólisis. Los resultados coinciden con los observados por Guachi Cabrera (2019) y Kumar *et al.* (2019) para biomásas del tipo lignocelulósicas.

En la Figura 3 muestra el diagrama ternario C, H, O para las biomásas en estudio. Las mismas se encuentran dentro del rango propuesto por Basu (2013) y Salda-

rriaga Elorza (2015). Las biomásas de estudio representadas en el diagrama ternario se reflejan casi superpuestas debido a que los valores entre ellas son semejantes: para el bagazo, 42,74% C; 6,51% H y 50,49% O; mientras que para RAC, 43,46% C; 5,72% H y 49,92% O.

Basándonos en las composiciones elementales encontradas para el bagazo y RAC de nuestra región y considerando las propiedades generales de los procesos de combustión, gasificación y pirólisis, pueden establecerse algunas inferencias para aprovechar estos combustibles. La combustión suele ser más adecuada para combustibles



**Figura 2.** Comparación en un diagrama de Van Krevelen entre las biomásas en estudio en relación a otros combustibles sólidos. Elaboración propia.

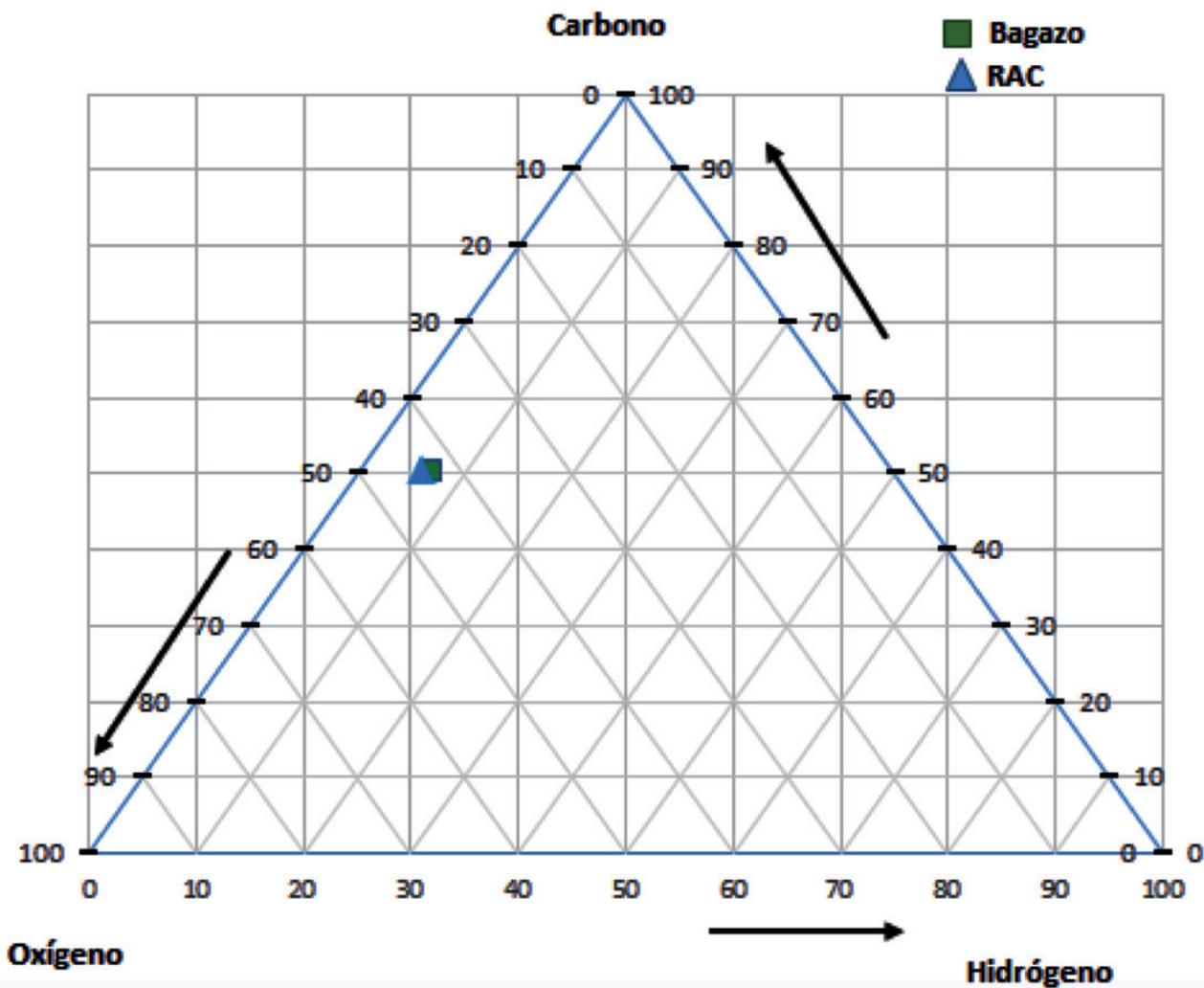


Figura 3. Diagrama ternario C-H-O de biomasa en estudio. Elaboración propia.

que contienen principalmente carbono 2 hidrógeno y a la vez tienen un bajo contenido de oxígeno. Dado que tanto el bagazo como el RAC tienen contenidos relativamente altos de oxígeno en comparación el carbono e hidrógeno, la combustión podría no ser la opción más eficiente para aprovechar completamente estos combustibles. Sin embargo, la combustión directa aún puede ser útil para la generación de calor en aplicaciones donde se requiera una fuente de calor directa, como calefacción o procesos industriales. Las biomásas de estudio se encuentran relativamente más cercano al vértice correspondiente al carbono, por lo que un proceso de pirólisis lenta sería un camino conveniente para la producción de biocarbono.

La gasificación y la pirólisis son opciones viables para aprovechar el bagazo y el RAC como combustibles. La gasificación puede convertir la biomasa en una mezcla de gases sintéticos útiles debido al contenido de carbono y oxígeno en ambos combustibles, lo que los hace adecuados para la generación de energía y la producción de combustibles líquidos sintéticos. Por otro lado, la pirólisis, que descompone la biomasa en ausencia de oxígeno o con una cantidad limitada de este, puede producir una variedad de productos como bio-aceites y biochar, también

gracias al contenido significativo de carbono.

