



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO
DE FOLIN- CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-
2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD**

María Lourdes Castillo Gómez

Asesorado por el Ing. Estuardo Edmundo Monroy Benítez

Guatemala, febrero de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO
DE FOLIN- CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-
2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

MARÍA LOURDES CASTILLO GÓMEZ
ASESORADO POR EL ING. ESTUARDO EDMUNDO MONROY BENÍTEZ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, FEBRERO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Narda Lucía Pacay Barrientos
VOCAL V	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADORA	Inga. Lorena Victoria Pineda Cabrera
EXAMINADOR	Ing. Víctor Manuel Monzón Valdés
EXAMINADORA	Inga. Mercedes Esther Roquel Chávez
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLIN- CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 23 de abril de 2014.

María Lourdes Castillo Gómez

Guatemala, 15 de julio de 2014

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
USAC
Presente

Por este medio yo, Estuardo Edmundo Monroy Benítez, en calidad de asesor técnico, hago constar que apruebo el informe final de EPS de seis meses, titulado "DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLIN- CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD" presentado por la estudiante Maria Lourdes Castillo Gómez, quien se identifica con carné no. 200915326.

Sin otro particular,


Estuardo Monroy Benitez
Ingeniero Químico
Colegiado No. 446

Estuardo Edmundo Monroy Benítez
Colegiado: 446
e-mail: ingmonroy1@yahoo.com
Tel: 57748672



Guatemala, 28 de octubre de 2014.
Ref.EPS.D.627.10.14.

Ing. Victor Manuel Monzón Valdéz
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente

Estimado Ingeniero Monzón Valdéz.

Por este medio atentamente le envío el informe final correspondiente a la práctica del Ejercicio Profesional Supervisado, (E.P.S) titulado **"DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD"** que fue desarrollado por la estudiante universitaria **María Lourdes Castillo Gómez**, quien fue debidamente asesorada y supervisada por la Ingeniera Lorena Victoria Pineda Cabrera.

Por lo que habiendo cumplido con los objetivos y requisitos de ley del referido trabajo y existiendo la aprobación del mismo por parte de la Asesora-Supervisora de EPS, en mi calidad de Director apruebo su contenido solicitándole darle el trámite respectivo.

Sin otro particular, me es grato suscribirme.

Atentamente,
"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Silvio José Rodríguez Serrano
Director Unidad de EPS

SJRS/ra





FACULTAD DE INGENIERIA

UNIDAD DE EPS

Guatemala, 28 de octubre de 2014.

Ref.EPS.DOC.1096.10.14.

Ing. Juan Merck Cos
Director Unidad de EPS
Facultad de Ingeniería
Presente

Estimado Ingeniero Merck Cos.

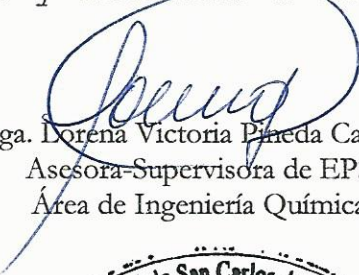
Por este medio atentamente le informo que como Asesora-Supervisora de la Práctica del Ejercicio Profesional Supervisado (E.P.S.), de la estudiante universitaria **María Lourdes Castillo Gómez** de la Carrera de Ingeniería Química, con carné No. **200915326**, procedí a revisar el informe final, cuyo título es **"DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD"**.

En tal virtud, **LO DOY POR APROBADO**, solicitándole darle el trámite respectivo.

Sin otro particular, me es grato suscribirme.

Atentamente,

"Id y Enseñad a Todos"


Inga. Lorena Victoria Pineda Cabrera
Asesora-Supervisora de EPS
Área de Ingeniería Química

c.c. Archivo
LVPC/ra





Guatemala, 18 de noviembre de 2014

Ref. EIQ.TG-IF.061.2014

Ingeniero

Víctor Manuel Monzón Valdez

DIRECTOR

Escuela de Ingeniería Química

Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **005-2014** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN
-Modalidad Ejercicio Profesional Supervisado-

Solicitado por la estudiante universitaria: **María Lourdes Castillo Gómez.**

Identificada con número de carné: **2009-15326.**

Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA.**

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero Químico: **Estuardo Edmundo Monroy Benítez.**

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Licda. Ingrid Lorena Benítez Pacheco
COORDINADORA DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo



Ref.EIQ.TG.010.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Ejercicio Profesional Supervisado **(EPS final)** de la estudiante **MARÍA LOURDES CASTILLO GÓMEZ** titulado: **"DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLIN- CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez

DIRECTOR

Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, enero de 2015

Cc: Archivo
VMMV/ale



DTG. 035.2015

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU EN EL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR DE LAS VARIEDADES: CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547 UTILIZADAS EN EL INGENIO TRINIDAD,** presentado por la estudiante universitaria **María Lourdes Castillo Gómez,** y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

Ing. Murphy Olampo Paiz Recinos
Decano

Guatemala, 3 de febrero de 2015

/gdech



ACTO QUE DEDICO A:

Dios	Por haberme dado el don de la vida, y permitirme alcanzar esta meta.
Mis padres	Carlos Humberto Castillo y María Mercedes Gómez de Castillo, por haberme brindado su apoyo incondicional en cada momento de mi vida, y ser un ejemplo de fortaleza, lucha y sabiduría para alcanzar mis metas.
Mis hermanos	Carlos Humberto y Pedro Andrés, por su cariño, apoyo y por todos los momentos de felicidad que hemos compartido.
Mi abuela	Nora Mansilla, por todo su cariño, sus oraciones y las palabras de ánimo que me ha brindado.
Mi tía	Margarita Gómez de Román, por su amor, y por brindarme siempre palabras de aliento y sabios consejos.
Mis tíos, tías, primos y primas	Por su cariño y apoyo.

AGRADECIMIENTOS A:

A mi patria Guatemala	Por ser la tierra donde nací y me he superado en todo sentido de la vida.
La Universidad de San Carlos de Guatemala	Especialmente a la Facultad de Ingeniería, por la formación académica que me ha brindado.
Ingenio Trinidad	Por la oportunidad que me brindaron para realizar mi Ejercicio Profesional Supervisado, especialmente a Luis Enrique Cifuentes y Byron Alesky Obregón, por su amistad y por su valioso e incondicional apoyo.
Mis amigos y amigas	Por todos los momentos de alegría y momentos difíciles que hemos compartido, y por su sincera amistad.
Alejandra Pelaéz y Nancy Castro	Por su amistad y cariño sincero, por haber compartido conmigo una experiencia inolvidable en mi vida en donde vivimos alegrías y dificultades, pero siempre nos mantuvimos unidas apoyándonos unas a otras. Siempre estarán en mi mente y corazón.

