



## CAMBIO EN AZÚCARES FERMENTABLES EN LA REMOLACHA AZUCARERA ALMACENADA EN ATMÓSFERAS AEROBIA Y ANAEROBIA PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL

JUAN MANUEL VARGAS RAMÍREZ\*, DARRIN M. HAAGENSON, SHAFIQUIR RAHMAN, DENNIS P. WIESENBORN, JUAN MANUEL VARGAS LÓPEZ

### RESUMEN

Los métodos de almacenamiento de largo plazo son necesarios para preservar los azúcares fermentables en la remolacha y permitir el funcionamiento exitoso a lo largo del año en las plantas procesadoras para la obtención de etanol. Se estudió el almacenamiento anaeróbico de la remolacha azucarera como una alternativa al almacenamiento convencional en pilas a la intemperie utilizado actualmente en fábricas de azúcar de remolacha. Los resultados experimentales indican una pérdida de <15% en el total de los azúcares fermentables en la remolacha azucarera almacenada anaeróbicamente durante 14 semanas a 4 °C. Después de 14 semanas de almacenamiento, 99 ± 4% de los azúcares fermentables iniciales fueron preservados en la remolacha almacenada en condiciones aeróbicas a 4 °C. El almacenamiento aeróbico y anaeróbico de remolacha azucarera a 25 °C conserva 82 ± 9 y 48 ± 11% del contenido de azúcar fermentable, respectivamente. Los azúcares fermentables y etanol en exudados contribuyeron insignificadamente (<3%) para el rendimiento del etanol global de remolacha azucarera después del almacenamiento.

**Palabras-clave:** Biocombustibles avanzados, azúcares fermentables, almacenamiento anaeróbico, cromatografía de gas (GC).

### ABSTRACT

*Methods for long-term storage are necessary to preserve the fermentable sugars in the beets and allow successful operation throughout the year in processing plants for the production of ethanol. Anaerobic storage of sugar beet was studied as an alternative to conventional storage batteries currently used outdoors in beet sugar factories. Experimental results indicate a loss of <15% of total fermentable sugars in sugar beets anaerobically stored for 14 weeks at 4 °C. After 14 weeks of storage, 99 ± 4% of initial fermentable sugars were preserved in beets stored aerobically at 4 °C. Aerobic and anaerobic storage of sugar beet at 25 °C retained 82 ± 9 and 48 ± 11% of the content of fermentable sugar, respectively. Ethanol and fermentable sugars from exudates contributed negligibly (<3%) to the overall yield of ethanol from sugar beet after storage.*

**Keywords:** Advanced biofuel, fermentable sugars, anaerobic storage, gas chromatography (G.C.).

MSc. JUAN MANUEL VARGAS RAMÍREZ  
Department of Agricultural and Biosystems  
Engineering, Fargo, North Dakota, EUA.  
Correo: [juan.vargasramirez@my.ndsu.edu](mailto:juan.vargasramirez@my.ndsu.edu)  
PhD. DARRIN M. HAAGENSON  
Department of Agricultural and Biosystems  
Engineering, Fargo, North Dakota, EUA  
Correo: [darrin.haagenson@ndsu.edu](mailto:darrin.haagenson@ndsu.edu)  
PhD. SHAFIQUIR RAHMAN  
Department of Agricultural and Biosystems

Engineering, Fargo, North Dakota, EUA  
Correo: [s.rahman@ndsu.edu](mailto:s.rahman@ndsu.edu)  
PhD. DENNIS P. WIESENBORN  
Department of Agricultural and Biosystems  
Engineering, Fargo, North Dakota, EUA  
Correo: [d.wiesenborn@ndsu.edu](mailto:d.wiesenborn@ndsu.edu)  
DR. JUAN MANUEL VARGAS LÓPEZ  
Departamento de Investigación y Posgrado  
en Alimentos, Universidad de Sonora  
Correo: [vargasra@hotmail.com](mailto:vargasra@hotmail.com)

