

**ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE  
SACAROSA Y AZÚCARES REDUCTORES EN MIEL VIRGEN DE CAÑA  
UTILIZADOS EN EL INGENIO PICHICHÍ S.A**

**ANA CECILIA HERRERA ZAMBRANO**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA  
FACULTAD DE TECNOLOGÍAS  
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA  
PEREIRA  
2011**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE  
SACAROSA Y AZÚCARES REDUCTORES EN MIEL VIRGEN DE CAÑA  
UTILIZADOS EN EL INGENIO PICHICHÍ S.A.**

**Presentado por:  
ANA CECILIA HERRERA ZAMBRANO**

**Presentado como requisito para optar al título de tecnóloga en química en la  
modalidad de práctica empresarial**

**DIRECTOR:  
Nelson Contreras  
Docente de la Escuela de Tecnología Química**

**PROFESIONAL DE APOYO:  
Jefe de Laboratorio de Cromatografía Ingenio Pichichi S.A.  
Jhon Jairo Ramírez Ramírez**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA  
FACULTAD DE TECNOLOGÍAS  
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA  
PEREIRA  
2011**

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

## **DEDICATORIA**

A Dios y a mis Padres...

## **AGRADECIMIENTOS**

A todo el personal del el Departamento de Gestión de Calidad del Ingenio Pichichí S.A. por su colaboración para la realización de este trabajo.

A Jhon Jairo Ramirez por su gestión y colaboración para hacer posible la consecución de este trabajo.

A Dorian López por su guía profesional como personal.

A Gilberto Jiménez por su apoyo, guía y por compartir sus conocimientos aclarando inquietudes a lo largo de la ejecución de este trabajo

A mis compañeras Viviana Vanegas y Jenny Vasquez por prestarme su ayuda y colaboración haciendo de este trabajo una meta común.

## LISTA DE CONTENIDO

GLOSARIO	
INTRODUCCIÓN	1
1. JUSTIFICACIÓN	2
2. OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO GENERAL	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. MARCO REFERENCIAL	5
3.1 MARCO HISTÓRICO	5
3.1.1 Misión	6
3.1.2 Visión	6
3.1.3 Políticas de Calidad	6
3.1.4 Productos Fabricados en el Ingenio Pichichí S.A.	7
3.2 MARCO TEÓRICO	9
4. ASPECTOS GENERALES DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA	12
4.1 LA CAÑA DE AZÚCAR	12
4.2 SACAROSA	13

4.3	GLUCOSA	14
4.4	FRUCTOSA	15
4.5	INVERSIÓN DE LA SACAROSA	16
4.6	AZÚCARES REDUCTORES	16
4.7	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA	20
4.7.1	Departamento de Molienda	20
4.7.2	Departamento de Elaboración	24
4.7.3	Empaque	35
4.8	INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE SACAROSA, GLUCOSA Y FRUCTOSA EN LAS PROPIEDADES DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA	36
4.9	INFLUENCIA DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN EN LAS PROPIEDADES DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA.	36
4.9.1	Inversión de la Sacarosa	36
4.9.2	Descomposición de Azúcares Reductores	36
4.9.3	Fermentación Espumosa	37
4.10	USOS DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA.	38
4.10.1	Producción de Alcohol	38
4.10.2	Mieles para consumo Humano	41
5.	MÉTODOS ANALÍTICOS	43

5.1	METODO DE LANE Y EYNON	43
5.2	POLARIMETRÍA	45
5.2.1	La luz polarizada	45
5.2.2	Actividad Óptica	45
5.2.3	Polarización de la Luz	46
5.2.4	Capacidad Rotatoria Específica	48
5.2.5	Medición del Ángulo de Rotación	48
5.2.6	SACARÍMETRO	50
5.3	REFRACTOMETRÍA	50
5.3.1	Medición del Índice de Refracción	51
5.4	CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN HPLC	53
5.4.1	Teorías relacionadas con la separación cromatográfica de azúcares	54
5.4.2	Instrumentación	55
6.	METODOLOGÍA	66
6.1	HIPÓTESIS	66
6.2	POBLACIÓN	66
6.3	MUESTRA	66
6.4	DISEÑO METODOLÓGICO	67
6.4.1	METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN EN JARABES O MELADURAS POR REFRACTOMETRÍA (°BRIX)	68



6.4.2	METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN EN MELADURAS POR POLARIMETRÍA	69
6.4.3	METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE SACAROSA, GLUCOSA Y FRUCTOSA POR HPLC (US 7/8/4-23 (1998))	70
6.4.4	METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EXPRESADOS COMO REDUCTORES EN MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL MÉTODO DE LANE Y EYNON	72
7.	RESULTADOS	75
7.1	RESULTADOS DE EL ANÁLISIS DE MIEL VIRGEN POR EL METODO REFRACTOMETRICO	75
7.2	RESULTADOS DE EL ANÁLISIS DE MIEL VIRGEN POR EL METODO POLARIMETRICO	77
7.3	RESULTADOS DE EL ANÁLISIS DE MIEL VIRGEN POR EL METODO DE HPLC	81
7.4	RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE AZUARES REDUCTORES TOTALES COMO INVERTIDOS EN MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL METODO DE LANE Y EYNON (NTC 1779)	85
7.5	ANÁLISIS ESTADISTICO	88
7.5.1	COMPARACION ESTADISTICA DE LOS METODOS POLARIMETRICO Y DE HPLC EN EL PORCENTAJE DE SACAROSA EN MIEL VIRGEN DE CAÑA	89
7.5.2	COMPARACION ESTADISTICA DE LOS METODOS REFRACTOMETRICO Y DE HPLC EN EL PORCENTAJE DE SACAROSA EN MIEL VIRGEN DE CAÑA	93
7.5.3	COMPARACION ESTADISTICA DE LOS METODOS LANE Y EYNON Y DE HPLC EN EL ANÁLISIS DE PORCENTAJE DE AZUCARES TOTALES COMO REDUCTORES EN MIEL VIRGEN DE CAÑA	97
8.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	101

9. CONCLUSIONES	103
RECOMENDACIONES	104
BIBLIOGRAFÍA	105
ANEXOS	109

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de oxidación del grupo aldehído	9
Figura 2. Labores de corte de Caña	12
Figura.3 Configuración espacial de la molécula de sacarosa	13
Figura. 4 Configuración lineal y espacial de la molécula de Glucosa	14
Figura. 5 Configuración lineal y espacial de la molécula de Fructosa	16
Figura. 6 Equilibrio del tautomerismo ceto-enol de la molécula de glucosa	17
Figura. 7 Mecanismo de formación del carbanión	17
Figura. 8 Mecanismo de reconversión a la forma ceto	18
Figura. 9 Mecanismo de formación del enol	18
Figura. 10 Tautomerismo de la molécula de glucosa	19
Figura 11. Partes principales del molino	22
Figura 12. Esquema del sistema de evaporación del ingenio	30
Figura 13. Esquema general de un tachó	34
Figura. 14 Esquema de la producción de etanol a partir de la caña azúcar	41
Figura 15. Complejo $[\text{Cu}(\text{II}) (\text{tartrato})^2]$ a. Compuesto de coordinación planar cuadrado. b. Proyección espacial	43
Figura 16. Mecanismo de reacción de la Fructosa con el reactivo de Fehling.	44
Figura 17. Polarización de la luz	45
Figura. 18 Luz Polarizada: vector resultante de vectores de el campo eléctrico y magnético	47
Figura 19. Principio de polarización de la luz del polarímetro	49

Figura 20. Medición del ángulo de Refracción y reflexión de la luz	51
Figura 21. Filtro y manguera de succión de la fase móvil	56
Figura 22. Bomba recíproca o de vaivén a. Componentes. b. Aspecto general	57
Figura 23. Aspecto general del inyector automático. b. (1) posición de carga. (2). posición de inyección de la muestra	57
Figura 24. a. Componentes de una columna cromatográfica. b. Columna Sugar Pack I	58
Figura 25. Partículas (tamaño de poro, 10 nm) a) Agregado de partículas esféricas, área superficial 150m <sup>2</sup> /g b) Estructura esponjada, área superficial 300m <sup>2</sup> /g	59
Figura 26. Tamaño de poro (50Å) de partícula de silica con ligandos OH <sup>-</sup>	60
Figura 27. Esquema general de los enlaces y ligandos en los poros de las resinas para sustituyentes con sustituyentes de C18.	61
Figura 28. Enlaces entrecruzados del copolímero estireno-divinilbenceno	61
Figura 29. Estructura de una resina catiónica de ácido fuerte	62
Figura 30. Termostato para columna cromatográfica	63
Figura 31. Detector de índice de refracción para columna cromatográfica a. Pincipio del detector. b. Aspecto general	63
Figura 32. Cromatograma para la identificación de compuestos presentes en una muestra utilizando columnas rellenas con ligandos C8 (n-octil) y C18 (n-octildecil)	64
Figura 33. Grafico de correlación de los métodos Polarimétrico y de HPLC en el análisis del porcentaje de Sacarosa en Miel Virgen de caña	90
Figura 34. Grafico de correlación de los métodos Refractométrico y de HPLC en el análisis de Porcentaje de sacarosa en Miel Virgen de Caña	95

Figura 35. Grafico de correlación de los métodos Refractométrico y de HPLC en el análisis de Porcentaje de sacarosa en Miel Virgen de Caña.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especificaciones de la caña de azúcar	21
Tabla 2. Variable de Control Bagazo : Sacarosa en bagazo, extracción	23
Tabla 3. Sulfitación de jugo. Variable de control: pH	25
Tabla 4. Alcalización. Variable de Control: pH	26
Tabla 5. Calentamiento Secundario.Variable de Control : Temperatura	27
Tabla 6. Clarificación jugo. Variable de Control: Color, turbiedad, pH, sólidos insolubles, fosfatos.	27
Tabla 7. Cachaza. Variable de Control: Humedad, Pérdidas de sacarosa.	29
Tabla 8. Evaporación jugo. Variable de Control: Brix.	29
Tabla 9 .Sulfitación Meladura. Variable de control: pH	31
Tabla 10. Alcalización Meladura.Variable de control : pH	32
Tabla 11. Variables de control: temperatura, Brix, pH, Color, Turbiedad	33
Tabla 12. Principales clases de Alcoholes	40
Tabla 13. Composición media de la melaza de caña	42
Tabla 14. Concentraciones de Estandares de Calibración externos para HPLC	72
Tabla 15. Datos obtenidos de °Brix para el análisis de miel virgen de caña por el método refractométrico	76
Tabla 16. Datos obtenidos de ° Pol para el análisis de miel virgen de caña por el método polarimétrico	80
Tabla 17. Datos obtenidos de % sacarosa, % glucosa, %fructosa y Suma del % de azúcares reductores del análisis de las muestras de miel virgen de caña por el método de HPLC	84

Tabla 18. Datos obtenidos de Azúcares Totales como Reductores para el análisis de miel virgen de caña por el método de Lane y Eynon	87
Tabla 19. Parámetros de calidad para el cálculo estadístico de los métodos analíticos	88
Tabla 20. Compilación de los datos obtenidos anteriormente por los métodos Polarimétrico y de HPLC	89
Tabla 21. Compilación de los datos obtenidos anteriormente por los métodos Rrefractométrico y de HPLC	93
Tabla 22. Compilación de los datos obtenidos anteriormente por los métodos de HPLC y Lane y Eynon	97

## LISTA DE ANEXOS

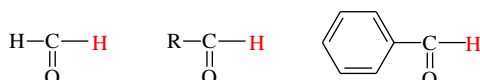
ANEXO 1. Cromatograma típico del análisis de miel Virgen de Cana por el método de HPLC	109
ANEXO 2. Tabla de Schimitz para la interpolación del porcentaje de Sacarosa por el método polarimétrico	110



## GLOSARIO

**AGUA DE IMBIBICIÓN:** Es el agua que se coloca sobre el bagazo del penúltimo o último molino, para la extracción de jugo.

**ALDEHÍDO:** Cada uno de los compuestos orgánicos que contienen el grupo carbonilo (CO) y que responden a la fórmula general R—HCO donde R es un átomo de hidrógeno (es el caso del metanal) o un radical hidrocarbonado alifático o aromático.



**ÁREA SUPERFICIAL:** Área externa de la partícula y también las paredes internas de los poros, que tiene la capacidad para retener iones. A menor diámetro de poro mayor área superficial, por lo cual es mayor retención.

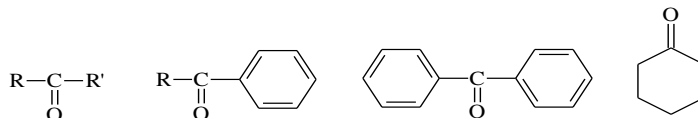
**BAGAZO:** Residuo que se obtiene al moler la caña en uno o más molinos. En general el término bagazo se refiere al residuo sólido que sale del último molino a menos que se especifique otra cosa.

**BAGACILLO:** Fracción fina de partículas que se han separado del bagazo.

**BRIX:** Porcentaje de sólidos disueltos en una solución.

**CACHAZA:** (torta de los filtros) Material o residuo eliminado del proceso por filtración.

**CETONA:** Cada uno de los compuestos orgánicos que contienen el grupo carbonilo (CO) y que responden a la fórmula general R—CO—R', en la que R y R' representan radicales orgánicos



**DIFUSIÓN:** Fenómeno provocado por la existencia de gradientes de concentración que favorecen el transporte hacia las zonas de menor concentración de cada especie. Afecta tanto a partículas cargadas como no cargadas. Las moléculas tienden a moverse de forma aleatoria debido a que poseen energía cinética propia a esto se le denomina difusión.

**FIBRA:** Materia seca insoluble en agua que contiene la caña y el bagazo.

**ELUCIÓN:** Transporte de una especie a través de una columna por adición continuada de una nueva fase móvil (eluyente) donde los componentes de una muestra se distribuyen en las fases móvil y estacionaria, mientras avanza por ésta última.

**ELUYENTE:** La fase móvil adicional que hace que la fase móvil que contiene una parte de la muestra avance por la columna.

**FASE ESTACIONARIA:** Material que permanece dentro de la columna cromatografía durante la cromatografía y que retiene algún componente de la muestra, posee una gran área superficial y puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como soporte.

**FASE MÓVIL:** Es un fluido que puede ser líquido, gas o fluido supercrítico que se usa como portador de la mezcla y que se hace pasar a través de la columna cromatográfica y la fase estacionaria.

**FIBRA:** Materia seca insoluble en agua que contiene la caña y el bagazo.

**MELADURA:** Jugo de la caña concentrado por evaporación del agua.

**MIEL:** Líquido madre que se separa de una masa cocida por medios mecánicos. Se denomina de acuerdo con la masa de donde se obtiene.

**MIEL FINAL:** Es el residuo líquido del cual no resulta económico extraer más azúcar. Este producto también recibe el nombre de miel tercera o melaza.

**MIEL VIRGEN:** Jugo de caña denso obtenido por concentración previamente clarificado y del que no se ha extraído ninguna forma de azúcar

**PORO:** Cavidades de la esfera con profundidad.

**POROSIDAD:** relación del volumen interno de los poros y el de la partícula.

**POL:** El término Pol es la abreviatura de la palabra polarización. Es la lectura en la escala del polarímetro (°S). Si la muestra es una solución de normal de azúcar la Pol es igual al porcentaje de sacarosa.

**SEMILLA:** Azúcar pulverizada y seca que está en suspensión en un líquido inerte usado para suministrar o crear un núcleo de cristales para empezar una masa cocida.

**SÓLIDOS INSOLUBLES (Suspendidos):** Son sólidos presentes en el jugo u otro líquido, los cuales se pueden remover por medios mecánicos.

## INTRODUCCIÓN

Los laboratorios de calibración y ensayo deben velar por suministrar información real, oportuna, precisa y confiable, siendo esto aún más importante en los laboratorios de control de calidad donde esta información es un indicativo tanto de las condiciones del proceso como del producto terminado. Por ello, garantizar que los métodos utilizados sean lo suficientemente fiables para producir un resultado, se convierte en un problema crítico inherente a cualquier tipo de análisis. [1,2]

Al ser la miel virgen de caña un producto alternativo en la producción de azúcar y ser otra fuente de ingreso rentable para el Ingenio Pichichí S.A. se plantea así, para la División Gestión de Calidad, la necesidad de garantizar la confiabilidad de la información que suministra a sus clientes internos como son División Campo, División Cosecha, División Comercial, Departamento de Contabilidad y Fábrica al igual que para sus clientes externos de producto terminado, mediante la evaluación de los métodos para la determinación de sacarosa y de azúcares totales como reductores en miel virgen de caña, comparando los resultados obtenidos por el método de cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC y los métodos utilizados en el análisis de miel virgen de caña método de Lane y Eynon para la determinación de azúcares totales como reductores, y en la determinación de sacarosa por el método polarimétrico y refractométrico, calculando la correlación respectiva para cada método.

## 1. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la Industria Azucarera mundial tiene el reto de ofrecer al mercado productos diferentes a los convencionales que satisfagan sus necesidades y otorguen un valor agregado, dependiendo cada vez menos del azúcar en su presentación granulada, que tiene pocas posibilidades de diferenciarse. Por esta razón varios de los principales productores de azúcar del mundo de acuerdo a sus posibilidades y políticas gubernamentales internas, están generando valor a partir de nuevos productos ya sean derivados directamente de la caña o subproductos de la producción de azúcar, tales como: melazas, azúcar refinado, mieles vírgenes, alcohol, cogeneración de energía a partir de bagazo, tableros aglomerados, papel y solventes entre otros, logrando su consolidación como una de las industrias azucareras más productivas del mundo. [3]

El Ingenio Pichichí S.A. productor de azúcar blanco, blanco especial, crudo seco y mieles finales, diversifica sus ingresos con la producción de miel virgen, producto derivado directamente de la caña, que representa un ingreso rentable a partir del año 2005, generando una alternativa sostenible de crecimiento paralela a la elaboración de azúcar de caña.

La miel virgen de caña producida por el Ingenio Pichichí S.A. se comercializa a nivel nacional como materia prima en la elaboración de licores y alcoholes industriales entre otros, teniendo un uso similar a las mieles finales subproducto de la elaboración de azúcares, pero diferenciándose de ellas porque se obtienen mejores rendimientos en los procesos, por su mayor contenido de sacarosa siendo este contenido un factor determinante en su costo comercial, y por lo cual es importante su cuantificación.

De este modo el realizar la evaluación de los métodos utilizados actualmente en esta empresa para la determinación de sacarosa y azúcares reductores en miel virgen de caña, proporciona un alto grado de confianza y seguridad tanto de la aplicabilidad de los métodos analíticos, como de la calidad de la información suministrada a partir de ellos, al ser un indicativo de la características de la miel virgen de caña como producto terminado sobre el cual se ejerce control, como también un apoyo para optimizar las etapas de proceso.

Adicionalmente, con esta información se genera un balance de producción más real debido a la precisión de la cantidad de sacarosa que sale al final del proceso, de donde se derivan los índices de gestión de la industria azucarera en el proceso de producción de azúcares y mieles que se intercambian con otros ingenios [4], contribuyendo así con el mejoramiento del sistema de calidad del Ingenio Pichichí, de acuerdo con los lineamientos establecidos en la NTC ISO 9001 versión 2000 en la cual el Ingenio se encuentra actualmente certificado.

## **OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la confiabilidad en cuanto a la precisión de los métodos analíticos utilizados para la determinación de sacarosa por el método polarimétrico y refractométrico y para la determinación de azúcares totales como reductores en miel virgen de caña comparando sus resultados con los obtenidos por el método de cromatografía líquida de alta resolución.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la precisión de la determinación del contenido de sacarosa en miel virgen de caña por el método refractométrico y polarimétrico.
- Evaluar la precisión de la determinación del contenido de azúcares totales como reductores en miel virgen de caña por el método de Lane y Eynon.
- Evaluar la precisión de la determinación del contenido de sacarosa glucosa y fructosa en miel virgen de caña por cromatografía líquida de alta resolución.
- Realizar los análisis de datos calculando la correlación lineal al comparar los resultados las diferentes técnicas con los obtenidos por cromatografía líquida de alta resolución.

### **3. MARCO REFERENCIAL**

#### **3.1 MARCO HISTÓRICO**

##### **Una Tradición hecha con ingenio**

El Ingenio Pichichí S.A. ubicado en el municipio de Guacarí carretera central kilómetro 5 al oriente de Sonso, distante en 70 kilómetros del municipio Cali, tuvo como predecesora la antigua Hacienda Pichichí perteneciente al Doctor Antonio San Clemente, adquirida por Don Modesto Cabal Galindo hombre de amplia visión comercial representada en sus grandes extensiones de tierra y reconocida trayectoria en el desarrollo de la industria azucarera, prueba de ello fue el trapiche “Guacharacal” que creó y fundó en sus predios y la participación en la fundación de el Ingenio Providencia del cual fue pionero.

Después de su muerte y continuando con la tradición azucarera, Don Modesto Cabal Madriñan dio inicio al Ingenio Pichichí S.A. protocolizándose su creación mediante firma de las escrituras el 1º de abril de 1941 en la notaría segunda de Palmira, con un capital de \$500.000 que en un 50% fue suscrito en el mismo acto de la firma de la escritura, fijándose un valor de \$100 por cada acción.

La empresa surgió como una sociedad agroindustrial. Durante estos 64 años de progreso el Ingenio Pichichí S.A., buscando ser competitivo en el mercado, ha ido implementando nueva tecnología en planta y equipos, logrando alcanzar una molienda importante en el sector azucarero y que lo ha convertido en uno de los ingenios de mayor trayectoria, tradición y de mayor reconocimiento en la región y en la industria azucarera del país[5]. Es así como durante estos últimos 15 años, se ha dotado el laboratorio de aseguramiento de la Calidad con equipos con tecnología de punta para los análisis de materias primas, insumos y productos que hacen parte de la industria azucarera, contando con sacarímetros automáticos, espectrofotómetros, refractómetros digitales y el cromatógrafo líquido de alta resolución, que permiten una mayor exactitud en los análisis y programas informáticos que permiten consultar los resultados vía intranet en las demás dependencias de fábrica con mayor rapidez y seguridad.

Así mismo, a la par con su desarrollo tecnológico encaminados a el mejoramiento continuo de la preservación del medio ambiente, capacitación y bienestar de todos sus colaboradores de sus familias y de las comunidades vecinas de su área de influencia, la empresa ha procurado trabajar por el desarrollo profesional y humano de su gente, buscando siempre sus bienestar a través de programas recreativos, culturales, educativos, de salud siguiendo a la vez políticas de entendimiento, calidad, respeto y colaboración en sus relaciones laborales.

### **3.1.1 Misión**

El Ingenio Pichichí S.A., es una empresa orientada a la satisfacción de sus clientes, con calidad y confiabilidad, mediante la elaboración y comercialización de productos derivados de la caña de azúcar, generando valor para los accionistas, impulsando el desarrollo integral de sus colaboradores y contribuyendo a la creación y mantenimiento de un ambiente sano para la comunidad. [6]

### **3.1.2 Visión Año 2012**

Somos el complejo agroindustrial líder a nivel nacional en rentabilidad, competitividad e innovación, ofreciendo productos y servicios diferenciados que generan reconocimiento y un sólido posicionamiento en los mercados en donde participamos. [6]

### **3.1.3 Políticas de Calidad**

#### **Asegurando Nuestra Calidad<sup>7</sup>**

Con el fin de garantizar a sus clientes y proveedores productos de la mejor calidad, bajo los más altos estándares de higiene y seguridad, así como una mayor eficiencia y productividad en los procesos, el Ingenio Pichichí se ha certificado en la producción de azúcares y mieles, que aseguran no sólo la calidad de sus productos, sino también el compromiso que ha adquirido con el País.

Sello de calidad ICONTEC a nuestros azúcares y mieles.

Certificación de Aseguramiento de la Calidad ISO 9001 versión 2000.

Certificación del Sistema de Gestión ambiental ISO 14001 versión 2004.

- **Política con los clientes**

Satisfacer las necesidades de nuestros clientes del mercado nacional e internacional competitivamente, brindando productos y servicios con altos estándares de calidad, manteniendo una alta productividad e innovación para el mejoramiento continuo de los procesos.

- **Política con los proveedores**

Buscar con nuestros proveedores de bienes y servicios el cumplimiento de las especificaciones de los materiales e insumos, trabajando en equipo con una excelente comunicación y haciéndolo parte de nuestra gestión.

- **Política con la producción**

Garantizar la conformidad de las diferentes etapas del proceso, mediante el uso de tecnología adecuada, capacitación y entrenamiento, equipos de medición y análisis, que optimicen las actividades de operación y mantenimiento alcanzando mejores niveles de seguridad y productividad.

- **Política con la planta y equipos**

Disponer de equipos de producción e instalaciones y bodegas, acordes a las necesidades y requerimientos de los clientes, que garanticen su confianza y aceptación, velando por el control y reducción de los agentes contaminantes que se deriven del proceso del producto.

- **Política con el Talento Humano**

Identificar las necesidades de competitividad y bienestar del talento humano, supliéndolas mediante la implementación de planes de capacitación, entrenamiento, formación y desarrollo integral, aprovechando sus potencialidades con el propósito de lograr incrementos en la productividad, calidad, sentido de pertenencia, motivación y excelencia humana para satisfacción de nuestros clientes.

### **3.1.4 Productos Fabricados en el Ingenio Pichichí S.A.<sup>8</sup>**

Los productos que se fabrican están Certificados por el Instituto de Normas Técnicas Colombianas Icontec, que avalan la calidad de nuestros productos.

- **Azúcar Crudo NTC 607**

Producto Natural sólido cristalizado obtenido de la caña de azúcar, constituido por cristales sueltos de sacarosa cubiertos por una película de miel.

- Presentación: Saco de Polipropileno con bolsa interna de polietileno y a granel.
- Capacidad Saco: 50 kilogramos



- **Azúcar Blanco NTC 611**

Producto Natural cristalizado constituido esencialmente por sacarosa, obtenido mediante procedimientos industriales apropiados y que no ha sido sometido a proceso de refinación.

- Presentación: Saco de Papel de tres capas y empaquetado nacional.
- Capacidad Saco: 50 kilogramos y 2.5 kilogramos en sacos de 25 kilogramos.

- **Azúcar Blanco Especial NTC 2085**

Producto Natural sólido cristalizado constituido esencialmente por sacarosa, obtenido mediante procedimientos industriales apropiados y que no ha sido sometido a procesos de refinación. Se diferencia del azúcar blanco porque sus requerimientos de calidad son más exigentes.

- Presentación: Saco de Polipropileno con bolsa interna de polietileno, saco de papel de dos capas y paca de 200 sobres.
- Capacidad Saco: 50 Kilogramos, 2,5 kilogramos en sacos de 25 kilogramos y sobres de 5 gramos.

- **Miel final o Melaza de Caña NTC 587**

Líquido denso y viscoso obtenido de la centrifugación de la masa cocida final y del cual no es posible recuperar, económicamente más sacarosa por los métodos usuales.

- Presentación: A Granel.

### 3.2. MARCO TEÓRICO

Los métodos utilizados en el análisis de miel virgen de caña, para la determinación de sacarosa se fundamentan en las propiedades ópticas de la sacarosa.

El método polarimétrico, se basa en la propiedad que tiene la sacarosa en solución acuosa para rotar el plano de la luz polarizada (dextrorrotación). El ángulo de rotación de soluciones de sacarosa pura es proporcional a su concentración, con precisión suficiente para servir como medida del contenido de sacarosa.

El método refractométrico, se basa en la propiedad óptica que tiene la sacarosa al hidrolizarse para desviar el ángulo de la radiación incidente en la interfase de dos medios de densidades diferentes, tomando como medio de referencia el aire, por cambio en la velocidad de la radiación (refracción), que se mide con el índice de refracción y es específico para sustancias puras y en soluciones acuosas puras. En el análisis de sacarosa, el índice de refracción de soluciones acuosas de sacarosa depende de la cantidad de material disuelto y puede desde luego servir como medida del contenido de sacarosa presente [9,15].

Los dos métodos, son aplicables con gran exactitud a soluciones acuosas de sacarosa pura, pero teniendo en cuenta que en el análisis de la miel virgen de caña no se eliminan las demás sustancias presentes de la matriz de la muestra y que esta contiene especies ópticamente activas, las cuales influyen al igual que la sacarosa en los valores de rotación específica y en el índice de refracción, por lo cual el resultado de estas medidas no es exactamente el reflejo del contenido de sacarosa, pero son consideradas como una medida aproximada de su contenido en estos productos en los que predomina su concentración.

De igual forma, el análisis de azúcares totales como reductores por el método de Lane y Eynon, aprovecha la propiedad del poder reductor que tienen los azúcares para su cuantificación.

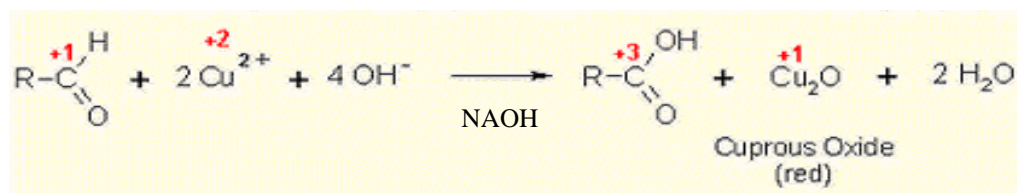


Fig. 1 Reacción de oxidación del grupo aldehído

La reacción ocurre en medio básico fuerte, que requiere un estabilizador para el ión  $\text{Cu}^{+2}$  que evite la formación de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  insoluble, como el tartrato con el cual forma un compuesto de coordinación de color azul.

Debido a que no se eliminan las demás especies que contiene la matriz de la muestra, algunas de estas pueden generar interferencias, tales como especies inorgánicas y moléculas con grupos aldehído en su estructura susceptibles a oxidación, al igual que otros azúcares como cetosas que pueden sufrir efectos de tautomerización por la alcalinidad del medio, afectando el resultado del contenido real de azúcares reductores en la miel virgen de caña [12].

Los métodos antes mencionados para la determinación de sacarosa, y azúcares totales como reductores aunque no brindan exactitud en la determinación del contenido verdadero de estos azúcares en la miel virgen de caña, se considera que proporcionan una medida aproximada de su concentración, y son empleados en el mercado para dar cumplimiento a los requisitos comerciales, según lo estipulado en el manual de métodos de la Comisión Internacional para la Uniformidad de métodos de Análisis de Azúcares (ICUMSA por sus siglas en inglés) [11,12]

Contrario a esto, el método de determinación del contenido de sacarosa, glucosa, fructosa en miel virgen de caña por cromatografía líquida de alta resolución HPLC brinda una mayor exactitud en los resultados debido a que es específico y selectivo para estos azúcares. Que tiene la propiedad de separación de las especies por exclusión por tamaño e intercambio catiónico.

La separación tiene lugar cuando los azúcares de bajo peso molecular como sacarosa, glucosa y fructosa presentes en la muestra son transportados por la fase móvil hacia la columna y pueden entrar en los poros de la resina (exclusión por tamaño) y los grupos hidroxilos que conforman sus moléculas establecen enlaces temporales con los iones de carga opuesta de la resina por intercambio catiónico, dando como consecuencia la elución de las especies en tiempos diferentes de acuerdo a la fuerza con que sean retenidas por la resina al ser arrastradas por la fase móvil de EDTA-cálcico que pasa a presión por la columna, regenerando los iones iniciales de calcio en la columna efectuando su separación.