**Ingeniero Estuardo
Monroy**

Por el tiempo dedicado y sus conocimientos
aportados en la realización de este trabajo de
graduación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	IX
RESUMEN.....	XIII
OBJETIVOS.....	XV
Hipótesis	XVI
INTRODUCCIÓN	XVII
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Caña de azúcar	3
2.1.1. Principales constituyentes químicos de la caña de azúcar	3
2.2. Caña de azúcar en Guatemala.....	6
2.2.1. Estrato altitudinal de producción de caña de azúcar en Guatemala	6
2.2.2. Variedades de caña de azúcar en Guatemala.....	8
2.3. Fenoles.....	12
2.3.1. Naturaleza de los colorantes de la caña de azúcar y del procesamiento azucarero	13
2.3.2. Desempeño de los compuestos fenólicos y problemas asociados con alto color en la industria azucarera	15
2.4. Espectrofotometría	17

2.4.1.	Principios de la espectrofotometría	17
2.4.2.	Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu	18
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	19
3.1.	Variables	19
3.2.	Delimitación de campo de estudio	20
3.3.	Recursos humanos disponibles	20
3.4.	Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos).....	21
3.4.1.	Equipo	21
3.4.2.	Cristalería	21
3.4.3.	Reactivos y materia prima	22
3.5.	Técnica cualitativa o cuantitativa.....	22
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información.....	23
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	23
3.7.1.	Curva de calibración del método de Folin- Ciocalteu	24
3.7.2.	Toma de datos de concentración de fenol.....	25
3.8.	Análisis estadístico.....	25
3.8.1.	Número de repeticiones	25
3.8.2.	Media aritmética	27
3.8.3.	Desviación estándar.....	27
3.8.4.	Comparación de dos medias mediante t de student.....	28
4.	RESULTADOS.....	31

4.1.	Concentración de compuestos fenólicos totales en diferentes estratos altitudinales para las variedades de caña: CP 72-2086, CP 73-1547 y CP 88-1165.....	31
4.2.	Concentración de compuestos fenólicos totales entre cada variedad de caña, por rango de pH como indicativo del deterioro.	32
4.3.	Concentración de compuestos fenólicos totales de cada variedad de caña por estrato altitudinal, para pH mayor a 5,3.	33
4.4.	Análisis estadístico	34
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	37
6.	LOGROS OBTENIDOS	41
	CONCLUSIONES	43
	RECOMENDACIONES.....	45
	BIBLIOGRAFÍA	47
	APÉNDICES	49
	ANEXOS	55

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Estratos altitudinales de la zona cañera en Guatemala.	7
2.	Porcentaje de área cultivada comercialmente en Guatemala de 1980-2012.	8
3.	Aspectos físicos de la variedad de caña CP72-2086.	9
4.	Aspectos físicos de la variedad de caña CP73-1547.	10
5.	Aspectos físicos de la variedad de caña CP88-1165.	11
6.	Concentración de fenoles totales entre cada variedad de caña por rango de pH.	33
7.	Concentración de fenoles totales entre cada variedad de caña por estrato altitudinal, para pH mayores a 5,3.	34

TABLAS

I.	Principales constituyentes químicos de la caña de azúcar.	4
II.	Compuestos fenólicos de mayor relevancia en el azúcar	14
III.	Relación entre el valor indicador (VI) y el tipo de colorante en los azúcares de la caña de azúcar.	16
IV.	Variables del proceso de cuantificación de concentración de fenoles totales.	19
V.	Lista de variables a manipular.	20
VI.	Datos para la elaboración de curva de calibración.	24
VII.	Datos para la obtención de concentración de fenol en jugo diluido y concentración de fenol real.	25

VIII.	Concentración de fenoles totales por estrato altitudinal para la variedad de caña CP72-2086.	31
IX.	Concentración de fenoles totales por estrato altitudinal para la variedad de caña CP88-1165.	32
X.	Concentración de fenoles totales por estrato altitudinal para la variedad de caña CP73-1547.	32
XI.	Análisis estadístico por contraste de significación (t de student) entre variedades de caña.....	35

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
A	Absorbancia
CP	Canal Point
Brix	Grados Brix (°Brix)
Ha	Hipótesis alternativa
Ho	Hipótesis nula
M	Molaridad
nm	Nanómetro
ppm	Partes por millón
pH	Potencial de hidrógeno

GLOSARIO

Absorbancia	Cantidad de intensidad de luz que absorbe una solución.
Agente oxidante	Especie química que un proceso redox acepta electrones y, por tanto, se reduce en dicho proceso.
Brix	Sólidos totales solubles del porcentaje de materia seca en la caña de azúcar.
Clarificación	Proceso de separación de pequeñas cantidades de sólido suspendidas en el jugo de caña de azúcar.
Cogollo	Parte superior de la caña de azúcar que nace de un mismo pie.
Color	Índice de atenuación, determinado por absorción, generalmente se mide empleando el método ICUMSA.
Empardamiento Enzimático	Proceso mediante el cual compuestos fenólicos, que pueden ser incoloros, se oxidan para producir otros compuestos coloreados.
Estrato altitudinal	Zona sobre el nivel del mar en la que está distribuida la siembra de caña.

Flavonoides	Compuestos fenólicos presentes en los vegetales que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes. Pueden ocasionar alto color en el proceso de producción de azúcar.
Floc	Flóculos resultantes de la unión de partículas coloidales en suspensión y coagulante.
Híbrido	Vegetal obtenido del cruce de dos individuos de distinta especie, o de alguna o más cualidades diferentes.
Longitud de onda	Distancia que hay entre dos crestas (los puntos más altos) consecutivas en una onda.
Meladura	Jarabe concentrado obtenido de la evaporación de agua del jugo de caña clarificado.
No-Pol	Sólidos solubles en agua diferentes de la sacarosa, que resultan porcentualmente de la diferencia entre el brix y el pol.
Pol	Contenido de sacarosa aparente, expresado como porcentaje de masa y determinado mediante un método polarimétrico.

Redox	Todas las reacciones químicas en las que los átomos tienen su estado de oxidación cambió; En general, las reacciones redox implican la transferencia de electrones entre especies .
Sacarosa	El compuesto químico puro $C_{12}H_{22}O_{11}$ que es conocido como azúcar blanco.
SPRI	Sugar Processing Research Institute (Instituto de Investigación del Proceso del Azúcar)
Zafra	Temporada del año en la que se cosecha la caña de azúcar para la producción de azúcar.

RESUMEN

El proyecto de investigación se basó en la caracterización de la caña de azúcar para la determinación de la concentración de compuestos fenólicos totales en el jugo de las tres principales variedades de caña de azúcar utilizadas en Ingenio Trinidad, CP 88-1165, CP 73-1547 y CP 72-2086. Para ello, fue necesario tomar muestras representativas de la caña que ingresaba al Ingenio, tomando en cuenta para el análisis, únicamente las que pertenecían a las variedades de interés de estudio.