\*Autor para correspondencia: Juan Manuel Vargas Ramírez  
Correo electrónico: [juan.vargasramirez@my.ndsu.edu](mailto:juan.vargasramirez@my.ndsu.edu)  
Recibido: 12 de marzo de 2013  
Aceptado: 04 de abril de 2014  
ISSN: 2007-4530

## INTRODUCCIÓN

La Ley de Independencia Energética y Seguridad de 2007 (EISA) en EUA encomendó la producción y mezcla de 36 billones de galones por año de biocombustibles en los combustibles para el transporte en 2022, por lo que se considera de importancia prioritaria la búsqueda de fuentes alternativas para satisfacer esa demanda energética. El objetivo principal es reducir las emisiones netas de gases de efecto invernadero (GEI) que resultan de la combustión de combustibles fósiles y son perjudiciales para el medio ambiente. Los biocombustibles se clasifican en la EISA en base a su potencial para reducir las emisiones netas de GEI. Los biocombustibles convencionales, avanzados y celulósicos tienen la propiedad de reducir las emisiones netas de GEI en un 20, 50 y 60%, respectivamente (9). Las remolachas son de interés para la producción de etanol en los Estados Unidos, ya que pueden calificar como materia prima para producir biocombustibles avanzados bajo la EISA.

La remolacha azucarera es un cultivo bianual, pero llega a alcanzar su contenido de azúcar máximo durante el primer año de crecimiento. En el Valle del Río Rojo (Dakota del Norte, EUA), las remolachas suelen sembrarse en mayo y se cosechan en octubre (2, 3, 4). El almacenamiento convencional consiste en apilar las remolachas en patios de almacenamiento abierto, adyacentes a las fábricas y congelarlas por ventilación forzada con aire frío del ambiente que se presenta en las condiciones invernales extremas. Sin embargo, existen riesgos e inconvenientes asociados con el almacenamiento convencional. El almacenamiento de la remolacha azucarera en pilas

expuestas, pueden llevar a la formación de puntos calientes dentro de las pilas debido a una ventilación insuficiente y, por tanto, la degradación microbiana de los azúcares de la remolacha (1, 8). Además de esto, la congelación aumenta la ruptura de las paredes celulares haciendo los contenidos celulares susceptibles a la lixiviación durante la descongelación y lavado de la remolacha azucarera antes de la extracción del azúcar (6). Además, la remolacha descongelada antes del procesamiento requiere grandes cantidades de agua caliente que aumenta las necesidades energéticas globales del proceso. La producción de etanol a partir de remolacha azucarera debe ser altamente eficiente de la energía, para calificar la remolacha como materia prima para biocombustibles avanzados. Por lo tanto, las tecnologías alternativas para el almacenamiento convencional deben ser exploradas para abordar las cuestiones antes mencionadas.

Las tecnologías de conservación se han desarrollado a lo largo de los años para aumentar el tiempo de conservación de los productos perecederos. La modificación de la composición de las atmósferas de almacenamiento ha sido un éxito para minimizar la pérdida de calidad de los productos almacenados (6). Gases inertes tales como  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2$  se utilizan comúnmente para modificar atmósferas en las instalaciones de almacenamiento (7). Los efectos de conservación usando atmósferas modificadas se pueden mejorar en combinación con temperaturas reducidas ( $<25\text{ }^\circ\text{C}$ ) para disminuir la respiración de la planta y el metabolismo (7). Estos principios han aumentado la vida útil de los productos frescos tales como manzanas y peras de varios días a hasta 9 meses (5).