Las moléculas más largas que no entran fácilmente en los poros de la resina y las que no son retenidas se eluyen con mas rapidez, siendo detectadas por el cambio en el índice de refracción de la fase móvil al salir de la columna, que genera una señal que es registrada para su cuantificación [10].

Este método al ser más exacto para la determinación de sacarosa, glucosa y fructosa que los anteriormente mencionados, contemplado en el libro de métodos de ICUMSA, como un método oficial estándar utilizado por la industria azucarera en el mundo, permite emplearse como parámetro para evaluación de la exactitud

de los métodos polarimétrico, refractométrico y de Lane y Eynon, por medio de la correlación de sus resultados.

## 4. ASPECTOS GENERALES DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA

### 4.1. LA CAÑA DE AZÚCAR<sup>23</sup>

La caña de azúcar es una gramínea tropical que pertenece a la misma familia (Andropogoneae) que la del sorgo, el pasto Jonson y el maíz. La caña de azúcar que se cultiva actualmente es un híbrido complejo de dos o más de las cinco especies del género *Saccharum*: *S. Barberi* Jeswiet, *S. officinarum* L., *S. robustum* Brandes & Jesw. ex Gras, *S. Sinense* Roxb. Y *S. Spontaneum*. Muchas formas de estas especies se hibridizan originando un género muy diverso. Algunos investigadores piensan que *Saccharum* se desarrolló en el área de Birmania, China e India en el Asia Meridional. *Saccharum spontaneum*, *S. Sinense* y *S. Baberi*, son típicas de esta región; las formas relativamente jugosas de las dos últimas especies han sido utilizadas en comienzos del cultivo y procesamiento de la Caña de Azúcar en la China e India. Cuando las distintas formas se extendieron a otras áreas, se desarrolló *S. robustum* en las Islas del sureste de Indonesia, posiblemente por cruzamiento de aquellas con *Miscanthus*, y evolucionó a *S. officinarum* en el área de Nueva Guinea. Las amplias variaciones del tamaño, color y el aspecto son resultado de las diversas condiciones del terreno, del clima y de los métodos de cultivo y selección local. Se acepta hoy en día que *S. officinarum* se desarrolló mediante la selección practicada por los cazadores de cabezas aborígenes; las formas con un alto contenido de fibra (*S. robustum*) se utilizaban para construcción y las formas dulces, blandas y jugosas se producían para masticarse.



Fig. 2 Labores de corte de Caña

## 4.2 SACAROSA

La sacarosa es un disacárido producido por la condensación de la glucosa y la fructosa y tiene la fórmula empírica  $C_{12}H_{22}O_{11}$  (peso molecular 342.30 g/mol) [20]. Se ha determinado que su estructura y configuración estereoquímica son la de  $\alpha$ -D-Glucopiranosil- $\beta$ -D-fructofuranósido, cuya representación espacial se muestra a continuación:

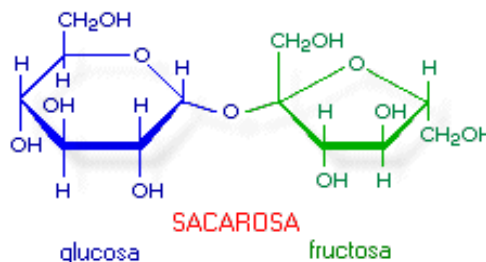


Fig. 3 Configuración espacial de la molécula de sacarosa

La sacarosa cristaliza en solución acuosa como compuesto anhídrido, en forma de prismas transparentes del sistema monocíclico que tienen una densidad de 1.5879 a 15 °C y muestran actividad óptica a lo largo de dos de sus tres ejes. La sacarosa pura funde a 188°C. En solución este azúcar es dextrógiro con una rotación específica de  $[\alpha]_D^{20} +66.53^\circ$  a una concentración de 26 gramos en 100 mililitros de agua. Es muy soluble en agua, como lo son casi todos los azúcares; una solución saturada contiene el 67.09% en peso. La Sacarosa es sólo ligeramente soluble en metanol e insoluble en éter o cloroformo. Cuando se hidroliza, la sacarosa produce cantidades equimolares de glucosa y fructosa, y la mezcla se conoce como azúcar invertida [20].

La sacarosa es el azúcar de uso doméstico e industrial y es el más común en el reino vegetal. La sacarosa se encuentra en todas las partes de la planta de la caña de azúcar donde se almacenan en las vacuolas de la célula, siendo más abundante en el tallo y menos abundante en las regiones que se encuentran en crecimiento activo, especialmente en las porciones de las bandas del extremo del tallo y las hojas enrolladas [23].

### 4.3. LA GLUCOSA (DEXTROSA)

La glucosa es un monosacárido, tiene la fórmula  $C_6H_{12}O_6$  (peso molecular 180.16 g/mol), Es una aldohexosa y su estructura recibe el nombre de D-glucopiranososa porque al ciclarse forma un anillo de seis átomos uno de ellos de oxígeno, puede cristalizar en el agua tanto en la configuración  $\alpha$ , como en la  $\beta$  y estas dos formas están en equilibrio en solución a temperaturas inferiores a  $50^\circ C$ , siendo la  $\alpha$ -D-glucopiranososa la forma más estable. La glucosa anhidra forma cristales romboides que tienen un punto de fusión de  $146^\circ C$ , tienen una densidad de 1.544; una solución al 26% tiene una densidad de 1.10643. El monohidrato, de la glucosa  $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ , produce un cristal monocíclico esfenoidal, posee un extremo que se disuelve con mucha más rapidez que su forma anhidra. Funde a  $83^\circ C$ . La glucosa es menos soluble en agua que la sacarosa; aún a  $30^\circ C$ , una solución saturada que contiene sólo un 57.6%. Es soluble en metanol e insoluble en éter. Las moléculas de glucosa se condensan en diferentes maneras para formar almidón, dextrana y celulosa [23].

La glucosa se presenta en solución en tres formas y todas pueden aparecer al mismo tiempo. La forma de cadena libre tiene libre el grupo aldehído y reduce una solución alcalina de sales cúpricas, dando positiva la prueba para azúcares reductores. La forma de los anillos existe en las configuraciones  $\alpha$  y  $\beta$ .

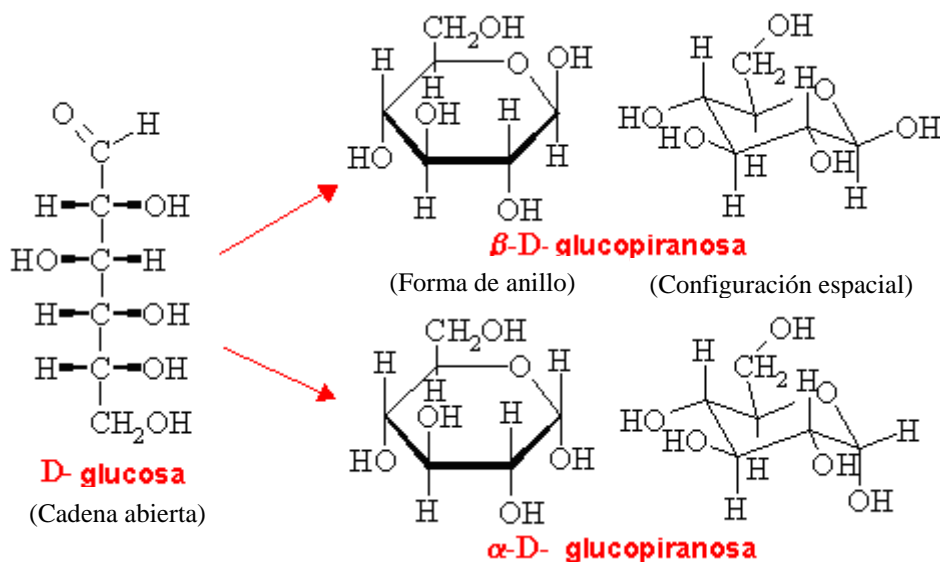


Fig. 4 Configuración lineal y espacial de la molécula de Glucosa

Las soluciones de glucosa muestran el mismo fenómeno de mutarrotación que la mayoría de las soluciones de las hexosas y pentosas simples, es decir, que la rotación específica cambia cuando la solución queda en reposo por algún tiempo;

una solución recién preparada de  $\alpha$ -D-glucosa tiene una rotación específica de  $[\alpha]_D^{20} +112.2^\circ$ , mientras que la  $\beta$ -D-glucosa es de  $[\alpha]_D^{20} +18.7^\circ$ . Al establecerse el equilibrio en presencia de aproximadamente 40% de la forma  $\alpha$  y 60% de la forma  $\beta$ , la rotación es de  $[\alpha]_D^{20} +52.7^\circ$ , y este es el valor que se usa para la determinación de glucosa en soluciones puras en polarimetría [20].

La glucosa es metabólicamente el azúcar más importante en las plantas y los animales, y su amplia distribución tanto en el reino vegetal como en el reino animal esta indicada por sinónimos como el azúcar de maíz, azúcar de uva y azúcar de la sangre. Sólo en la proporción de crecimiento activo en la planta el contenido de la glucosa excede al de la sacarosa. Al comienzo de su cultivo el contenido de glucosa del guarapo es alto y disminuye con la madurez [23].

#### 4.4 FRUCTOSA

Llamada también azúcar de frutas, la fructosa es más dulce que la sacarosa y la glucosa; de las tres es la menos abundante en la caña. A semejanza de la glucosa es más abundante en las partes en crecimiento de la planta y menos abundante en la parte inferior del tallo y las raíces. La fructosa disminuye con la maduración y puede ser imposible de detectar en algunas variedades de alta pureza en la madurez. Las moléculas de fructosa se polimerizan para formar leván e insulina un producto de almacenamiento de ciertas plantas [23].

La fórmula empírica de la fructosa es igual a la de la glucosa  $C_6H_{12}O_6$  (peso molecular 180.16g/mol) los cristales ortorrómbicos de la fructosa tiene una densidad de 1.598 y una solución al 26% en peso tiene una densidad de 1.1088. Los cristales funden a 105 °C. La fructosa es muy soluble en agua y ligeramente soluble en etanol. Una solución saturada a 20 °C contiene un 78.94% de este azúcar. Al igual que la glucosa la fructosa es un azúcar reductor, pero posee un grupo cetona en lugar de aldehído con el oxígeno fijado en el carbono 2 en lugar de estar en el carbono 1. Su designación corriente de levulosa surgió de la actividad levógira de sus soluciones; pero la designación de este monosacárido es la forma D y se encuentra al igual que la glucosa en forma  $\alpha$  y  $\beta$ , en forma de anillos tanto de cinco átomos uno de ellos de oxígeno, es diferente al de la furanósica con un anillo de cuatro átomos que existe en la molécula de la sacarosa. La mutarrotación en soluciones acuosas es más compleja que en el caso de la glucosa, ya que se establece el equilibrio entre la estructura anular furanósica y piranósica, y también entre sus formas  $\alpha$  y  $\beta$ . La levorrotación inicialmente elevada de  $[\alpha]_D^{20} -132.2^\circ$ , disminuye a  $[\alpha]_D^{20} -92.4^\circ$ , siendo este último el valor que se usa en la polarimetría de azúcares [20].



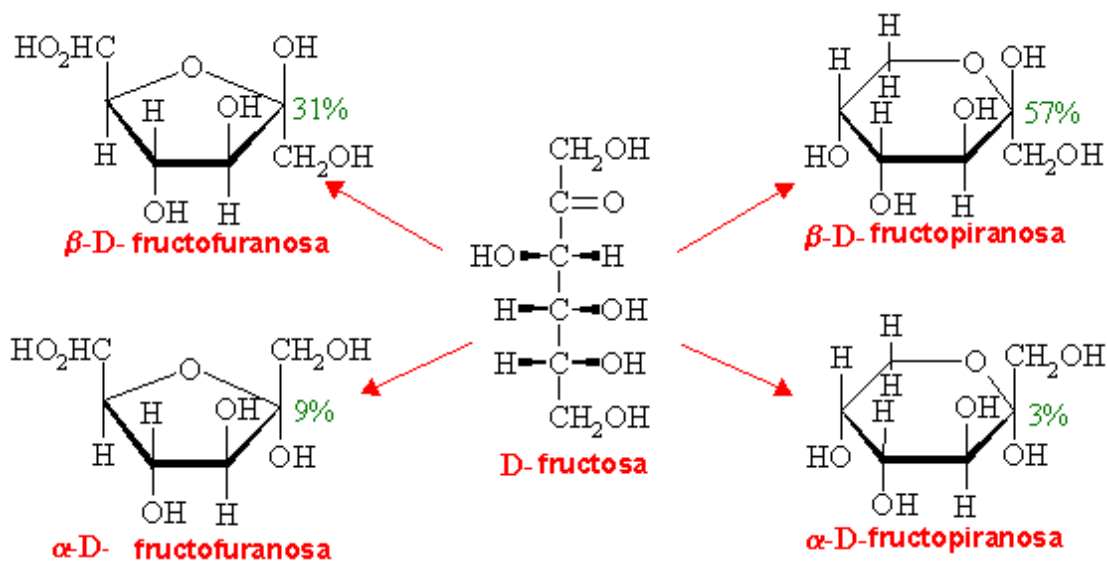
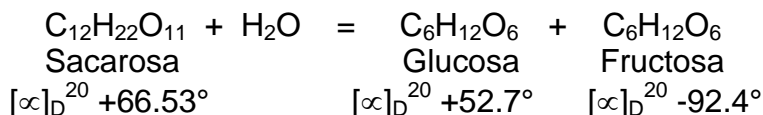


Fig. 5 Configuración lineal y espacial de la molécula de Fructosa

#### 4.5 INVERSIÓN DE LA SACAROSA<sup>20</sup>.

La sacarosa se hidroliza con facilidad en soluciones ácidas a velocidades que aumentan notablemente según el aumento de la temperatura y disminución del pH, con liberación de los monosacáridos constituyentes según la reacción:



A esta reacción hidrolítica se aplica generalmente el nombre de inversión, ya que produce un cambio en la actividad óptica dextrógira propia de la sacarosa a una actividad neta levógira, equivalente a  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -39.7^\circ$  de los productos de la reacción. La mezcla equimolar de glucosa y fructosa que se forma es conocida generalmente como “azúcar invertido” por extensión de la terminología que se aplica a la reacción de la Hidrólisis. Ha sido un procedimiento común la expresión de los resultados de las determinaciones del poder reductor por métodos aplicables en igual proporción a estos azúcares.

#### 4.6 AZÚCARES REDUCTORES

Los carbohidratos son una clase amplia de aldehídos y cetonas polihidroxiladas o sustancias que al hidrolizarse dan estos compuestos como productos y comúnmente se denominan azúcares. Los monosacáridos son carbohidratos que

sólo contienen una unidad polidroxialdehído o polihidroxicetona. Los di, tri o polisacáridos contienen dos, tres o más de cuatro unidades de monosacáridos unidos respectivamente [24].

Los monosacáridos existen principalmente en forma cíclica, pero debido a que están en equilibrio con la forma de cadena abierta, el grupo carbonilo presente en ellos podrá dar positiva varias de las pruebas para el reconocimiento de aldehídos y cetonas. Así los carbohidratos pueden ser oxidados con facilidad para producir los ácidos carboxílicos correspondientes, por ello, se denominan azúcares reductores (reductor porque el azúcar reduce al agente oxidante) [20].

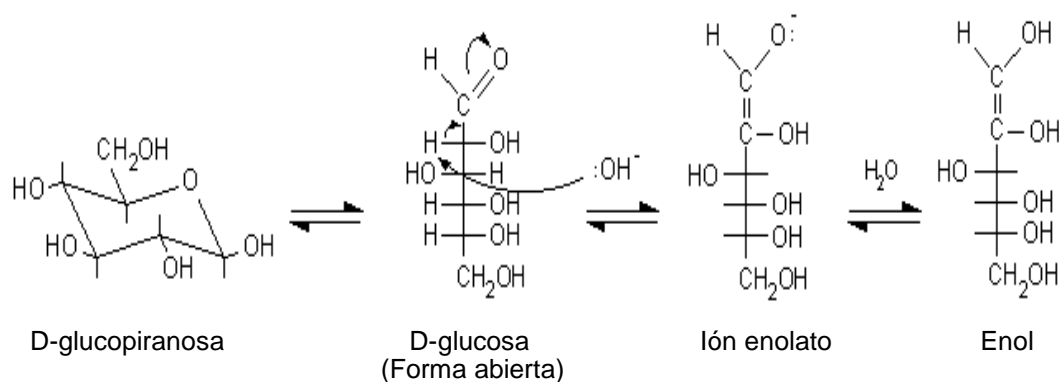


Fig. 6 Equilibrio del tautomerismo ceto-enol de la molécula de glucosa

Debido a la presencia del grupo carbonilo, los átomos de hidrógeno unidos al carbono alfa de los compuestos carbonílicos muestran propiedades débilmente ácidas. La acidez de dichos hidrógenos es debida a la estabilización por resonancia del anión (ion enolato) que resulta de la disociación de un hidrógeno alfa. La estructura contribuyente al híbrido en resonancia del ion enolato posee un átomo de carbono con un par de electrones no compartidos y una carga negativa [25].

Un anión con tales características se le llama **carbanión**:

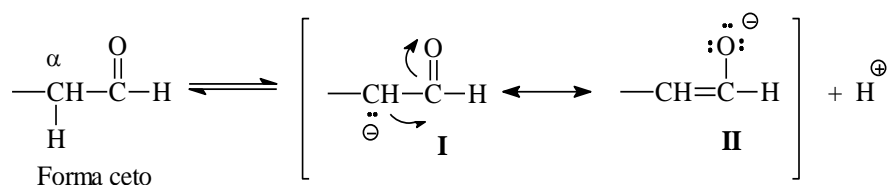


Fig. 7 Mecanismo de formación del carbanión

Si el protón se adiciona nuevamente al carbono alfa (estructura I), se obtiene nuevamente el compuesto carbonílico original o la forma ceto.

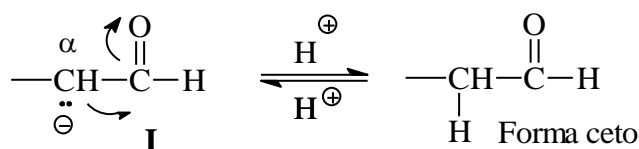


Fig. 8 Mecanismo de reconversión a la forma ceto

Sin embargo, si la adición ocurre en el átomo de oxígeno cargado negativamente (estructura II), se obtiene una forma estructural diferente a la forma ceto, llamada forma **enólica** o simplemente **enol**

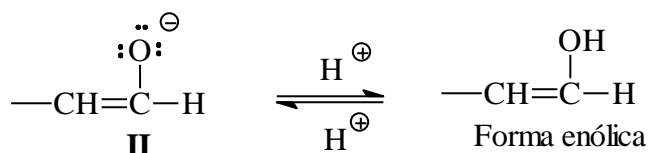


Fig. 9 Mecanismo de formación del enol

Las sustancias que participan en un equilibrio de su forma ceto y enólica se dice que son **tautómeras**, por el fenómeno que implica la interconversión espontánea de los dos isómeros.

Todas las aldosas son azúcares reductores porque contienen un grupo carbonilo aldehídico, pero algunas cetosas son también azúcares reductores como es el caso de la fructosa, aún cuando no contiene un grupo aldehído. La reducción ocurre porque la fructosa se isomeriza con rapidez en solución básica o ácida mediante una serie de corrimientos tautómeros cetoenólicos cuyo resultado es la conversión a una aldosa [25].

La forma enólica de la glucosa presenta la esteoquímica del C-2 típica, en la que el ión enolato puede transformarse directo a una de las tres posibilidades de compuestos hidroxicarbonílicos: *D-glucosa*, *D-manosa* y *D-fructosa*. De modo que, si el carbonilo se forma en su C-2 se obtiene fructosa, si el carbonilo se forma con el C-1 puede obtenerse glucosa o manosa porque el H<sup>+</sup> se puede ligar al lado izquierdo o derecho del plano molecular sp<sup>2</sup> del ión enolato [25]:

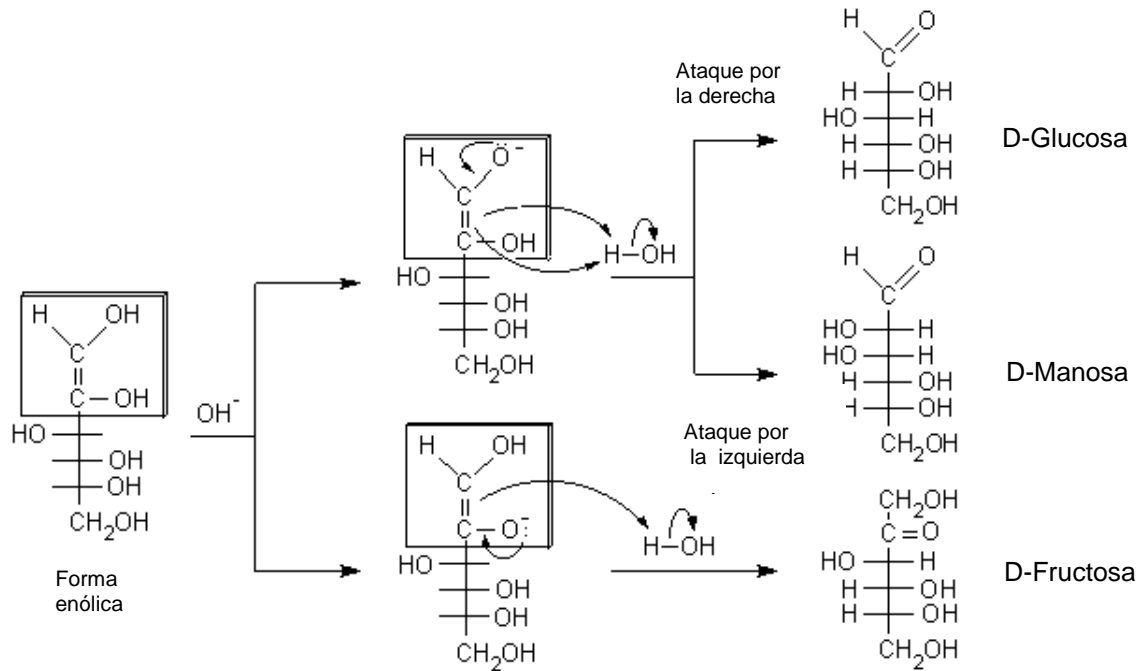


Fig. 10 Tautomerismo de la molécula de glucosa

La isomerización alcalina de la glucosa produce una mezcla en la cual están presentes glucosa, manosa y fructosa en equilibrio a través de un ión intermedio inestable o enolato. Como se trata de un equilibrio, se obtiene siempre esta mezcla final partiendo de cualquiera de estos tres monosacáridos [25]:.

Sin embargo, los disacáridos como la sacarosa que se encuentran unidos por el carbono anomérico no son azúcares reductores porque el grupo acetal no se hidroliza en condiciones básicas o ácidas, lo que no permite que ocurra el equilibrio con su forma de cadena abierta y no se libere el grupo aldehído [24].

## **4.7 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA<sup>26</sup>**

En el ingenio el proceso productivo se origina con las labores de campo y cosecha en donde se realiza la preparación del terreno, etapa previa a la siembra de la caña. Una vez la planta madura a los 14 meses, las personas encargadas del área de cosecha se disponen a cortarla y recogerla a través del alce mecánico y llevarla en equipo de transporte adecuado hasta el patio de caña en el Ingenio para su transformación finalizando con el despacho de la miel virgen. Estas labores están dirigidas por tres divisiones: Campo, Cosecha y Fábrica.

El proceso de elaboración se divide en dos departamentos: molienda y elaboración.

### **4.7.1 Departamento de Molienda**

En este departamento se recibe la caña traída del campo y se le extrae el jugo. En el se distinguen dos secciones:

- Patio de caña
- Molinos

- **PATIO DE CAÑA**

En esta sección se recibe la caña traída del campo se pesa en las básculas. se maneja prepara mediante picadoras para lograr obtener la mayor cantidad de jugo en los molinos.

Esta sección está dividida en cuatro sistemas, así:

1. Bascula de caña
2. Grúas hilo patio de caña
3. Mesas de caña
4. Picadora

- **Recepción de materia prima**

Tabla 1. Especificaciones de la caña de azúcar

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>RANGO DE CONTROL</b>
BRIX	%	15-22
RENDIMIENTO TEÓRICO	%	Mínimo 8
GOMAS	ppm	Máximo 400
EDAD	meses	10-15
ANTIGUEDAD A LA BÁSCULA	horas	Máximo 50
MATERIA EXTRAÑA	%	Máximo 7

La caña cosechada en el campo se transporta a la fábrica en tractomulas y trenes cañeros, estos se pesan en las básculas para obtener por diferencia el peso de la caña de entrada a la fábrica y se conduce al patio de caña en donde se hace la espera para el descargue a la mesacaña que posee el Ingenio. La caña es descargada mediante grúas hilo a un transportador de cadenas denominado mesacaña, donde se regula y acondiciona la forma como la caña es alimentada a las picadoras. El almacenaje o apronte se hace en vagones.

- **Preparación de caña**

Para obtener una buena extracción de jugo en los molinos la caña debe ser preparada adecuadamente mediante el quebramiento de la estructura dura y la fractura de las células. Esto se hace por medio de un nivelador y dos picadoras con cuchillas movidas por motor eléctrico, una picadora de cuchillas basculantes movida por motor eléctrico y una picadora con martillos accionada por turbina que opera con vapor vivo (210 psi) y el vapor de descarga se conoce como vapor escape (15-18 psi), el cual es utilizado en elaboración.

La eficiencia en la preparación de la caña se mide por el índice de preparación, el cual es una medida de la facilidad para extraer la sacarosa de la caña.

El Índice de preparación de caña debe estar entre 80 - 85% para una adecuada operación de las picadoras

- **MOLINOS**

En esta sección se recibe la caña que viene de las picadoras. La caña es transportada por medio de conductores hasta los molinos, donde se hace la extracción de jugo.

Esta sección esta dividida en tres sistemas, así:

1. Conductores de molinos
2. Molinos
3. Sistema de jugos

## ■ Molienda

### • Molinos

En los molinos se hace la extracción de jugo por la compresión de la caña. Estos son equipos compuestos generalmente por tres cilindros de gran tamaño, llamados “mazas”, con grabados o ranuras de diferentes formas dispuestas en forma triangular y conocidas como:

- **Maza mayor o superior:** Es la más grande de todas y va en la parte superior de las otras dos.
- **Maza cañera:** Es aquella sobre la cual pasa la caña alimentada al molino.
- **Maza bagacera:** Es aquella sobre la cual pasa el bagazo que sale del molino.

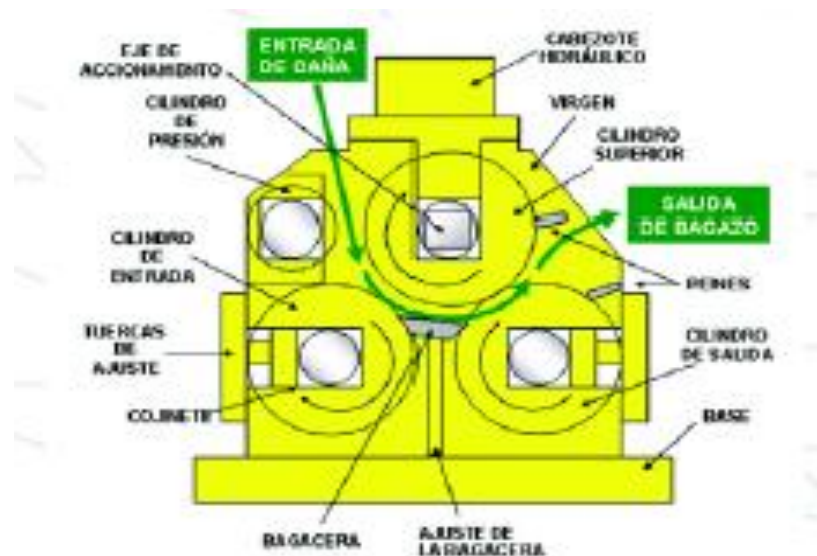


Fig. 11 Partes principales del molino

El molino descrito anteriormente es llamado unidad de molienda. En el ingenio se tiene un tandem de 5 molinos. A este conjunto de molinos se le llama “**tandem**” Se cuenta con tres molinos con capacidad para moler 5500 TCD (toneladas de caña día) (#1, #2, #5) y dos molinos con capacidad para moler 4000 TCD (#3, #4).

En el primer molino la caña pierde del 70% al 80% de su peso en jugo, denominado *jugo desmenuzado*. Sin embargo, para lograr una buena extracción es necesario bañar la torta de bagazo con agua o jugo pobre en sacarosa. Esto se hace al salir de cada molino para diluir la sacarosa que aún esta contenida en el bagazo y así aumentar la extracción hasta alcanzar más del 95% de la sacarosa contenida en la caña.

En el Ingenio se adiciona agua de imbibición caliente (77°C – 82°C) a la entrada del quinto molino a una razón de 50 Ton/hora. (En los molinos anteriores al quinto se usa el jugo de los molinos siguientes para la imbibición).

El bagazo que sale del quinto molino tiene aproximadamente (45% - 50%) de humedad y 2,8% de sacarosa. Este bagazo tiene actualmente las siguientes aplicaciones:

- Como combustible en las calderas.
- El mas fino, llamado “bagacillo”, se emplea como ayuda para el proceso de filtración de la cachaza.

Además de estas aplicaciones, el bagazo puede ser utilizado para la fabricación de tableros aglomerados y ser utilizado como materia prima para la fabricación de pulpa de papel.

▶ **Tabla 2. Variable de Control Bagazo : Sacarosa en bagazo, extracción**

REQUISITOS DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITOS DE SALIDA
Caña Preparada IP > 80	Extraer la máxima cantidad de azúcar de la caña que entra.	Sacarosa en bagazo < 2.3 a 2.5 Extracción > 95% Humedad del bagazo <50 a 51 %

Para obtener una buena extracción se debe mantener

- Un buen colchón en el conductor A.
- Mantener el nivel de los chutes entre 30 y 50 % de carga.
- Temperatura de imbibición entre 85°C a 95 °C a la entrada del último molino.
- Mantener la presión hidráulica de los molinos entre 2500 a 3500 psi

■ **Tamizado de jugo**

Todo el jugo del tanque de maceración del primer molino es tamizado en un filtro llamado “**Filtro tromell**”, el cual consiste en un cilindro rotatorio inclinado que posee una superficie cilíndrica de metal perforado. El jugo mezclado se tamiza en la superficie cilíndrica, mientras que las partículas de fibra son obligadas a



moverse por la superficie inclinada para ser descargadas de nuevo en el molino #1. La extracción de esta fibra mejora la capacidad de los clarificadores y produce jugos más claros y cachazas más densas.

- **Pesaje de jugo**

Una vez tamizado, el jugo mezclado se pesa y se muestrea continuamente para efectuar el balance de materia diario con el fin de conocer la cantidad de sacarosa que ingresa a la sección de Elaboración y poder calcular la eficiencia de la recuperación que se haga en esta.