El jugo de caña se extrajo por medio del método de CONCECANA, y se procedió a determinar el contenido de fenoles totales empleando el procedimiento espectrofotométrico denominado “Método de Folin-Ciocalteu”; el cual se basa en la reducción de los compuestos del reactivo Folin-Ciocalteu por acción de los compuestos fenólicos en solución, generando una coloración azul, la cual es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes.

La evaluación por estrato altitudinal muestra que las variedades CP72-2086 y CP73-1547 presentan mayor concentración de fenol en el estrato bajo y litoral. Para el análisis por rango de pH, la variedad CP88-1165 presenta los valores de concentración de fenoles totales más altos; mientras que para el análisis de variedad por estrato a pH mayor a 5,3. Las variedades CP72-2086 y CP73-1547 presentan mayor concentración de fenol en el estrato bajo y litoral. También se realizó un análisis de t de student por variedad de caña, donde se muestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre las variedades CP72-2086/CP88-1165 y CP73-1547/CP88-1165.

OBJETIVOS

General

Determinar la concentración de compuestos fenólicos totales por medio del método de Folin-Ciocalteu en el jugo de la caña de azúcar para las variedades CP 88-1165, CP 73-1547 y CP 72-2086 empleadas en Ingenio Trinidad con el fin de caracterizar las variedades más utilizadas en este Ingenio.

Específicos

1. Evaluar la concentración de compuestos fenólicos totales en diferentes estratos altitudinales para las variedades de caña: CP 72-2086, CP 73-1547 y CP 88-1165.
2. Elaborar un análisis gráfico comparativo de las diferentes concentraciones de compuestos fenólicos totales entre cada variedad de caña, por rango de pH como indicativo del deterioro: rango menor a 5,3, rango entre 5,3-5,5 y rango superior a 5.5.
3. Efectuar un análisis gráfico comparativo de las diferentes concentraciones de compuestos fenólicos totales entre cada variedad por estrato altitudinal, para pH mayor a 5,3.

Hipótesis

Las tres variedades de caña de azúcar más utilizadas en Ingenio Trinidad presentan diferentes concentraciones de compuestos fenólicos totales, dependiendo de la variedad, el estrato altitudinal y el pH del jugo.

Hipótesis nula:

Existe diferencia significativa en los niveles de concentración de compuestos fenólicos totales en el jugo de las diferentes variedades de caña.

Hipótesis alternativa:

No existe diferencia significativa en los niveles de concentración de compuestos fenólicos totales en el jugo de las diferentes variedades de caña.

INTRODUCCIÓN

La agroindustria azucarera se ha convertido en los últimos años en una de las principales fuentes de ingresos del país y generadora de abundantes empleos en la economía guatemalteca. La alta demanda de producción de azúcar que tiene el país, tanto a nivel nacional como internacional, exige que el producto cumpla con estrictas normas de calidad.

El color de la azúcar representa una de las características principales que deben ser controladas dentro del proceso de fabricación de la misma. Las fuentes básicas de este parámetro son los colorantes que se originan en la planta y los que se forman durante su procesamiento. Los compuestos de carácter fenólico se encuentran en el jugo de la caña de azúcar, y son considerados uno de los principales precursores del color, los cuales en ocasiones pueden ser incoloros dentro de la planta, pero pueden reaccionar y producir sustancias coloreadas.

En Guatemala no se tiene conocimiento de la composición química de las variedades de caña, por lo que es importante llevar a cabo investigaciones que permitan conocer los compuestos de la misma. Debido a que el fenol es formador de color en azúcar, es necesaria la determinación de la concentración del mismo en el jugo de caña con base a parámetros importantes como el estrato altitudinal y el pH del jugo. Una vez conocida la concentración de compuestos fenólicos en el jugo de caña, pueden tomarse, medidas de prevención y corrección para reducir la cantidad del compuesto en el jugo, así como disminuir el impacto que se causa en el proceso fabril, haciendo más eficiente el proceso de producción de azúcar.

1. ANTECEDENTES

La industria azucarera en Guatemala está creciendo anualmente debido al incremento de la demanda de consumo del producto a nivel nacional e internacional. Actualmente, no se han llevado a cabo estudios específicos de caracterización de la caña, especialmente de la concentración de fenol presente en la misma que permitan al gremio azucarero conocer la incidencia de dicho compuesto en el proceso fabril y su relación con el color del producto final.

Por otro lado, han sido llevadas a cabo investigaciones en CENGICAÑA y otros países, sobre compuestos varios (incluyendo fenoles) y la caña de azúcar (o derivados), que presentan un indicio sobre los efectos del compuesto en diferentes ámbitos.

La investigación de Hostalet (2006, España), *Determinación de las propiedades antioxidantes de la panela*, permitió calcular la cantidad de fenoles y flavonoides en la misma. El procedimiento se llevó a cabo utilizando el método de Folin Ciocalteu para los fenoles y un método colorimétrico modificado para los flavonoides. Finalmente, fue posible la determinación de fenoles totales y flavonoides en la panela, y con base a dichos valores se determinó la capacidad antioxidante de los mismos, demostrando que dichos componentes, que se encuentran en diversas frutas y verduras, son beneficiosos para el organismo, disminuyendo el riesgo de padecimiento de enfermedades.

El estudio de Zossi (2010, Argentina) *La influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina)*, se basó en determinar la concentración de compuestos

azúcares y no azúcares, especialmente los que influyen en la formación del color y otros que inciden en el proceso industrial de producción de azúcar blanco directo, de las cuatro variedades comerciales de caña más difundidas en Tucumán (R. Argentina): TUCCP 77-42, LCP 85-384, CP 65-357 y RA 87-3; realizando los ensayos durante las zafas 2004 a 2007 en caña limpia y despuntada. La determinación de los compuestos fenólicos, se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Clarke et al. (Método de Folin-Ciocalteu). De las cuatro variedades analizadas, la que mejor comportamiento presentó para producir azúcar blanco directo fue LCP 85-384, por su alto contenido en sacarosa y bajo contenido de componentes no azúcares. El segundo lugar le correspondió a la variedad RA 87-3, seguida por CP 65-357 y TUCCP 77-42.

El trabajo de investigación de Pocasangre García (2006, Guatemala) *Determinación de la relación existente entre la concentración de sacarosa con respecto a la concentración de diferentes compuestos químicos presentes en el jugo de caña de azúcar en 5 variedades*, determinó qué elementos presentes dentro de la caña de azúcar tienen relación con la acumulación de sacarosa (azúcar) y cuáles no lo tienen; y dentro de los que tienen relación, determinar cuáles presentan relación positiva y quiénes relación inversa. Se determinaron los fenoles por medio del método de Folin-Ciocalteu, concluyendo que la variación de la concentración de los mismos no influye en la concentración de sacarosa.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Caña de azúcar

Es una planta herbácea de gran tamaño que se cultiva en países tropicales y subtropicales. Es un híbrido complejo de varias especies, derivadas principalmente del *Saccharum officinarum* y otras especies de *Saccharum*. La caña se propaga vegetativamente sembrando trozos de sus tallos. La nueva planta o retoño crece a partir de los cogollos o yemas de los nudos del tallo, asegurando así una descendencia uniforme. En el proceso de reproducción de la caña se desarrollan y ensayan continuamente nuevas variedades en búsqueda de nuevas y mejores plantas. Dicho procedimiento es un factor fundamental para el mejoramiento en la productividad en la industria de la caña de azúcar.

