



Revista Industrial
y Agrícola de
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea
1851-3018

Tomo 102 (1):
3-7; 2025



ESTACION EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

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

Determinación de azúcares reductores totales en cachaza

Paula M. Díez*, Rubén A. Jiménez*, Cristian A. Aballay*, Alvaro N. Rementería*
Natalia R. Sorol*

*Sección Química de Productos Agroindustriales. EEAOC. Email: pmdiez@eeaoc.org.ar

RESUMEN

La producción simultánea de azúcar y alcohol a partir de caña de azúcar es una de las más importantes fuentes de ingreso económica en Tucumán – Argentina. La evaluación de la eficiencia en la producción de azúcar cristal se viene realizando históricamente mediante el control por balance de sacarosa, a través de la Pol en caña, el azúcar obtenido físicamente, y la sacarosa perdida en las principales corrientes residuales del sistema productivo (bagazo, cachaza y melaza). Para evaluar la producción de etanol se hace necesario contar con un control por balance similar al de la producción de azúcar cristal, donde la variable a controlar debe ser necesariamente el contenido de Azúcares Reductores Totales (ART).

Desde el Laboratorio de Investigaciones Azucareras (LIA) de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) se desarrolló y puso a punto una metodología de análisis directo modificada, que permite cuantificar el contenido de ART en la caña y en el bagazo. Esta metodología se suma a las ya establecidas para el análisis de ART en melaza y en azúcar; y queda, para completar el balance, disponer de una técnica que cuantifique los ART en cachaza, siendo éste último el objetivo del presente trabajo de investigación.

Para la detección de los ART en muestras de cachaza, se utilizó la técnica modificada del método químico de reducción de cobre, denominada Fehling Causse-Bonnans, por ser una metodología que permite visualizar mejor el punto final de la reacción. Para la aceptación de los datos analíticos, se estableció un coeficiente de variación porcentual de $\pm 5\%$ para los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad. Los resultados obtenidos cumplen con el criterio establecido, obteniéndose % CV menores al 2%.

Palabras clave: Fehling Causse-Bonnans, ART, balance de sacarosa mediante Pol.

ABSTRACT

Determination of total reducing sugars in filter cake

The simultaneous production of sugar and alcohol from sugar cane is one of the most important sources of income in Tucumán – Argentina. Historically, the assessment of efficiency in cristal sugar production has been conducted through the control of the sucrose balance entering the sugar cane and the physically obtained sugar, plus the sucrose lost in the main waste streams of the production system (bagasse, filter cake, and molasses). To evaluate ethanol production, it's necessary to have a similar balance control as with crystal sugar production, where the variable to be monitored must necessarily be the Total Reducing Sugars content (TRS).

From the Sugar Research Laboratory (SRL) of the Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), a modified direct analysis methodology was developed and refined, allowing for the quantification of TRS content in cane and bagasse. This methodology complements the established ones for TRS analysis in molasses and sugar. To complete the balance, a technique to quantify TRS in filter cake is needed, which is the objective of this research work.

For the detection of TRS in filter cake samples, the modified technique of the copper reduction chemical method, known as Fehling Causse-Bonnans, was used. This methodology allows for better visualization of the end point of their action. To accept the analytical data, a coefficient of variation of ± 5 was established for repeatability and reproducibility tests. The results obtained meet the established criteria, with % CV values lower than 2%.

Key words: Fehling Causse-Bonnans, ART, sucrose balance by Pol analysis.

Fecha de
recepción:
21/01/2025

Fecha de
aceptación:
12/08/2025

■ INTRODUCCIÓN

La industria azucarera tiene un gran impacto en la actividad económica de la provincia de Tucumán, por lo tanto, cualquier mecanismo que contribuya a evaluar la calidad de la caña y las pérdidas de azúcar en el proceso, y maximizar la rentabilidad del proceso industrial resulta de significativa importancia.

Actualmente, son dos los métodos usados para determinar la calidad de la materia prima en el proceso azucarero. El método indirecto o método de trapiche: determinando el contenido de sacarosa aparente y la pureza del jugo de primera presión y usando el factor de Java, se estima el contenido de sacarosa de la caña que ingresa a la industria. El otro método, empleado por algunos ingenios, es el método por prensa hidráulica: de manera directa se obtiene la calidad de la materia prima que permite conocer el rendimiento esperado (Romero *et al.*, 2009).