Las remolachas azucareras contienen típicamente 15 a 20% en peso (b.h.) de sacarosa, 0,2 a 0,5% de rafinosa, y de 0,05 a 0,1% de glucosa y fructosa (6). Cole & Bugbee (7) evaluaron la hidrólisis de la sacarosa en glucosa y fructosa en la remolacha azucarera almacenadas aeróbicamente y bajo una atmósfera no ventilada a 5 °C y 26 °C. Sin embargo, su estudio se basó en la importancia de la alta retención de sacarosa en la remolacha azucarera como un requisito para la aceptación en las instalaciones de procesamiento de azúcar. En contraste con los requisitos de la industria azucarera, la hidrólisis de la sacarosa en glucosa y fructosa no deben constituir un problema para la industria del etanol ya que estos azúcares son fácilmente fermentados por la levadura. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento y el contenido inicial de oxígeno de la atmósfera de almacenamiento en la retención de los azúcares fermentables (sacarosa, glucosa y fructosa). Los hallazgos podrían ayudar en el diseño de experimentos posteriores más amplios, para desarrollar tecnologías de almacenamiento mejorados para la preservación de azúcar fermentable en la remolacha azucarera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Remolacha azucarera – obtención y almacenamiento

Las remolachas azucareras de una sola variedad, Beta 1301R (Betaseed, Inc., Minneapolis, MN) fueron cosechadas en una prueba de campo de 2011 en Fargo, Dakota del Norte y fueron proporcionadas por el USDA Agricultural Research Service (Fargo, ND). El lodo del campo fue eliminado por lavado de las remolachas en un contenedor de escala piloto. Las remolachas lavadas se almacenaron en bolsas de polietileno perforadas, por 4 semanas a 5 °C, hasta que los tratamientos de almacenamiento se iniciaron.

### Arreglo experimental

Al inicio del estudio de almacenamiento, 8 remolachas fueron seleccionadas al azar y se prepararon para las pruebas inmediatamente, en pares, para el total de azúcares fermentables. El contenido de azúcar fermentable se promedió entre los 4 pares de remolacha y se utilizó como una línea de base (control) durante todo el experimento. Los tratamientos experimentales se prepararon usando remolachas de tamaño y forma uniformes que se pesaron individualmente antes de ser asignados aleatoriamente a las bolsas de tratamiento. Las unidades experimentales consistieron en, ya sea una bolsa

de vacío de triple sello (tratamiento anaeróbico) con un espesor de 75- $\mu$  (Soluciones Ultravac, Kansas City, MO) o una Ziploc® bolsa de congelación perforada (SC Johnson & Son, Inc., Racine, WI) (tratamiento aeróbico) que contiene 1 remolacha en cada una de las bolsas. Las remolachas para la parte anaeróbica del experimento fueron empaquetadas al vacío utilizando una cámara manual de vacío, Ultravac® 2100, de la máquina de embalaje (Soluciones Ultravac, Kansas City, MO) que opera con un vacío en el rango de 20 a 30 psi para extraer 97% a 99% del aire en las bolsas. Las remolachas envasadas se almacenaron a 4 °C o 25 °C y cada tratamiento de almacenamiento se realizó por triplicado. Las remolachas almacenadas fueron analizadas para el total de azúcares fermentables a los 2, 4, 7, 10, 12 y 14 semanas de almacenamiento.

## MÉTODOS ANALÍTICOS

Las muestras de tejidos de la remolacha se recogieron en los intervalos de tiempo especificados (2, 4, 7, 10, 12 y 14 semanas) por la perforación en cada remolacha realizada



con un taladro eléctrico equipado con una punta de pala 1.6 cm. La perforación se inició por la cicatriz debajo de la hoja inferior y procedió en una dirección transversal hacia abajo de la corona de la raíz que se extiende hacia la punta de la raíz. La perforación proporcionó una muestra de tejido para los análisis de azúcar representativos, y 50 g de tejido fueron recogidos de cada remolacha. Las muestras de tejido se mezclaron completamente para asegurar la homogeneidad de la