2.1.1. Principales constituyentes químicos de la caña de azúcar

La composición general de los tallos de la caña de azúcar y de los jugos dependen de factores como: la variedad de caña, cantidad de hojas, horas quema, y altura de corte. La composición se describe en la tabla I.

Tabla I. **Principales constituyentes químicos de la caña de azúcar**

Constituyente químico en los tallos	Porcentaje (%)
Agua	70-73
Sólidos	27-30
Sólidos solubles (brix)	15-17
Fibra (seca)	12-15
Constituyente químico en los jugos	Porcentaje (% base brix)
Azúcares	
Sacarosa	70-90
Glucosa	2-4
Fructosa	2-4
Sales	27-30
Inorgánicas	15-17
Orgánicas	12-15
Ácidos orgánicos	1-3
Aminoácidos	1.5-5.5
Otros no azúcares	1.5-2.5

Fuente: LARRAHONDO, Jesús Eliécer. *Composición y características químicas de la caña de azúcar*. p. 24.

En promedio, los porcentajes de agua (expresados como humedad por ciento caña) oscilan entre 70 y 73 por ciento, encontrándose en algunas ocasiones valores inferiores al 70 por ciento debido a prácticas de agotamiento y estrés hídrico, o ambos (deficiencia de agua o riegos).

Por tanto, los porcentajes de materia seca (sólidos solubles e insolubles) pueden encontrarse entre 27 y 30 por ciento, de los cuales cerca de 15 a 17 por ciento corresponden a los denominados sólidos solubles (brix por ciento caña). Además, las variedades de caña de azúcar pueden exhibir niveles de fibra (fibra por ciento caña) de 12 a 15 por ciento, bajo condiciones de un procesamiento de caña limpia, o sea, excepta de impurezas o materia extraña de carácter

mineral (tierras, arenas, etc.). Así, la materia extraña constituida por cogollos y otro material extraño como hojas y tierra, afecta los niveles brix (sólidos totales solubles), pureza y fibra.

El incremento de materia extraña conduce a caídas en la pureza e incrementos en la fibra, porcentaje caña, de la caña cosechada.

Los principales constituyentes químicos de los jugos de la caña de azúcar son los azúcares (sacarosa, glucosa, fructosa), sales orgánicas e inorgánicas, ácidos orgánicos, aminoácidos y otros no azúcares como material colorante (polifenoles, clorofila, entre otros). Los niveles de sacarosa en los jugos, expresados como pureza (porcentaje, base brix), oscilan en la caña madura entre 70 a 90 por ciento de los sólidos totales solubles (brix, porcentaje, jugo). Los azúcares reductores (glucosa y fructosa) se encuentran en los jugos entre 2 y 4 por ciento (porcentaje, base brix). Otros no azúcares, como sales y ácidos orgánicos alcanzan porcentajes (base brix) entre el 1 y 6 por ciento.

Los sólidos solubles comprenden la sacarosa y las no-sacarosas. La razón porcentual entre la sacarosa y el brix de la caña o jugo se conoce como pureza de la caña o del jugo, respectivamente. El contenido aparente de sacarosa, expresado como un porcentaje en peso y determinado mediante un método polarimétrico, se denomina “pol”. Los sólidos solubles diferentes de la sacarosa, incluyen los azúcares reductores (AR) como la glucosa, la fructosa y otros compuestos orgánicos e inorgánicos solubles en el agua, que usualmente se denominan “no-pol” o no-sacarosas, los cuales porcentualmente resultan de la diferencia entre el brix y el pol.

2.2. Caña de azúcar en Guatemala

En Guatemala, el cultivo de la caña de azúcar es uno de los más antiguos. Los primeros intentos se produjeron apenas concluida la parte armada de la Conquista y, ya en 1536, Amatitlán se había convertido en la principal área de producción del dulce, que también se sembraba en Jilotepeque, Escuintla, Guazacapán y la Verapaz.

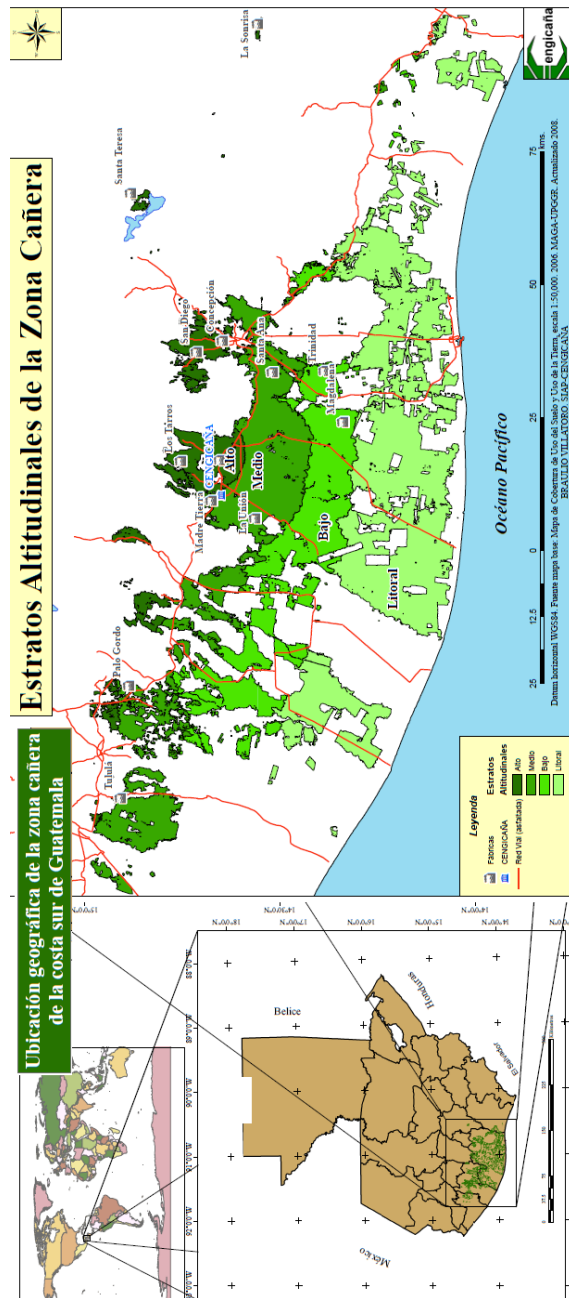
La agroindustria de azúcar de Guatemala está constituida por 12 ingenios activos, ubicados en la costa del océano Pacífico, al sur del país. Asimismo, la caña de azúcar se cultiva en Petén, Huehuetenango y San Marcos.