En el LIA de la EEAOC se desarrolló y puso a punto una modificación del método de digestión húmeda, que permite, de una manera directa y más precisa, evaluar la calidad de la caña que ingresa al ingenio. (Sorol *et al.*, 2024). En el desarrollo de este método se incluyó la determinación de ART. Realizar esta no es necesario para determinar la calidad de la caña en relación a la producción de azúcar, pero debido a que en el proceso industrial no sólo se obtiene azúcar sino también alcohol, al hablar de rendimientos es necesario realizar un balance de este parámetro en la industria suroalcoholera.

Para realizar este balance es necesario conocer la cantidad de azúcares que ingresa al proceso industrial con la materia prima, la cantidad de azúcares que sale con las corrientes de azúcar y de melaza (principal subproducto que se utiliza para la obtención de alcohol), y la cantidad de azúcares que se pierde en el bagazo y en la cachaza. Con el método desarrollado en el laboratorio se puede conocer la cantidad de ART que ingresa al proceso con la materia prima. Este método se puso a punto, además, para permitir evaluar este parámetro en el bagazo. El azúcar y la melaza cuentan con métodos para el análisis de ART estandarizados, quedando solamente para estudiar las pérdidas de estos componentes en la cachaza, que es el objetivo del presente estudio.

La cachaza es un residuo que se obtiene en el proceso de clarificación de los jugos de caña. Durante este proceso se obtiene el jugo clarificado que se envía a la fábrica y un lodo que precipita en el fondo del decantador. Al lodo se lo filtra para recuperar la mayor parte del jugo, quedando como producto lo que se conoce como cachaza, que contiene restos de azúcares que no se recuperan. Los azúcares que se encuentran presentes en la caña en mayor proporción son sacarosa; y en menor proporción, glucosa y fructosa (Rein, 2007). La sacarosa, azúcar no reductor, es un disacárido formado por la unión de dos monosacáridos, glucosa y fructosa. La glucosa es un polihidroxialdehído, mientras que la fructosa es una polihidroxiketona.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y poner a punto un método que permitiera cuantificar la cantidad de azúcares reductores totales que se pierde en la cachaza,

basado en el método químico de la reducción del cobre.

■ MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo la determinación de ART en muestras de cachaza, primero se sometieron las muestras a una hidrólisis ácida con el objetivo de degradar la sacarosa, para que luego, durante una reacción de titulación en un medio básico, toda la fructosa presente se isomerice, obteniéndose como producto final glucosa con capacidad de reducir al cobre.

El método de determinación de ART fue optimizado utilizando muestras de cachaza provenientes de diferentes ingenios. Su precisión se evaluó mediante ensayos de repetibilidad y reproducibilidad, en los que dos analistas realizaron siete determinaciones bajo las mismas condiciones experimentales. Como criterio de aceptación, se estableció un coeficiente de variación porcentual (CV %) igual o inferior al $\pm 5\%$.

Dado que las muestras de cachaza analizadas presentaron similares porcentajes de sacarosa aparente, para verificar la precisión del método en un amplio rango de concentración de sacarosa aparente se aplicó el mismo procedimiento con muestras patrón de azúcar refinado. Estas soluciones patrón se prepararon considerando la cantidad de sacarosa que podría contener una suspensión de cachaza con valores de Pol de 3%, 7% y 10%. Las determinaciones fueron realizadas por quintuplicado y se mantuvo como criterio de aceptación un coeficiente de variación porcentual de $\pm 5\%$.

— Fundamento del método químico

A la temperatura de ebullición, los azúcares reductores reaccionan con los iones Cu^{2+} (provenientes del CuSO_4) y lo reducen; este proceso ocurre de forma muy lenta en medio neutro; para aumentar la velocidad de la reacción se debe trabajar en medio básico, lo que produce la precipitación del hidróxido cúprico en el medio. Para eliminar este inconveniente se incorpora al medio de la reacción un tercer ingrediente: el tartrato de sodio y potasio. El ión tartrato es capaz de unirse al ion Cu^{2+} formando un complejo de color azul intenso. El ión Cu^+ , formado por la reducción del Cu^{2+} , no es estable en medio básico y precipita como óxido cuproso.

Para lograr mayor nitidez en el punto final de la valoración, se decidió utilizar la modificación del método de Fehling denominada Fehling-Causse-Bonnans, (AOAC, 1964). Esta metodología agrega el ferrocianuro de potasio a la solución. El ión ferrocianuro es capaz de formar un complejo con el Cu^+ de color amarillo verdoso. Esa coloración, fácil de ser visualizada, dura unos instantes, y rápidamente se convierte en un precipitado castaño, complicando la apreciación del punto final. Para resolver ese inconveniente se agrega unas gotas de azul de metileno como indicador redox. Una vez obtenida la reducción total del cobre presente en el licor, el exceso de azúcar agregado interactúa con el indicador reduciéndolo a su forma incolora (el azul de metileno en su forma oxidada es de color azul).