Para esto usamos la siguiente ecuación:

$$\text{Ton caña molida} + \text{Ton agua imbibición} = \text{Ton jugo mezclado} + \text{Ton bagazo}$$

El pesaje se realiza en un tanque provisto de cuatro celdas de presión, las cuales obtienen el peso mediante la medición de la presión hidrostática. Luego de pesado el jugo se descarga a un tanque receptor de donde se bombea al departamento de Elaboración.

#### **4.7.2 Departamento de Elaboración**

En el departamento de elaboración, al jugo proveniente de los molinos se le realizan las siguientes operaciones:

- Clarificación de jugo
- Evaporación
- Clarificación de meladura
- Evaporación de meladura

- **Clarificación de jugo**

La clarificación de jugo tiene como objetivo producir un precipitado de composición compleja que contiene sales insolubles de cal, albúmina coagulada, ceras, grasas y gomas que contiene el jugo de caña, ya que estas son precursoras de color y turbiedad, además que disminuyen la eficiencia de la extracción de sacarosa. Esta remoción se lleva a cabo efectuando las siguientes operaciones: calentamiento primario, sulfitación, alcalinización, calentamiento secundario, clarificación, separación de cachaza.

■ **Calentamiento primario**

El jugo mezclado procedente de la bascula con un pH de 5.2 a 5.5, se pasa a través de dos calentadores de carcasa (coraza) y tubos, que operan en serie y utilizan vapor de escape (5 – 7 psi) como medio de calentamiento.

En el calentamiento la temperatura del jugo se lleva de 30°C a 85°C, debido a que a esta temperatura se minimizan los consumos de azufre y cal, porque la velocidad de reacción es mayor; además con el calentamiento a pH ácido se coagulan proteínas y albúminas.

■ **Sulfitación**

► *Tabla 3. Sulfitación de jugo. Variable de control: pH*

REQUISITOS DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITO DE SALIDA
Jugo mezclado pH 5.2 –5.5	Descenso de pH del jugo por la absorción de vapores de SO <sub>2</sub> (anhidro sulfuroso) en una torre de sulfitación)	Jugo sulfitado variable pH 4.2 – 4.6

La sulfitación consiste en el descenso del pH del jugo mezclado por la absorción de SO<sub>2</sub> (Anhídrido Sulfuroso) gaseoso para conseguir los siguientes objetivos:

- Retirar no-azucres y Sulfato de Calcio (CaSO<sub>4</sub>) por reacciones de precipitación. Además el CaSO<sub>4</sub> forma cristales gruesos que son una excelente ayuda filtrante.
- Reducir el ión férrico a ferroso, lo que disminuye el efecto catalizador del primero en las reacciones de oxidación de azucres reductores y polifenoles (taninos, hidroxilos fenólicos de la antiacina en la corteza y escaretina en la fibra) que producen compuestos coloreados. Esto se logra con la adición de SO<sub>2</sub> en solución ácida.

La adición de SO<sub>2</sub> se realiza en una torre de absorción de sección circular construida en fundición gris, en la cual el jugo y los vapores SO<sub>2</sub> fluyen en contracorriente. El SO<sub>2</sub> se produce al quemar azufre pulverizado en un quemador ubicado en la base de la torre; los gases son conducidos por una tubería de acero. El flujo de gases se propicia por medio de un extractor.

En la sulfitación el pH del jugo desciende 0,4 a 0,7 unidades.

■ **Alcalinización**

► **Tabla 4. Alcalización. Variable de Control: pH**

REQUISITO DE ENTRADA	CONDICIONES DEL PROCESO	REQUISITO DE SALIDA
Jugo sulfitado pH: 4.2–4.6	Aumentar el pH por la adición de una lechada de cal para disminuir la inversión. También actúa como floculante formando principalmente sulfato tricálcico	Jugo encalado pH 6.7 –7.7

La alcalinización consiste en la adición de lechada de cal al jugo, la lechada se prepara con cal viva (CaO) que se diluye con agua, además se le adiciona azúcar para iniciar la formación del Sacarato de Calcio y así aumentar la solubilidad. La lechada de cal se prepara a 12°Beaumé y luego es bombeada a la planta. Los principales objetivos de la alcalinización o defecación del jugo son:

- Elevar el pH del jugo para disminuir la inversión de la Sacarosa. La inversión de la Sacarosa es la descomposición de Sacarosa en Glucosa (Dextrosa) y Fructosa (Levulosa), que ocurre principalmente a pH ácidos y bajas temperaturas.
- Eliminar sustancias precursoras de turbidez mediante reacciones que producen sales poco solubles de Cal, tales como: Fosfato Tricálcico ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), Oxalato de calcio ( $\text{CaC}_2\text{PO}_4$ ) y Sulfato de Calcio ( $\text{CaSO}_4$ ). También se forman hidróxidos ligeramente solubles como hidróxido férrico ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) e hidróxido de aluminio ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ ).

El fosfato que contiene el jugo de la caña es uno de los factores más importantes para lograr una clarificación eficiente, por tanto su contenido no debe ser menor de 300 ppm. Debido a que muchas veces la caña no aporta estas cantidades, se hace necesario adicionar fosfato soluble antes de la alcalinización. En el Ingenio se adiciona Ácido Fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) después del tamizado del jugo y antes del pesaje del mismo.

El pH del jugo claro debe ser de 7.0 así que en la alcalinización del jugo mezclado caliente se debe alcanzar un pH entre 7.3 y 7.8. Deben evitarse los pH superiores a 8.0 ya que esto produce un exceso de sales cálcicas, las cuales ocasionan descomposición de azúcares reductores y aumento del color.

El tiempo de contacto dado a la mezcla de jugo y cal en el tanque de alcalinización oscila entre 10 y 15 minutos.

- **Calentamiento Secundario**

- ▶ **Tabla 5. Calentamiento Secundario. Variable de Control : Temperatura.**

REQUISITO DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITO DE SALIDA
Jugo Encalado: T° 42 – 46 °C	Calentar el jugo para coagular albúmina y algunas grasas, ceras y gomas. Asegurar la eliminación del aire disuelto por evaporación instantánea y disminución de la solubilidad, lo cual es esencial para la precipitación de las impurezas	Temperatura: 203-217° F

El jugo alcalinizado se calienta hasta el punto de ebullición (103°C) o un poco más allá para coagular la albúmina y algunas de las grasas, ceras y gomas. El precipitado que estas forman engloba tanto los sólidos suspendidos como las partículas mas finas. Además, el calentamiento tiene una gran importancia ya que asegura la eliminación de aire disuelto, por evaporación instantánea y disminución de la solubilidad, lo cual es esencial para la sedimentación de las impurezas.

El calentamiento secundario se lleva a cabo en dos intercambiadores de calor de carcasa y tubos que operan en paralelo con los calentadores primarios utilizando vapor gas, en los que se eleva la temperatura del jugo alcalinizado de 80°C a 103°C

- **Clarificación**

- ▶ **Tabla 6. Clarificación jugo. Variable de Control: Color, turbiedad, pH, sólidos insolubles, fosfatos.**

REQUISITO DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITO DE SALIDA
Jugo encalado caliente pH: 7.4 –7.8	Separar los lodos formados por las reacciones con la cal, el SO <sub>2</sub> y el calentamiento secundario en sedimentadores continuos, para aumentar la precipitación de lodos se usa ayuda de floculantes	<b>JUGO CLARO:</b> Color < 10.000 uma Turbiedad < 1600 uma. pH 6.7 – 7.7 sólidos insolubles < 0.12% Fosfatos < 20 ppm Cachaza: Buena consistencia.

La clarificación es un proceso empleado para eliminar la máxima cantidad de impurezas que posee el jugo, separando los lodos formados por las reacciones de la cal, el SO<sub>2</sub> gaseoso y el calentamiento secundario en sedimentadores continuos, para aumentar la precipitación de lodos se utiliza como ayuda los floculantes. Para efectuar la clarificación se necesita de: cal, temperatura y sedimentación-decantación.

El precipitado formado en el jugo alcalinizado es de composición compleja, tiene una parte mas ligera y otra mas pesada que el jugo, y esta formado por los productos de las reacciones con la cal, el SO<sub>2</sub> y el calentamiento secundario.

Para separar los lodos, denominados cachaza del jugo claro, se utilizan sedimentadores continuos llamados clarificadores. Debido a que el jugo alcalinizado en estos equipos se encuentra a temperatura de ebullición, el tiempo de residencia que permita la separación de la cachaza y el jugo debe ser el menor posible, para evitar perdidas por inversión.

Para aumentar la velocidad de sedimentación de la cachaza, se utilizan los floculantes. Actualmente los de mayor uso son los poliacrilamidas, las cuales son esencialmente cadenas lineales de polímeros formadas a partir de dos tipos de enlace monomérico, ácido acrílico y acrilamida, producto con carácter aniónico en forma de espiral, que tiene la propiedad de hidrolizarse en agua, estirando su cadena para una mejor eficiencia en la floculación. Las unidades de ácido acrílico, que se presentan generalmente como sal sódica, ofrecen los puntos activos para fijación de las partículas de impurezas, mientras que las unidades de acrilamida constituyen el fundamento de la cadena de polímero.

El tiempo de residencia del jugo en los clarificadores convencionales es de aproximadamente dos horas; actualmente existe otro tipo de clarificadores llamados rápidos, que tienen un tiempo de residencia de aproximadamente una hora.

El Ingenio cuenta con tres clarificadores: uno de bandejas, uno de campanas y el otro de bandejas y campanas, los cuales tienen raspadores de cachaza en las bandejas y/o campanas. La cachaza es retirada de las bandejas y el fondo de los clarificadores, por bombas, en forma separada. El jugo claro es retirado por medio de tubos ubicados debajo de las bandejas y/o campanas y en la parte central del clarificador.

#### ■ Separación de cachaza

Esta etapa consiste en extraer el jugo contenido en la torta formada con cachaza y bagacillo en filtros rotatorios para disminuir las pérdidas de sacarosa.

La cachaza retirada de los clarificadores, que contiene del (40 - 60)% de jugo, es bombeada a un mezclador donde se le adiciona bagacillo que ayuda a formar una torta de mayor volumen y porosidad que permita una mejor filtración. Esta mezcla es bombeada a unos filtros rotatorios al vacío, donde se extrae el jugo, que es retornado al tanque de jugo alcalizado, mientras la cachaza, con una humedad del

70% y un contenido de sacarosa entre (1,0% – 1,2%), es conducida por un transportador sinfín y por un transportador de banda a tolvas de donde es retirada por góndolas, que la transportan al campo donde es utilizada como abono. La cachaza que sale del ingenio es pesada para cuantificar las pérdidas de sacarosa en esta parte del proceso.

► **Tabla 7. Cachaza. Variable de Control: Humedad, Pérdidas de sacarosa.**

REQUISITO DE ENTRADA	CONDICIONES DEL PROCESO	REQUISITOS DE SALIDA
Cachaza retirada de los clarificadores con un contenido de jugo de 40 al 60 %	Extraer el jugo contenido en la torta formada con cachaza y bagacillo en unos filtros rotatorios para disminuir las pérdidas de sacarosa	Cachaza: Humedad < 70 % Pol < 1.7 Brix jugo filtrado: 11-14°Brix Pureza jugo filtrado: 84 - 87%

El filtro consiste en un tambor rotatorio cubierto de láminas de metal perforado, que se zambulle en un baño de cachaza. A medida que gira se aplica vacío (14 pulg Hg) mediante bombas de vacío conectadas a un condensador que utiliza agua para retirar los vapores del sistema a través de columnas barométricas con sello líquido.

Este vacío adhiere una torta fina sobre el tambor, que pasa por duchas lavadoras con agua caliente, para obtener una mayor recuperación de sacarosa en el jugo filtrado. Después de lavada la torta, se seca por la acción del vacío, el cual es retirado posteriormente para poder desprender la torta del tambor mediante raspadores. El jugo se retira de los filtros utilizando un tanque receptor entre el condensador y el tambor, mediante una columna barométrica, para evitar que se rompa el vacío.

## ■ Evaporación

► **Tabla 8. Evaporación jugo. Variable de Control: Brix.**

REQUISITO DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITO DE SALIDA
°Brix jugo claro 15 – 17°	Evaporar entre el 75 al 80% del agua del jugo para obtener un jugo concentrado llamado meladura	Meladura sin clarificar °Brix : 58-64°

El jugo retirado de los clarificadores, denominado jugo claro, es enviado a un tanque provisto de un tamiz para retirar el bagacillo y de allí es bombeado a los evaporadores.

El jugo claro contiene aproximadamente un 85% de agua y 15% de sólidos. El proceso de evaporación tiene como objetivo eliminar parte del agua para obtener un jugo concentrado, denominado meladura, con una composición aproximada de 35% de agua y 65% de sólidos. A la meladura obtenida se le adiciona Hidrosulfito de Sodio para iniciar el proceso de Sulfitación.

La evaporación se realiza en múltiple efecto consistente en una sucesión de evaporadores, llamados CUERPOS, conectados en serie de tal manera que los vapores de un cuerpo sirvan como vapor de calentamiento al cuerpo siguiente. Para lograr esto, es necesario disminuir la presión de operación en cada uno de los cuerpos en forma sucesiva; esto se logra aplicando vacío (22 pulg Hg) al condensador del ultimo cuerpo para producir el gradiente de temperatura requerido en la evaporación.

En el primer cuerpo se utiliza vapor de escape como medio de calentamiento y con los vapores producidos en éste se calienta el segundo cuerpo, y se hacen extracciones, denominadas VAPOR GAS (5 – 7) psi, las cuales son utilizadas en los tachos y los calentadores como vapor de calentamiento.

En el ingenio se trabaja actualmente con un quintuple efecto, en el que el primer efecto se denomina pre-evaporador, debido a que el jugo no es alimentado en su punto de ebullición y parte del calor transferido en él es utilizado para calentar el jugo hasta su temperatura de ebullición.

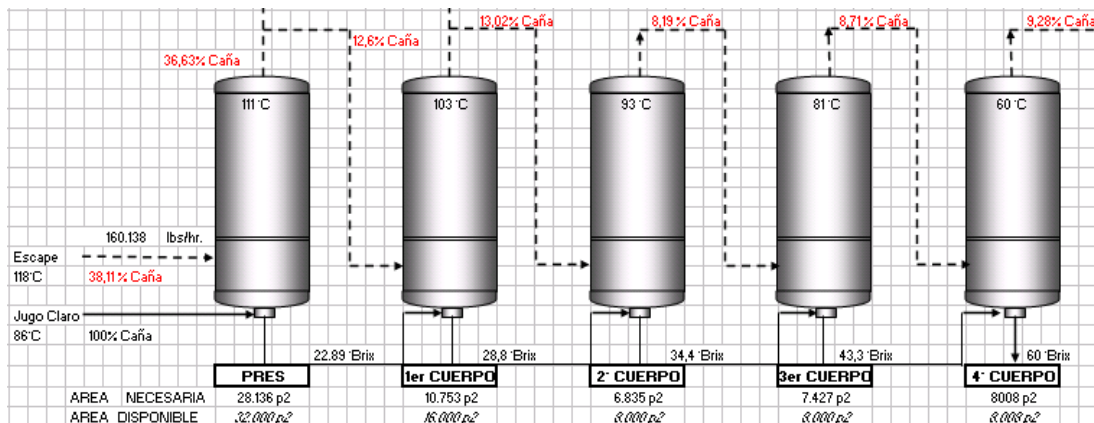


Figura 12. Esquema del Sistema de Evaporación del Ingenio

## ■ Clarificación de meladura

El propósito de la clarificación de meladura es remover por flotación parte de las impurezas que no se pudieron retirar en la purificación del jugo, ya sea porque se mantuvieron en solución, suspensión o porque flotaron en el jugo claro. Los principales objetivos de la clarificación de meladura son:

- Reducir la turbiedad de la meladura y por ende la del producto final. En la clarificación de meladura se logra reducir la turbidez entre un (65 – 68)%.
- Reducir las pérdidas de sacarosa al disminuir las impurezas que entran a los tachos.

La purificación de meladura es un proceso unitario que consta de las siguientes operaciones: Sulfitación, Aireación estática, Alcalinización, Aireación Dinámica, Calentamiento, Floculación y Clarificación.

## ■ Sulfitación

► *Tabla 9 .Sulfitación Meladura. Variable de control: pH*

REQUISITO DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITOS DE SALIDA
Meladura sin clarificar PH 6.2 – 6.4	Descenso en el pH de la meladura por absorción de vapores de SO <sub>2</sub> en una torre de sulfitación.	Meladura sulfitada pH : 5.95 – 6.1

La meladura obtenida en los evaporadores es enviada a dos tanques cilíndricos, donde también se adiciona el lavado de las centrifugas de primera y el disuelto de azúcar de tercera. De estos tanques, la meladura es bombeada al tanque de cabeza constante ubicado en la parte superior de la torres de Sulfitación de meladura. El nivel de dicho tanque es regulado por una válvula telescópica que alimenta por gravedad, la torre de Sulfitación.

La Sulfitación de meladura tiene los mismos objetivos y forma de operación de la Sulfitación de jugo. La única diferencia es que se realiza en una torre de absorción de sección circular construida en acero, con platos de malla en acero inoxidable. La meladura sulfitada es recibida en un tanque ubicado en la parte inferior de la torre, en el cual se le adiciona Ácido Fosfórico y un tensoactivo para reducir la viscosidad y favorecer la flotación.



### ■ Aireación estática

Del tanque de meladura sulfitada se alimenta un aireador estático, el cual consiste de dos tanques concéntricos donde la meladura se introduce por la parte inferior del tanque interior y la inyección del aire se logra recirculando parte de la meladura a través de un eyector (*Venturi*) que succiona aire de la atmósfera.

El propósito de la aireación es impregnar la meladura con pequeñas burbujas de aire que se unan a los flóculos y proporcionen la fuerza de empuje para la flotación del coágulo.

### ■ Alcalinización

► *Tabla 10. Alcalización Meladura. Variable de control :pH*

REQUISITO DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITOS DE SALIDA
Meladura sulfitada pH : 5.91 – 6.1	Aumentar el pH por la adición de una lechada de cal para disminuir la inversión, también actúa como floculante formando principalmente fosfato tricálcico	Meladura alcalinizada: PH :6.7-7.4

Aumento del pH por la adición de una lechada de cal para disminuir la inversión, también actúa como floculante formado principalmente por fosfato tricálcico.

Esta operación tiene los mismos objetivos y se realiza con el mismo tipo de cal que la alcalinización de jugo. La mezcla Cal-meladura se hace en un mezclador estático. Se debe aplicar ácido fosfórico para conseguir mínimo 80 ppm en la meladura sin clarificar y se aplica tensoactivo para mejorar la ascensión de los flóculos.

### ■ Aireación dinámica

Después de alcalinizada, la meladura se introduce a un aireador vertical o dinámico, el cual es un tanque cilíndrico provisto de un eje hueco conectado a un disco distribuidor. El eje es movido por un motor eléctrico, de 3.6 HP, y por él circula aire que es inyectado a la meladura, a la vez que el vértice creado por el movimiento mezcla la meladura.

- **Calentamiento**

Los objetivos del calentamiento son liberar el exceso de aire en la meladura por disminución de la solubilidad y reducir la viscosidad de la meladura. En el calentamiento la temperatura de la meladura es elevada hasta (80 – 85)°C. Esta temperatura permite disminuir la viscosidad para mantenerla por debajo de 10 centipoises sin que exista un incremento de color. Para el calentamiento se usa un calentador de meladura (Intercambiador de coraza y tubos), que usa vapor escape para realizar el calentamiento, aumentando así la remoción de coloides por coagulación.

- **Floculación**

El floculante se adiciona para juntar los coágulos y así aumentar su tamaño de modo que puedan ser arrastrados por las burbujas de aire. Este periodo debe cumplirse agitando el material sin que haya un régimen turbulento, por tanto, se debe utilizar un floculador bien diseñado.

- **Clarificación**

► *Tabla 11. Variables de control: temperatura, Brix, pH, Color, Turbiedad*

REQUISITOS DE ENTRADA	CONDICIONES DE PROCESO	REQUISITOS DE SALIDA
Meladura alcalinizada pH : 6.2-7.4 T° 55-60°C COLOR < 10000 uma TURBIEDAD < 2500 uma BRIX 62 – 64°	Se remueve por flotación las impurezas no retenidas en la clarificación del jugo con el propósito de: Reducir la turbiedad. Reducir las pérdidas de sacarosa al disminuir las impurezas que entran a los tachos	Meladura clarificada PH : 5.9-6.7 T° 82-88°C COLOR < 10000 uma TURBIEDAD < 1050 uma BRIX 59-64°

Las operaciones y procesos ejecutados hasta el momento tienen como único objetivo preparar las condiciones para lograr una buena operación de flotación de las impurezas que se encuentran suspendidas.

El clarificador de meladura consta básicamente de un tanque cilíndrico vertical, al cual se le alimenta la meladura por un tubo central que desborda en otro tubo exterior y entra al clarificador por la parte inferior. Los lodos ascienden como espuma y son retirados hacia la periferia con paletas de empuje lateral movidas por un motor de velocidad variable para ser enviadas al tanque de jugo alcalinizado, donde se someten al proceso de purificación de jugo. La meladura

clarificada se extrae por la parte inferior del clarificador a través de una red de tuberías concéntricas perforadas en su parte inferior. El clarificador posee registro de temperatura y un centro de control de motores a fin de centralizar la operación.

Las condiciones óptimas de operación en el clarificador son:

- Temperatura: (80 – 85) °C
- Concentración de sólidos solubles: (60 – 65) °Bx
- Tiempo de residencia: (40 – 50) minutos

### ■ Evaporación

La meladura clarificada se alimenta a un evaporador de simple efecto operado al vacío, llamado Tacho. Una vez adicionada la meladura clarificada, por acción del vacío, se inicia el calentamiento. La función del calentamiento es concentrar el alimento por evaporación de agua hasta alcanzar una concentración de 72 °Bx sin extraer ninguna forma de azúcar.

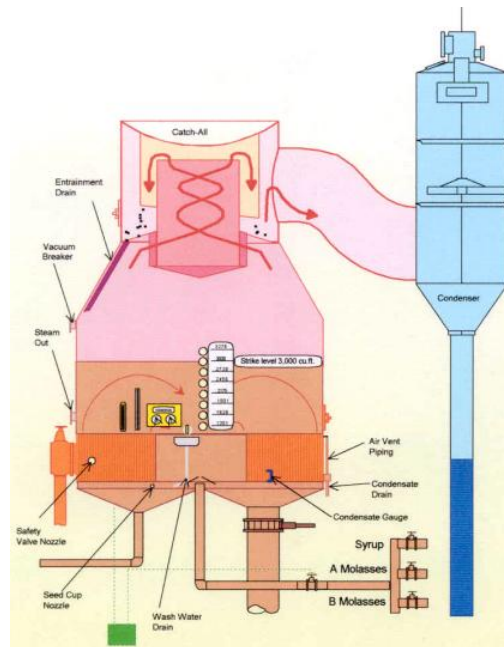


Figura 13. Esquema general de un Tacho

### **4.7.3 EMPAQUE**

La miel especial o virgen, preparada en un tacho a partir de meladura clarificada, es despachada en carrotanques y tiene unas características finales de:

- BRIX (refractométrico) : 62-70 °BX
- SÓLIDOS INSOLUBLES: 1%
- SULFITOS : 150 ppm SO<sub>2</sub>

### **4.8 INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE SACAROSA, GLUCOSA Y FRUCTOSA EN LAS PROPIEDADES DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA<sup>27</sup>.**

La composición de la materia prima es determinante para desarrollar la tecnología del proceso. La caña de azúcar y especialmente la composición de su jugo es sin embargo muy variable, ya que permanentemente se dispone y se efectúa la extracción de diferentes variedades, bajo diferentes condiciones climáticas y del suelo por lo que se debe establecer el máximo de eficiencia y de recuperación de sacarosa, controlando las pérdidas que puedan ocurrir en el proceso que pueden clasificarse en químicas y físicas.

### **4.9 INFLUENCIA DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN EN LAS PROPIEDADES DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA<sup>27</sup>.**

#### **4.9.1 Inversión de la sacarosa**

La sacarosa es bastante estable en medio neutro pH 7.0 y puede soportar ciertos límites de temperatura sin alteraciones apreciables. La alteración que en mayor proporción sufre la sacarosa durante la clarificación del jugo es la inversión, la cual aumenta la acidez, la temperatura y el tiempo de retención. Esta reacción no es reversible y tiene lugar durante la clarificación.

La inversión de la sacarosa aumenta a medida que la temperatura y el tiempo de contacto sean mayores. Estas son bajas a temperaturas de 50–60 °C y considerables a temperaturas mayores de 80°C.

Cuando la cachaza no es eliminada en forma continua y eficiente, esta se fermenta por acción bacteriana produciéndose pérdidas de sacarosa, minimizando así la cantidad en la miel virgen de caña y por consiguiente su calidad. Cualquier

retención o acumulación de cachaza tendrá como consecuencia una acidificación de jugo en los compartimientos inferiores contribuyendo a la reacción de inversión.

Con la acidez normal del jugo que circula en el evaporador, las pérdidas por inversión pueden ser de 0.1%/hora, a 120°C

#### **4.9.2 Descomposición de azúcares reductores**

Cuando la alcalización del jugo es elevada, ocurre la destrucción de azúcares reductores, ya que el exceso de cal descompone la glucosa presente en el jugo, formando ácidos orgánicos que destruirán la sacarosa y en consecuencia habrá un desdoblamiento de esta para alcanzar de nuevo su equilibrio con la fructosa y glucosa.

La alcalización también provoca la formación de sales solubles de calcio que aumentarán las incrustaciones en los evaporadores. Estas sales solubles incrementan la viscosidad de la meladura afectando la evaporación en los tachos y en consecuencia aumentando la cantidad de azúcares reductores y sus pérdidas de azúcar.

La adición excesiva de cal, además produce oscurecimiento de los jugos, aumentando la viscosidad de los productos de baja pureza, así como las cenizas debido a las sales de calcio disueltas, con su consecuente e indeseable aumento de la cantidad de azúcares reductores.

Las altas temperaturas en jugos superiores a 120°C producirán un aumento en la destrucción de azúcares reductores, afectando la calidad de la miel virgen de caña. La caramelización y formación de color es más pronunciada a medida que el vacío aumenta debido a que la temperatura de cocción es mayor, el vacío no debe ser menor de 22 mmHg.

#### **4.9.3 Fermentación espumosa**

Cuando las masas son elaboradas a altas temperaturas, generalmente por encima de 80°C y en alta presencia de azúcares invertidos generalmente ocurre la fermentación espumosa en los cristalizadores. Esta fermentación no se debe a la actividad de bacterias o microorganismos, sino la descomposición de ciertas sales y a la reacción de los azúcares reductores con aminoácidos formación de gas carbónico. Este fenómeno produce destrucción de la sacarosa y pérdidas de azúcar por derrame de la masa cocida en los cristalizadores.

Las pérdidas físicas de sacarosa se producen por los altos niveles de material en la operación normal ocasionando arrastres que contaminan el agua condensada (manejo ambiental) con pérdidas de sacarosa. Existe la posibilidad de arrastre de pequeñas gotitas de jugo o meladura por las rápidas corrientes de los vapores producto de la evaporación. Estas gotitas son muy ligeras y las corrientes de vapor las arrastran fácilmente hacia la calandria del cuerpo siguiente donde contaminarán el agua condensada de ese cuerpo o hacia el condensador del último efecto donde se irán con el agua de enfriamiento. Hay mayor posibilidad de arrastre cuando mayor es el vacío

## **4.10 USOS DE LA MIEL VIRGEN DE CAÑA**

### **4.10.1 Producción de Alcohol**

La producción de alcohol a partir de la Caña de azúcar se ha visto potencializada por el anunciado déficit de petróleo en los próximos años, y ante la iniciativa tomada por el Gobierno Nacional de impulsar una Ley que estimule la producción, comercialización y consumo de alcoholes carburantes [36], procurando como primera medida el aprovechamiento de las Fuentes Alternativas de Energía Renovables y la autosuficiencia energética del país, que aportan mayor sostenibilidad al sector azucarero y a su área de influencia que depende en gran parte de éste, además de nuevas posibilidades al sector agrario en general, ya que puede obtenerse también por fermentación de los azúcares presentes en el sorgo, la yuca, la remolacha, el banano y el maíz, entre otros [37] y el segundo es la preservación del medio ambiente.

- **Proceso de Producción de alcohol**

La producción convencional de etanol en base de caña de azúcar comprende tres etapas: preparación de mostos, fermentación y destilación, con lo que se obtendrán productos finales como alcoholes potables, aguardientes, etc., que tendrán sus propias características de acuerdo a la calidad de la materia prima utilizada y la técnica usada para su destilación.

- **Preparación de Mostos<sup>38</sup>**

Las materias primas vegetales que pueden potencialmente emplearse para producir Alcohol son muy diversas, aunque genéricamente se incluyen

preferencialmente aquellas ricas en Hidratos de Carbono, las cuales pueden agruparse en dos categorías desde el punto de vista de la fermentación:

- a) Directamente Fermentables
- b) Indirectamente Fermentables

De acuerdo con esas categorías, las primeras (Directamente Fermentables) no requieren de transformación previa en Hidratos de Carbono, como acontece con la Sacarosa, la Glucosa y la Fructuosa. En el caso de las fuentes Indirectamente Fermentables sí es necesario realizar la conversión previa en Carbohidratos, para someterlas luego a Fermentación con el objeto de que puedan ser asimiladas por la Levadura Alcohólica, tal es el caso de los Almidones y la Celulosa.

Las principales fuentes de Carbohidratos de acuerdo con esos criterios son:

▶ **Directamente Fermentables** Sacarino (tallos)

**Glucosa:** Pulpa de Frutas

**Fructuosa:** Pulpa de Frutas

**Sacarosa:** Caña de Azúcar, Remolacha Azucarera, Sorgo

▶ **Indirectamente Fermentables**

**Almidón:** Yuca, Maíz, Camote, Papa, Granos de Cereales, Tubérculos, Bananos

**Celulosa:** Madera, Bagazo y Paja de Caña, Cáscaras de Maní, Tusa de Maíz, Paja de Arroz, Palma.

Aunque todas esas fuentes de Carbohidratos puedan ser Fermentadas, la caña de azúcar como materia prima posee alta concentración de azúcares directamente fermentables, y presenta alta productividad agrícola (tonelada/ha), rendimientos de Alcohol y rentabilidad (costo/litro), dando mayor rendimiento que las otras materias primas [37], considerando la solidez, el desarrollo y tecnificación de la industria azucarera del país.

- **Fermentación**

A partir de la caña de azúcar se extrae la melaza, que contiene entre 35% y 40% de azúcares, para luego ser diluida y combinada con levaduras las cuales actúan sobre los azúcares fermentables, por medio de reacciones bioquímicas que los transforman en alcohol etílico y otros productos derivados de la fermentación, Según la reacción:

Fermentación anaerobia



Con la fermentación de dicha solución se genera dióxido de carbono y licor fermentado, este último que sólo contiene 10% de alcohol se somete a una serie de destilaciones con el fin de obtener un alcohol de mayor pureza.