Actualmente, la producción de azúcar en Guatemala ha tomado más importancia, debido a que en las cosechas recientes han alcanzado los niveles de producción récord, y ha ocupado el tercer lugar como exportador más grande de América Latina y el sexto en importancia a nivel mundial. Este hecho representa beneficios económicos significativos para el país, especialmente, por la generación de divisas y por la cantidad de empleos que esta industria provee.

2.2.1. Estrato altitudinal de producción de caña de azúcar en Guatemala

Guatemala cuenta con cuatro estratos altitudinales donde se encuentran la mayor parte de las siembras de caña de azúcar. A continuación, en la figura 1 se presenta el diagrama de la costa sur de Guatemala.

Figura 1. Estratos altitudinales de la zona cañera en Guatemala

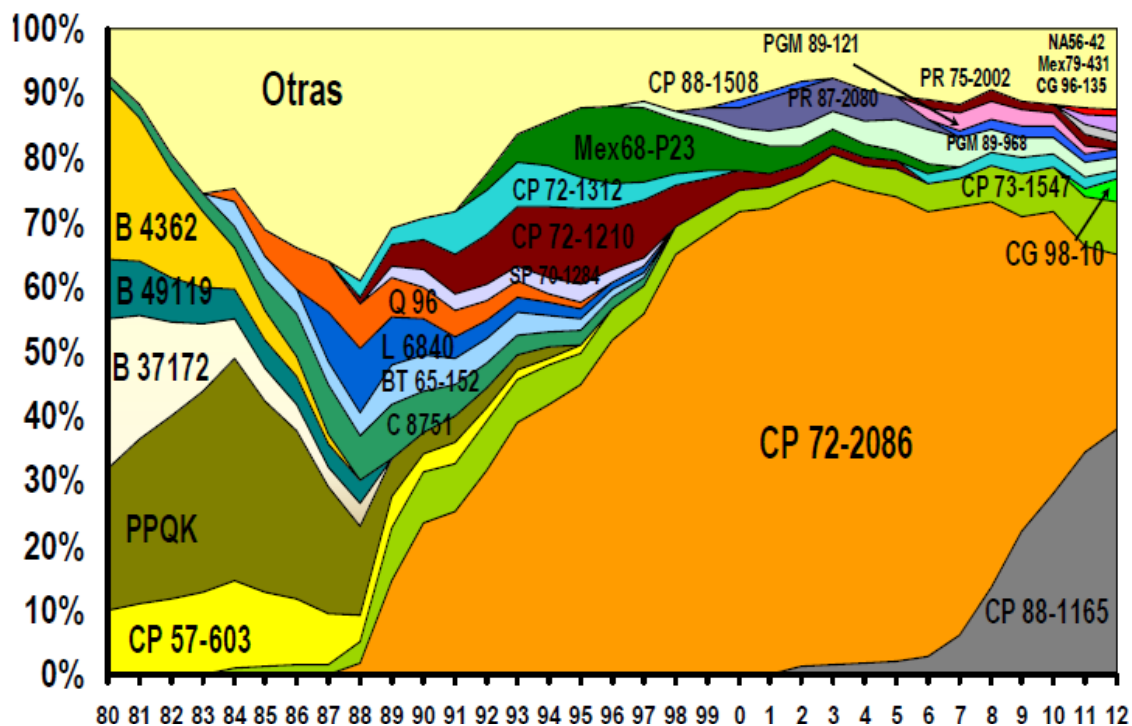


Fuente: CENGICAÑA. *El cultivo de la caña de azúcar en Guatemala*. <http://www.cengicaña.org>.
[Consulta: agosto de 2013].

2.2.2. Variedades de caña de azúcar en Guatemala

Durante el período de 1991/2010, en la composición varietal de la agroindustria azucarera guatemalteca, se presentó un predominio de las variedades CP provenientes de la estación experimental de Canal Point, Florida. La variedad más destacada es la CP72-2086 la cual ha sido denominada como “supervarietal”, presentando más de 8 toneladas de azúcar por hectárea.

Figura 2. **Porcentaje de área cultivada comercialmente en Guatemala de 1980-2012**



Fuente: CENGICANA. *Censo variedades Guatemala*. <http://www.cengicaña.org>. [Consulta: agosto de 2013].

Las principales variedades de caña utilizadas por Ingenio Trinidad para la producción de azúcar son: CP72-2086, CP88-1165 Y CP73-1547.

Figura 3. **Aspectos físicos de la variedad de caña CP72-2086**



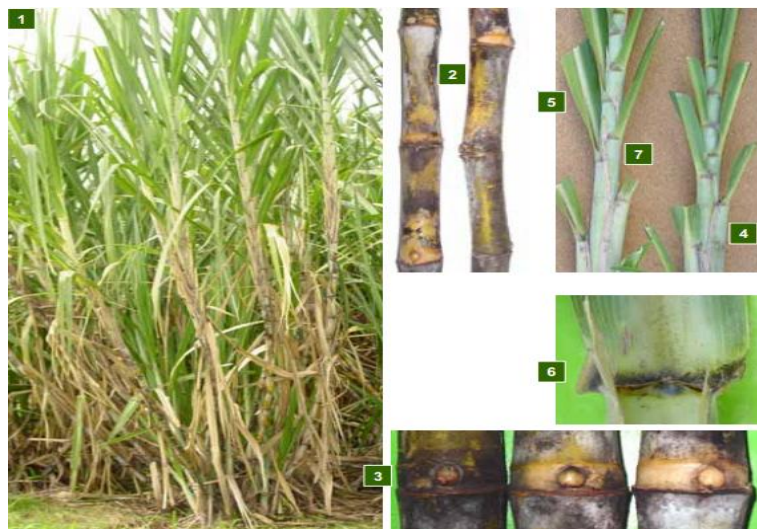
Fuente: CENGICANA. *Catálogo de variedades promisorias de caña de azúcar de la agroindustria azucarera guatemalteca*. <http://www.cengidoc.cengican.org>. [Consulta: 15 de agosto de 2013].

La figura 3 muestra las características físicas de la variedad CP72-2086, las cuales se describen a continuación:

- (1) Aspecto de planta: hábito de crecimiento de tallos semierecto, poco deshoje natural y cantidad de follaje intermedio.
- (2) Entrenudo: color verde amarillento con manchas negras y forma de crecimiento cilíndrico y ligeramente curvado al costado de la yema.
- (3) Nudo: yema redonda con alas, de base angosta y anillo de crecimiento.

- (4) Vaina: desprendimiento intermedio, color rosado y quebradiza por el centro.
- (5) Lamina foliar: borde aserrado.
- (6) Aurícula y lígula: aurícula forma transicional ascendente y lígula, generalmente deltoide con rombo.
- (7) Cuello: color café y superficie semilisa.