La Tabla 3 muestra los resultados de las temperaturas de fusibilidad de las cenizas de bagazo y RAC analizadas. Además, se exhibe una comparación de los resultados respecto a valores informados para zafras anteriores. El bagazo presentó los mayores valores de DT y HT (1120,46°C y 1286,45°C, respectivamente); en relación al RAC (1096,20°C y 1224,55°C, respectivamente). Las temperaturas FT encontradas durante los ensayos resultaron mayores a 1500,00°C, siendo esta última la máxima temperatura de trabajo configurada en el equipo analizador por seguridad del mismo. Para evitar los problemas asociados a la fusión de los depósitos formados en las distintas superficies de una caldera de vapor, se elige como temperatura límite a DT, a partir de la cual se producen fenómenos de ensuciamiento y escoriificación (Nogués *et al.*, 2010). Los resultados de fusibilidad de cenizas obtenidos para bagazo y RAC resultaron óptimos para el uso de estos como combustible en calderas de vapor bagaceras. Puede observarse que las temperaturas características se encuentran en el mismo orden de magnitud que las observadas anteriormente por los autores (Golato *et al.*, 2021; Peralta *et al.*, 2014)

**Tabla 3.** Resultados de temperatura de fusibilidad de cenizas, en atmósfera reductora, para bagazo y RAC de Tucumán, comparadas con zafras anteriores. Elaboración propia.

Análisis de temperatura de fusibilidad de cenizas (°C)	Bagazo			RAC		
	Este trabajo	Peralta <i>et al.</i> (2014)	Golato <i>et al.</i> (2021)	Este trabajo	Peralta <i>et al.</i> (2014)	Golato <i>et al.</i> (2021)
Temperatura DT	1.120,46	1.081,10	1.081,16	1.096,20	1.054,40	1.054,60
Temperatura ST	1.286,45	1.236,60	1.236,64	1.224,55	1.263,00	1.263,22
Temperatura HT	1.395,35	1.385,40	1.385,45	1.361,00	1.374,40	1.375,22
Temperatura FT	>1.500,00	>1.500,00	1.455,88	>1.500,00	>1.500,00	1.436,70

## CONCLUSIONES

Los resultados determinados para el bagazo y RAC de caña de azúcar de este estudio se encontraron dentro de los valores normales para este tipo de biomasa. Los resultados de los análisis fisicoquímicos y energéticos fueron representativos de las biomásas combustibles analizadas para las condiciones de las muestras al momento de los ensayos. Pudo observarse que el bagazo de caña de azúcar presentó un contenido de humedad de 51,96%, el cual influyó negativamente en el PCI del combustible (6706 [kJ/kg]), resultando una disminución de un 62,52% en relación al PCS de la biomasa (17.893 kJ/kg). Esto indicaría la necesidad de realizar un secado previo del material para un mejor aprovechamiento energético.