- **Destilación y deshidratación<sup>36</sup>**

Es un proceso físico por medio del cual se separa el alcohol etílico del agua y las impurezas disueltas. El jugo proveniente de la etapa de fermentación, con 8 % de etanol, es bombeado a las destiladoras a través de una serie de intercambiadores de calor que permiten llevarlo hasta 93°C aproximadamente, pasando luego a la sección de despojo, que no es más que una columna que permite remover las sustancias que no fermentaron, el agua y además el escape del dióxido de carbono. El vapor de agua junto con el etanol salen por la parte superior de la columna, mientras que la vinaza (líquidos y sólidos residuales) salen por la parte inferior. El proceso de fermentado dura entre 12 a 16 horas para producir alcohol de 8°.

Tabla 12. Principales clases de Alcoholes

<b>Principales clases de Alcoholes</b>		
<b>Alcohol Hidratado</b>	Alcohol Neutro 96°-97° GL	En su proceso de rectificación, ha alcanzado una graduación alcohólica entre 96° y 97°Gay Lussac. Se utiliza en la elaboración de licores, así como en aplicaciones químicas, biológicas y farmacológicas.
	Alcohol Desnaturalizado 90° GL	Es desagradable para la digestión y no puede separarse fácilmente por medios físicos y químicos. Se utiliza en la industria como disolvente.
	Alcohol Impuro 70° - 90° GL	Se utiliza en la preparación de lociones y disolventes suaves.
<b>Alcohol Deshidratado</b>	Alcohol Anhidro	También llamado Alcohol Deshidratado. Es aquel que mediante la acción de agentes deshidratantes alcanza una graduación mínima de 99,5 grados.



- **Tratamientos de la vinaza.** El tratamiento de la vinaza se lleva a cabo en un biorreactor anaeróbico, seguido de un tratamiento aeróbico para su disposición final como abono biológico utilizado en los plantíos de caña de azúcar.

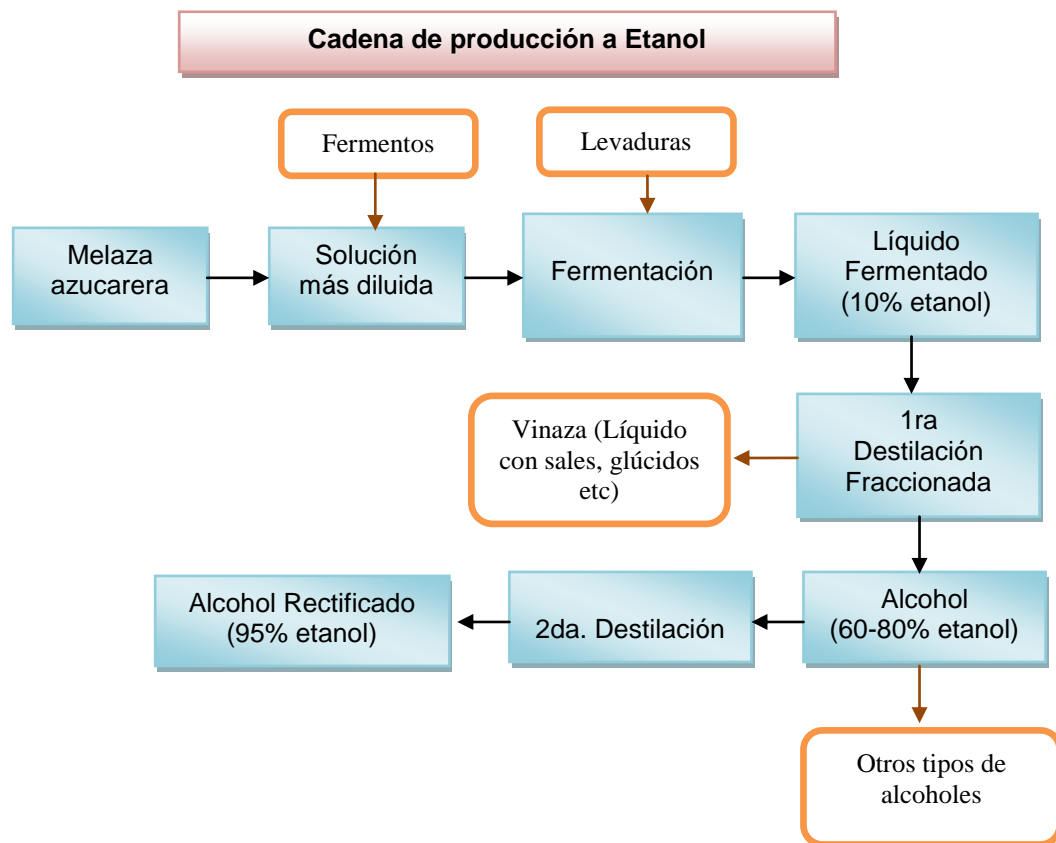


Fig. 14 Esquema de la producción de etanol a partir de la caña azúcar.

#### 4.10.2 Producción de Levaduras para Panificación<sup>38</sup>

La producción de levaduras para panificación se basa en el proceso de fermentación catalizada por un microorganismo llamado *Saccharomyces Cerevisiae*, al cual se le proporcionan las condiciones adecuadas para su óptimo crecimiento y reproducción aumentando su población.

La levadura debe cumplir con las exigencias para la panificación. La función fundamental que debe cumplir es levar las masas preparadas con harina, es decir, producir CO<sub>2</sub> gaseoso que es atrapado por la estructura del almidón aumentando el volumen de la masa por efecto de la porosidad resultante y de condiciones como temperatura, alimento e hidratación y conservar esas cualidades durante un tiempo adecuado.

Las propiedades fundamentales relacionadas con la producción, que resultan en un crecimiento rápido y altos rendimientos a partir de la miel virgen de caña, miel final subproducto de la elaboración de azúcar o melaza de remolacha son el mantenimiento de las propiedades de panificación exigidas, como son el poder fermentativo y la estabilidad del producto.

De las fuentes de carbono y energía que pueden emplear el *Saccharomyces cerevisiae* figuran en primer lugar la glucosa y la sacarosa que son los constituyentes principales de la melazas, aunque también pueden emplearse fructuosa, galactosa, maltosa y suero hidrolizado. También etanol como fuente de carbono.

- **Requerimientos nutricionales.**

Aparte de carbono y el nitrógeno los macroelementos indispensables son el fósforo, el Magnesio como sulfato de magnesio, que también provee S. Finalmente son también necesarios el Ca, Fe, Cu y Zn como elementos menores. Por ejemplo, se ha establecido que *S. cerevisiae* requiere 200 µg de Zn, 75 µg de Fe y 12-15 µg de Cu por litro de medio para crecimiento óptimo. Un requerimiento esencial está constituido por las vitaminas del grupo B como Biotina, ácido pantoténico, inositol, tiamina, pyridoxina y niacina.

- **Producción comercial de levadura prensada**

La producción comercial de levadura de panificación es llevada a cabo en un proceso a múltiple etapa, de las cuales las primeras se realizan en batch, y las últimas en batch alimentado. Como aspectos esenciales de la producción comercial, se deben considerar el medio, el proceso de producción y las etapas de separación, lavado y empaquetado.

- **Medio de producción**

Como ya se mencionó la materia prima elemental de elección es la melaza de remolacha o de caña o ambas en conjunto, cuando se las dispone. Los aspectos fundamentales a considerar son la disponibilidad y la composición nutricional de la melaza incluyendo la presencia de inhibidores o sustancias extrañas que pueden contener porque estos harán parte de la dieta de la cepa.

La sacarosa es el azúcar predominante en ambas melazas. La materia orgánica (diferente a azúcares) en la melaza de caña está compuesta fundamentalmente por gomas solubles y ácidos orgánicos sobre todo aconítico y compuestos nitrogenados. En el caso de la melaza de remolacha los no azúcares están constituidos por un mayor porcentaje de compuestos nitrogenados como betaína y ácido glutámico y algunos ácidos orgánicos como láctico, málico, acético y oxálico. En las cenizas predomina en ambas melazas el Potasio, teniendo mayor porcentaje de fósforo la melaza de caña que la de remolacha.

Es interesante comparar el contenido de las vitaminas de ambas melazas por la importancia que tienen estos compuestos en la producción de levadura por ser el contenido. Como puede verse el contenido de biotina es superior en la melaza de caña, y el de pantotenato de Calcio en la remolacha. La melaza de remolacha tiene mayor cantidad de compuestos nitrogenados asimilables. Es por ello que los fabricantes prefieren, si tienen disponibilidad suficiente, utilizar mezclas de ambas melazas.

La melaza es deficiente en algunos macroelementos como Nitrógeno, Fosforo, Azufre, Mg, y también Zn en la mayoría de los casos, por lo cual es necesario su agregado a los mostos. La cantidad de nitrógeno y fósforo a ser agregado depende de las prácticas comerciales. El nitrógeno puede representar entre el 6.5 y el 10% de la levadura seca y el P expresado como  $P_2O_5$  varía entre 1.5 y 3.5%. Ambos valores, sobre todo el contenido de nitrógeno, está relacionado con el poder fermentativo y la estabilidad de la levadura en el almacenamiento. El nitrógeno que se suministra generalmente como agua amoniacal y el P como ácido fosfórico, son alimentados durante el proceso de acuerdo a programas de alimentación que dependen de las prácticas comerciales. El Mg, S, y Zn son incorporados en forma de sulfatos. El  $MgSO_4$  se suele incorporar a razón de 1 g de la sal heptahidratada y el Zn en una proporción de 10 mg del sulfato tetrahidratado por Kg de melaza a fermentar.

Si se utiliza melaza de remolacha es indispensable agregar biotina, lo que se hace adicionando la droga pura o preferentemente, como es más económica, en forma de destiobiotina. Es a menudo indispensable agregar tiamina y ácido pantoténico.

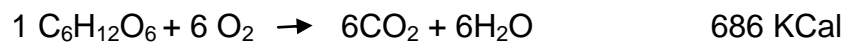
Con respecto a componentes extraños (que pueden afectar el rendimiento) se han detectado en las melazas algunos pesticidas en cantidades variables en melazas de caña.

Las melazas se utilizan generalmente diluidas al 50%. Como los compuestos coloidales de la melaza de caña pueden causar problemas en las varias etapas del proceso de fermentación, el mosto es casi siempre clarificado. La clarificación puede hacerse antes o después de la esterilización, que se realiza en la última etapa por inyección de vapor directa, a la presión atmosférica en la mayor parte de los casos. La clarificación se realiza fundamentalmente con la ayuda de centrífugas intermitentes.

Se han mencionado como ventajas de utilizar mostos clarificados que la levadura es más fácil para prensar y secar y que además, la clarificación probablemente facilita la transferencia de O<sub>2</sub> y reduce la formación de espuma.

- **Fermentación**

La primera etapa de la producción de la levadura consiste en el crecimiento o propagación del cultivo puro de células de levadura en una serie de reactores de fermentación. Estos fermentadores son operados bajo condiciones anaeróbicas (en presencia de oxígeno libre o exceso de aire). La reacción del crecimiento aerobio para la Levadura:



Este proceso al ser exotérmico, implica enfriar el fermentador para mantener la temperatura bajo 30°C, mediante agua de refrigeración, consiguiendo la temperatura óptima de crecimiento. La levadura es recuperada del último fermentador utilizando un separador centrífugo para concentrarla.

- **Separación y lavado**

La levadura es sometida por un tiempo de treinta minutos a una mezcla de salmuera para mejorar la deshidratación, posteriormente se realizan uno o más lavados y pasa a otro separador centrífugo donde se lava con agua helada para retirar la sal, haciendo más eficiente la deshidratación.

- **Empaque**

La levadura sólida es entonces filtrada al vacío o por medio de filtros prensa para obtener una mayor concentración, y se mezcla con pequeñas cantidades de agua

emulsificantes y aceites. A la levadura mezclada pasa a extrusión corte y embalaje o secado si se trata de levadura seca.

#### 4.10.3 Las Mieles para Consumo Humano<sup>27</sup>

Las mieles están siendo recomendadas por los expertos en nutrición y dietética, para enriquecer la dieta humana, por ser muy ricas en hierro, calcio, aminoácidos y calorías, como lo demuestran los análisis dados a conocer en publicaciones especializadas. Las mieles finales de la caña de azúcar constituyen un valioso alimento que no goza de la popularidad que merece. El producto es rico en Vitamina B6 y otras muchas vitaminas del grupo B, y es de tal valor alimenticio que no debería faltar en ninguna mesa para ingerirla en cada comida. Las mieles están catalogadas como la más rica fuente natural de ácido pantoténico, que estimula el crecimiento; de ácido fólico, necesario para conservar el color del cabello, y de initol, que estimula el crecimiento de este último.

**Tabla 13. Composición media de la melaza de caña**

Materia seca	75 %
Azúcares totales	48 – 56 %
Materia orgánica no azúcares	9 – 12 %
Cenizas Sulfatadas	10 – 15 %
Vitaminas mg/Kg miel virgen	
Biotina	1.2 – 3.2
Ácido fólico	0.04
Inositol	6000
Pantetónato de Calcio	54 – 64
Piridoxina	2.6 – 5.0
Riboflavina	2.5
Tiamina	1.8
Ácido nicotínico	30 – 800
Colina	600 – 800

## 5. MÉTODOS ANALÍTICOS

### 5.1 METODO DE LANE Y EYNON

En soluciones alcalinas, la sacarosa, la glucosa, la fructosa y otros azúcares reductores tienen la propiedad de oxidarse a sus respectivos ácidos carboxílicos, reduciendo el cobre en estado cúprico ( $\text{Cu}^{2+}$ ) a óxido cuproso ( $\text{Cu}^{+}$ ). El método volumétrico de Lane y Eynon calcula el volumen de una solución de prueba que se requiere para precipitar todo el cobre presente en una cierta cantidad de solución de Fehling de concentración conocida [24].

La oxidación puede ocurrir igualmente en ambiente básico que en ambiente ácido. Una blanda oxidación de la aldosa produce el correspondiente ácido carboxílico llamado *ácido glucónico*, una oxidación muy enérgica produce el ácido dicarboxílico llamado *ácido glucárico* [25].

El Reactivo de Fehling opera la oxidación alcalina de aldosas y de cetosas que van a transformarse en ácido glucónico. Está compuesto de dos soluciones A y B que deben mezclarse al momento de su uso. La solución A contiene  $\text{CuSO}_4$ . La solución B contiene tartrato de sodio en  $\text{NaOH}$ . El tartrato tiene la función de acomplejar al  $\text{Cu}^{2+}$  produciendo coloración azul. La especie oxidante es el  $\text{Cu}^{2+}$  que se reduce a  $\text{Cu}^+$  precipitando como óxido de cobre  $\text{Cu}_2\text{O}$  rojo. La oxidación total de los monosacáridos tiene lugar por la intercepción de la forma de cadena abierta presente en el equilibrio hemiacetal del aldehído-cetona, aunque en cualquier momento sólo hay una cantidad pequeña de la forma de la cadena abierta, esa cantidad se reduce y continúa hasta que toda la muestra ha experimentado la reacción [24].

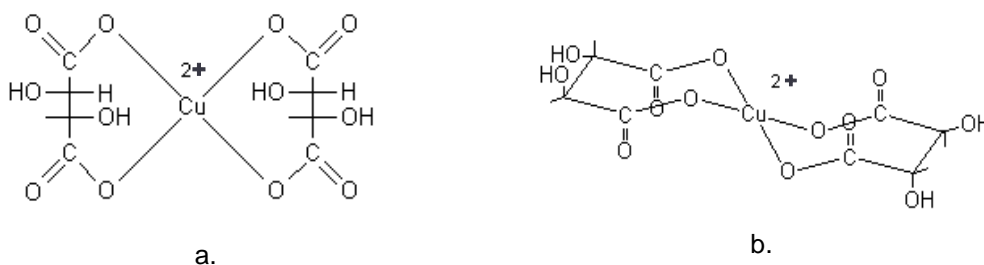


Fig 15. Complejo  $[\text{Cu}(\text{II})(\text{tartrato})_2]$  a. Compuesto de coordinación Planar cuadrado.  
b. Proyección espacial

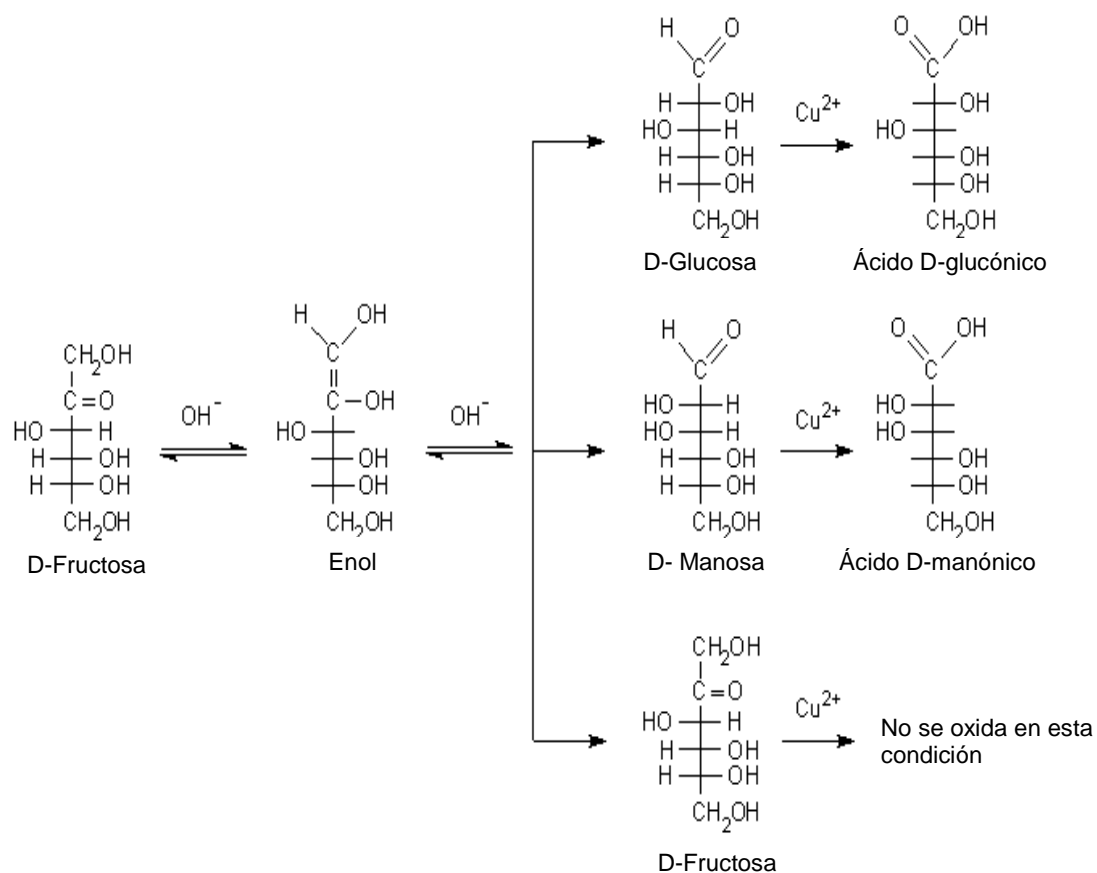


Fig 16. Mecanismo de reacción de la Fructosa con el reactivo de Fehling.

En condiciones especificadas, la cantidad de cobre reducido está en proporción con la cantidad de azúcares reductores presentes. Los métodos de reducción del cobre para determinar la cantidad de azúcares reductores no son estequiométricos, la cantidad de cobre reducido depende de las condiciones de la medición. Por esta razón, en todos los métodos de reducción del cobre deberán cumplir exactamente las condiciones analíticas [23].

## 5.2 POLARIMETRÍA

La Polarimetría es un método de análisis ampliamente utilizado que relaciona la propiedad óptica en la que el plano de un rayo de luz linealmente polarizado rota durante su transmisión, a través de un medio transparente homogéneo que contiene una especie ópticamente activa.

### 5.2.1 La luz polarizada<sup>20</sup>

La luz corriente, tal como la luz solar o cualquier luz procedente de una fuente de radiación está formado por ondas electromagnéticas que oscilan en una cantidad infinita de en todas las direcciones que forman ángulo recto con la dirección de propagación del rayo de luz [23]. Sin embargo cuando un haz de luz pasa por un dispositivo óptico llamado polarizador sólo atraviesan las ondas luminosas que vibren en un solo plano. Cuando esto ocurre se dice que la luz está *polarizada* o más específicamente *polarizada en un plano*, y el plano que vibra se llama el *plano de polarización*.

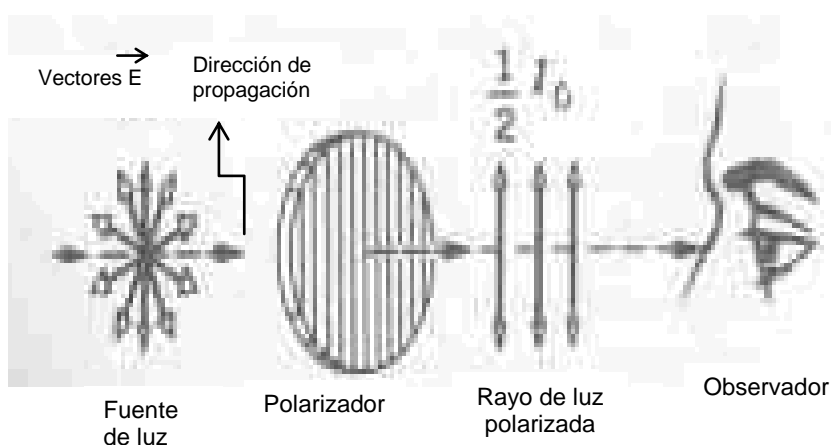


Fig 17. Polarización de la luz

### 5.2.2 Actividad óptica<sup>24</sup>

Es la propiedad relacionada con el fenómeno observado cuando un haz de luz polarizada en un plano atraviesa una solución de ciertas moléculas orgánicas, girando el plano de polarización. Los compuestos que presentan este comportamiento se llaman ópticamente activos.

La actividad óptica es una consecuencia directa de la estereoquímica tetraédrica del carbono con hibridación  $sp^3$  con cuatro grupos sustituyentes distintos,



convirtiéndose en la causa más común, a estos átomos se les suele denominar centros de quiralidad. Una molécula de este tipo no tiene plano de simetría que la atraviese de tal manera que sus mitades sean la imagen especular de la otra.

Los compuestos que presentan esos centros de quiralidad existen como un par de estereoisómeros no superponibles y se les denominan enantiómeros.

Los enantiómeros son idénticos en todas sus propiedades físicas, excepto en la dirección en que hacen girar el plano de polarización de la luz, clasificándolos en dextrógiros (+) o que giran el plano de polarización a la derecha en sentido de las manecillas del reloj o levógiros (-), hacia la izquierda o en sentido contrario a las manecillas del reloj.

Las mezclas racémicas, como las soluciones de azúcares puros son mezclas de enantiómeros (+) y (-) que se encuentran en equilibrio en proporciones según su estabilidad y tienen propiedades físicas distintas que los enantiómeros individuales y estas tienen propiedades físicas distintas como solubilidad, puntos de fusión y ebullición, siendo la dirección del plano de luz de la mezcla la resultante de la diferencia entre la rotación específica de cada uno.

### 5.2.3 Polarización de la luz<sup>23</sup>

En toda fase luminosa están asociados los campos eléctricos y magnéticos en función del tiempo que vibran perpendicularmente entre sí y que son perpendiculares a la dirección de propagación de los rayos luminosos.

Después de hacer pasar un rayo monocromático por un polarizador, el haz de luz monocromática polarizada rectilíneamente se asocia con un campo eléctrico  $E$  que oscila sinusoidalmente en una dirección determinada del espacio.

El vector del campo eléctrico varía de 0 a  $+E$  y de 0 a  $-E$  en función del tiempo. El eje  $X$  se escoge como dirección de la vibración, el vector de la variable  $E$  se considera como la resultante de dos vectores equidistantes correspondientes a los componentes de el campo eléctrico  $E$  y el campo magnético  $M$  que oscilan circularmente a la derecha y a la izquierda como se muestra en la figura siguiente:

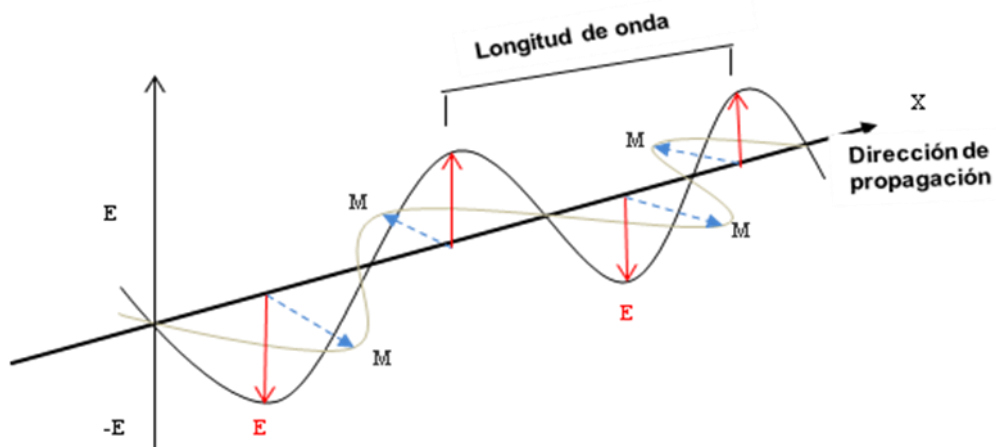


Fig. 18 Luz Polarizada: vector resultante de vectores de el campo eléctrico y magnético

Las condiciones estereoquímicas que debe satisfacer un compuesto que presente actividad óptica corresponden a condiciones de simetría que permiten un estado de transición electrónica, cuyos momentos eléctricos y magnéticos tengan una dirección determinada. Se admite generalmente que el poder rotatorio se puede interpretar por la teoría de los pares oscilatorios y por la teoría de la polaridad, según las cuales el momento eléctrico y magnético están asociados a la actividad óptica resultante de vibraciones electrónicas no paralelas en los diferentes agrupamientos de una molécula dada. La teoría mecano-cuántica atribuye la actividad óptica de una molécula a los movimientos electrónicos (eléctricos y magnéticos) de transiciones paralelas y antiparalelas.

Puesto que la sacarosa hace rotar el plano de polarización en el sentido de las manecillas del reloj, se le denomina azúcar dextrorrotatorio o dextrogiro, la glucosa o dextrosa también desvía el plano de luz hacia la derecha. La fructosa o levulosa hace girar el plano de polarización hacia la izquierda por lo que se dice que es un azúcar levorrotatorio o levógiro. El cuarzo es de dos clases, levo y dextrorrotatorio, y se usa en la Polarimetría de azúcares para compensar la rotación causada por la solución azucarada [23].

### 5.2.4 Capacidad rotatoria específica<sup>20</sup>

La capacidad de hacer girar el plano de polarización es una propiedad intrínseca de una molécula ópticamente activa que difiere en las sustancias puras o sus soluciones. La relación que expresa esta capacidad se le denomina rotación específica o capacidad rotatoria específica ( $\alpha$ ), y está dado por la ecuación:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = 100 \alpha / CL = 100 \alpha / BDL$$

Donde:

- i. = rotación media (grados)
- C = concentración del azúcar (g/100 ml de solución)
- B = Brix de la solución (g azúcar/ g de solución)
- D = densidad de la solución (g azúcar/ ml de solución)
- L = longitud de la celda
- T = temperatura
- $\lambda$  = Longitud de onda

Puesto que la rotación específica depende de la longitud de onda de la luz empleada y de la temperatura a la cual se mide, estas variables deben especificarse. La línea amarilla de la luz del sodio, conocida como línea **D** (589 nm) es la luz usada frecuentemente a la temperatura estándar de 20 °C, la rotación específica en estas condiciones se denota como  $[\alpha]_D^{20}$ .

### 5.2.5 Medición del ángulo de rotación.

Se puede medir la cantidad de rotación específica con un instrumento óptico llamado Polarímetro.

Una solución de moléculas orgánicas con actividad óptica se coloca en un tubo de muestra, un haz de luz polarizada atraviesa el tubo y se origina la rotación del plano de polarización. Si se ubica un segundo dispositivo polarizador y se hace girar hasta determinar el nuevo plano de polarización se podrá decir hasta que grado se ha producido la rotación permitiendo sí medir el ángulo de rotación específica.

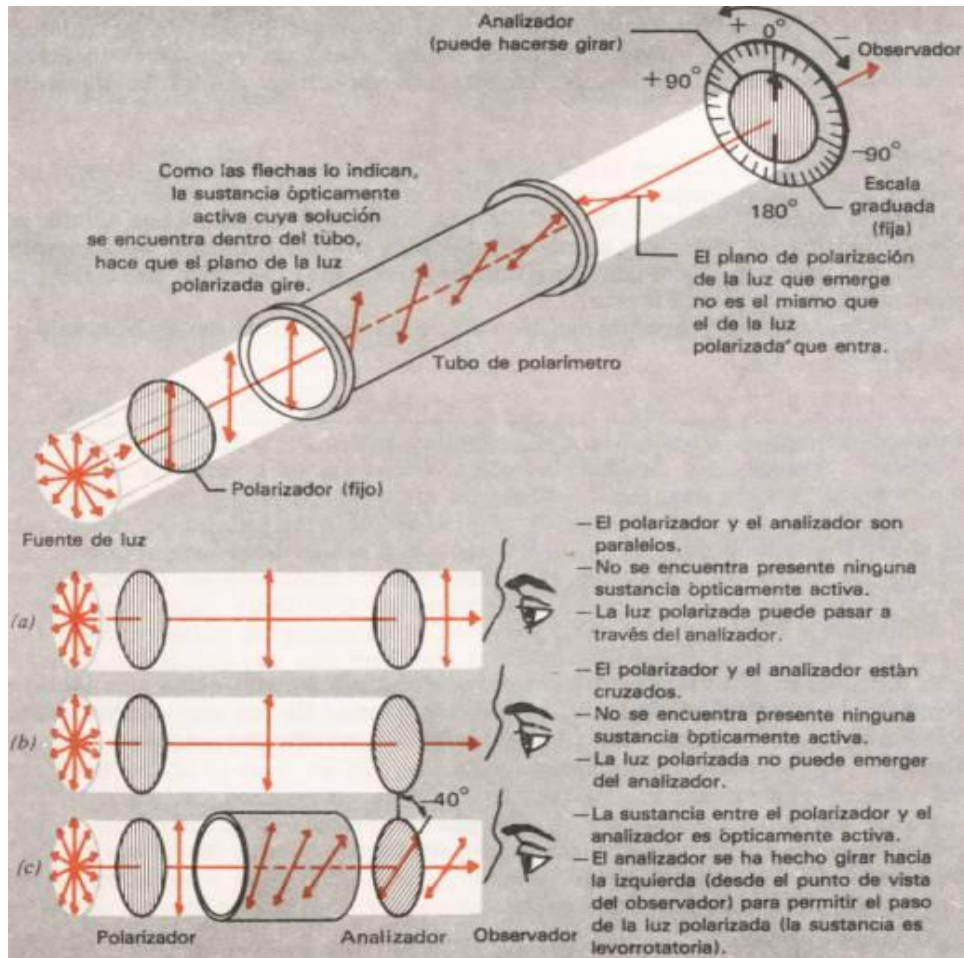


Fig 19. Principio de polarización de la luz del Polarímetro

La cantidad de rotación que se observa en la Polarimetría depende de la cantidad de moléculas ópticamente activas en solución, la longitud de onda de la luz y la temperatura. Si se tiene la longitud constante de una celda y la longitud de onda de la luz, la temperatura, el peso y el volumen y la fuente de luz son estándar, la rotación se vuelve una función de la concentración del azúcar en la muestra. Al medir la rotación en estas condiciones constantes se determina la concentración del azúcar presente siendo esta medida proporcional a la concentración del analito en la solución. La rotación específica es una medida precisa de concentración de sacarosa en la muestra, al no estar presentes otras sustancias ópticamente activas [9].