Figura 4. **Aspectos físicos de la variedad de caña CP73-1547**



Fuente: CENGICANA. *Catálogo de variedades promisorias de caña de azúcar de la agroindustria azucarera guatemalteca*. <http://www.cengidoc.cengican.org>. [Consulta: 15 de agosto de 2013].

La figura 4 muestra las características físicas de la variedad CP73-1547, las cuales se describen a continuación:

- (1) Aspecto de la planta: regular deshoje natural, hábito de crecimiento de tallos semiabiertos, regular cantidad de follaje y cogollo largo.

- (2) Entrenudo: color verde amarillento con mancha negra y cerosa, forma de crecimiento ligeramente curvado en zigzag.
- (3) Nudo: forma de crecimiento cilíndrico, yema aproximadamente redonda protuberantes con alas.
- (4) Vaina: desprendimiento intermedio, color verde con manchas rojizas, borde seco unido longitudinalmente.
- (5) Lámina foliar: hojas anchas verde oscuro.
- (6) Aurícula y lígula: aurícula forma lanceolada larga y corta en un lado y en el otro transicional inclinada y lígula deltoide con rombo.
- (7) Cuello: color verde oscuro y superficie la mayoría lisa.

Figura 5. **Aspectos físicos de la variedad de caña CP88-1165**



Fuente: CENGICANA. *Catálogo de variedades promisorias de caña de azúcar de la agroindustria azucarera guatemalteca*. <http://www.cengidoc.cengican.org>. [Consulta: 15 de agosto de 2013].

La figura 5 muestra las características físicas de la variedad CP88-1165, las cuales se describen a continuación:

- (1) Aspecto de la planta: regular deshoje natural, hábito de crecimiento de tallos semierectos y follaje escaso.
- (5) Lámina foliar: borde semiliso.
- (2) Entrenudo: color rojizo, forma de crecimiento curvado ligeramente en zigzag y posee un canal en el lado de la yema. Los tallos se rajan.
- (6) Aurícula y lígula: aurícula forma lanceolada larga y corta en la misma vaina y lígula creciente lineal.
- (3) Nudo: forma de crecimiento obconoidal, en el lado opuesto de la yema ovalada con alas.
- (7) Cuello: color verde oscuro y superficie lisa.
- (4) Vaina: regular desprendimiento de color verde con manchas moradas y rojas y poca presencia de afate.

2.3. Fenoles

Son derivados hidroxilados de carburos aromáticos. Es una amplia familia que posee más de 4 500 miembros. Dentro del grupo de los fenoles están los ácidos fenólicos y la amplia familia de los flavonoides, entre otros. Los compuestos más simples son unidades individuales de fenol que se encuentran de forma abundante en las hierbas culinarias; todos ellos tienen una larga historia de utilización como conservantes de los alimentos.

Las coloraciones azul, azulgrana y violeta que se observan en las bayas, uvas y berenjena púrpura se deben a su contenido fenólico. Los arándanos, por ejemplo, tienen una concentración elevada de antocianidinas fenólicas y son de color rojo. Una de las características principales de los fenoles es la protección a las plantas del daño por oxidación.

2.3.1. Naturaleza de los colorantes de la caña de azúcar y del procesamiento azucarero

Los colorantes en productos de la caña de azúcar, como el azúcar comercial (crudo, blanco), incluyen pigmentos vegetales o colorantes de origen vegetal, y un gran número de sustancias producidas u originadas durante el proceso azucarero. El color es un parámetro importante que define la calidad de los azúcares (crudo, blanco). En condiciones normales de procesamiento, el color del azúcar crudo está determinado por el color o contenido de colorantes que entran con la caña.

El color de azúcar crudo es cerca del 6 por ciento del color de la meladura y en refinería se ha establecido que el color del azúcar depende del color de los licores de refinería. Existen dos fuentes u orígenes de los colorantes en el azúcar: los presentes en la planta (origen vegetal o natural) y los producidos durante el procesamiento fabril. Los pigmentos vegetales (verdes y amarillos) como la clorofila, carotenos y xantofilas son extraídos de la caña y están presentes en los jugos, y la mayoría de ellos son removidos o destruidos durante la clarificación.

En general, los colorantes del azúcar, responsables del color de los azúcares crudos y blancos, consisten de cuatro grupos:

- Colorantes de origen vegetal: compuestos de carácter fenólico, polifenoles y flavonoides.
- Caramelos: resultan de la degradación térmica de la sacarosa, glucosa o fructosa.
- Melanoidinas: resultan de la reacción entre la glucosa con compuestos aminonitrogenados.

- Productos de degradación alcalina de la fructosa y glucosa.

Los compuestos de naturaleza fenólica presentes en los jugos, pueden ser sencillos o de bajo peso molecular, o de estructura más compleja como los flavonoides, los cuales pueden existir en forma libre o como glucósidos, unidos a moléculas de azúcares. Algunos de los fenoles son incoloros dentro de la planta, pero se oxidan o reaccionan con aminas produciendo sustancias coloreadas. Ha sido determinado que los niveles de precursores de color (amino-nitrógenos y fenoles) o materiales pigmentados en los jugos, se relaciona con la variedad o con un déficit o estrés de la humedad, y pueden incrementar el contenido de los cuerpos coloreados.

Muchos de los compuestos fenólicos en las plantas son responsables de la pigmentación de flores y frutas, con importantes agentes antioxidantes, componentes del sabor, forman partes de la estructura de la lignina y le confieren a los cultivos o vegetales resistencia al ataque de plagas o insectos causantes de diversas enfermedades de las plantas.

Tabla II. **Compuestos fenólicos de mayor relevancia en el azúcar**

Ácido ferúlico	Ácido quínico
Ácido caféico	Ácido 3-hidroxibenzoico
Ácido clorogénico	Ácido vanílico
Ácido p-hidroxibenzoico	Vanillin

Fuente: LARRAHONDO, Jesús Eliécer. *Composición y características químicas de la caña de azúcar*. p. 24.

2.3.2. Desempeño de los compuestos fenólicos y problemas asociados con alto color en la industria azucarera

Los compuestos fenólicos en los azúcares y materiales del proceso fabril, realzan y contribuyen al color. Estos compuestos forman parte de los colorantes de origen enzimático y no enzimático, mediante reacciones de condensación de los grupos fenólicos (grupo OH) con aldehídos (función característica de aldosas, como la glucosa) y aminas. Igualmente, los fenoles forman complejos de alto color, mediante uniones con átomos de hierro (FeIII) y cobre (CuII). Además, los fenoles establecen enlaces con algunos polisacáridos (reticulación) que contribuyen a un incremento del color.