Procedimiento Técnico - Insumos

Licor de Fehling- Cause- Bonnans (F.C.B.) (g/L):
 Tartrato de sodio y potasio.....130,00 g
 Hidróxido de sodio.....110,00 g
 Sulfato cúprico pentahidratado.....24,00 g
 Ferrocianuro de potasio.....16,80 g

Solución de ácido clorhídrico 3+1 (v/v)
 Solución de hidróxido de sodio 2 N
 Solución de azul de metileno 1% (p/v)
 Solución de fenoltaleína 1% (p/v)
 Solución de trabajo de azúcar invertido
 (ICUMSA, 2011b)

Estandarización del Licor de Fehling

En un Erlenmeyer de 250 ml, colocar 15 ml de licor F.C.B., 43 ml de agua destilada y 15 ml de solución de trabajo de azúcar invertido al 0,25% desde una bureta. Mezclar suavemente. Colocar sobre un calentador hasta que comience la ebullición. Dejar que la solución hierva durante 2 minutos $\pm$ 5 segundos. Agregar 3 o 4 gotas de solución de azul de metileno. La solución debe asumir un color azul bien definido; si persiste el amarillo claro, significa que la misma es deficiente en cobre. Repetir la prueba comenzando con menor cantidad de solución de azúcar invertido, a fin de establecer un exceso de cobre.

Si la solución permanece azul, continuar la adición de la solución patrón de azúcar invertido, gota a gota, sin interrumpir la ebullición hasta que desaparezca el color azul. Esta operación no debe durar más de 1 minuto.

El volumen final de la mezcla tras la valoración debe alcanzar los 75 ml, ya que esta condición es fundamental para mantener parámetros estándar de calentamiento y asegurar la obtención de resultados reproducibles (ICUMSA 2011b). Durante la valoración, la solución no debe dejar de hervir y no se debe retirar el Erlenmeyer de la fuente de calor a lo largo de todo el procedimiento.

Calcular el título de la solución F.C.B. según la siguiente expresión:

Ecuación 1

$$T = \frac{g}{100} \times V(1)$$

Donde:

g: gramos de solución Patrón expresado en %

V: ml de solución estándar de glucosa gastados para 15 ml de Licor F.C.B.

Procedimiento

Para el desarrollo de este método analítico se tomó como referencia la preparación de la muestra y el proceso de hidrólisis descrito para la determinación de sacarosa aparente (Pol %) en cachaza (Chen and Chou,

1993; ICUMSA, 2011a) y la de azúcares reductores totales en melaza (ICUMSA, 2011b).

Luego, se realizó la puesta a punto para un rango de concentraciones de azúcares reductores totales en la muestra de entre 250 y 400 mg/100 ml.

Los ensayos se llevaron a cabo en muestras de cachaza proporcionadas por ingenios de la provincia y en muestras de azúcar refinado usadas como patrón. Se evaluó la precisión del método mediante ensayos de repetibilidad y reproducibilidad en estas muestras, empleando como criterio de aceptación un valor de coeficiente de variación porcentual dentro del rango de $\pm$ 5%.

Preparación e hidrólisis de la muestra

Se debe realizar previamente la determinación de sacarosa aparente (Pol %) en la muestra. Si el resultado de la determinación de Pol % es menor al 6%, se debe pesar 50 gramos de cachaza; si es mayor o igual al 6 %, se debe pesar 25 gramos de cachaza.

Pesar la muestra de cachaza en un vaso de precipitación registrando el peso con una aproximación de 0,01 gramos. Agregar 100 ml de agua destilada y mezclar disgregando bien la cachaza. Transferir cuantitativamente la suspensión a un matraz de 200 ml. Enjuagar el vaso con pequeñas cantidades de agua destilada arrastrando la muestra de cachaza, transfiriendo los sucesivos lavados al matraz. Llevar a aforo con agua destilada. Mezclar bien y filtrar la suspensión con papel de servilleta.

Preparar una solución entre 250 y 400 mg de azúcares invertidos en 100 ml de solución.