### 5.2.6 Sacarímetro<sup>20</sup>

Anteriormente, un sacarímetro se consideraba un polarímetro graduado, no en grados angulares pero sí en concentración relativa de azúcar o en grados de azúcar °S sin embargo, algunos polarímetros hoy en día tienen ambas escalas y los polarímetros modernos automatizados se pueden arreglar para mostrar la rotación en cualquier unidad escogida

Por tanto parece mejor describir un polarímetro con una escala de azúcar, únicamente como un polarímetro de azúcar y confinar el término sacarímetro a un instrumento que por virtud de su principio de operación deberá usarse únicamente con soluciones de sacarosa

Las condiciones para la aplicación de la polarimetría de azúcar están fijadas por la Escala de Azúcar Internacional, donde el punto 100 de la escala está definido por la rotación de la luz polarizada de una longitud de onda de 543.23 nm, a través de una "Solución Normal de Azúcar" (26.000 gramos de sacarosa pura pesada bajo condiciones atmosféricas normales y disuelta en un volumen de 100.00 cm<sup>3</sup> con agua destilada, a 20°C) en un tubo de 200mm [9].

El punto 100 de la escala está dividida linealmente entre 0°S (agua pura) y 100°S. Para polarimetría práctica son permisibles longitudes de onda de 540 y 590 nm para fijar el punto 100 [9].

### 5.3 REFRACTOMETRÍA<sup>35</sup>

Cuando se hace pasar radiación a través de un medio transparente, ocurre una interacción entre el campo eléctrico de la radiación y los electrones de las sustancias del medio, en consecuencia la velocidad se hace menor que en el vacío.

Esta velocidad depende de la clase y de la concentración de átomos iones o moléculas en el medio. La radiación interacciona de algún modo con la materia. Puesto que no se encuentra un cambio en la frecuencia, esta interacción no involucra un cambio permanente de energía.

La interacción involucrada en el proceso de transmisión se debe al campo eléctrico alternante de la radiación y hace que los electrones unidos a las partículas contenidas en el medio oscilen con respecto al núcleo, ocurriendo la polarización periódica de las partículas, ocasionando una retención momentánea de la energía (entre 1 y 10 femtosegundos) por las especies y es re-emitida sin alteración cuando la sustancia regresa a su estado original [16].

El índice de refracción de un medio es una medida de esta interacción con la radiación. Y se define por

$$n_i = c / v_i$$

Donde  $n_i$  = índice de refracción a una frecuencia dada  $i$

$V_i$  = es la velocidad de la radiación en el medio

$C$  = es la velocidad de la luz en el vacío constante =  $3 \times 10^8$  m/s

El índice de refracción de la mayoría de líquidos está en el rango entre 1.3 y 1.8; entre y entre 1.3 y 2.5 para sólidos.

### 5.3.1 Medición del índice de refracción

Si un rayo de luz polarizada que se propaga a través de un medio homogéneo incide sobre la superficie de un segundo medio homogéneo de densidad diferente, parte de la luz es reflejada y parte se desvía o se refracta en el segundo medio.

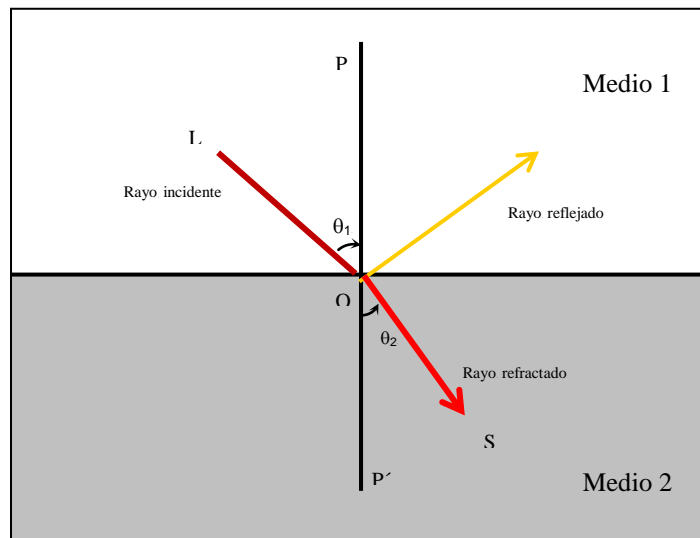


Fig 20. Medición del ángulo de Refracción y reflexión de la luz

La cantidad que se desvía de luz es proporcional a la velocidad de la luz en los dos medios. La medida de la cantidad que se desvía la luz se conoce como el índice de refracción  $n$  y es la relación entre el ángulo de incidencia  $LOP$  y el ángulo de refracción  $SOP'$  dado por la ley de Snell:

$$\text{Sen } \theta_1 / \text{Sen } \theta_2 = n_1 / n_2 = v_1 / v_2$$

$n_{\text{vac}}$  es el índice de refracción absoluto de  $M_2$ , y se puede obtener midiendo los dos ángulos  $\theta_1$  y  $\theta_2$ .

Es más conveniente medir el índice de refracción en un medio diferente al vacío y el aire se emplea comúnmente para este propósito. La mayoría de compilaciones para índice de refracción en líquidos y sólidos en la literatura están referidas al aire a temperatura y presión de laboratorio. Afortunadamente el cambio en el índice de refracción del aire con respecto a la temperatura y presión es muy pequeño, solo es necesaria una corrección para trabajo de alta precisión [23].

En general, el índice de refracción de una sustancia transparente más densa es mayor que el de un material menos denso, es decir, la velocidad de la luz es menor en la sustancia de mayor densidad por ello es aplicable a todo tipo de ondas atravesando una superficie de separación entre dos medios en los que la velocidad de propagación de la onda varíe. Por tanto, si un rayo incide de forma oblicua sobre un medio con un índice de refracción mayor, se desviará hacia la normal, mientras que si incide sobre un medio con un índice de refracción menor, se desviará alejándose de ella.

El índice de refracción varía con la temperatura por cambio en la densidad, la longitud de onda de la luz por cambio de la frecuencia y en el caso de las soluciones de sacarosa con la cantidad de sólidos disueltos. El índice de refracción del agua usando el aire como patrón con luz de sodio a 20 °C se expresa como  $n_D^{20} = 1.3329$  mientras que una solución de sacarosa al 20% es de 1.36383. Es evidente pues, que el índice de refracción de una solución de sacarosa es índice de su contenido de sacarosa, e igual que el grado Brix se ha usado por su conveniencia, para indicar la presencia de sólidos diferentes a sacarosa en solución, también se usan las lecturas de refractómetro (que por conveniencia se han denominado Brix refractométrico) como índice de los sólidos presentes en soluciones impuras [20].

Los investigadores Tolman y Smith indicaron que la mayoría de los azúcares en soluciones de la misma composición por porcentaje tienen los mismos índices de refracción; Main fue el primero que utilizó el refractómetro para trabajo en refineries; encontró que el índice de refracción indica precisamente el contenido de materia sólida en todos los productos excepto los de muy baja pureza. Los investigadores citados y también Schönrock y Landt construyeron tablas que dan la relación entre los índices refractivos y los porcentajes de sacarosa [20].

Para aplicaciones prácticas con soluciones de alta pureza, el refractómetro no queda afectado más que por los sólidos en solución, por lo tanto, si el material que se examina contiene materia insoluble, ésta no queda incluida en el cálculo de sólidos. Dentro de sus limitaciones, es decir, en materiales que no contienen más que sólidos solubles y dan indicaciones precisas del contenido de no-azúcares, el refractómetro es capaz de dar indicaciones precisas del contenido de sólidos, indicaciones que suelen ser muy aproximadas a las que se obtienen por

deseccación. Con materiales de baja pureza tales como melaza, la materia insoluble sí afecta la lectura del refractómetro. El refractómetro se comenzó a usar para el control rutinario de proceso después de la introducción de los refractómetros de precisión [23].

#### **5.4 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN**

La HPLC (High Performance Liquid Chromatography) o Cromatografía líquida de alta resolución, es una técnica cromatográfica usada para separar componentes de una muestra que se fraccionan entre una fase móvil líquida y una fase estacionaria sólida compuesta por partículas muy finas contenidas en una columna, y donde se utiliza una presión muy elevada para forzar el paso del disolvente a través de ella, consiguiendo así separaciones de gran resolución, permitiendo su identificación y cuantificación.

La muestra se introduce en pequeños volúmenes a la corriente de la fase móvil bombeada con alta presión a una columna rellena de fase estacionaria y allí el analito se retarda separándose por medio de interacciones químicas con la fase estacionaria mientras atraviesa la columna. El retardo se conoce como tiempo de retención, único para cada analito. Depende de la naturaleza del analito, de la fase estacionaria y de la composición de la fase móvil.

La HPLC permite muy buenas separaciones e identificaciones de sustancias o grupos de sustancias en un tiempo corto, tanto cualitativa como cuantitativamente. Como condición, es imprescindible que la muestra sea soluble en un disolvente al ser la fase móvil un líquido. La cromatografía líquida de alta resolución tiene ventajas en el análisis de los azúcares debido a su gran solubilidad en agua y su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles [29]. Es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada debido a sus cualidades de sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su gran adaptabilidad a sustancias que son de gran interés para la industria, la ciencia y la sociedad, incluyendo sustancias tan diversas como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenos, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y una gran variedad de sustancias inorgánicas [29].

Esta técnica al derivarse de una optimización de la cromatografía en columna para el análisis de sacarosa, glucosa y fructosa por el método contemplado en el ICUMSA [20] utiliza una columna *Sugar-Pak* que combina los métodos cromatográficos de intercambio iónico y de exclusión por tamaño.

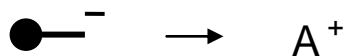


### 5.4.1 Teorías relacionadas con la separación cromatográfica de azúcares

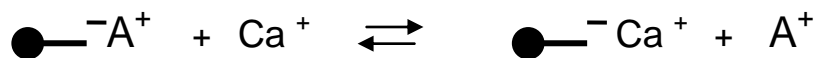
- **Teoría de intercambio iónico<sup>31</sup>**

La cromatografía de intercambio iónico esta basada en adsorción reversible de moléculas de soluto cargadas por atracción electrostática y puntos de intercambio iónico de carga opuesta inmobilizadas en la fase estacionaria. Se aplica a la separación de casi todos los tipos de moléculas cargadas. La molécula de interés es separada con base en su diferencia de carga.

El intercambio iónico al igual que cualquier proceso iónico es un equilibrio. La molécula de azúcar cargada se une al intercambiador iónico cuando presenta una carga neta opuesta a la del intercambiador mediante fuerzas de atracción. La unión es electrostática y reversible.



La molécula unida al intercambiador puede ser rápidamente reemplazada por otro ión



La separación se alcanza cuando existen sustancias con diferente grado de interacción con el intercambiador debido a sus diferencias de carga y densidades de carga.

Un intercambiador iónico consta de una matriz porosa insoluble a la cual se le unen en forma covalente grupos cargados: estos grupos cargados se encuentran asociados con contraiones móviles. Como casi todas las matrices utilizadas en cromatografía de intercambio son porosas, las moléculas suficientemente pequeñas como para entrar en los poros serán retenidas por la fase estacionaria, logrando realizar el intercambio de iones. El relleno del intercambiador al combinar la forma esférica con la alta porosidad lleva a obtener mejores propiedades de flujo.

El tipo de grupo funcional unido a la estructura de la resina determina el tipo y la fuerza del intercambiador iónico. La columna Sugar-PAK esta rellena con una resina catiónica fuerte, es decir, que el intercambiador está cargado negativamente por que los grupos funcionales fijos a las esferas son derivados de un ácido fuerte  $\text{R-SO}_3^-$  (sulfónico) donde la letra R representa la red orgánica de la resina y tiene contraiones positivos (cationes  $\text{Ca}^+$ ) disponibles para intercambiar y por lo tanto se conocen como intercambiadores catiónicos[32]. Estos contraiones

pueden ser intercambiados en forma reversible con otros iones de la misma carga sin alterar la estructura de la matriz.

- **Teoría de la exclusión por tamaño**

La teoría de la cromatografía de exclusión, se basa en la diferencia de penetración de las moléculas en los poros de la fase estacionaria debido a que la separación obtenida depende del tamaño de la molécula. El tiempo de elución es proporcional al peso molecular de los mismos, por lo que no es muy usada en compuestos de alto peso molecular. Este tipo de interacción difiere de las demás técnicas cromatográficas en que no existen interacciones físicas o químicas entre el analito y la fase estacionaria.

La fase fija está formada por partículas poliméricas que contienen una red uniforme de poros por los que pueden penetrar las moléculas de pequeño tamaño. Las moléculas de tamaño grande se excluyen totalmente y son eluidas en primer lugar, mientras que las de pequeño tamaño tienen acceso a todo el volumen poroso y son las últimas que se eluyen; de esto se deduce que el volumen disponible para las moléculas pequeñas es mayor que para las grandes. Por lo tanto las moléculas se eluyen por su tamaño decreciente. En resumen los factores que determinan la separación de las moléculas son el tamaño del poro, el tamaño de la partícula y el flujo de elución.

Los diferentes tipos de partículas usadas deben ser estables, mecánica y químicamente, tener bajo contenido en grupos iónicos, uniformidad de poro y tamaño [32]. Los compuestos pueden ser derivados poliméricos o esferas de vidrio recubiertas. Hay diferentes tamaños de partícula para una resina: a menor tamaño mayor resolución y menor gasto en la columna.

#### **5.4.2 Instrumentación**

Los componentes básicos de un sistema para HPLC son:

- **Depósitos para la fase móvil (disolventes):** Los recipientes que se utilizan para almacenar la fase móvil tienen que ser inertes, es decir, el disolvente no deberá extraer especie alguna del material con el que estén contruidos. Se utilizan un erlenmeyer de vidrio y tubos de teflón. Están provistos de filtros en acero inoxidable, indispensables para eliminar los gases disueltos y partículas que pueda contener la fase móvil.

- **Filtros:** Situados entre la bomba y el inyector de muestras, para evitar la entrada de ciertas sustancias y evitar el colapso de la columna. Normalmente estos filtros están compuestos de acero inoxidable poroso.



Fig. 21 Filtro y manguera de succión de la fase móvil

- **Medidores de presión:** Son indicadores de fallos en el sistema, nos indica cuando un flujo continuo falla por motivos de presión y si existe alguna fuga en la infraestructura del sistema.
- **Sistema de bombeo:** La bomba tiene la función de introducir con un flujo continuo a presión la fase móvil o disolvente a través del inyector, la columna y el detector. Los requisitos de una bomba para HPLC son [28]:
  - Generar presiones de 1 a 6000 psi.
  - Capaces de cubrir un amplio rango de flujo entre 0,1 y 10 ml/min con una precisión del 0,5 % y que esté libre de pulsaciones.
  - Construidos en acero inoxidable

La bomba empleada en el equipo de HPLC es una *Bomba recíproca* o *de vaivén*, de *flujo constante* tipo *Pistón dual* que está formada por unas pequeñas cámaras cilíndricas que se llenan y luego se vacían alternadamente por oscilación de dos pistones provistas de válvulas anti-retorno, Sus principales ventajas son que se consiguen presiones elevadas y se suministra provee un caudal constante y aunque no está libre de pulsos [23].

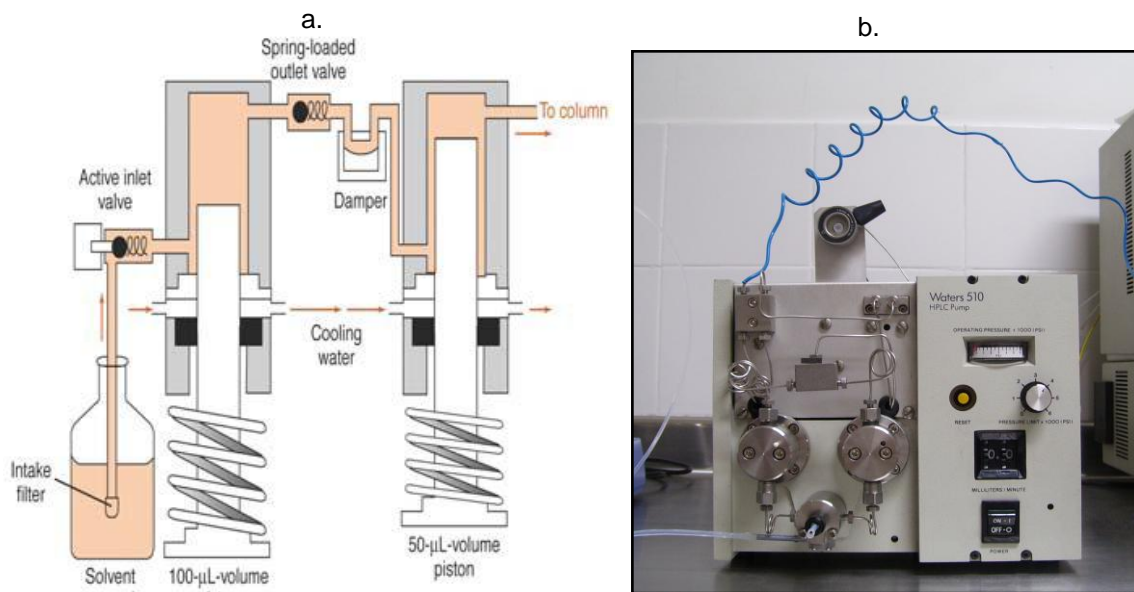


Fig. 22 Bomba recíproca o de vaivén a. Componentes. b. Aspecto general

- **Sistema de inyección de muestras:** Las *válvulas de inyección* con bucles de volumen conocido, es el método que se utiliza por medio de un inyector automático el cual permite programar las condiciones del análisis.

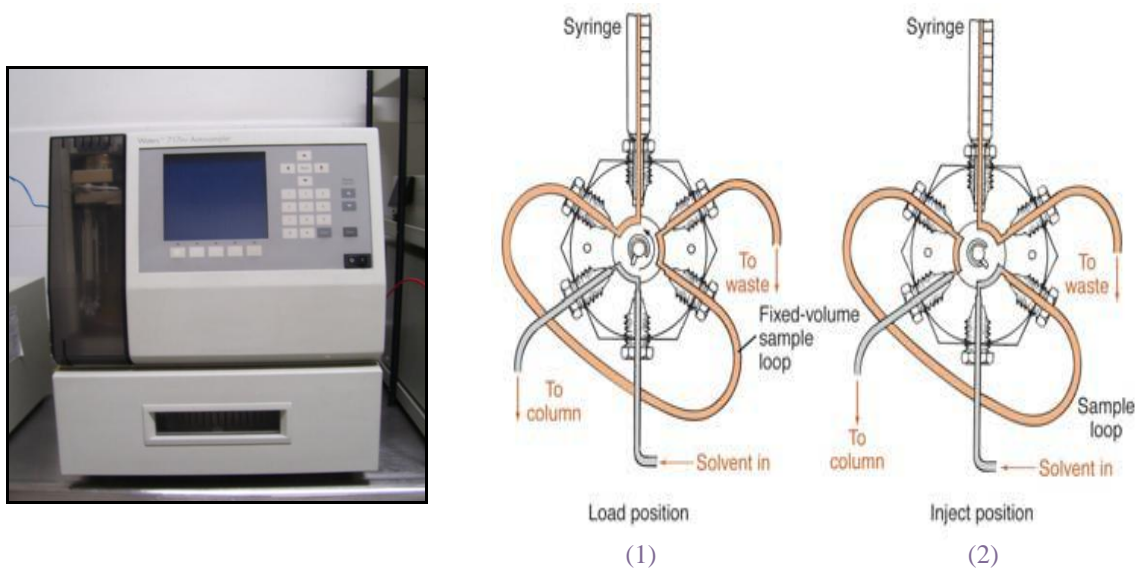


Fig 23. a. Aspecto general del inyector automático. b. (1) posición de carga. (2). posición de inyección de la muestra

Los volúmenes que se inyectan de muestra deberán ser pequeños para evitar la sobrecarga de la columna; en este caso se realizaron inyecciones de 20µL de muestra.

- **Columna cromatográfica:** En éstas es donde se produce la velocidad diferencial de los solutos que permite su separación. Hay más de 50 fabricantes de columnas para HPLC en Norte América. Cada uno de ellos tienen más de cien diferentes tipos de columnas, por ello se puede hacer la selección de la columna más adecuada para un análisis en particular.

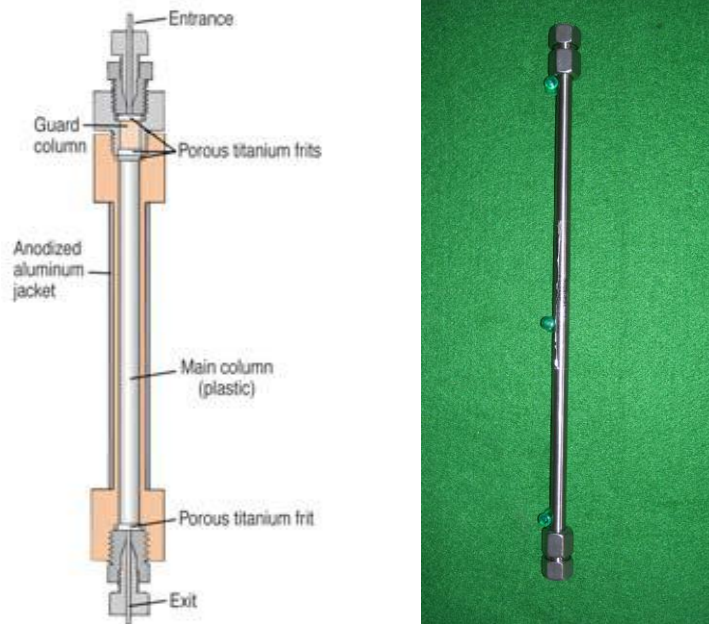


Fig. 24. a. Componentes de una columna cromatográfica. b. Columna Sugar Pack I

- **Características físicas de las columnas**

- **La longitud de la columna:** El material exterior de las columnas cromatográficas es de acero inoxidable, la longitud de la columna *Sugar-PAK I* utilizada en los análisis es de 300 mm, un factor que se ve afectado por este aspecto es el de consumo de solvente
- **Diámetro Interno:** El diámetro de la columna *Sugar-PAK I* es convencional de 6.5mm. Este puede variar y su variación afecta el análisis, cambiando el flujo y el volumen de muestra.
- **Material de empaque o de relleno<sup>32</sup>.**
- **Tamaño y forma:** La resina está formada por microesferas que deberán tener dimensiones uniformes con un tamaño que va de 3 a 10µm. Los

requisitos básicos de los materiales de las esferas de intercambio iónico son: la insolubilidad, el tamaño de la esfera y la resistencia a las fracturas bajo condiciones normales de funcionamiento. Estas se fabrican realizando un proceso de polimerización en suspensión que utiliza estireno-divinilbenceno (DVB), siendo generalmente el material usado para la fabricación de las esferas de intercambio iónico.

El estireno y DVB, ambos líquidos en un principio, se colocan en un reactor químico con más o menos la misma cantidad de agua, en presencia de un agente flotador para mantener todo disperso. El reactor químico tiene un agitador que comienza a mezclar la solución de agua/sustancia química orgánica. El estireno/DVB comienza a formar grandes glóbulos de material, y al aumentarse la velocidad de agitación, los glóbulos se dividen en gotas más pequeñas hasta alcanzar un tamaño adecuado. En ese momento inicia la reacción de polimerización a través de la adición de peróxido de benzoilo, el cual hace que las moléculas de estireno/DVB formen las esferas pequeñas de plástico resultantes.

El tamaño de la esfera también tiene un efecto; las esferas más pequeñas tienen una mayor superficie activa por que hay una mayor cantidad de esferas por área y estas presentan una vía de difusión más corta hacia los sitios activos en la parte interior de las esferas o poros, mejorando notablemente la eficiencia de la columna

- **Partícula o poro:** El DVB es un agente entrecruzante que le proporciona a las esferas estabilidad y resistencia mecánica, así como insolubilidad. El grado de entrecruzamiento es un factor importante de control porque la cantidad de entrecruzamiento de DVB en la esfera no sólo determina sus propiedades mecánicas sino su fortaleza relativa, ya que el entrecruzamiento adicional afecta la porosidad obstruyendo la cinética o la movilidad iónica dentro de la esfera, haciendo que la esfera sea demasiado resistente a la contracción e hinchamiento disminuyendo su capacidad para absorber agua.

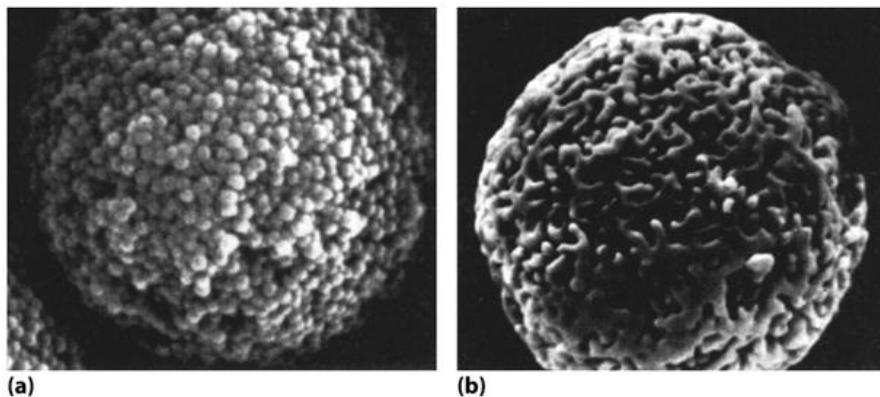


Fig 25. Partículas (tamaño de poro, 10 nm) a) Agregado de partículas esféricas, área superficial  $150\text{m}^2/\text{g}$  b) Estructura esponjada, área superficial  $300\text{m}^2/\text{g}$ .

El hinchado del polímero se produce cuando el disolvente penetra en los poros de la estructura polimérica, ensanchándolos y abriendo, por tanto la estructura. A simple vista se observa un aumento en el volumen que ocupa la resina, favoreciendo así la permeabilidad de los iones en la matriz de la resina y mejora la accesibilidad a los grupos funcionales. Como inconveniente el aumento de tamaño de la resina puede dar problemas de exceso de presión por estar empaquetada en una columna y también que los procesos contracción e hinchamiento, puede con el tiempo, afectar la estabilidad de la columna.

El tamaño de los iones que están siendo intercambiados también influye en la velocidad cinética y depende del tamaño de los poros en la estructura de la resina, dándole la propiedad de exclusión por tamaño. El diámetro de los poros es variado y va de 20-500 Å

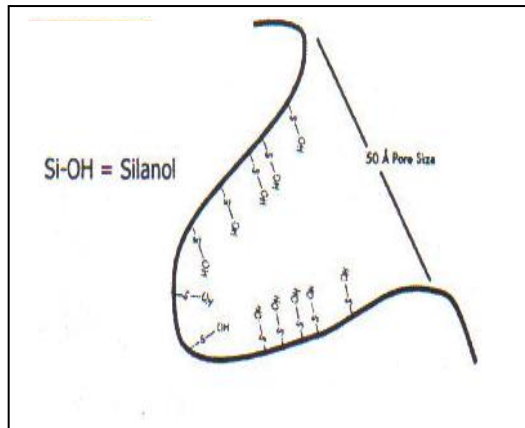


Fig 26. Tamaño de poro (50Å) de partícula de sílica con ligandos OH

- **Tipo de fase:** La columna *Sugar-PAK* esta rellena con una resina de fase ligada activada químicamente para funcionar como material de intercambio iónico. Los grupos activados son ligados permanentemente para proporcionarle funcionalidad química a la esfera. Una resina de intercambio iónico tiene como objetivo intercambiar ciertos tipos de iones presentes en una solución (fase móvil) por otros iones presentes en la resina, una vez realizado el intercambio que dura unos segundos el ión es arrastrado por la fase móvil y sale de la columna para ser registrado.



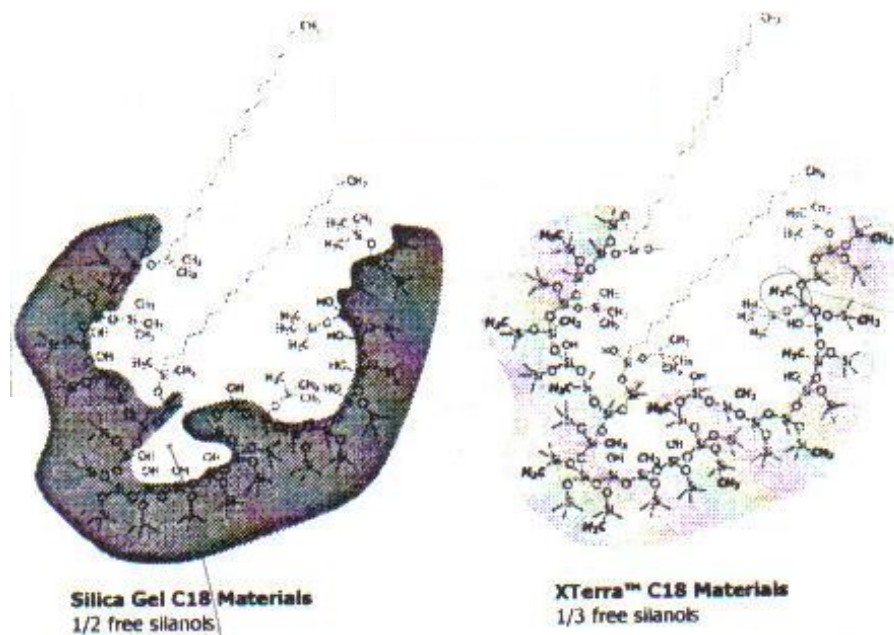


Fig 27. Esquema general de los enlaces y ligandos en los poros de las resinas para sustituyentes con sustituyentes de C18.

Las resinas catiónicas fuertes se forman tratando las esferas con ácido sulfúrico concentrado (un proceso conocido como sulfonación) para formar grupos sulfónico-ácidos permanentes  $R-SO_3^-$ , de carga negativa a través de las esferas. Aquí es importante el hecho de que los sitios de intercambio estén formados de tal manera que se encuentren ubicados a través de la esfera. El proceso de intercambio iónico no es un fenómeno de superficie. Más del 99% de la capacidad de un material de intercambio iónico se encuentra en el interior de la esfera.