Durante el proceso fabril pueden producirse reacciones en las que se pierde cerca de 40 por ciento de glucosa; donde las masas se expanden produciendo derrames, elevación de la temperatura, caídas en el agotamiento y dificultades en la centrifugación. Estas reacciones, normalmente ocurren en materiales de baja pureza y alto brix promovidas por altas temperaturas. En tanques de almacenamiento de mieles, a veces colapsan y se observa un alto color. El enfriamiento de las mieles finales (por debajo de 40 °C) y la adición de hidrosulfitos (200-400 mg/kg) a las masas han sido utilizados como mecanismo de control, una vez se inician las reacciones que provocan color.

El alto color de los azúcares, como un problema del proceso fabril, puede indicar pérdidas de azúcar, ser un problema para la refinación, elevar los costos de remoción en la refinería y estar asociado con problemas de sabor, formación de “floc” y generación de complejos con otros elementos. Igualmente se ha encontrado que un alto color puede estar relacionado con pH bajos durante el proceso de elaboración e incrementos en el color durante el almacenamiento del azúcar.

El posible origen o mayor procedencia del color de los azúcares ha sido informado por el Instituto de Investigaciones del Proceso Azucarero de New Orleans, mediante la determinación del denominado valor indicador (VI). Este indicador se fundamenta en las determinaciones de absorbancia (color) de soluciones (5 %) de azúcar a pH 9,0 y pH 4,0. Esto es consecuencia de las diferentes estructuras de las moléculas que contribuyen al color y su sensibilidad al pH, el cual es utilizado además, como una forma de diferenciar entre los tipos de colorantes presentes en el azúcar final.

El indicador (VI) se expresa como:

$$VI = \frac{\text{Absorbancia a pH 9.0 (color)}}{\text{Absorbancia a pH 4.0 (color)}}$$

Siendo la absorbancia medida a 420 nm, utilizando la misma celda y concentración.

Tabla III. **Relación entre el valor indicador (VI) y el tipo de colorante en los azúcares de la caña de azúcar**

Tipo de colorante	VI
Melanoidina	1,0-1,2
Caramelo	1,2-1,5
P. Degradación alcalina	1,5-3,2
Flavonoides y C. fenolicos	5-14

Fuente: LARRAHONDO, Jesús Eliécer. *Composición y características químicas de la caña de azúcar*. p. 24.

2.4. Espectrofotometría

Se refiere a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda de la radiación, y a las mediciones a una determinada longitud de onda.

La teoría ondulatoria de la luz propone la idea de que un haz de luz es un flujo de fotones (también llamados cuantos) de energía; la luz de una cierta longitud de onda está asociada con los fotones, cada uno de los cuales posee una cantidad definida de energía.

2.4.1. Principios de la espectrofotometría

Todas las sustancias son capaces de absorber energía radiante. La absorción de las radiaciones ultravioletas, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida.

La espectrofotometría ultravioleta-visible usa haces de radiación de espectro electromagnético, en el rango UV de 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm y en el de la luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar los materiales en la región ultravioleta y visible del espectro.

Las aplicaciones principales de la espectrofotometría son:

- Determinar la cantidad de concentración en una solución de algún compuesto.

- Determinación de estructuras moleculares.
- La identificación de unidades estructurales específicas, ya que estas tienen distintos tipos de absorbancia (grupos funcionales o isomerías).

2.4.2. Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

El ensayo espectrofotométrico Folin-Ciocalteu ha sido utilizado durante muchos años como una medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos naturales. Este método se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes.

Los compuestos fenólicos oxidan al reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfowolfrámico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y de ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) en medio básico, que se reducen por oxidación de los fenoles originando óxidos de wolframio (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}) los cuales pueden observarse a través de la coloración azul generada por la oxidación, dicha coloración es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes. (Kuskoski *et al.*, 2005).

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

El análisis del proceso es realizado para determinar las variables que influyen directa o indirectamente en el procedimiento de cuantificación de concentración de fenoles totales en jugo de caña. Estas se detallan en la tabla IV.

Tabla IV. **Variables del proceso de cuantificación de concentración de fenoles totales**

Variable	Unidad	Dependiente	Independiente	Constante	No constante
Concentración de fenol en jugo de caña	ppm	X			X
Concentración de ácido caféico	ppm	X			X
Absorbancia	-	X			X
pH	-		X		X
Estrato altitudinal			X		X
Temperatura de ambiente	°C		X	X	
Muestreo	-		X		X
Factor de dilución del jugo	-		X	X	

Fuente: elaboración propia.

Tabla V. **Lista de variables a manipular**

Variable	Independiente	Dependiente	Constante	No constante
Concentración de ácido caféico para curva de calibración	X			X

Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación de campo de estudio

El proyecto de investigación de EPS se llevó a cabo en San Diego S. A., Unidad Industrial Ingenio Trinidad Guatemala, en el área de Laboratorio de dicha institución, en donde fueron realizadas todas las pruebas y análisis del proceso de investigación durante el período de los primeros 4 meses de zafra.

3.3. Recursos humanos disponibles

Para el desarrollo del trabajo de investigación fue necesario el apoyo de recurso humano, tanto para la realización de los análisis e investigación, así como para asesoría y evaluación de resultados.

- Investigador: María Lourdes Castillo Gómez
- Asesor: Ing. Qco. Estuardo Edmundo Monroy Benítez
- Encargado en la empresa: Ing. Qco. Félix René Morales Magarín
- Colaborador: Luis Enrique Cifuentes Ruiz

3.4. Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos)

Para el planteamiento y desarrollo del trabajo de investigación, fueron necesarios diversos recursos materiales, los cuales se clasificaron en equipo, cristalería y reactivos y materia prima.

3.4.1. Equipo

El utilizado para el desarrollo de la etapa experimental del trabajo de investigación se detalla a continuación. Este fue proporcionado por el Ingenio Trinidad.

- Espectrofotómetro Genesys 10S UV-VISIBLE
- Balanza analítica
- Potenciómetro

3.4.2. Cristalería

La utilizada para el desarrollo de la etapa experimental del trabajo de investigación se detalla a continuación. La misma fue proporcionada por el Ingenio Trinidad.

- Pipetas serológicas (10 y 5mL)
- Balones aforados (100mL)
- Beakers (250mL)
- Tubos de ensayo

3.4.3. Reactivos y materia prima

Los utilizados para el desarrollo de la etapa experimental del trabajo de investigación se detallan a continuación. Estos fueron proporcionados por el Ingenio Trinidad.