muestra. Las muestras se colocaron inmediatamente en las bolsas de congelación individuales Ziploc® (SC Johnson & Son, Inc., Racine, WI) y se congelaron durante la noche para mejorar la ruptura de las células y facilitar la extracción de los azúcares. Se utilizó el método de digestión fría para cosetas [pulpas de remolacha] (6) para extraer los azúcares de las muestras de tejido de remolacha. Los métodos para cuantificar los azúcares fermentables totales (sacarosa, glucosa y fructosa) se basaron en las modificaciones del kit de reactivo UV de glucosa líquida (CLINIQA Corporation, San Marcos, CA). Los azúcares se cuantificaron después de los análisis enzimáticos espectrofotométricos de punto final (340 nm) modificados para su uso con un lector de microplacas (SpectraMAX Plus, Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA, EE.UU.). La sacarosa se hidrolizó a glucosa más fructosa mediante la digestión con la enzima invertasa (Sigma I4504) y la fructosa se determinó después de la



isomerización con fosfoglucoasa isomerasa (Sigma P5381), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Los azúcares fermentables totales fueron expresados sobre base seca y como el promedio de los tratamientos en triplicado del almacenamiento.

Las muestras individuales del gas formado y atrapado dentro de las unidades de tratamiento anaeróbico se recogieron de cada réplica en jeringas de muestreo y cuantificados por cromatografía de gases (GC). Las muestras de gas se caracterizaron usando una unidad de GC (modelo 8610C, SRI Instruments, Torrance, CA 90502) equipado con un detector de ionización de flama (FID) y un detector de captura de electrones (ECD). Antes de inyectar una muestra dentro del bucle de muestreo, las temperaturas de los detectores FID y ECD se ajustaron a 300°C y 350°C, respectivamente. El detector ECD fue operado con N<sub>2</sub> como gas portador a 140 kPa (20 psi). El hidrógeno y el aire fueron suministrados a 140 kPa (20 psi) al detector FID/metanizador, utilizando un compresor de aire incorporado. En este sistema de GC, el ECD detectó N<sub>2</sub>O; mientras que el FID/metanizador detectó CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>. Los cromatogramas de gas se registraron y analizaron con el software del sistema de datos de cromatografía PeakSimple (versión 3.72, SRI Instruments, Torrance, CA 90502). Se generaron tres puntos para elaboración de las curvas de calibración utilizando CH<sub>4</sub> (20, 100, y 1000 ppmv), CO<sub>2</sub> (100, 1000, y 2500 ppmv), y N<sub>2</sub>O (0, 1, y 10 ppmv) de los gases. Los gases de calibración se analizaron antes y después del análisis de la muestra para asegurar el funcionamiento correcto de la unidad GC.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El paquete Sigma Plot Versión 8,0 (SPSS Inc., Chicago, IL) fue utilizado para determinar las mejores funciones de regresión de ajuste para modelar el cambio en el total de azúcares fermentables para cada condición de tratamiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el cambio en el total de azúcares fermentables en la remolacha azucarera almacenada bajo la presencia y ausencia de oxígeno a 4 °C y 25 °C. Como el tiempo de almacenamiento fue aumentando, se detectaron tanto el gas y el exudado en las unidades de almacenamiento, mientras que el crecimiento de mohos anaerobios fue observado en el tejido de la piel de varias remolachas almacenadas aeróbicamente a 25°C. El almacenamiento de la remolacha azucarera en un ambiente aeróbico a 25°C dio como resultado una mejor fue más eficiente para la retención del total de azúcares fermentables después de 4 semanas en comparación con el almacenamiento anaeróbico a la misma temperatura (Figura 1).