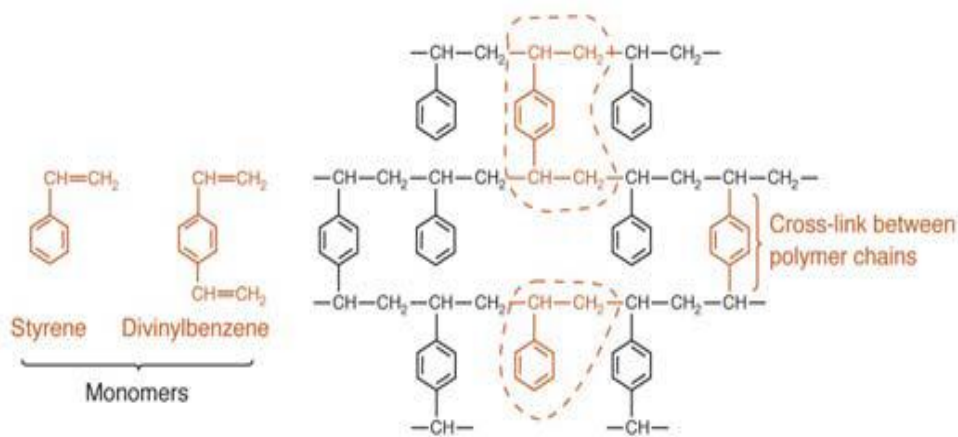


Fig. 28 Enlaces entrecruzados del copolímero estireno-divinilbenceno



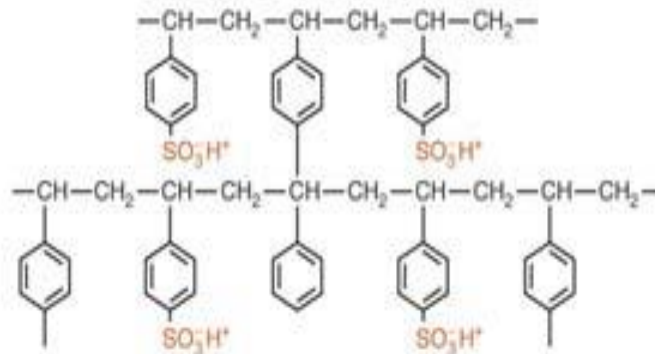


Fig .29 Estructura de una resina catiónica de ácido fuerte

Algunas de las ventajas de estos intercambiadores catiónicos de ácido fuerte es que funcionan a cualquier nivel de pH, dividen todas las sales y requieren una cantidad sustancial de regenerante. Es además la resina que se escoge para casi todas las aplicaciones de suavizado.

- **Selectividad de las resinas:** la selectividad o afinidad de las resinas de intercambio iónico es influida por las propiedades de la esfera, los iones intercambiados, y la solución en la cual están presentes los iones.

El agua es un componente esencial en las resinas de intercambio iónico. Por ejemplo, las resinas catiónicas de ácido fuerte contienen más o menos 50% de humedad. La cantidad de entrecruzamiento de la esfera y por su parte el contenido de humedad tiene un impacto sobre la selectividad. Una esfera con alto contenido de humedad tiene una alta porosidad y los grupos activos se encuentran más separados uno del otro.

Las resinas de intercambio iónico por lo general tienen una mayor selectividad por los iones de mayor valencia o carga. Entre los iones con una misma carga se encuentran mayores afinidades hacia los iones con un número atómico más alto. Estas relaciones de afinidad son revertidas en soluciones concentradas. Esto es lo que hace posible la regeneración de las resinas agotadas. Una resina agotada por lo general se encuentra en forma de calcio o magnesio, de los cuales ambos son iones bivalentes. La resina es restaurada a su condición regenerada, la forma sodio, introduciendo una solución de cloruro de sodio NaCl suficientemente concentrada como para revertir la selectividad. La fuerza impulsora del ión monovalente de sodio luego convierte la resina a la forma sodio.

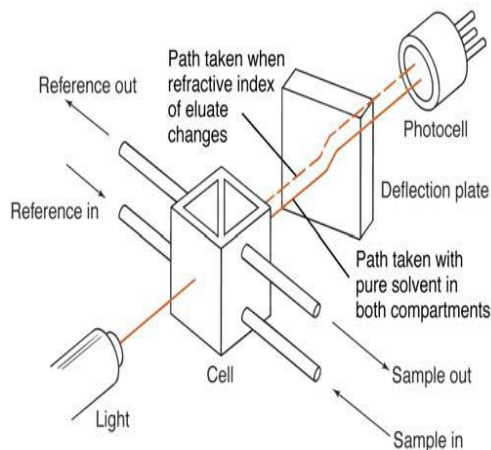
- **Termostatos para las columnas:** Aunque no es necesario el control estricto de la temperatura de la columna es importantes para mantener la columna a una temperatura optima, sobretodo en análisis cualitativo, puesto que las variaciones de temperatura pueden cambian la viscosidad del eluyente e influir en el volumen

retenido, obteniendo separaciones más reproducibles. El Equipo de HPLC cuenta con calentadores que regulan la temperatura de la columna.



Fig. 30 Termostato para columna cromatográfica

- **Detectores:** El papel del detector es indicar los momentos de aparición de los componentes, y proporcionar indicación cuantitativa y cualitativa de los mismos. El detector utilizado depende de la naturaleza de la muestra y deberá reunir una serie de características como son, tener una sensibilidad elevada, buena estabilidad y reproducibilidad. Amplio margen de respuesta lineal, insensible a cambios en la presión y la temperatura.



ii.



b.

Fig 31. Detector de índice de refracción para columna cromatográfica  
a. Pincipio del detector. b. Aspecto general

El detector se coloca al final de las columnas, responde a la concentración del soluto y se registra en función del tiempo, obteniendo una serie de picos que genera el gráfico que se denomina cromatograma. La posición de los picos en el eje del tiempo puede servir para identificar los componentes de la muestra.

El detector de índice de refracción esta basado en una propiedad de la disolución, mide la diferencia entre el índice de refracción del disolvente puro y del disolvente más la muestra que salen de la columna. Está formado por una celda con dos compartimentos, El disolvente pasa a través de la mitad de una cubeta y el efluente de la columna pasa por la otra mitad. Los dos compartimentos están separados por una placa de vidrio montada a un ángulo tal que si las dos disoluciones difieren en índice de refracción se produce una desviación del haz incidente y varía la señal dada por la fotocélula. Requiere un manejo muy delicado y responde satisfactoriamente a la mayoría de los compuestos orgánicos. No permite elución en gradiente o programación de la fase móvil porque es sensible a las variaciones de flujo, temperatura y presión.

• **Sistema para el tratamiento de datos y registrador:** La velocidad de elución de los componentes de una muestra depende de la fracción de tiempo que requieran para distribuirse según su naturaleza química con respecto a las fases móvil y estacionaria y salir de la columna. Este tiempo es detectado por el detector colocado en el extremo final de la columna el cual transmite una señal que se transforma por medio del registrador en una gráfica en función del tiempo llamado cromatograma, que consta de una serie de picos simétricos. Generalmente la respuesta del detector es linealmente proporcional a la concentración de los analitos en la fase móvil, la forma de cada pico muestra la distribución de concentración del componente asociado a dicho pico.

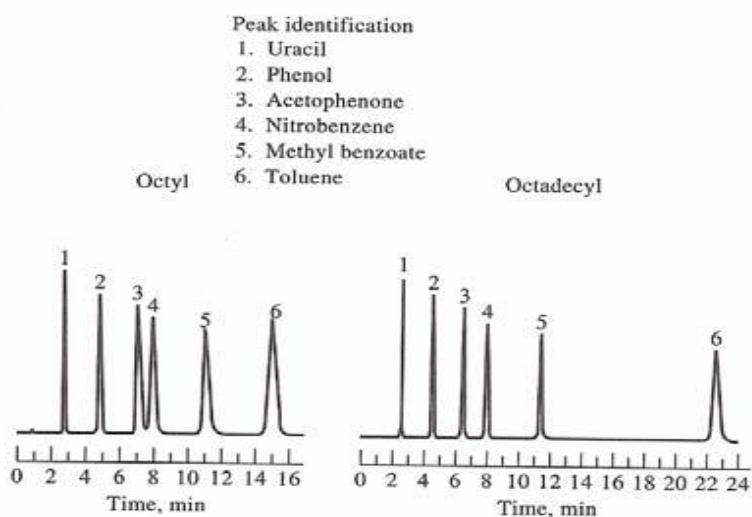


Fig. 32 Cromatograma para la identificación de compuestos presentes en una muestra utilizando columnas rellenas con ligandos C8 (n-octil) y C18 (n-octildecil)

Los picos sobre el eje del tiempo se emplean para identificar tanto cualitativa (posición en el eje) como cuantitativamente (área bajo los picos) los componentes de la muestra. La cromatografía cuantitativa se basa en una comparación del área del pico de un analito con el de uno o más estándares. Este parámetro varía linealmente con la concentración. La cromatografía cualitativa se basa en la comparación de la posición de los picos (tiempos determinados de retención) con cromatogramas estándares [29].

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 HIPÓTESIS

Los métodos utilizados en el Ingenio Pichichí S.A. para la determinación de sacarosa y azúcares reductores son confiables para su aplicación analítica en el análisis de la miel virgen de caña al confrontarlos con el método de cromatografía líquida de alta resolución HPLC, por medio de una correlación de sus resultados.

### 6.2 POBLACIÓN

La población objeto de estudio la constituyen los lotes de miel virgen de caña producidos mensualmente en el Ingenio Pichichí S.A. de acuerdo a la planeación de su elaboración.

Calculo de la población a partir del promedio de producción de miel virgen mensual para noviembre de 2009:

$$\begin{aligned} N &= \# \text{ de carrotanques diarios} \times \text{días de despacho} \\ N &= 2 \text{ carrotanques diarios} \times 18 \text{ días de despacho} \\ N &= 36 \end{aligned}$$

### 6.3 MUESTRA

Para la realización de las pruebas del presente estudio se tomará como muestra los lotes de miel virgen de caña producidos en noviembre de 2009. Tomando un tamaño de muestra de 33 muestras analizadas por duplicado por los tres métodos a evaluar.

- Calculo del número de muestras

$$n = \frac{n_o}{1 + \frac{n_o}{N}}$$

Donde:

$$n_o = \frac{z^2 p q}{e^2}$$

Para una confiabilidad del 95%

$$z = 1.96$$

$$p = 0,5$$

$$q = 0,5$$

$$e = 0,05$$

$$n_o = \frac{1,96^2 \times 0,5 \times 0,5}{0,05^2}$$

$$n_o = 384,16$$

El número de muestras será

$$n = \frac{384,16}{1 + \frac{384,16}{36}}$$

$$n = 33 \text{ muestras}$$

## 6.5 DISEÑO METODOLÓGICO

En el estudio se correlaciona los datos obtenidos en la determinación del porcentaje de sacarosa en miel virgen de caña por el método refractométrico y polarimétrico, y de azúcares totales expresados como reductores por el método de Lane y Eynon, con el método de cromatografía líquida de alta resolución HPLC para la determinación de sacarosa, glucosa y fructosa

Las muestras utilizadas fueron las mismas para realización de las pruebas por los diferentes métodos. A los resultados obtenidos se les realizó un tratamiento estadístico para su posterior análisis calculando su correlación.

## **6.5.1 METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN EN JARABES O MELADURAS POR REFRACTOMETRÍA (BRIX - SÓLIDOS DISUELTOS) (Método 16)<sup>9</sup>**

### **6.5.1.1 Principio**

El método se basa en la medición del índice de refracción de la muestra diluida y su relación con el contenido de sólidos disueltos (Brix).

El contenido de sólidos disueltos de las soluciones azucaradas se determina utilizando un refractómetro que tiene la conversión directa a valores de Brix.

### **6.5.1.2 Equipos y materiales**

- Balanza de precisión  $\pm 0.1$  g
- Beaker de 1000 ml
- Gotero
- Refractómetro digital GPR 11-37-X
- Varilla de agitación
- Frasco Lavador
- Papel para filtración rápida
- Papel suave para limpieza de los lentes
- Embudo

### **6.5.1.3 Reactivos**

Ayuda filtrante

### **6.5.1.4 Procedimiento**

#### **Preparación de la muestra**

La muestra debe estar a temperatura ambiente, se mezcla y homogeniza adecuadamente antes de pesarse.

En el beaker de 1000ml se pesan 450g de meladura y se le adicionan 450 g de agua; con ayuda de la varilla de agitación se mezcla bien la muestra hasta que se disuelva completamente y se filtra utilizando la ayuda filtrante, desechando los primeros mililitros.

Se adiciona agua destilada en la unidad óptica del refractómetro para la verificación del cero.

Se enjuagan los prismas con una porción de filtrado y se adiciona una nueva porción de filtrado. Se registra solamente la lectura del refractómetro una vez se estabiliza porque se cuenta con un equipo automático con corrección de temperatura.

## **6.4.2 METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN EN MELADURAS POR POLARIMETRÍA (POL) (Método 17)<sup>9</sup>**

### **6.4.2.1 Principio**

El método se basa en la medición del cambio de la rotación óptica que depende principalmente del contenido de sacarosa de la muestra.

Esta lectura esta influenciada por la presencia de otras sustancias ópticamente activas y por el procedimiento de clarificación.

### **6.4.2.2 Equipos y materiales**

- Polarímetro digital NIR SACHAAR 880 (sacarímetro de alta penetración)
- Tubo polarimétrico de 200 mm
- Beakers de 1000 ml y 250 ml
- Embudo
- Papel filtro Whatman No. 91 de 185 mm de diámetro o su equivalente
- Espátula
- Balanza de precisión de  $\pm 0.1$  g

### **6.4.2.3 Reactivos**

- Sulfato de Aluminio
- Cal



#### **6.4.2.4 Procedimiento**

##### **Preparación de la muestra**

Se tara un beaker de 1000 ml y se pesan 150 g de meladura previamente homogenizada, Se adicionan 450 g de agua, completando el peso a 600g.

Se mezcla bien con espátula hasta completa disolución y se determina el Brix de la solución en el refractómetro de acuerdo con el método para la determinación en jarabes o meladuras por refractometría descrito anteriormente.

Se toman 200 ml de la solución obtenida y se agrega de sulfato de Aluminio y Cal requerida para una clarificación eficiente y se agita vigorosamente.

Se filtra con papel de filtro se descartan los primeros 10 ml de filtrado y se cubre el embudo con vidrio de reloj mientras se filtra para minimizar la evaporación.

Se ajusta el cero en el polarímetro llenando el tubo polarimétrico con agua destilada

Se enjuaga el tubo polarimétrico con una porción de filtrado y se llena con la solución y se registra la lectura del polarímetro una vez se estabiliza.

#### **6.4.3 METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE SACAROSA, GLUCOSA Y FRUCTOSA POR HPLC (ICUMSA METODO GS 7/8/4-23 (1998))<sup>10</sup>**

##### **6.4.3.1 Principio**

La separación cromatográfica de la Sacarosa Glucosa y Fructosa es realizada por cromatografía líquida de alta resolución que utiliza una columna de separación rellena de una resina de intercambio catiónico con base cálcica, que exhiben propiedades como intercambio de ligandos y exclusión por tamaño.

La muestra diluida es previamente filtrada para la inyección en la columna, dependiendo de la geometría de los hidroxilos de los diferentes azúcares, estos interactúan con los cationes de la resina por afinidad, variando gradualmente los resultados de los tiempos de elución de las diferentes especies. El método se aplica a moléculas de bajo peso molecular relativo, que puedan entrar en los poros de la resina y establecer enlaces temporales con los iones contrarios. Las moléculas largas no entran fácilmente en los poros y ellas eluyen con mayor rapidez.

El cromatograma de los componentes separados se obtiene por diferencias refractométricas del eluyente de la columna. La estimación exacta de la altura de pico para un azúcar se obtiene por un sistema de integración electrónico que luego lo relaciona al obtenido por un estándar.

#### **6.4.3.2 Equipos y materiales**

- Cromatógrafo líquido de alta resolución con detector de índice de refracción WATERS I.
- Inyector de la muestra automático
- Bomba isocrática de alta presión para HPLC
- Columna rellena de resina de intercambio con base cálcica, con tamaño de partícula de 10 – 15  $\mu\text{m}$ , longitud 250-300m (Sugar Pack I)
- Calentador de columna para 90 °C
- Integrador electrónico
- Instrumentos de filtración (Filtros de jeringa de 25 a 50 mm de diámetro en conjunto con membranas de filtración de 0.45  $\mu\text{m}$ ,)
- Balanza analítica de precisión de  $\pm 0.1$  mg
- Viales

#### **6.4.3.3 Reactivos**

- Sacarosa Grado analítico
- Glucosa Grado analítico
- Fructosa Grado analítico
- EDTA (Cálcico) Grado analítico

#### **6.4.3.4 Procedimiento**

##### **Preparación de Fase móvil**

Se preparan 1000 ml de solución de EDTA (Sal Cálcica) de 50 ppm, se filtra por membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  y se desgasifica.

##### **Preparación de estándares de calibración externos**

Se preparan 100 ml de soluciones para los estándares indicados en la tabla 1, registrando el peso exacto utilizado en la preparación

Tabla 14. Concentraciones de Estándares de Calibración externos para HPLC

<b>Concentraciones de estándares de calibración</b>	
	Concentración (ppm)
Sacarosa	5
Glucosa	0.5
Fructosa	0.5

### **Preparación de la muestra**

Se pesa aproximadamente de 0,75 g a 1.0 g de melaza de caña, registrando el peso exacto de la muestra, que se transfiere cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 ml y se diluye 100 ml y se homogeniza.

La solución se filtra por una membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  provista de un prefiltro Sep-pak.

### **Condiciones para la operación de HPLC**

Velocidad de la Fase móvil : 0.5 a 0.6 ml/min en elución isocrática

Presión  $\leq$  1300 psi

Temperatura de 80 a 85  $^{\circ}\text{C}$

Volumen de inyección de muestras 20  $\mu\text{L}$

## **6.4.4 METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES TOTALES EXPRESADOS COMO REDUCTORES EN MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL MÉTODO DE LANE Y EYNON (NTC 1779)<sup>22</sup>**

### **6.4.4.1 Principio**

El método consiste en la titulación de una solución que contiene azúcares reductores en proporción desconocida con Soluciones Estándar de Fehling. Se utiliza como indicador azul de metileno.

### **6.4.4.2 Equipos y materiales**

- Balanza analítica
- Material de vidrio
- Plancha para calentamiento

#### 6.4.4.3 Reactivos

- Sacarosa Grado analítico
- Solución de ácido clorhídrico (5%)
- Solución de ácido clorhídrico (50%)
- Solución de hidróxido de sodio 4 M
- Solución alcohólica de Fenoftaleína al 1 %
- Solución indicadora de Azul de Metileno al 1%
- Solución de Sulfato de Cobre (Solución A): Se disuelven 69.278g de Sulfato de Cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) reactivo analítico, previamente desecado, y se transfiere a un matraz volumétrico de 1000 ml
- Solución alcalina de tartrato (Solución B): Se pesan 346 g de tartrato de Sodio y potasio reactivo analítico ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )<sub>3</sub>. Se disuelven en 250 ml de agua destilada, agitando hasta completa disolución.  
Aparte se prepara 100 g de Hidróxido de Sodio, reactivo analítico, agregando 250 ml de agua destilada y se agita hasta completa disolución.  
Las soluciones anteriormente preparadas se mezclan en una matraz volumétrico de 1000 ml y se completa el volumen con agua destilada.

#### 6.4.4.4 Procedimiento

##### Preparación de la muestra

Se pesan  $7,5 \pm 10$  mg de muestra y se disuelven en una porción de agua destilada; se transfieren cuantitativamente a un matraz volumétrico de 250 ml y se completa el volumen con agua destilada.

De la solución preparada se toman 25 ml y se depositan en un matraz volumétrico se 100 ml y se les añaden aproximadamente 35 ml de agua destilada.

Se calienta la solución anterior en un baño con agua a 65 °C durante 10 minutos, se adicionan 10 ml de solución de ácido clorhídrico al 50 %, se mezcla y se calienta suavemente a una temperatura de 65°C durante 30 minutos con agitación periódica.

Se enfría y se adiciona una gota de solución indicadora de fenoftaleína al 1% y se le adiciona solución de hidróxido de sodio 4M hasta que la solución se torne ligeramente rosada.

Se adiciona solución de ácido clorhídrico gota a gota hasta cuando el color del indicador desaparezca.

Se deja en reposo hasta que alcance la temperatura ambiente y se completa el volumen a 100 ml con agua destilada. Con esta solución de azúcar hidrolizada se llena una bureta limpia y seca.

Se toman 10 ml de la solución A y 10 ml de la solución B en un erlenmeyer al momento de utilizarla, y se le agregan 19 ml de la solución de azúcar hidrolizada, desde la bureta mezclando muy bien.

La mezcla anterior se calienta hasta ebullición y se mantiene durante 2 minutos exactos.

Se adicionan 3 gotas de solución de azul de metileno al 1%, y se mezcla hasta que la coloración azul sea permanente

La solución titulante de azúcar hidrolizada se adiciona poco a poco, agitando hasta que la coloración azul desaparezca completamente. Se repite la titulación para verificar el punto exacto de viraje. Se registra el volumen gastado en la titulación.

### **Determinación del Factor estándar de la solución de Fehling**

Se pesan 0,475 g de Sacarosa grado analítico previamente desecada; se transfieren cuantitativamente a un balón aforado de 100 ml, se disuelven y se diluyen con agua destilada hasta completar un volumen aproximado de 60 ml.

Se procede igual que para el tratamiento de la muestra, calentando en un baño de agua caliente, seguido de los pasos para la hidrólisis y titulación de la solución hidrolizada.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL MÉTODO REFRACTOMÉTRICO

#### 7.1.1 Datos obtenidos

Siguiendo la metodología descrita para el análisis del porcentaje de sacarosa en miel virgen de caña por el Método 16 para la Determinación en Jarabes o Meladuras (Brix - sólidos disueltos) descrita en **(6.4.1)**, se realizaron lecturas por duplicado de 33 muestras de miel virgen de Caña, con las lecturas obtenidas se calculó la media de la población y se tabularon los datos de las concentraciones de Sacarosa para tratamiento estadístico posterior.

#### 7.1.2 Cálculos

- **Cálculo del Brix Refractométrico**

Como se dispone de Corrección de Temperatura automática por el equipo el resultado del BRIX refractométrico multiplicado por el factor de dilución:

$$\text{BRIX} = \text{Lectura del refractómetro} \times 4$$

Para la muestra No. 1

Lectura del refractómetro = 17.77

$$\text{BRIX} = 17.77 \times 4$$

$$\text{BRIX} = 71.08$$

Tabla 15. Datos obtenidos de °Brix para el analisis de miel virgen de caña por el método refractométrico

No. Muestra	Numero de lecturas por muestra	media de °BRIX	Factor de dilución	% Sacarosa
1	2	18,13	4	72,52
2	2	17,77	4	71,08
3	2	17,79	4	71,16
4	2	18,14	4	72,56
5	2	18,41	4	73,64
6	2	18,59	4	74,36
7	2	18,17	4	72,68
8	2	18,08	4	72,32
9	2	18,22	4	72,88
10	2	18,08	4	72,32
11	2	18,52	4	74,08
12	2	18,05	4	72,20
13	2	18,05	4	72,20
14	2	18,00	4	72,00
15	2	18,00	4	72,00
16	2	18,10	4	72,40
17	2	17,96	4	71,84
18	2	18,12	4	72,48
19	2	18,06	4	72,24
20	2	18,10	4	72,40
21	2	18,17	4	72,68
22	2	18,38	4	73,52
23	2	17,92	4	71,68
24	2	18,24	4	72,96
25	2	17,91	4	71,64
26	2	17,22	4	68,88
27	2	18,05	4	72,20
28	2	17,84	4	71,36
29	2	17,15	4	68,60
30	2	17,55	4	70,20
31	2	18,09	4	72,36
32	2	17,82	4	71,28
33	2	18,02	4	72,08

## 7.2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL MÉTODO POLARIMÉTRICO

### 7.2.1 Datos obtenidos

Siguiendo la metodología descrita para el análisis del porcentaje de sacarosa en miel virgen de caña el Método para la Determinación en Meladuras por Polarimetría descrita en (6.4.2), se realizaron lecturas por duplicado de 33 muestras de miel virgen de Caña, con las lecturas obtenidas se calculó la media de la población y se tabularon los datos de las concentraciones de Sacarosa para tratamiento estadístico posterior.

### 7.2.2 Cálculos

- **Cálculo del porcentaje de Sacarosa**

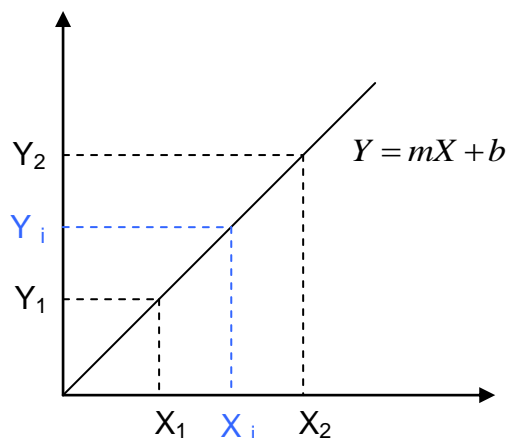
Se calcula el porcentaje de Sacarosa con la lectura del polarímetro y el Brix refractométrico calculado en 7.1.2 de la muestra diluida, interpolando en la tabla de Schimitz (Ver Anexo 1)

Para interpolar el valor de BRIX, sabiendo que:

$$Y = mX + b$$

De donde:

$$m = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}$$





Para un punto intermedio:

$$m_i = \frac{Y_i - Y_1}{X_i - X_1}$$

Entonces :

$$m = m_i$$

$$\frac{Y_i - Y_1}{X_i - X_1} = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}$$

Por lo tanto se puede obtener un valor intermedio a partir de dos puntos conocidos:

$$Y_i = \frac{X_1 + (Y_2 - Y_1)(X_i - X_1)}{X_2 - X_1}$$

Así para calcular el % sacarosa para la primera muestra con un Brix =17.77 y un pol de 64,36 como sigue:

- Se interpola el porcentaje de sacarosa para un Brix =17,77 tomando el valor superior e inferior de la tabla de Smchimitz y sus correspondientes porcentajes de Sacarosa = 64

<b>Brix</b>	<b>% Sacarosa</b>
$X_1 = 17.50$	$Y_1 = 15.57\%$
<b><math>X_i = 17.77</math></b>	<b><math>Y_i = ?</math></b>
$X_2 = 18.00$	$Y_2 = 15.54\%$

$$\% Sacarosa = \frac{15.57 + (15.54 - 15.57)(17.77 - 17.5)}{17.5 - 18}$$

$$\% Sacarosa = 15.59$$

- Se interpola el porcentaje de sacarosa para un Brix =17,77 tomando el valor superior e inferior de la tabla de Smchimitz y sus correspondientes porcentajes de Sacarosa = 65

<b>Brix</b>	<b>% Sacarosa</b>
X <sub>1</sub> = 17,50	Y <sub>1</sub> = 15,81%
<b>X<sub>i</sub> = 17,77</b>	<b>Y<sub>i</sub> = ?</b>
X <sub>2</sub> = 18,00	Y <sub>2</sub> = 15,78%

$$\% Sacarosa = \frac{15.81 + (15.81 - 15.78)(17.77 - 17.5)}{17.5 - 18}$$

$$\% Sacarosa = 15.79$$

- Con estos dos valores de brix se interpola el Porcentaje de sacarosa con un Pol de 64,36

<b>Brix</b>	<b>% Sacarosa</b>
X <sub>1</sub> = 64,00	Y <sub>1</sub> = 15,59%
<b>X<sub>i</sub> = 64,36</b>	<b>Y<sub>i</sub> = ?</b>
X <sub>2</sub> = 65,00	Y <sub>2</sub> = 15,79%

$$\% Sacarosa = \frac{15.59 + (15.59 - 15.79)(64.36 - 64)}{64 - 65}$$

$$\% Sacarosa = 15.59$$

- El porcentaje de sacarosa se multiplica por el factor de dilución

$$\% Sacarosa = \% Sacarosa (\text{Valor interpolado}) \times 4$$

$$\% Sacarosa = 15.59\% \times 4$$

$$\% Sacarosa = 62.36\%$$

TABLA 16. Datos obtenidos de Porcentaje de Sacarosa para el análisis de miel virgen de caña por el método polarimétrico

No. Muestra	Numero de lecturas por muestra	media de Pol	°Brix	Factor de dilución	%Sacarosa
1	2	64,06	18,13	4	62,23
2	2	64,36	17,77	4	62,61
3	2	64,06	17,79	4	62,32
4	2	64,92	18,14	4	63,06
5	2	66,21	18,41	4	64,25
6	2	66,94	18,59	4	64,91
7	2	65,13	18,17	4	63,26
8	2	66,08	18,08	4	64,21
9	2	67,38	18,22	4	65,43
10	2	66,12	18,08	4	64,24
11	2	67,90	18,52	4	65,86
12	2	65,36	18,05	4	63,51
13	2	65,25	18,05	4	63,41
14	2	65,13	18,00	4	63,30
15	2	65,42	18,00	4	63,59
16	2	64,91	18,10	4	63,06
17	2	65,86	17,96	4	64,02
18	2	65,95	18,12	4	64,07
19	2	65,51	18,06	4	63,66
20	2	65,66	18,10	4	63,79
21	2	65,73	18,17	4	63,84
22	2	58,53	18,38	4	56,80
23	2	59,71	17,92	4	58,05
24	2	65,24	18,24	4	63,35
25	2	69,29	17,91	4	67,37
26	2	61,64	17,22	4	60,10
27	2	64,92	18,05	4	63,09
28	2	62,96	17,84	4	61,23
29	2	61,40	17,15	4	59,88
30	2	60,47	17,55	4	58,88
31	2	62,37	18,09	4	60,60
32	2	61,87	17,82	4	60,18
33	2	62,76	18,02	4	60,92

## 7.3 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

### 7.3.1 Datos obtenidos

Siguiendo la metodología descrita para el análisis del porcentaje de sacarosa en miel virgen de caña el Método para la Determinación de Sacarosa, Glucosa y Fructosa en Melazas de Caña por HPLC descrita en (6.4.3), se realizaron lecturas por duplicado de 33 muestras de miel virgen de Caña, con las lecturas obtenidas se calculó la media de la población y se tabularon los datos de las concentraciones de Sacarosa para tratamiento el estadístico posterior.

### 7.3.2 Cálculos

- **Cálculo del Porcentaje Sacarosa, Fructosa y Glucosa por HPLC**

El integrador suministra porcentajes de áreas y alturas con su correspondiente tiempo de retención que se relacionan con las áreas de los estándares de calibración externos de Sacarosa, Glucosa y Fructosa, con las áreas de los picos cercanos a los tiempos de retención (Ver anexo 1).