La clasificación obtenida por medio del diagrama de Van Krevelen coincide con lo observado por otros autores para biomásas lignocelulósicas. Se encontraron relaciones promedio en bagazo de 0,89 y 1,83 para O/C y H/C, respectivamente; en RAC las relaciones fueron de 1,58 y 0,86. Estos resultados indicarían que el bagazo, al tener una mayor relación H/C respecto al RAC (1,83), ofrecería un mejor comportamiento energético y una mayor contribución a las emisiones de CO<sub>2</sub>.

El bagazo y el RAC tienen composiciones elementales que sugieren diferentes enfoques para ser aprovechados como combustibles. La pirólisis lenta podría ser más conveniente tanto para el bagazo como para el RAC debido a su mayor cercanía al vértice del carbono. Dado que ambos tienen un contenido relativamente alto de oxígeno, la combustión directa puede no ser la opción más eficiente pero aún útil para la generación de calor. La gasificación parece ser una opción adecuada para ambos combustibles, ya que pueden convertirse en una mezcla de gases sintéticos útiles. La pirólisis también es viable, porque podría producir bio-aceites, biochar y otros productos útiles debido a la proporción significativa de carbono en ambos combustibles.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Agencia Internacional de Energía (AIE). 2018.** Informe balance energético- Estadísticas. 2018. [En línea]. Disponible en: <https://www.iea.org/data-and-statistics/data-tables?country=WORLD> (consultado 1 marzo 2022)
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 1987.** Standard Test Method for Forms of Chlorine in Refuse-Derived Fuel E776-87, United States.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 1994.** Standard Test Method for Fusibility of Coal and Coke Ash, D1857-94, United States.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 1996.** Standard Test Method for Gross Calorific Value of Coal and Coke by Adiabatic Bomb Calorimeter D2015-96, United States.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2000.** Standard Test Method for Heat of Combustion of Liquid Hydrocarbon Fuels by Bomb Calorimeter D240-00, United States.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2002.** Standard Test Methods for Proximate Analysis of the Analysis Sample of Coal and Coke by Instrumental Procedures D 5142-02<sup>a</sup>, United States.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2015.** Standard Practice for Ultimate Analysis of Coal and Coke D3176-15, United States.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2002.** Standard Test Methods for Instrumental Determination of Carbon, Hydrogen, and Nitrogen in Laboratory Samples of Coal and Coke D5373-02, United States.
- Basu, P. 2013.** Biomass, Gasification and Pyrolysis: Practical Design and Theory. Academic Press of Elsevier. Oxford, UK, pp. 38-41.
- Bizzo, W. A.; P.C. Lenço; D.J. Carvalho and J. P. Soto Veiga. 2014.** The generation of residual biomass during the production of bioethanol from sugarcane, its characterization and its use in energy production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 29: 589-603. [En línea] DOI 10.1016/j.rser.2013.08.056. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032113005960> (consultado 1 marzo 2022)
- Casen, S.; E. Romero; F. Leggio; A. Torres Bugeau; D. Perez; V. Paredes y E. Feijóo. 2015.** Manejo de los residuos agrícolas de la cosecha de caña de azúcar: disponibilidad potencial y alternativa de enfiado. *Rev. Avance Agroindustrial* 36 (4): 20-26.
- Cortés, V. 2006.** Carbón. Escuela Técnica Superior de Ingeniería (ETSI) Universidad de Sevilla. España- Sevilla. [En línea] Disponible en: <http://www.factoria3.com/documentos/CARBON.pdf> (consultado 6 de abril 2022)
- Cruz, C.; G. del H. Zamora Rueda; M. Golato y D. Paz. 2016.** Experiencias entre laboratorios caracterización de biomásas regionales. Argentina (Tucumán) y Brasil (Itajubá). *Rev. Avance Agroindustrial* 37 (4): 34-39.