100 gramos de cachaza..... % POL

Gramos de cachaza

pesados $X_1 = (g \text{ cachaza} * \% \text{ POL}) / 100$

X_1 = gramos de azúcar que están en el matraz de 200 ml

X_1 gramos de Az..... 200 ml

0,25 g – 0,40 g..... $X_2 = ((0,25 - 0,40) g * 200) / X_1$

X_2 = alícuota (ml) de la suspensión de cachaza que contendrá entre 250 – 400 mg azúcares

De acuerdo a los cálculos arriba mencionados, pipetear X_2 ml de la suspensión de cachaza en un vaso de precipitación de 100 ml. Sumergir el vaso en un baño de agua entre 60°C – 65°C. Cuando la solución alcanza los $60 \pm 1^\circ\text{C}$, agregar 5 ml de ácido clorhídrico (3+1), agitar suavemente la solución y dejar en reposo por espacio de 15 minutos.

Transcurrido este tiempo, retirar el vaso del baño y colocarlo inmediatamente en un baño de agua fría. Ya frío, agregar 3 o 4 gotas de la solución de fenoltaleína. Neutralizar la solución con una solución de hidróxido de sodio 2N. Transferir el contenido del vaso a un matraz aforado de 100 ml, enrasar con agua destilada y homogeneizar.

Titulación

Cargar una bureta con la solución de trabajo hidrolizada de cachaza. Realizar una valoración preliminar.

Pipetear 15 ml del licor de Fehling en un Erlenmeyer de 250 ml, agregar 45 ml de agua destilada y desde la bureta escurrir 10 ml de la muestra hidrolizada. Colocar el Erlenmeyer en el mechero y calentar hasta el punto de ebullición. Mantener la ebullición durante 2 minutos, agregar 4 gotas de la solución de azul de metileno al 1%. La solución toma una coloración azul intensa. Agregar, gota a gota, la solución de trabajo hidrolizada hasta completar la valoración. El punto final se consigue por el cambio de color de la solución que pasa de azul a amarillo tenue. Registrar el volumen gastado en la titulación.

Realizar una segunda valoración. Pipetear 15 ml del licor de Fehling en un Erlenmeyer de 250 ml. Colocar en el mismo "X_{AGUAmi}" de agua destilada, de acuerdo al siguiente cálculo:

$$X_{AGUAmi} = 75 - 15 - \text{ml gastados en la primera valoración}$$

En frío, desde la bureta introducir, en el mismo Erlenmeyer, 2 ml menos del volumen de muestra hidrolizada registrado en la primera valoración.

Colocar el Erlenmeyer en el mechero, permitir que alcance el punto de ebullición; mantener la ebullición durante 2 minutos; agregar 4 gotas del indicador. La solución toma una coloración azul intensa. Gota a gota escurrir desde la bureta la solución hidrolizada, hasta completar la titulación. El punto final se manifiesta por el cambio de color de la solución que pasa de azul a amarillo tenue. Registrar el volumen gastado en la titulación (V₁). La valoración debe completarse trascurrido 1 minuto adicional, obteniéndose un tiempo total de ebullición de 3 minutos.

La concentración de azúcares reductores totales en cachaza se calcula de la siguiente manera:

$$V_1 \dots \dots \dots \text{Título del licor de F.C.B.} \\ 100 \text{ ml} \dots X = (100 * \text{TÍTULO}) / V_1 \text{ (g de azúcar invertido)}$$

$$X_2 \dots \dots \dots (100 * \text{Título}) / V_1 \\ 200 \text{ ml} \dots \dots \dots X = (200 * 100 * \text{Título}) / (V_1 * X_2)$$

$$X_1 \text{ gramos} \\ \text{de cachaza} \dots \dots \dots (200 * 100 * \text{Título}) / (V_1 * X_2) \\ 100 \text{ gramos} \\ \text{de cachaza} \dots \dots \dots X = (100 * 200 * 100 * \text{Título}) / (V_1 * X_2 * X_1)$$

$$\text{ART \% cachaza} = (2 * 10^6 * \text{Título}) / (V_1 * X_2 * X_1)$$

Donde:

Título: título del licor de Fehling calculado con la ecuación 1.

V₁ = ml gastados en la segunda valoración.

X₂ = ml tomados de la suspensión de cachaza para preparar la muestra de hidrólisis.

X₁ = gramos de cachaza usados para hacer el ensayo.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se pueden observar los resultados de los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad para la determinación de ART (%) en cachaza, realizados por dos analistas en siete réplicas consecutivas bajo las mismas condiciones.

Tabla 1. Resultados de repetibilidad y de reproducibilidad para la determinación de ART (%) en cachaza realizados por dos analistas en siete réplicas. Promedio, desvío estándar (SD) y coeficiente de variación (%CV).