- **Cálculo del porcentaje de Sacarosa en la muestra**

Se tomó el área de la sacarosa correspondiente a un tiempo de elución de aproximadamente 7.53 minutos y se calcula el *Factor de Respuesta (FR)*

$$FR = \frac{\text{Área}}{\text{Concentración}}$$

Donde:

Area = Dada por el integrador para el estándar de Calibración de Sacarosa

Concentración = Gramos exactos de Sacarosa Pesados

- Cálculo del factor de respuesta para el Estándar de Calibración de Sacarosa:

$$FR = \frac{2723985}{0,500}$$

$$FR = 5447970$$

Para la muestra No. 1 el porcentaje de sacarosa es:

$$\% \text{ Sacarosa} = \frac{\text{Área de la muestra a 7,53 min.}}{FR \times \text{Concentración muestra}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Sacarosa} = \frac{2922277}{5447970 \times 0,8652} \times 100\%$$

$$\% \text{ Sacarosa} = 62,00$$

• **Cálculo del porcentaje de Glucosa en la muestra**

Se procede igual que para el cálculo de la Sacarosa, teniendo en cuenta que el tiempo de elución de la glucosa es en aproximadamente 9.52 min.

Se tomó el área de la Glucosa correspondiente a un tiempo de elución de aproximadamente 9.52 minutos y se calculo el *Factor de Respuesta (FR)*

$$FR = \frac{\text{Área}}{\text{Concentración}}$$

Donde:

Area = Dada por el integrador para el estándar de Calibración de Glucosa

Concentración = Gramos exactos de Glucosa Pesados

- Cálculo del factor de respuesta para el Estándar de Calibración de Glucosa:

$$FR = \frac{248321}{0,050}$$

$$FR = 4966420$$

Para la muestra No.1 el porcentaje de Glucosa es:

$$\% \text{ Glucosa} = \frac{\text{Área de la muestra a 9.52 min.}}{\text{FR} \times \text{Concentración muestra}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Glucosa} = \frac{31730}{4966420 \times 0,8652} \times 100\%$$

$$\% \text{ Glucosa} = 0,74\%$$

- **Cálculo del porcentaje de Fructosa en la muestra**

Se procede igual que para el cálculo del porcentaje de Sacarosa, se identifica el área de la fructosa correspondiente a un tiempo de elución de aproximadamente 11.17 min y para el calculo el *Factor de Respuesta* (**FR**) que los gramos exactos de fructosa grado reactivo pesados fueron 0,050 g.

**Tabla 17. Datos obtenidos de % sacarosa, % glucosa, %fructosa y Suma del % de azúcares reductores del análisis de las muestras de miel virgen de caña por el método de HPLC**

No. Muestra	Peso muestra (g)	Area Sacarosa	Area Glucosa	Area Fructosa	Sacarosa (%)	Glucosa (%)	Fructosa (%)	Azúcares totales
1	0,8652	2922277	31730	18600	62,00	0,74	0,41	63,14
2	0,8447	2875535	32907	16819	62,49	0,79	0,38	63,65
3	0,8753	2968052	37680	10631	62,24	0,87	0,23	63,34
4	0,8141	2808607	28169	10591	63,33	0,70	0,25	64,27
5	0,7943	2781959	29009	10322	64,29	0,74	0,25	65,27
6	0,8764	3097454	29708	14057	64,87	0,69	0,30	65,86
7	0,8533	2943360	37127	11833	63,32	0,88	0,26	64,46
8	0,8791	3073831	35937	10054	64,18	0,83	0,22	65,22
9	0,8626	3065209	27246	18821	65,23	0,64	0,41	66,28
10	0,8181	2858939	29925	14529	64,15	0,74	0,34	65,22
11	0,9163	3281884	30755	18910	65,74	0,68	0,39	66,81
12	0,9008	3115079	29624	16927	63,48	0,66	0,35	64,49
13	0,8028	2768589	33794	17559	63,30	0,85	0,41	64,57
14	0,8213	2830217	27334	14221	63,25	0,67	0,33	64,25
15	0,8300	2870160	29313	14849	63,47	0,71	0,34	64,53
16	0,8088	2773171	34328	11503	62,94	0,86	0,27	64,06
17	0,8546	2895446	34824	13988	62,19	0,82	0,31	63,32
18	0,8473	2950422	35920	12492	63,92	0,86	0,28	65,05
19	0,8651	2996788	36752	17275	63,59	0,86	0,38	64,82
20	0,8229	2847269	31099	13835	63,51	0,76	0,32	64,59
21	0,8397	2915741	38449	13053	63,74	0,93	0,29	64,96
22	0,8341	2671200	39248	13125	58,78	0,95	0,30	60,03
23	0,8925	2792798	32144	17216	57,44	0,73	0,36	58,53
24	0,8528	2938048	36686	13236	63,24	0,87	0,29	64,40
25	0,8787	3214984	29998	15401	67,16	0,69	0,33	68,18
26	0,8274	2708625	36138	12991	60,09	0,88	0,30	61,27
27	0,8134	2788376	32869	16403	62,92	0,82	0,38	64,12
28	0,8284	2835995	28178	17477	62,84	0,69	0,40	63,92
29	0,8083	2638657	33129	10781	59,92	0,83	0,25	61,00
30	0,8110	2597128	35027	14663	58,78	0,87	0,34	60,00
31	0,8420	2775934	26018	12323	60,51	0,62	0,28	61,42
32	0,8449	2764722	31695	12489	60,06	0,76	0,28	61,10
33	0,8429	2925753	31280	14644	61,01	0,75	0,33	62,09

## 7.4 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE AZUCARES REDUCTORES TOTALES COMO INVERTIDOS EN MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL MÉTODO DE LANE Y EYNON (NTC 1779)

### 7.4.1 Datos obtenidos

Siguiendo la metodología descrita para el análisis del porcentaje de azúcares totales como invertido por el método para la determinación de azúcares totales expresados como reductores en miel virgen de caña por el método de Lane y Eynon (NTC 1779) descrita en (6.4.4), se realizaron lecturas por duplicado de 33 muestras de miel virgen de Caña, con las lecturas obtenidas se calculó la media de la población y se tabularon los datos de las concentraciones de Sacarosa para tratamiento el estadístico posterior.

### 7.4.2 Cálculos

- **Cálculo del contenido de azúcares totales como invertido.**

Se calcula el Factor estándar de la solución de Fehling

$$F_s = 25 \times 10^{-5} \times V_t$$

Donde:

$F_s$  = Factor estándar equivalente a gramos de glucosa que reacciona con 1 ml de la solución de Fehling

$V_t$  = Volumen de la solución hidrolizada gastado en la titulación

Para la solución hidrolizada de sacarosa

$$V_t = 20,2 \text{ mL}$$

$$F_s = 25 \times 10^{-5} \times 20,2$$

$$F_s = 5.05 \times 10^{-3}$$

De modo que:

$$\% \text{Azúcares totales como invertido} = \left( \frac{F_s \times 2 \times 10^3}{V_t * m} \right) \times 100$$



Donde:

Fs = Factor estándar de la solución de Fehling calculado

Vt = Volumen de la solución hidrolizada gastado en la titulación

m = Masa de muestra utilizada

Para la muestra No.1 el porcentaje de azúcares reductores totales como invertidos:

$$Fs = 5.05 \times 10^{-3}$$

$$Vt = 20,7 \text{ mL}$$

$$m = 7,5024 \text{ g}$$

$$\% \text{Azúcares totales como invertido} = \left( \frac{5,05 \times 10^{-3} \times 2 \times 10^6}{20,7 \times 7,5024} \right)$$

$$\% \text{Azúcares totales como invertido} = 65,0\%$$

Tabla 18. Datos obtenidos de Azúcares Totales como Reductores del análisis de las muestras de miel virgen de caña por el método de Lane y Eynon

<b>No. Muestra</b>	<b>Peso muestra (g)</b>	<b>Volumen gastado (ml)</b>	<b>% Azúcares totales como invertidos</b>
1	7,5024	21,4	62,91
2	7,5035	20,6	65,34
3	7,5023	21,2	63,50
4	7,5004	20,5	65,69
5	7,5029	20,5	65,67
6	7,5042	20,7	65,02
7	7,5070	20,5	65,63
8	7,5013	20,1	66,99
9	7,5007	20,4	66,01
10	7,5005	20,3	66,33
11	7,5029	20,6	65,35
12	7,5021	21,0	64,11
13	7,5048	20,4	65,97
14	7,5017	20,7	65,04
15	7,5012	20,5	65,68
16	7,5043	21,3	63,19
17	7,5023	20,7	65,04
18	7,5027	20,8	64,72
19	7,5045	20,9	64,40
20	7,5008	21,0	64,10
21	7,5020	20,4	66,00
22	7,5019	22,5	59,84
23	7,5018	22,3	60,37
24	7,5001	21,1	63,82
25	7,5019	19,5	69,04
26	7,5010	22,0	61,20
27	7,5008	21,1	63,82
28	7,5003	20,9	64,43
29	7,5006	22,0	61,21
30	7,5001	21,9	61,49
31	7,5008	22,3	60,38
32	7,5002	22,0	61,21
33	7,5004	22,4	60,12

## 7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos comparando dos métodos con base en los siguientes parámetros:

TABLA 19. Parámetros de calidad para el cálculo estadístico de los métodos analíticos

PARÁMETRO	FÓRMULA DE CALCULO
Promedio	$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$
Desviación estándar absoluta, $s$	$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$
Desviación estándar relativa (RSD)	$RSD = \frac{s}{\bar{x}}$
Desviación estándar de la media, $s_m$	$s_m = s / \sqrt{N}$
Coeficiente de variación, CV	$CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100\%$
Varianza	$s^2$

### 7.5.1 COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS MÉTODOS POLARIMÉTRICO Y DE HPLC EN EL ANÁLISIS DEL PORCENTAJE DE SACAROSA EN MIEL VIRGEN DE CAÑA

Tabla 20. Compilación de los datos obtenidos anteriormente por los métodos Polarimétrico y de HPLC

Muestra	HPLC (%Sacarosa)	POLARIMETRIA (%Sacarosa)	Diferencia
1	62,00	62,23	0,23
2	62,49	62,61	0,12
3	62,24	62,32	0,08
4	63,33	63,06	-0,27
5	64,29	64,25	-0,04
6	64,87	64,91	0,04
7	63,32	63,26	-0,06
8	64,18	64,21	0,03
9	65,23	65,43	0,20
10	64,15	64,24	0,09
11	65,74	65,86	0,12
12	63,48	63,51	0,03
13	63,30	63,41	0,11
14	63,25	63,30	0,05
15	63,47	63,59	0,12
16	62,94	63,06	0,12
17	62,19	64,02	1,83
18	63,92	64,07	0,15
19	63,59	63,66	0,07
20	63,51	63,79	0,28
21	63,74	63,84	0,10
22	58,78	56,80	-1,98
23	57,44	58,05	0,61
24	63,24	63,35	0,11
25	67,16	67,37	0,21
26	60,09	60,10	0,01
27	62,92	63,09	0,17
28	62,84	61,23	-1,61
29	59,92	59,88	-0,04
30	58,78	58,88	0,10
31	60,51	60,60	0,09
32	60,06	60,18	0,12
33	61,01	60,92	-0,09
<b>Media</b>	<b>62,67</b>	<b>62,70</b>	<b>0,033</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>2,111</b>	<b>2,263</b>	<b>0,579</b>



### 7.5.1.1 Coeficiente de correlación

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9674

### 7.5.1.2 Media de la población

Se realizó el cálculo a partir de las diferencias de los resultados obtenidos por los dos métodos, obteniendo el siguiente resultado:

$$\bar{x} = 0.034$$

### 7.5.1.3 Máximo

El valor máximo de las diferencias obtenido a partir de los dos métodos es:

$$\text{Max} = 1,83$$

### 7.5.1.4 Mínimo

El valor mínimo calculado de las diferencias de los dos métodos es:

$$\text{Min} = -1,98$$

### 7.5.1.5 Desviación estándar absoluta ( $s$ )

Utilizando la fórmula para la desviación estándar absoluta de la Tabla 19, se calcula para las diferencias de los datos de la tabla, obteniéndose el siguiente resultado.

$$s = 0.579 \text{ para un nivel de probabilidad de } 95\%$$

### 7.5.1.6 Desviación estándar de la media ( $s_m$ )

La desviación estándar de la media se calcula con la desviación estándar absoluta  $s$  y la raíz del número de muestras  $N = 33$ , con la fórmula para desviación estándar de la media de la Tabla 19, obteniéndose el siguiente resultado:

$$s_m = 0,579 \text{ para un nivel de probabilidad de } 95\%$$

### 7.5.1.7 Varianza ( $s^2$ )

La varianza es el cuadrado de la desviación estándar  $s$ , el resultado obtenido es el siguiente:

$$s^2 = 0.335$$

### 7.5.1.8 Test de la t para datos apareados

Se determina la variación de los datos de obtenidos por los métodos polarimétrico y de HPLC calculando el parámetro estadístico experimental  $t_{\text{exp}}$ , con la ecuación (1), utilizando la media de la diferencias  $|\bar{d}|$  y la desviación estándar de las diferencias  $|S_d|$ , obtenidos 7,8,7,7 respectivamente para cada muestra individual, donde  $n = 33$

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\bar{d}|\sqrt{n}}{s_d}$$

El resultado fue:  $t_{\text{exp}} = 0,337$

Entonces se utiliza el parámetro estadístico de control  $t$  para un nivel de confianza escogido y para determinados grados de libertad, que se encuentra en la Tabla 9.

Para un nivel de confianza 95 % y 33 grados de libertad el valor de  $t = 2,04$

No queda demostrada la presencia de diferencias significativas de los métodos debido a que el valor  $t_{\text{exp}} = 0,337$  es menor que 2,04 obtenido para un nivel de confianza de 95%.

## 7.5.2 COMPARACION ESTADISTICA DE LOS MÉTODOS REFRACTOMETRICO Y DE HPLC EN EL ANÁLISIS DEL PORCENTAJE DE SACAROSA EN MIEL VIRGEN DE CAÑA

Tabla 21. Compilación de los datos obtenidos anteriormente por los métodos Refractométrico y de HPLC

Muestra	HPLC (%Sacarosa)	BRIX (%Sacarosa)	Diferencia
1	62,00	72,52	10,52
2	62,49	71,08	8,59
3	62,24	71,16	8,92
4	63,33	72,56	9,23
5	64,29	73,64	9,35
6	64,87	74,36	9,49
7	63,32	72,68	9,36
8	64,18	72,32	8,14
9	65,23	72,88	7,65
10	64,15	72,32	8,17
11	65,74	74,08	8,34
12	63,48	72,20	8,72
13	63,30	72,20	8,90
14	63,25	72,00	8,75
15	63,47	72,00	8,53
16	62,94	72,40	9,46
17	62,19	71,84	9,65
18	63,92	72,48	8,56
19	63,59	72,24	8,65
20	63,51	72,40	8,89
21	63,74	72,68	8,94
22	58,78	73,52	14,74
23	57,44	71,68	14,24
24	63,24	72,96	9,72
25	67,16	71,64	4,48
26	60,09	68,88	8,79
27	62,92	72,20	9,28
28	62,84	71,36	8,52
29	59,92	68,60	8,68
30	58,78	70,20	11,42
31	60,51	72,36	11,85
32	60,06	71,28	11,22
33	61,01	72,08	11,07
<b>Media</b>	<b>62,67</b>	<b>72,08</b>	<b>9,42</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>2,11</b>	<b>1,20</b>	<b>1,83</b>



### 7.5.2.1 Media de la población

Se realizó el cálculo a partir de los porcentajes de Sacarosa obtenidos por los dos métodos, obteniendo el siguiente resultado:

$$\bar{x} = 9,42$$

### 7.5.2.2 Máximo

El valor máximo obtenido del conjunto total de datos es:

$$\text{Max} = 14,74$$

### 7.5.2.3. Mínimo

El valor mínimo obtenido del conjunto total de datos es:

$$\text{Min} = 4,48$$

### 7.5.2.4 Coeficiente de Correlación

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0,5027

### 7.5.2.5 Desviación estándar absoluta ( $s$ )

Utilizando la fórmula para la desviación estándar absoluta de la Tabla 19, se calcula para los datos de la tabla anterior, obteniéndose el siguiente resultado.

$$s = 1,83 \text{ para un nivel de probabilidad de } 95\%$$

### 7.2.5.6 Desviación estándar de la media ( $s_m$ )

La desviación estándar de la media se calcula con la desviación estándar absoluta  $s$  y la raíz del número de muestras  $N = 33$ , con la fórmula para desviación estándar de la media de la Tabla 19, obteniéndose el siguiente resultado:

$$s_m = 0,326 \text{ para un nivel de probabilidad de } 95\% \text{ se reportará la precisión como } 2s$$

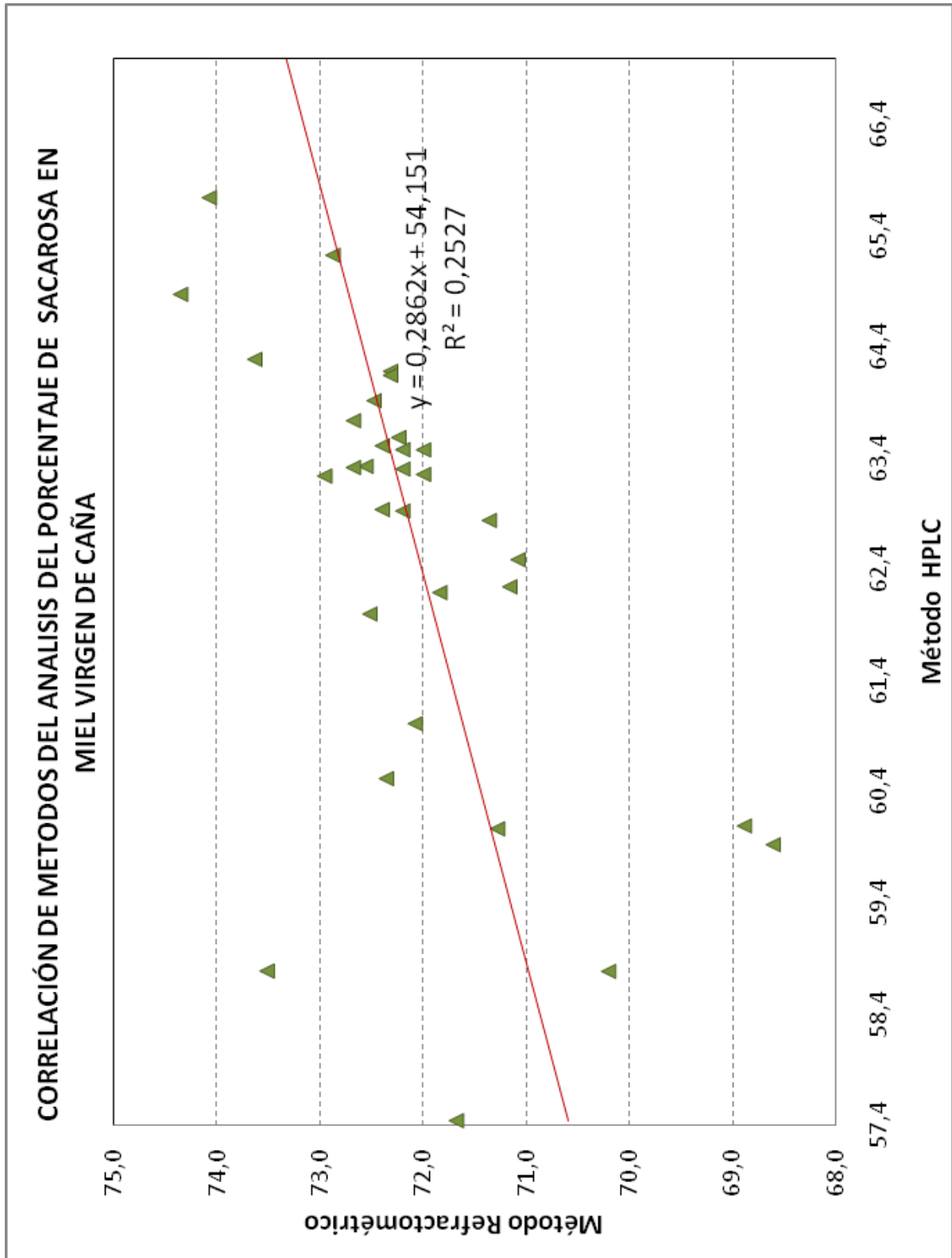


Fig.34 Grafico de correlación de los métodos Refractométrico y de HPLC en el análisis de Porcentaje de sacarosa en Miel Virgen de Caña

### 7.2.5.7 Varianza ( $s^2$ )

La varianza es el cuadrado de la desviación estándar  $s$ , el resultado obtenido es el siguiente:

$$s^2 = 3,34$$

### 7.2.5.8 Test de la t para datos apareados

Se determina la variación de los datos de obtenidos por los métodos Refractométrico y de HPLC calculando el parámetro estadístico experimental  $t_{\text{exp}}$ , con la ecuación (1), utilizando la media de la diferencias  $|\bar{d}|$  y la desviación estándar de las diferencias  $|Sd|$ , obtenidos 7,8,7,7 respectivamente para cada muestra individual, donde  $n = 33$

El resultado es  $t_{\text{exp}} = 29,6$

Entonces se utiliza el parámetro estadístico de control  $t$  para un nivel de confianza escogido y para determinados grados de libertad, que se encuentra en la Tabla 19.

Para un nivel de confianza 95 % y 33 grados de libertad el valor de  $t = 2,04$

Queda demostrada la presencia de diferencias significativas de los métodos debido a que el valor  $t_{\text{exp}} = 29,6$  es mayor que 2,04 obtenido para un nivel de confianza de 95%.

### 7.5.3 COMPARACION ESTADISTICA DE LOS MÉTODOS DE LANE Y EYNON Y DE HPLC EN EL ANÁLISIS DEL PORCENTAJE DE AZÚCARES TOTALES COMO REDUCTORES EN MIEL VIRGEN DE CAÑA

Tabla 22. Compilación de los datos obtenidos anteriormente por los métodos de HPLC y Lane y Eynon

Muestra	HPLC	ATR	Diferencia
1	63,14	62,91	0,24
2	63,65	65,34	-1,69
3	63,34	63,50	-0,16
4	64,27	65,69	-1,42
5	65,27	65,67	-0,39
6	65,86	65,02	0,84
7	64,46	65,63	-1,17
8	65,22	66,99	-1,76
9	66,28	66,01	0,27
10	65,22	66,33	-1,11
11	66,81	65,35	1,46
12	64,49	64,11	0,39
13	64,57	65,97	-1,41
14	64,25	65,04	-0,79
15	64,53	65,68	-1,16
16	64,06	63,19	0,88
17	63,32	65,04	-1,71
18	65,05	64,72	0,33
19	64,82	64,40	0,43
20	64,59	66,66	-2,07
21	64,96	66,32	-1,36
22	60,03	59,84	0,19
23	58,53	60,37	-1,84
24	64,40	63,82	0,58
25	68,18	69,04	-0,86
26	61,27	61,20	0,06
27	64,12	63,82	0,30
28	63,92	64,43	-0,51
29	61,00	61,21	-0,21
30	60,00	61,49	-1,50
31	61,42	60,38	1,03
32	61,10	61,21	-0,11
33	61,01	60,12	0,89
<b>Media</b>	<b>63,76</b>	<b>64,06</b>	<b>-0,29</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>2,09</b>	<b>2,25</b>	<b>1,02</b>

### 7.5.3.1 Media de la población

Se realizó el cálculo a partir de las diferencias de porcentajes de azúcar totales como reductores obtenidos por los dos métodos, obteniendo el siguiente resultado:

$$\bar{x} = -0,28$$

### 7.5.3.2 Máximo

El valor máximo obtenido del conjunto de datos es:

$$\text{Max} = 1,97$$

### 7.5.3.3 Mínimo

El valor mínimo obtenido del conjunto de datos es:

$$\text{Min} = -1,84$$

### 7.5.3.4 Coeficiente de Correlación

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0,8927

### 7.5.3.5 Desviación estándar absoluta ( $s$ )

Utilizando la fórmula para la desviación estándar absoluta de la Tabla 19, se calcula para los datos de la tabla anterior, obteniéndose el siguiente resultado.

$$s = 1,01 \text{ para un nivel de probabilidad de } 95\%$$

### 7.5.3.6 Desviación estándar de la media ( $s_m$ )

La desviación estándar de la media se calcula con la desviación estándar absoluta  $s$  y la raíz del número de muestras  $N = 33$ , con la fórmula para desviación estándar de la media de la Tabla 19, obteniéndose el siguiente resultado:

$$s_m = 0,176 \text{ para un nivel de probabilidad de } 95\% \text{ se reportará la precisión como } 2s$$

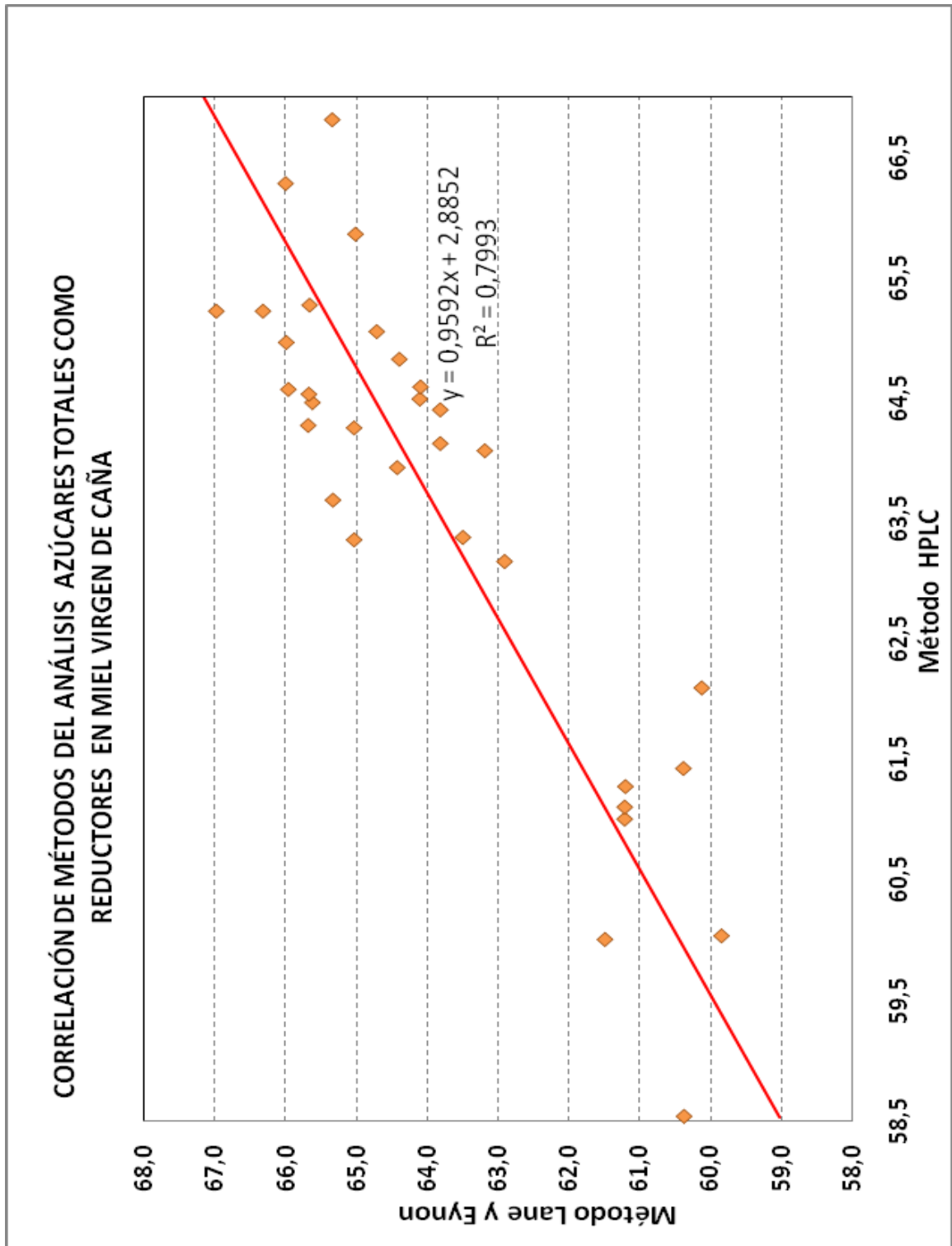


Fig 35. Grafico de correlación de los métodos Refractométrico y de HPLC en el análisis de Porcentaje de sacarosa en Miel Virgen de Caña.

### 7.5.3.7 Varianza ( $s^2$ )

La varianza es el cuadrado de la desviación estándar  $s$ , el resultado obtenido es el siguiente:

$$s^2 = 1,02$$

### 7.5.3.8 Test de la t para datos apareados

Se determina la variación de los datos de obtenidos por los métodos Refractométrico y de HPLC calculando el parámetro estadístico experimental  $t_{\text{exp}}$ , con la ecuación (1), utilizando la media de la diferencias  $|\bar{d}|$  y la desviación estándar de las diferencias  $|S_d|$ , obtenidos 7,8,7,7, respectivamente para cada muestra individual, donde  $n = 33$

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\bar{d}| \sqrt{n}}{S_d}$$

El resultado fue:

$$t_{\text{exp}} = 1,63$$

Entonces se utiliza el parámetro estadístico de control  $t$  para un nivel de confianza escogido y para determinados grados de libertad, que se encuentra en la Tabla 9.

Para un nivel de confianza 95 % y 33 grados de libertad el valor de  $t = 2.04$

No queda demostrada la presencia de diferencias significativas de los métodos debido a que el valor  $t_{\text{exp}} = 1,63$  es menor que 2.04 obtenido para un nivel de confianza de 95%.

## 8. ANALISIS DE RESULTADOS

La comparación de las metodologías utilizadas para la determinación del porcentaje de sacarosa en miel virgen de caña se basó en los resultados obtenidos del análisis de 33 muestras por duplicado que fueron analizadas por tres metodologías método polarimétrico, método refractométrico, método de HPLC y determinando para cada una el porcentaje de azúcares totales como reductores por el método de Lane y Eynon para su tratamiento estadístico recopiladas en las tablas.

Los resultados obtenidos de cada una de las tres metodologías se compararon estadísticamente con los resultados obtenidos por el método de HPLC de acuerdo a las diferencias del conjunto de datos, calculando para cada uno los valores su promedio, coeficientes de correlación, desviaciones estándar, varianzas, prueba de la t para datos apareados y gráfico de comportamiento.

### ▪ **Comparación Estadística entre el Método Polarimétrico y de HPLC**

Los valores promedios de los resultados del porcentaje de Sacarosa obtenidos por los dos métodos muestran para el conjunto de datos, un promedio de diferencia de 0,034, la desviación estándar absoluta tiene un valor de 0,579, un coeficiente de correlación de 0,9673 cerca a la unidad y un  $R^2 = 0,9358$  con una varianzas de 0,33

Estos valores muestran una buena correlación entre el método polarimétrico y el método de HPLC por su coeficiente de correlación cercano a la unidad, mostrando poca dispersión entre los valores promedio de cada muestra, evidenciada en los valores de desviación estándar absoluta y coeficiente de variación.

Se determino por la prueba de la t para datos desapareados que la variación de los datos no es significativa y que puede presentarse por errores de tipo aleatorio.



- **Comparación estadística entre el Método Refractométrico y de HPLC**

Los valores obtenidos del conjunto en la evaluación de los métodos los métodos refractométrico y de HPLC con un promedio de diferencias de 9,42, un bajo coeficiente de correlación de 0,5027 y  $R^2=0,2527$  que muestra poca relación entre los resultados. La prueba de la t para datos apareados muestra diferencias significativas entre los resultados de los métodos, para un nivel de confianza de 95%.