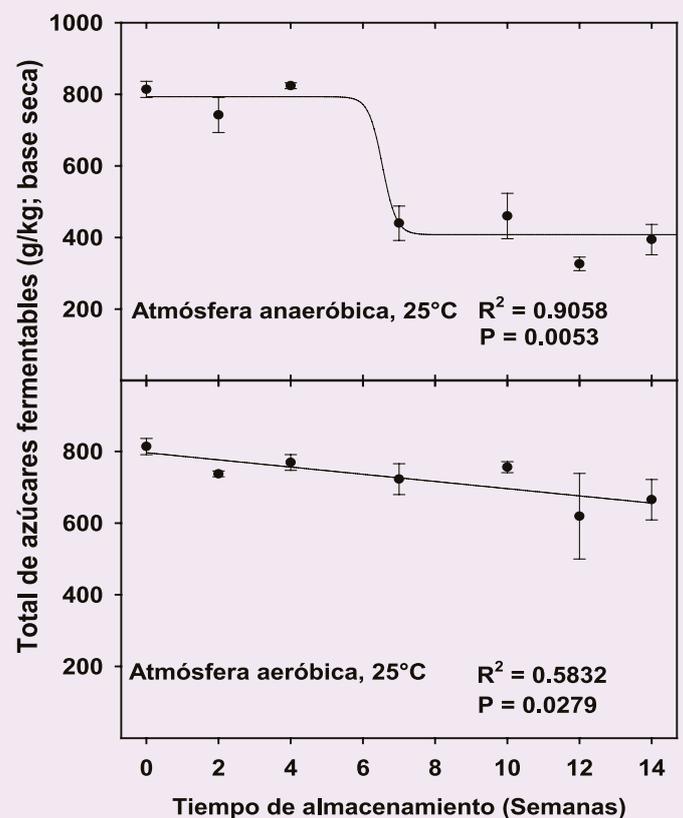


Figura 1. Cambio en el total de los azúcares fermentables en la remolacha azucarera: a) almacenada anaeróbicamente y aeróbicamente b) a 25 °C.

Las remolachas azucareras almacenadas anaeróbicamente a 25°C mostraron una disminución abrupta >45% en azúcares fermentables totales entre 4 y 7 semanas de almacenamiento. Esta disminución abrupta coincidió con la aparición de exudado dentro de las unidades de almacenamiento. Las bacterias presentes en el tejido de remolacha son responsables de metabolizar la mayoría de los azúcares perdidos durante el



almacenamiento (7). Además de la degradación bacteriana, la sacarosa es utilizada por las remolachas como sustrato para la respiración de la planta y para cicatrizar heridas que se originan durante la cosecha (8). Después de 7 semanas, la concentración de azúcares llegó a una meseta de  $48 \pm 11\%$  del contenido de azúcar fermentable inicial, y continuó así hasta el final del almacenamiento. El cambio en azúcares fermentables en la remolacha almacenadas anaeróticamente a  $25^\circ\text{C}$  se ajustó mejor por una función sigmoide. Muchos procesos naturales que tienen una progresión lenta inicial seguida por una aceleración brusca antes de alcanzar una meseta están mejor representados por una función sigmoide (9).

Cole y Bugbee (7) detectaron un significativo aumento de la sacarosa en las remolachas recién cosechadas y almacenadas bajo una atmósfera no ventilada a  $26^\circ\text{C}$  durante 7 d. En su estudio, los recuentos bacterianos disminuyeron después de que el pH del tejido de remolacha se redujo a valores entre 4-5. Del mismo modo, en el presente estudio, una disminución del pH puede haber detenido la actividad de las bacterias que residen en el tejido de la remolacha almacenadas anaeróticamente. Además, las enzimas hidrolíticas, en conjunción con el bajo pH del tejido, podría haber contribuido a la hidrólisis de la sacarosa explicando así, el aumento de la glucosa y la fructosa más allá de 7 semanas de almacenamiento (Figura 2).

La remolacha azucarera almacenada en condiciones aeróbicas a  $25^\circ\text{C}$  mostró una disminución gradual de  $1.3\%$  / semana en azúcares fermentables y retuvo el  $82 \pm 9\%$  después de 14 semanas de almacenamiento (Figura 1b). Después de 2 semanas de almacenamiento, el enmohecimiento fue detectado visualmente en la superficie de varias remolachas y se extendió lentamente durante el período de almacenamiento restante (Figura 3). El moho secreta enzimas hidrolíticas que su invasividad ayuda a hidrolizar hidratos de carbono complejos en el tejido sano. Estas enzimas hidrolíticas pueden haber

contribuido a la reducción del total de los azúcares fermentables en las remolachas afectadas.