Muestra	% ART	
	Analista 1	Analista 2
1	6,42	6,84
2	6,42	6,89
3	6,38	6,69
4	6,46	6,94
5	6,46	7,05
6	6,38	6,89
7	6,42	7,05
Promedio	6,42	6,91
SD	0,036	0,12
% CV	0,56	1,78

Los resultados de la Tabla muestran que el coeficiente de variación porcentual (CV %) para el Analista 1 fue de 0,56% y para el Analista 2, de 1,78%, valores ambos inferiores al criterio de aceptación de $\pm 5\%$. Estos valores indican una adecuada repetibilidad del método con buena precisión tanto dentro de un mismo analista como entre analistas, lo que respalda la confiabilidad del procedimiento para la determinación de ART en cachaza.

En la Tabla 2 se pueden observar los resultados de los ensayos de repetibilidad de las muestras patrones empleadas para verificar la precisión del método en un amplio rango de concentración de sacarosa aparente.

Los resultados obtenidos demuestran que el método aplicado presenta una alta precisión en un amplio

Tabla 2. Resultados de repetibilidad de ART (%) en soluciones patrones de azúcar refinado en cinco réplicas. Promedio, desvío estándar (SD) y coeficiente de variación (%CV).

Muestra	% ART PATRONES		
	3% Pol	7 % Pol	10 % Pol
1	1,57	1,88	2,68
2	1,54	1,89	2,68
3	1,56	1,88	2,7
4	1,56	1,89	2,66
5	1,59	1,9	2,68
Promedio	1,56	1,89	2,68
Peso patrón	1,5	1,75	2,5
SD	0,019	0,011	0,013
% CV	1,19	0,56	0,47
ART	3,12	7,56	10,72

rango de concentración de sacarosa aparente. Se observaron coeficientes de variación porcentual de 1,19% para el patrón 3%, 0,56% para el patrón 7% y 0,47% para el patrón 10%, todos ampliamente por debajo del límite de aceptación establecido ($\pm 5\%$). Esto valida la confiabilidad del procedimiento para la determinación de Azúcares Reductores Totales en muestras con distintos niveles de sacarosa, confirmando su aplicabilidad en diferentes condiciones de matriz.

CONCLUSIONES

Se desarrolló y puso a punto un método analítico para la determinación de Azúcares Reductores Totales (ART) en muestras de cachaza, el cual fue validado mediante ensayos de repetibilidad y reproducibilidad, demostrando ser robusto y confiable.

Su aplicabilidad y precisión quedaron confirmadas a través del análisis de muestras provenientes de distintos ingenios y de soluciones patrón de sacarosa refinada.

Se estableció como criterio de aceptación un coeficiente de variación porcentual (CV%) $\pm 5\%$, y todos los ensayos arrojaron valores inferiores al 2%, dato que respalda la calidad del método desarrollado y su adecuación a los estándares del Laboratorio de la Sección Química de la EEAOC.

Esta herramienta analítica constituye un aporte valioso para el cierre del balance de ART, permitiendo cuantificar las pérdidas de sacarosa asociadas a la cachaza y, en consecuencia, contribuyendo al estudio del ren-

dimiento, la eficiencia y la sostenibilidad del proceso de producción de azúcar y alcohol a partir de caña de azúcar.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1964.** Método de Fehling-Causse-Bonnans modificado. USA, pp. 495
- Chen, J. C. P. and C. C. Chou. 1993.** Cane Sugar Handbook, 12th ed., Wiley & Sons, pp. 912
- International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). 2011a.** Method book. Method GS 7-7: Determinación de pol (polarización) de la torta de filtración por polarimetría con acetato básico de plomo (Accepted) (2011). Bartens, Berlin.
- International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). 2011b.** Method book. Method GS 4-7: Azúcares reductores totales en melaza y jarabes refinados después de la hidrólisis por el procedimiento Lane & Eynon (Accepted) (2011). Bartens, Berlin.
- Rein, P. 2007.** Cane Sugar Engineering. Bartens, Berlin.
- Romero, E.; P. Digonzelli y J. Scandaliaris. 2009.** Manual del Cañero. Las Talitas, Argentina. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres. Capítulo 17.
- Sorol, N.; O. Diez y P. Diez. 2024.** Desarrollo y optimización de un método de Digestión Húmeda para estudio de la calidad industrial de caña de azúcar. Rev. ind. agric. Tucumán 101 (2): 31-40.