La desviación estándar obtenida es de 1,83 y una varianza de 3,36 evidencia una alta dispersión y variabilidad en los resultados de los dos métodos, que pueden atribuirse a que la medición de la muestra diluida presenta alteraciones como inversión de la sacarosa, aumentando la concentración de los sólidos disueltos.

- **Comparación estadística entre el método de Azúcares Totales como Reductores y de HPLC**

El análisis estadístico muestra un promedio de diferencias de -0,28. El coeficiente de correlación obtenido para el conjunto de datos es de 0,8940 con un  $R^2=0,7993$  mostrando correspondencia entre la variable de medición para los dos métodos de medición del % Sacarosa en miel virgen de Cana.

La prueba de la t para datos desapareados muestra que la variabilidad de los resultados no es significativa para un nivel de confianza del 95%, aunque muestra una alta dispersión de los datos con una desviación estándar absoluta de 1,01 y una varianza de 1,02, que puede atribuirse a los errores de tipo aleatorio debido a las condiciones del método de Lane y Eynon por especies de tipo inorgánico y otros azúcares susceptibles a reducción por el reactivo de Fehling.

## CONCLUSIONES

Se demostró la buena precisión del método polarimétrico, comparado con el de HPLC en la determinación del porcentaje de Sacarosa en Miel Virgen de Caña, comprobando así la confiabilidad de los resultados obtenidos por este método en el análisis de este tipo de muestra con alto contenido de sacarosa.

Se estableció una baja correlación entre el método Refractométrico por dilución de la muestras y de HPLC para la determinación del porcentaje de Sacarosa en Miel Virgen de Caña por diferencias significativas en los resultados al nivel de confianza seleccionado al ser un método menos selectivo.

Se determinó que el método de Lane y Eynon para la determinación de Azúcares Totales como Reductores es un método de mediana precisión comparado con el método de HPLC, presentando alta variabilidad de los resultados por las condiciones del método y la presencia de tipos de especies reductoras en la muestras.

## RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados del estudio comparativo realizado para la determinación del porcentaje de Sacarosa en Miel Virgen de Caña se recomienda utilizar el método Polarimétrico contemplado en el Manual de laboratorio basado en la Estandarización de los Sistemas de Medición en los Ingenios Azucareros de Colombia debido a la confiabilidad de los resultados su mayor rapidez y menor costo para medición de las especificaciones de la miel virgen como producto terminado.

Se debe tener en cuenta que el Método Refractométrico para la Determinación del Porcentaje de Sacarosa Contemplado en el Manual de laboratorio basado en Estandarización de los Sistemas de Medición en los Ingenios Azucareros de Colombia, que requiere dilución de la muestra no es un indicativo confiable del Porcentaje de sacarosa en Miel Virgen de Caña al nivel de significación elegido por lo que se recomienda hacer mediciones directas de las muestras (sin dilución) para evitar la alteración de los resultados.

Se recomienda al realizar los análisis de Azúcares Totales como Reductores en Miel Virgen de Caña controlar las condiciones y los tiempos de reacción estipulados en el procedimiento de los análisis, evitando así variaciones de la misma o de diferentes muestras que alteren el resultado final debido a lo susceptible del método a las condiciones externas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. BAENA CLAVIJO, Lina María., RODAS PARRA, Claudia Yanince. Validación de las metodologías para el análisis de pH, hierro, alcalinidad, sólidos suspendidos totales y aluminio para el laboratorio de análisis de aguas de la Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira 2003, 130 p. Designación trabajo de grado (Tecnóloga Química). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de tecnologías. Escuela de Química.
2. GARCIA PENA, Caridad Margarita, FERNANDEZ MENA, Dianelys, NUNEZ DE LA FUENTE, Leopoldo et al. Validación de los métodos analíticos para el control de la calidad y estudio de estabilidad del salbutamol 0,5 % en solución nebulizadora. Revista Cubana Farmacéutica. [En línea]. Mayo-ago. 2005. vol. 39. No. 2 [citado 07 Diciembre 2006], p.1-1. Disponible en Internet en: <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152005000200002&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000200002&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0034-7515.
3. GOMEZ ESCOBAR, Patricia., RAMIREZ LOZANO, Carlos Vicente., ARISTIZABAL TOBÓN, Gustavo. Prospecto de Emisión y colocación: Títulos de Contenido Crediticio -Azúcar Ingenio La Cabaña-. [En línea]. Bogotá Fiduciaria Corfinsura (abril de 2003) [Citado el 23 agosto de 2006]. Disponible en Internet <URL: [www.fiducorfinansura.com/Documentos/Experiencia/\\_LaCabana/LaCabana01\\_030401.pdf](http://www.fiducorfinansura.com/Documentos/Experiencia/_LaCabana/LaCabana01_030401.pdf)>
4. GALINDO RIVAS, Helver., *Programa de procesos Fábrica: Estandarización de los sistemas de Gestión En los Ingenios Azucareros*. En: Informe Anual 2005. Cali: Cenicaña. 96P.
5. INGENIO PICHICHÍ S.A., Nuestra historia: Una Tradición hecha con ingenio. En: Boletín Institucional. No. 1., (febrero de 1998)., 8P.
6. INGENIO PICHICHÍ S.A., Informe social y ambiental 2005. Guacarí: División de Recursos Humanos, Departamento de Salud Ocupacional y Capacitación (enero 2006). 48 P.
7. INGENIO PICHICHÍ S.A., Políticas del Ingenio. [ En línea]. Guacarí: Ingenio Pichichí S.A. (noviembre de 2006).[Citado el 17 de noviembre de 2006]. Disponible desde Internet en: <URL:<http://www.ingeniopichichi.com/pichichi/politicas.html>>.
8. INGENIO PICHICHÍ S.A., Producción y Productos. [En línea]. Guacarí: Ingenio Pichichí S.A. (noviembre de 2006).[Citado el 17 de noviembre de 2006]. Disponible desde Internet en: <URL: <http://www.ingeniopichichi.com/pichichi/productos.html> >.

9. TECNICAÑA., Manual de laboratorio para el análisis azucarero Tecnicaña. Cali: Capacitación Técnica para la Agroindustria Azucarera. 1986. 267 P
10. INTERNATIONAL COMMISSION FOR UNIFORM METHODS OF SUGAR ANALYSIS. The Determination of Sucrose, Glucosa and Fructosa by HPLC in Cane Molasses. Germany: ICUMSA 2005 (GS7/4/8-23/2002). ISBN 3870405517.
11. INTERNATIONAL COMMISSION FOR UNIFORM METHODS OF SUGAR ANALYSIS. The Determination of Apparent Sucrose in Molasses by a Double Polarisation Method. Germany: ICUMSA 2005 (GS4/3-7(1994)). ISBN 3870405517.
12. INTERNATIONAL COMMISSION FOR UNIFORM METHODS OF SUGAR ANALYSIS. The Determination of total reducing sugars in Refined Sirups and Cane Molasses after Hidrólisis by a Double Polarisation Method. Germany: ICUMSA 2005 (GS4/7-1(1994)). ISBN 3870405517
13. VILLAVECES PARDO, Ricardo. Bull et al. Aspectos Generales del Sector Azucarero 2005-2006 [en línea]. Formato PDF. Cali. Asocaña [citado el 8 de agosto de 2006] Disponible en internet: [http://www.asocana.com.co/informes/2005\\_2006/informe.pdf](http://www.asocana.com.co/informes/2005_2006/informe.pdf)
14. DEL RIO GIL, Liliana Shirley. Estudio comparativo de dos agentes clarificantes para el análisis de materiales del proceso de fabricación de azúcar. Pereira 2004, 7 p. Designación trabajo de grado (Tecnóloga Química). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de tecnologías. Escuela de Química.
15. TENORIO, Yolanda., Bull at. Estandarización de los Sistemas de De Medición en los Ingenios Azucareros de Colombia: Manual de laboratorio. Cali: CENICAÑA (1996). Vol 1. P 109. ISBN 958931-6.
16. SKOOG, A Douglas., HOLLER, James F., NIEMAN, Timothy. Principios de Análisis Instrumental 5 Ed. Madrid: Mc Graw Hill. P1028.
17. Evaluación técnica de dos métodos para la decoloración e inversión de licores filtrados en la refinería de azúcar del Ingenio Risaralda. Pereira 2004, 89 p. Designación trabajo de grado (Tecnóloga Química). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de tecnologías. Escuela de Química.
18. HARVEY, David., Química Analítica Moderna. Madrid: Mc Graw Hill. 2002. 571P
19. DIEZ , A Oscar., Diaz, F Hector. Determinación de Sacarosa Fructosa y Glucosa por Cromatografía Líquida de alta presión (HPLC). En: Revista Industrial Y agrícola de Tucumán. Vol. 69. No. 2 (1992). P 87-92.

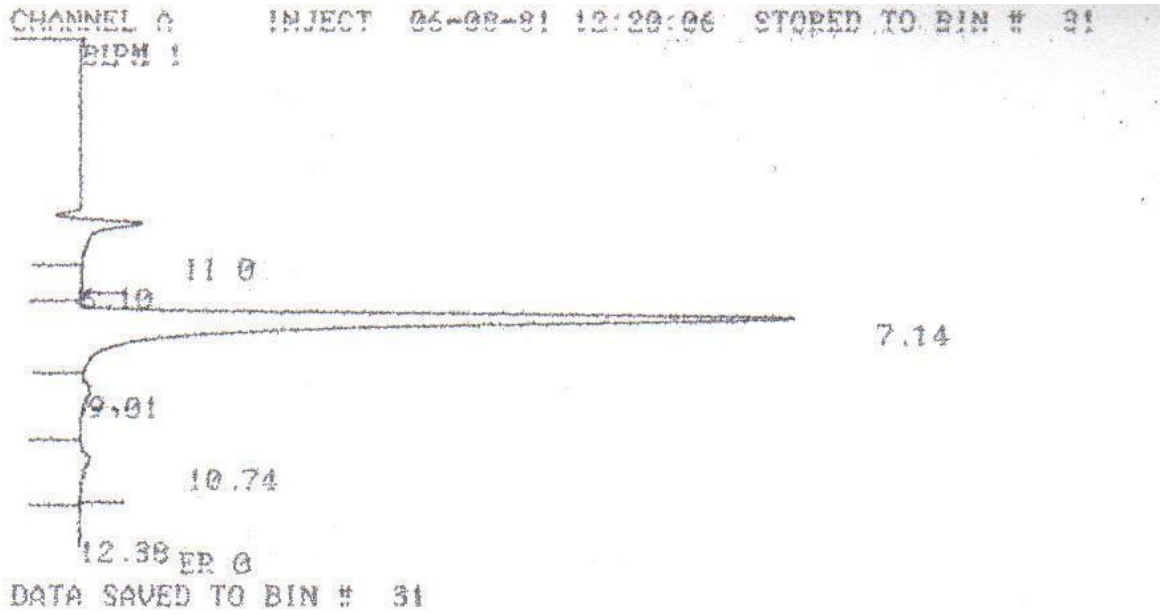
20. MEADE, George P. Manual del Azúcar de Caña: para fabricantes de azúcar de caña y químicos especializados. 9 Ed. Barcelona: Montaner y Simon S.A.. Copyright 1963. P3-25,305-325,457-502.
21. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Industrias Alimenticias. Bebidas Alcohólicas: Miel de Caña de Azúcar. Bogotá: ICONTEC 1986. 8P II (NTC 1846).
22. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Miel Virgen de Caña: Método para Determinar azúcares Totales como Reductores. Bogotá: ICONTEC 1179. 1986. 8PII (NTC 1846).
23. CHEN C. P, James. Manual del azúcar de caña: para fabricantes de la caña de azúcar y químicos especializados. México: editorial Limusa 1996. P 1203. ISBN 0-471866504
24. Mc MURRY. Química orgánica 5 Ed. México: Tomphoson editores 2001.
25. TONELLATO, mauro. chimica dei carboidrati [en línea]. Formato MHTML. italia. Pianeta chimica [citado el 11 de agosto de 2006] Disponible en internet:
26. INGENIO PICHICHÍ S.A., Proceso de elaboración de azúcar de caña. Guacarí: División de Gestión de la Calidad, Documento de Capacitación.
27. AUGIER, Ángel., Un Plan de Diversificación Agrícola e Industrial de Cuba. Utilizando el Ingenio Azucarero como Centro Fabril Organizado”. En: Bohemia Vol. 44. No. 8 (1952). P 4
28. HERNÁNDEZ, L. y GONZÁLEZ, C. Introducción al análisis instrumental. España: Ed. Ariel Ciencia. 2002. P 578
29. CHICHARRO, Manuel., Bull et al. Cromatografía Principios y Aplicaciones [en línea]. Formato PDF. [citado el 15 de junio de 2007]. Disponible en internet: [http://www.profeonline.com/laboratorioquimico/mod\\_12/docs/cromatografia\\_principios\\_y\\_aplicaciones.pdf](http://www.profeonline.com/laboratorioquimico/mod_12/docs/cromatografia_principios_y_aplicaciones.pdf)
30. TEMA6. España. Escuela superior de Ingenieros de Montes [en línea]. Formato PDF. Madrid. Universidad politécnica de Madrid [citado el 8 de agosto de 2006] Disponible en internet: <http://www.montes.upm.es/Dptos/DptoIngForestal/OperacionesBasicas/Docencia/PDF/Temas/TEMA6.pdf>
31. GIACOMINI, Cecilia. Fundamentos de cromatografía de Intercambio Iónico [en línea]. Formato PDF. Uruguay. Institut Pasteur de Montevideo: Unidad Asociada de Bioquímica [citado el 1 de septiembre de 2007] Disponible en

internet:

<http://iqb.fcien.edu.uy/pdf/Repartido%20de%20Intercambio%20I%F3nico.pdf>

32. AVILLA, Joseph A., Lo Esencial Acerca del Intercambio Iónico. En: Resumen Compendio de trabajo presentado en la XXV Conferencia Anual de la Water Quality Association (WQA) 1999. Filadelfia. Resintech Inc. [citado el 15 de septiembre de 2007] Disponible en internet: <http://mx.geocities.com/ionopura/5-6-02avilla.pdf>.
33. RODRIGUEZ, Margarita. Cromatografía Líquida [en línea]. Formato PDF. San Juan de Puerto Rico. La Pontificia Universidad Católica de Puerto Rico: Departamento de Química y Ciencia General. [citado el 18 de septiembre de 2007] Disponible en internet: <http://marc.pucpr.edu/facultad/mrodriguez/PDF/Q420/Cap%2026.pdf>
34. INGENIO PICHICHI, Técnicas ópticas. Curso de refractometría. Departamento de Metrología. 2002
35. PEREZ, Rafael. Cultivos de Importancia Nacional [en línea]. Formato PDF. Lima. ministerio de agricultura del Perú: Portal agrario. [citado el 3 de noviembre de 2007] Disponible en internet: [http://www.minag.gob.pe/agricola/azucar\\_etanol.html](http://www.minag.gob.pe/agricola/azucar_etanol.html)
36. HIGUERA, Oscar F. Bull et al. Biocombustibles y su aplicación en Colombia. En: Scientia et Technica: Universidad Tecnológica de Pereira. Año XIII, No 34 (Mayo de 2007). ISSN 0122-1701
37. SOLERA, Marco. La caña de azúcar como materia prima para la producción de alcohol carburante [en línea]. Formato PDF. San José de Costa Rica. Infoagro: Sistema de información del sector agropecuario [citado el 3 de noviembre de 2007] Disponible en internet: <http://www.infoagro.go.cr/tecnologia/ALCOHOLCARBURANTE.pdf>
38. Producción de levaduras para panificación [en línea]. Formato PDF. Organización de los Estados Americanos: departamento de Educación y Cultura. [citado el 4 de octubre de 2007] Disponible en internet: [http://www.science.oas.org/Simbio/mbio\\_ind/cap8\\_mi.pdf](http://www.science.oas.org/Simbio/mbio_ind/cap8_mi.pdf)

**ANEXO 1. CROMATOGRAMA TÍPICO DEL ANÁLISIS DE MIEL VIRGEN DE CAÑA POR EL MÉTODO DE HPLC**



FILE	METHOD	RUN	INDEX	CH	PS
1.	0.	31	31	"0"	PS
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC	
1	0.129	6.1	3894	61	
2	97.064	7.14	2775934	08	
3	1.054	9.01	26018	65	
4	1.614	10.74	12323	61	
5	0.139	12.38	4180	61	
TOTAL	100.		8010681		



**ANEXO 2. TABLA DE SCHIMITZ PARA LA INTERPOLACION DEL PORCENTAJE DE SACAROSA POR EL METODO POLARIMETRICO.**

**TABLA II**

**Tabla de Schmitz para el pol en el jugo utilizando el método del subacetato de plomo con soluciones no diluidas. Peso normal de 26,000 g.**

Lectura Abstrimétrica	Grados Brix																Lectura polarimétrica					
	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5		9.0	9.5	10.0	10.5	11.0
1	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
2	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31
3	0.38	0.38	0.38	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
4	0.44	0.44	0.44	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43
5	0.50	0.50	0.50	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49
6	0.56	0.56	0.55	0.55	0.55	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53
7	0.62	0.62	0.61	0.61	0.61	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
8	0.68	0.68	0.67	0.67	0.67	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65
9	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
10	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77
11	0.86	0.86	0.85	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83
12	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89
13	0.98	0.98	0.97	0.97	0.97	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
14	1.04	1.04	1.03	1.03	1.03	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01
15	1.10	1.10	1.09	1.09	1.09	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07
16	1.16	1.16	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13
17	1.22	1.22	1.21	1.21	1.21	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19
18	1.28	1.28	1.27	1.27	1.27	1.26	1.26	1.26	1.26	1.26	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
19	1.34	1.34	1.33	1.33	1.33	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31
20	1.40	1.40	1.39	1.39	1.39	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37	1.37
21	1.46	1.46	1.45	1.45	1.45	1.44	1.44	1.44	1.44	1.44	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43
22	1.52	1.52	1.51	1.51	1.51	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49
23	1.58	1.58	1.57	1.57	1.57	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55	1.55
24	1.64	1.64	1.63	1.63	1.63	1.62	1.62	1.62	1.62	1.62	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61
25	1.70	1.70	1.69	1.69	1.69	1.68	1.68	1.68	1.68	1.68	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67
26	1.76	1.76	1.75	1.75	1.75	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73	1.73
27	1.82	1.82	1.81	1.81	1.81	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79	1.79
28	1.88	1.88	1.87	1.87	1.87	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85
29	1.94	1.94	1.93	1.93	1.93	1.92	1.92	1.92	1.92	1.92	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91
30	2.00	2.00	1.99	1.99	1.99	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97	1.97
31	2.06	2.06	2.05	2.05	2.05	2.04	2.04	2.04	2.04	2.04	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03	2.03
32	2.12	2.12	2.11	2.11	2.11	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09
33	2.18	2.18	2.17	2.17	2.17	2.16	2.16	2.16	2.16	2.16	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15
34	2.24	2.24	2.23	2.23	2.23	2.22	2.22	2.22	2.22	2.22	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21
35	2.30	2.30	2.29	2.29	2.29	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27	2.27
36	2.36	2.36	2.35	2.35	2.35	2.34	2.34	2.34	2.34	2.34	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33
37	2.42	2.42	2.41	2.41	2.41	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39	2.39
38	2.48	2.48	2.47	2.47	2.47	2.46	2.46	2.46	2.46	2.46	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45	2.45
39	2.54	2.54	2.53	2.53	2.53	2.52	2.52	2.52	2.52	2.52	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51
40	2.60	2.60	2.59	2.59	2.59	2.58	2.58	2.58	2.58	2.58	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57

Continúa

TABLA II - continuación

Lectura polimétrica	Grados Brix																Lectura polimétrica		
	11.5	12.0	12.5	13.0	13.5	14.0	14.5	15.0	15.5	16.0	16.5	17.0	17.5	18.0	18.5	19.0		19.5	20.0
1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
2	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
3	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
4	1.00	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
5	1.25	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.24	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23
6	1.50	1.49	1.49	1.49	1.48	1.48	1.48	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47
7	1.74	1.74	1.74	1.73	1.73	1.73	1.73	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72	1.72
8	1.99	1.99	1.99	1.98	1.98	1.97	1.97	1.97	1.96	1.96	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95
9	2.24	2.24	2.24	2.23	2.23	2.22	2.22	2.21	2.21	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20
10	2.49	2.49	2.48	2.48	2.47	2.47	2.46	2.46	2.45	2.45	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44
11	2.74	2.74	2.73	2.72	2.72	2.71	2.71	2.70	2.70	2.69	2.69	2.68	2.68	2.68	2.68	2.68	2.68	2.68	2.68
12	2.99	2.98	2.98	2.97	2.97	2.96	2.95	2.95	2.94	2.94	2.93	2.92	2.92	2.92	2.92	2.92	2.92	2.92	2.92
13	3.24	3.23	3.23	3.22	3.21	3.21	3.20	3.19	3.19	3.18	3.17	3.17	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16	3.16
14	3.49	3.48	3.47	3.47	3.46	3.45	3.45	3.44	3.43	3.43	3.42	3.41	3.41	3.40	3.40	3.40	3.40	3.40	3.40
15	3.74	3.73	3.72	3.72	3.71	3.70	3.69	3.69	3.68	3.67	3.66	3.66	3.65	3.64	3.64	3.64	3.64	3.64	3.64
16	3.99	3.98	3.97	3.96	3.96	3.95	3.94	3.93	3.92	3.92	3.91	3.90	3.89	3.88	3.88	3.88	3.88	3.88	3.88
17	4.24	4.23	4.22	4.21	4.20	4.19	4.19	4.18	4.17	4.16	4.15	4.14	4.14	4.12	4.12	4.12	4.12	4.12	4.12
18	4.49	4.48	4.47	4.46	4.45	4.44	4.43	4.42	4.41	4.41	4.40	4.39	4.38	4.37	4.36	4.36	4.36	4.36	4.36
19	4.73	4.73	4.72	4.71	4.70	4.69	4.68	4.67	4.66	4.65	4.64	4.63	4.62	4.61	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60
20	4.98	4.97	4.96	4.95	4.94	4.93	4.92	4.91	4.90	4.89	4.88	4.87	4.86	4.85	4.84	4.84	4.84	4.84	4.84
21	5.23	5.22	5.21	5.20	5.19	5.18	5.17	5.16	5.15	5.14	5.13	5.12	5.11	5.10	5.09	5.09	5.09	5.09	5.09
22	5.48	5.47	5.46	5.45	5.44	5.43	5.42	5.41	5.39	5.38	5.37	5.36	5.35	5.34	5.33	5.33	5.33	5.33	5.33
23	5.73	5.72	5.71	5.70	5.69	5.67	5.66	5.65	5.64	5.63	5.62	5.61	5.59	5.58	5.57	5.57	5.57	5.57	5.57
24	5.98	5.97	5.96	5.95	5.93	5.92	5.91	5.90	5.89	5.87	5.86	5.85	5.84	5.83	5.81	5.81	5.81	5.81	5.81
25	6.23	6.22	6.21	6.19	6.18	6.17	6.16	6.14	6.13	6.12	6.11	6.09	6.08	6.07	6.06	6.06	6.06	6.06	6.06
26	6.48	6.47	6.45	6.44	6.43	6.41	6.40	6.39	6.38	6.36	6.35	6.34	6.32	6.31	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30
27	6.73	6.72	6.70	6.69	6.67	6.66	6.65	6.63	6.62	6.61	6.59	6.58	6.57	6.55	6.54	6.54	6.54	6.54	6.54
28	6.98	6.96	6.95	6.94	6.92	6.91	6.89	6.88	6.87	6.85	6.84	6.82	6.81	6.80	6.78	6.78	6.78	6.78	6.78
29	7.23	7.21	7.20	7.18	7.17	7.15	7.14	7.13	7.11	7.10	7.08	7.07	7.05	7.04	7.03	7.03	7.03	7.03	7.03
30	7.48	7.46	7.45	7.43	7.42	7.40	7.39	7.37	7.36	7.34	7.33	7.31	7.30	7.28	7.27	7.27	7.27	7.27	7.27
31	7.73	7.71	7.69	7.68	7.66	7.65	7.63	7.62	7.60	7.59	7.57	7.56	7.54	7.52	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51
32	7.97	7.96	7.94	7.93	7.91	7.89	7.88	7.86	7.85	7.83	7.82	7.80	7.78	7.77	7.75	7.75	7.75	7.75	7.75
33	8.22	8.21	8.19	8.18	8.16	8.14	8.13	8.11	8.09	8.08	8.06	8.04	8.03	8.01	7.99	7.99	7.99	7.99	7.99
34	8.47	8.46	8.44	8.42	8.41	8.39	8.37	8.35	8.34	8.32	8.30	8.29	8.27	8.25	8.24	8.24	8.24	8.24	8.24
35	8.72	8.70	8.69	8.67	8.65	8.64	8.62	8.60	8.58	8.57	8.55	8.53	8.51	8.50	8.48	8.48	8.48	8.48	8.48
36	8.97	8.95	8.94	8.92	8.90	8.88	8.86	8.85	8.83	8.81	8.79	8.77	8.76	8.74	8.72	8.72	8.72	8.72	8.72
37	9.22	9.20	9.18	9.17	9.15	9.13	9.11	9.09	9.07	9.05	9.04	9.02	9.00	8.98	8.96	8.96	8.96	8.96	8.96
38	9.47	9.45	9.43	9.41	9.39	9.36	9.34	9.32	9.31	9.29	9.28	9.26	9.24	9.22	9.20	9.20	9.20	9.20	9.20
39	9.72	9.70	9.68	9.66	9.64	9.62	9.60	9.58	9.56	9.54	9.52	9.51	9.49	9.47	9.45	9.45	9.45	9.45	9.45
40	9.97	9.95	9.93	9.91	9.89	9.87	9.85	9.83	9.81	9.79	9.77	9.75	9.73	9.71	9.69	9.69	9.69	9.69	9.69

Continúa

**TABLA II - continuación**

Lectura polarimétrica	Grados Brix															Lectura polarimétrica		
	11.5	12.0	12.5	13.0	13.5	14.0	14.5	15.0	15.5	16.0	16.5	17.0	17.5	18.0	18.5		19.0	19.5
41	10.22	10.20	10.18	10.16	10.14	10.12	10.09	10.07	10.05	10.03	10.01	9.99	9.97	9.95	9.93	9.91	9.89	41
42	10.47	10.45	10.42	10.40	10.38	10.36	10.34	10.32	10.30	10.28	10.26	10.24	10.22	10.20	10.17	10.15	10.13	42
43	10.71	10.69	10.67	10.65	10.63	10.61	10.59	10.57	10.54	10.52	10.50	10.48	10.46	10.44	10.42	10.40	10.37	43
44	10.96	10.94	10.92	10.90	10.88	10.86	10.83	10.81	10.79	10.77	10.75	10.72	10.70	10.68	10.66	10.64	10.62	44
45	11.21	11.19	11.17	11.15	11.12	11.10	11.08	11.06	11.04	11.01	10.99	10.97	10.95	10.92	10.90	10.88	10.86	45
46	11.46	11.44	11.42	11.39	11.37	11.35	11.33	11.30	11.28	11.26	11.23	11.21	11.19	11.17	11.14	11.12	11.10	46
47	..	11.69	11.67	11.64	11.62	11.60	11.57	11.55	11.53	11.50	11.48	11.46	11.43	11.41	11.39	11.36	11.34	47
48	..	11.94	11.91	11.89	11.87	11.84	11.82	11.79	11.77	11.75	11.72	11.70	11.68	11.65	11.63	11.60	11.58	48
49	..	..	12.16	12.14	12.11	12.09	12.06	12.04	12.02	11.99	11.97	11.94	11.92	11.89	11.87	11.85	11.82	49
50	..	..	..	12.39	12.36	12.34	12.31	12.29	12.26	12.24	12.21	12.19	12.16	12.14	12.11	12.09	12.06	50
51	..	..	..	12.63	12.61	12.58	12.56	12.53	12.51	12.48	12.46	12.43	12.41	12.38	12.35	12.33	12.30	51
52	..	..	..	..	12.86	12.83	12.80	12.78	12.75	12.73	12.70	12.67	12.65	12.62	12.60	12.57	12.55	52
53	..	..	..	..	13.10	13.08	13.05	13.02	13.00	12.97	12.94	12.92	12.89	12.87	12.84	12.81	12.79	53
54	..	..	..	..	..	13.32	13.30	13.27	13.24	13.22	13.19	13.16	13.13	13.11	13.08	13.05	13.03	54
55	..	..	..	..	..	13.57	13.54	13.51	13.49	13.46	13.43	13.41	13.38	13.35	13.32	13.30	13.27	55
56	..	..	..	..	..	..	13.79	13.76	13.73	13.70	13.68	13.65	13.62	13.59	13.57	13.54	13.51	56
57	..	..	..	..	..	..	14.03	14.01	13.98	13.95	13.92	13.89	13.86	13.84	13.81	13.78	13.75	57
58	..	..	..	..	..	..	14.28	14.25	14.22	14.19	14.17	14.14	14.11	14.08	14.05	14.02	13.99	58
59	..	..	..	..	..	..	..	14.50	14.47	14.44	14.41	14.38	14.35	14.32	14.29	14.26	14.23	59
60	..	..	..	..	..	..	..	14.74	14.71	14.68	14.65	14.62	14.59	14.56	14.53	14.51	14.48	60
61	..	..	..	..	..	..	..	14.96	14.93	14.90	14.87	14.84	14.81	14.78	14.75	14.72	14.69	61
62	..	..	..	..	..	..	..	15.11	15.08	15.05	15.02	14.99	14.96	14.93	14.90	14.87	14.84	62
63	..	..	..	..	..	..	..	15.36	15.33	15.30	15.27	15.24	15.21	15.18	15.15	15.12	15.09	63
64	..	..	..	..	..	..	..	15.60	15.57	15.54	15.51	15.48	15.45	15.42	15.39	15.36	15.33	64
65	..	..	..	..	..	..	..	15.83	15.80	15.77	15.74	15.71	15.68	15.65	15.62	15.59	15.56	65
66	..	..	..	..	..	..	..	16.07	16.04	16.01	15.98	15.95	15.92	15.89	15.86	15.83	15.80	66
67	..	..	..	..	..	..	..	16.31	16.28	16.25	16.22	16.19	16.16	16.13	16.10	16.07	16.04	67
68	..	..	..	..	..	..	..	16.55	16.52	16.49	16.46	16.43	16.40	16.37	16.34	16.31	16.28	68
69	..	..	..	..	..	..	..	16.79	16.76	16.73	16.70	16.67	16.64	16.61	16.58	16.55	16.52	69
70	..	..	..	..	..	..	..	17.03	17.00	16.97	16.94	16.91	16.88	16.85	16.82	16.79	16.76	70
71	..	..	..	..	..	..	..	17.27	17.24	17.21	17.18	17.15	17.12	17.09	17.06	17.03	17.00	71
72	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	72
73	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	73
74	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	74
75	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	75
76	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	76
77	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	77
78	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	78
79	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	79
80	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	..	80

Continúa