- Digonzelli, P. A.; E. R. Romero y J. Scandaliaris. 2015.** Guía Técnica del Cañero. 1 ed. – Tucumán, Argentina: Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, 2015. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres. Tucumán- Argentina, pp. 21-31.
- EEAOC. 2019.** Informe estimación para la zafra 2019. Sensores y Remotos y SIG. Estimación de superficie cosechable y producción de materia prima y azúcar para la zafra 2019. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres. Tucumán- Argentina. [En línea]. Disponible en: <http://www.eeaoc.org.ar/upload/publicaciones/archivos/964/20190522171148000000.pdf> (consultado 13 de abril 2022)
- Feijóo, E. A.; M. A. Golato; F. J. Franck Colombres; D. Paz y G. J. Cárdenas. 2015.** Características energéticas de los residuos agrícolas de la cosecha en verde de caña de azúcar de Tucumán. *Rev. Ind. Agríc. Tucumán* 92 (2): 23-32.
- Golato, M. A.; G. Zamora Rueda; C. Gutiérrez; M. G. Mistretta; D. Paz y M. Ruiz. 2021.** Características de la fusibilidad de cenizas de bagazo y de residuos de cosecha de caña de azúcar (RAC) de Tucumán - Argentina. *Rev. Ind. Agríc. Tucumán* 98 (2): 21-27.
- Guachi Cabrera, P. E. 2019.** Obtención de carbón mediante carbonización hidrotermal utilizando bagazo de caña. Trabajo de Titulación para la obtención del título de Ingeniera Química inédita. Universidad Central de Ecuador. Facultad de Ingeniería Química. Quito- Ecuador. [En línea]. Disponible en: <http://200.12.169.19/bitstream/25000/17962/1/TUCE-0017-IQU-031.pdf> (consultado 4 de mayo 2022)
- Jenkins, B. M.; L. L. Baxter; T. R. Miles Jr. and T. R. Miles. 1998.** Combustion properties of biomass. *Fuel Processing Technology* 54:17-46. [En línea] DOI 10.1016/S0378-3820(97)00059-3. Disponible en: <http://gekgasifier.pbworks.com/f/biomass%2520fuel%2520properties%2520Miles.pdf> (consultado 4 de mayo 2022)
- Kumar, M.; S. N. Upadhyay and P. K. Mishra. 2019.** A comparative study of thermochemical characteristics of lignocellulosic biomasses. *Bioresource Technology Reports* (8): 100186.
- Nogués, F. S.; D. García Galindo y A. Rezeau. 2010.** Energías Renovables. Energía de la biomasa (Vol. 1). Prensa Universitaria de Zaragoza. 1 ed., Zaragoza. España, pp.21-41; 140-150.
- Peralta, L.; G. del H. Zamora Rueda; G. Mistretta; H. Zalazar; M. V. Bravo; E.A. Feijóo; M. Golato, D. Paz y G. Cárdenas. 2014.** Determinación del punto de fusión de cenizas de bagazo y RAC de Tucumán. En: XXXVII Reunión de Trabajo de la Asociación Argentina de Energías Renovables y Ambiente (ASADES)" y la "VI Conferencia Regional Latinoamericana de la ISES", Oberá- Misiones- Argentina, pp. 63-69.
- Rojas-González, A. F. y J.M. Barraza-Burgos. 2012.** Efecto de la relación atómica oxígeno/ carbono del carbón sobre la reactividad en la combustión de carbonizados. *Ingeniería y Universidad* 17 (1): 41-57. [En línea] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47728625003> (consultado 4 de mayo 2022)
- Saldarriaga Elorza, J. F. 2015.** Avances en el modelado de la combustión de biomasa en spouted bed cónico. Tesis doctoral para la obtención del título de doctor en ingeniería química. Universidad del País Vasco. Facultad de Ciencia y Tecnología- Departamento de Ingeniería Química. Leioa, España. [En línea] Disponible en: <https://addi.ehu.es/handle/10810/15799> (Consultado 10 enero 2024).
- Van Krevelen, D. W. 1950.** Graphical-statistical method for the study of structure and reaction processes of coal. *Fuel* (29): 269-84.
- Zamora Rueda, G. del H.; G. Mistretta; C. Gutiérrez; M. Golato; D. Paz and G. J. Cárdenas. 2019.** Energy characterization of sugarcane bagasse in Tucumán, Argentina. En: XXX ISSCT Congress, Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists (ISSCT), Tucumán- Argentina, pp.1000-1004.





**ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES**

Tucumán | Argentina