Las remolachas azucareras almacenadas en condiciones aeróbicas y anaeróbicas a  $4^\circ\text{C}$  retuvieron  $99 \pm 4\%$  y  $87 \pm 0.1\%$  de los azúcares fermentables iniciales, respectivamente (Figura 4). En contraste, la remolacha azucarera que se almacenó a  $25^\circ\text{C}$  bajo atmósfera aeróbica y anaeróbica retuvieron  $82 \pm 9\%$  y  $48 \pm 11\%$  de los azúcares fermentables iniciales, respectivamente (Figuras 1 y 4). Las bajas temperaturas son conocidas por reducir la tasa de crecimiento de los microorganismos y suprimir la actividad de las enzimas. La remolacha azucarera almacenada anaeróticamente a  $4^\circ\text{C}$  mostró una disminución de  $1.1\%$ /semana en azúcares fermentables en comparación con una disminución de  $3,7\%$ /semana en la remolacha almacenada bajo una atmósfera similar a  $25^\circ\text{C}$ . Una disminución promedio de  $0.3\%$ /semana en azúcares fermentables se cuantificó para la remolacha azucarera almacenada aeróticamente durante 14 semanas a  $4^\circ\text{C}$ , y la disminución no fue estadísticamente significativa.

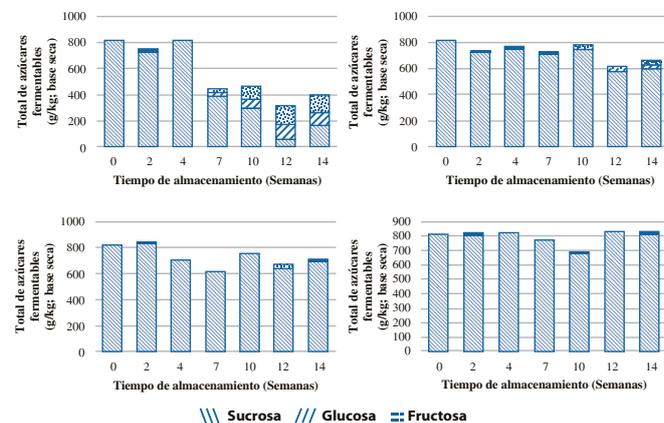


Figura 2. Azúcares fermentables en la remolacha azucarera almacenada bajo atmósferas aeróbicas y anaeróbicas a  $4^\circ\text{C}$  y  $25^\circ\text{C}$ .



Figura 3. El crecimiento del moho en la remolacha azucarera almacenado aeróbicamente a 25°C durante 14 semanas.

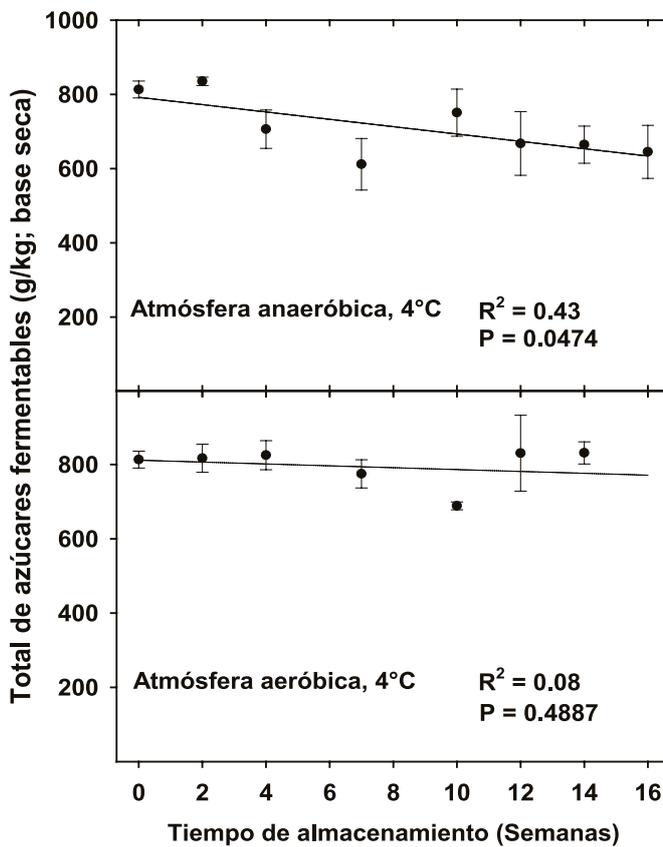


Figura 4. Cambio en azúcares fermentables en la remolacha azucarera almacenados: a) anaeróbicamente y aeróbicamente b) a 4°C.

Se observó la producción de gas dentro de todos los paquetes al vacío después de 2 semanas de almacenamiento, y su volumen incrementó visiblemente con el tiempo de almacenamiento (Figura 5a). Después de 7 semanas, la concentración de CO<sub>2</sub> promedio fue de 61 ±

2% dentro de los envases al vacío de la remolacha azucarera que se almacenó a 25°C. La concentración de CO<sub>2</sub> alcanzó un máximo de 97 ± 3% en 10 semanas antes de caer a 79 ± 1% en la semana 12 para permanecer estable después. El alto nivel de CO<sub>2</sub> debe dar lugar al ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) en el exudado encapsulado dentro de los envases al vacío, lo que podría disminuir el pH y, consecuentemente, mejorar la retención de azúcar fermentable. El metano también se detectó a una concentración de 1 ± 0.2% dentro de los envases al vacío a 10 y 12 semanas de almacenamiento.

Las remolachas azucareras que fueron almacenadas bajo una atmósfera anaeróbica inicial y a 25°C, mostraron un exudado en su superficie después de 7 semanas de almacenamiento (Fig. 5B). Después de 10 semanas de almacenamiento, el exudado estaba presente en todos los paquetes de vacío que contienen remolacha almacenadas a 4°C y 25°C. La exudación puede haber sido mejorada por diferencia de presión entre el interior y el exterior de los paquetes, forzando el contenido intracelular a ser expulsado de las células de remolacha. Sin embargo, el agua formada como un subproducto de la respiración de remolacha o de la fermentación microbiana de azúcares, también ha contribuido al total del volumen del exudado.



Figura 5. Remolachas: a) La acumulación de gas dentro del paquete de vacío después de 4 semanas de almacenamiento y jugo b) exudado en la capa externa del envasado al vacío.

Los exudados se recogieron a partir de todas las unidades de almacenamiento, se pesaron, y se analizaron para azúcares fermentables y etanol para determinar su contribución al rendimiento global de etanol. Después de 7 semanas de almacenamiento, los exudados de los tratamientos anaerobios almacenados a 25°C representaron el 3% del peso inicial de la remolacha, y alcanzó el 5% por el final del almacenamiento. Los exudados fueron recuperados de los tratamientos almacenados a 4°C durante 12 y 14 semanas, y representó el 4% y el 6% de los pesos iniciales de remolacha, respectivamente. Los azúcares fermentables en los exudados recogidos a las 14 semanas de almacenamiento representaron  $2 \pm 0.4\%$  y  $1 \pm 0.1\%$  de los azúcares fermentables iniciales en la remolacha almacenada a 4°C y 25°C, respectivamente. Los contenidos de etanol se convirtieron en equivalentes de glucosa, y representaron  $1 \pm 0.5\%$  y  $0.3 \pm 0.1\%$  de los azúcares fermentables iniciales en la remolacha almacenadas a 4°C y 25°C, respectivamente. Por lo tanto, la recuperación de los exudados después del almacenamiento anaeróbico de remolacha azucarera a 4°C puede promover la retención de azúcar fermentable de  $87 \pm 0.1\%$  a  $90 \pm 0.5\%$ .

## CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que la pérdida de azúcares fermentables fue consecuencia de la respiración de la remolacha azucarera en combinación con la fermentación microbiana que produjo un bajo rendimiento; pero, es todavía una significativa cantidad de etanol que puede contribuir a la capacidad global del volumen de etanol obtenido.

El desarrollo de nuevas tecnologías de almacenamiento para preservar azúcares fermentables (sacarosa, glucosa y fructosa) derivados de la remolacha azucarera, es necesario para permitir la operación de plantas productoras de etanol durante todo el año. En el presente estudio, la disminución de temperatura resultó en un beneficio en cuanto a la preservación de azúcares fermentables. Por otra parte, la eliminación de oxígeno en la atmósfera de almacenamiento no aportó beneficios a la preservación de azúcares y en cambio, contribuyó a la pérdida de éstos al crear un ambiente favorable para la fermentación anaeróbica. Como evidencia de lo anterior, remolachas almacenadas bajo atmosfera anaeróbica y aeróbica durante 14 semanas a 4°C, retuvieron  $87 \pm 0.1\%$  y el  $99 \pm 4\%$  de azúcares fermentables iniciales, respectivamente. En cambio, remolachas almacenadas bajo atmósferas similares durante 14 semanas a 25°C, retuvieron sólo  $48 \pm 11\%$  y  $82 \pm 9\%$  de su contenido inicial de azúcares fermentables, respectivamente. Estos resultados pueden servir como base comparativa en la búsqueda de técnicas alternativas de almacenamiento. Adicionalmente, los métodos propuestos pueden ser útiles en el diseño de nuevos experimentos que involucren el uso de atmósferas modificadas y controladas. Evaluaciones económicas son necesarias para determinar la viabilidad de técnicas de almacenamiento en desarrollo.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) McGinnis, R.A. (1982). Beet-sugar technology. Beet Sugar Development Foundation. Denver, CO.
- 2) USDA/ERS (2012a). Sugar and Sweeteners: Recommended Data. U.S. Sugar Supply and Use. Table 14 – U.S. sugarbeet crops: area planted, acres harvested, yield per acre, and production, by state and region (Updated on 01/12/2012). Available at: <http://www.ers.usda.gov/Briefing/Sugar/Data.htm>
- 3) NDSU Carrington REC (2010). 2010 Variety Trial Data. 2010 Sugar Trial Results – Syngenta Collaboration. (Updated on 12/28/2010). Available at: <http://www.ag.ndsu.edu/varietytrials/carrington-rec/2010%20Trial%20Results/2010energybeet-syngenta.pdf>
- 4) USDA/ERS (2012b). Sugar and Sweeteners: Recommended Data. U.S. Sugar Supply and Use. Table 17 – U.S. sugar beet are, yield, and production (Updated on 01/12/2012). Available at: <http://www.ers.usda.gov/Briefing/Sugar/Data.htm>
- 5) Brody, A.L. (1989). Controlled/modified atmosphere/vacuum packaging of foods. Trumbull, CN: Food & Nutrition Press, Inc.
- 6) Asadi, M. (2007). Sugar-Beet Handbook. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
- 7) Cole, D.F., Bugbee, W.M. (1976). Changes in resident bacteria, pH, sucrose, and invert sugar levels in sugarbeet roots during storage. *Appl Environ Microb.* 31(5): 754-757.
- 8) Klotz, K.L. (2004). Impact of temperature, length of storage and postharvest disease on sucrose catabolism in sugarbeet. *Postharvest Biol. Tec.*34(1):1-9.
- 9) Majumder, M., Jana, B.K. (2010). Impact of climate change on natural resource management. *Sigmoid Function*, 402. New York, NY: Springer Science+Business Media.