- Jugo de caña de las variedades CP88-1165, CP73-1547 y CP72-2086
- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Ácido caféico
- Hidróxido de sodio

3.5. Técnica cualitativa o cuantitativa

La metodología utilizada incluye la medición de parámetros cuantitativos y cualitativos para llevar a cabo la determinación de datos con base a las variables de interés, así como técnicas de observación participante. Las técnicas empleadas se describen a continuación:

- Medición de concentración de fenol en solución de ácido caféico para llevar a cabo una curva de calibración.
- Medición de concentración de fenol en jugo de caña.
- Medición del pH del jugo de la caña.
- Factor de dilución del jugo de caña para llevar a cabo el método de Folin-Ciocalteu.
- Técnica estadística de comparación entre variedades de caña, pH y estrato altitudinal.
- Tipo de caña (variedad a la que pertenecían).
- Estrato altitudinal de cosecha de caña.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

A continuación se describe el procedimiento utilizado para la recolección y ordenamiento de los datos, para la obtención de los resultados de los objetivos planteados.

- Muestreo: se utilizó el procedimiento representativo estadísticamente de muestrear cada 65 toneladas de caña que ingresaba al Ingenio y que fuera correspondiente a las variedades de estudio (CP88-1165, CP73-1547 y CP72-2086).
- .Preparación: se utilizó el procedimiento de preparación de caña de CONCECANA que aplica una desfibradora de caña y extracción de jugo con prensa hidráulica. (Anexos 1 y 4)
- Se realizó la medición de pH del jugo empleando un potenciómetro.
- Análisis estadístico: se realizó una técnica estadística de comparación de medias y correlación de resultados.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

A continuación se describen las herramientas utilizadas para la tabulación y ordenamiento de los datos necesarios para la obtención de los resultados de los objetivos planteados.

3.7.1. Curva de calibración del método de Folin-Ciocalteu

Se realizó este método para las condiciones de trabajo del laboratorio de Ingenio Trinidad. Para ello se utilizaron 12 soluciones a distinta concentración de ácido caféico.

Tabla VI. Datos para la elaboración de curva de calibración

Concentración de ácido caféico (ppm)	Absorbancia
0	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	

Fuente: elaboración propia.

3.7.2. Toma de datos de concentración de fenol

Se utilizó una tabla para la toma de datos realizados diariamente donde se anotaba la variedad de caña, absorbancia de la muestra, pH del jugo y la nota de peso de la caña, con la cual, posteriormente se podía obtener el estrato altitudinal en la que se cosechaba la misma.

Tabla VII. **Datos para la obtención de concentración de fenol en jugo diluido y concentración de fenol real**

Número de muestra	Nota de peso de la caña	Variedad de caña	Absorbancia	pH del jugo	Concentración de fenol (ppm)	Concentración de fenol real (ppm)
1						
2						
3						
4						
...						
n						

Fuente: elaboración propia.

3.8. Análisis estadístico

A continuación se detalla el procedimiento utilizado para el análisis estadístico. Esto incluye número de repeticiones, media aritmética, desviación estándar y comparación de medias mediante la prueba de t.

3.8.1. Número de repeticiones

Para estimar el número de repeticiones a realizar durante la verificación del método de ensayo, se utilizó como base un criterio de confiabilidad del 95

por ciento y un error estimado del 25 por ciento por la precisión del equipo utilizado.

Para la estimación del número de repeticiones a realizar se utilizó la siguiente ecuación:

$$N = \frac{P(1 - P)Z_{\alpha/2}^2}{E^2}$$

[Ecuación No. 1, ref. 7]

Donde:

N = *número de repeticiones*

$Z_{\alpha/2}$ = *Confiabilidad.*

P = *Probabilidad de éxito.*

$(1 - P)$ = *Probabilidad de fracaso.*

E = *Error*

Con el propósito de obtener resultados con un mínimo de error, así como gráficas y análisis matemáticos adecuados, un valor de $Z_{\alpha/2} = 1.96$, $P = 0.95$ y $E = 0.25$.

$$N = \frac{0.95(1 - 0.95)1.96^2}{0.25^2} = 2.919 \cong 3$$

Se realizarán 3 repeticiones para obtener un nivel de confianza del 95 por ciento y aceptando un error máximo del 25 por ciento. (El número de repeticiones fue utilizado para la elaboración de la curva de calibración del método de ensayo)

3.8.2. Media aritmética

La media aritmética para el conjunto de datos por variedad de caña, estrato altitudinal y pH del jugo obtenidos durante la investigación, se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\bar{x} = \frac{\sum_0^i x_i}{n}$$

[Ecuación No. 2, ref. 7]

Donde:

\bar{x} = *media aritmética*

n = *número de datos*

x_i = *valor iésimo*

3.8.3. Desviación estándar

La desviación estándar para el grupo de datos por variedad de caña, estrato altitudinal y pH del jugo obtenidos durante la investigación, se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$s = \sqrt{\sum_i \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

[Ecuación No. 3, ref. 7]

Donde:

s = *desviación estándar*

\bar{x} = *media aritmética*

$x_i = \text{valor íésimo}$

$n = \text{número total de datos}$

3.8.4. Comparación de dos medias mediante t de student

La prueba de t de student fue realizada para determinar si existe diferencia significativa entre las medias de concentración de compuestos fenólicos entre cada variedad de jugo (incluyendo el análisis de estrato altitudinal y pH del jugo), para determinar si la hipótesis planteada era aceptada o rechazada.

El estadístico t será determinado mediante la ecuación:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

[Ecuación No. 4, ref. 7]

Donde:

$t = \text{valor de } t \text{ determinada}$

$\bar{x} = \text{media}$

$n = \text{número de muestras}$

$s = \text{desviación estándar}$

Se deben determinar los grados de libertad mediante la siguiente ecuación:

$$G.L. = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\frac{s_1^4}{n^2(n_1 - 1)} + \frac{s_2^4}{n^2(n_2 - 1)}}$$

[Ecuación No. 5, ref. 7]

Donde:

$G.L.$ = *grados de libertad*

n = *número de muestras*

s = *desviación estándar*

(Los grados de libertad se deben aproximar al entero siguiente.)

El valor de t calculado será comparado posteriormente utilizando el valor crítico de t (anexo, sección 3). Este valor depende del nivel de significancia y de los grados de libertad.

4. RESULTADOS

4.1. Concentración de compuestos fenólicos totales en diferentes estratos altitudinales para las variedades de caña: CP 72-2086, CP 73-1547 y CP 88-1165

A continuación, en las tablas VIII, IX y X se muestra el resultado de la medición de concentración de fenol para cada una de las 3 variedades analizadas en los distintos estratos altitudinales: medio bajo y litoral.

Tabla VIII. **Concentración de fenoles totales por estrato altitudinal para la variedad de caña CP72-2086**

VARIEDAD CP72-2086	
ESTRATO ALTITUDINAL	CONCENTRACIÓN FENOL (ppm)
Medio	690,95
Bajo	737,08
Litoral	731,03

Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. **Concentración de fenoles totales por estrato altitudinal para la variedad de caña CP88-1165**

VARIEDAD CP88-1165	
ESTRATO ALTITUDINAL	CONCENTRACIÓN FENOL (ppm)
Bajo	663,31
Litoral	684,92

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Concentración de fenoles totales por estrato altitudinal para la variedad de caña CP73-1547**

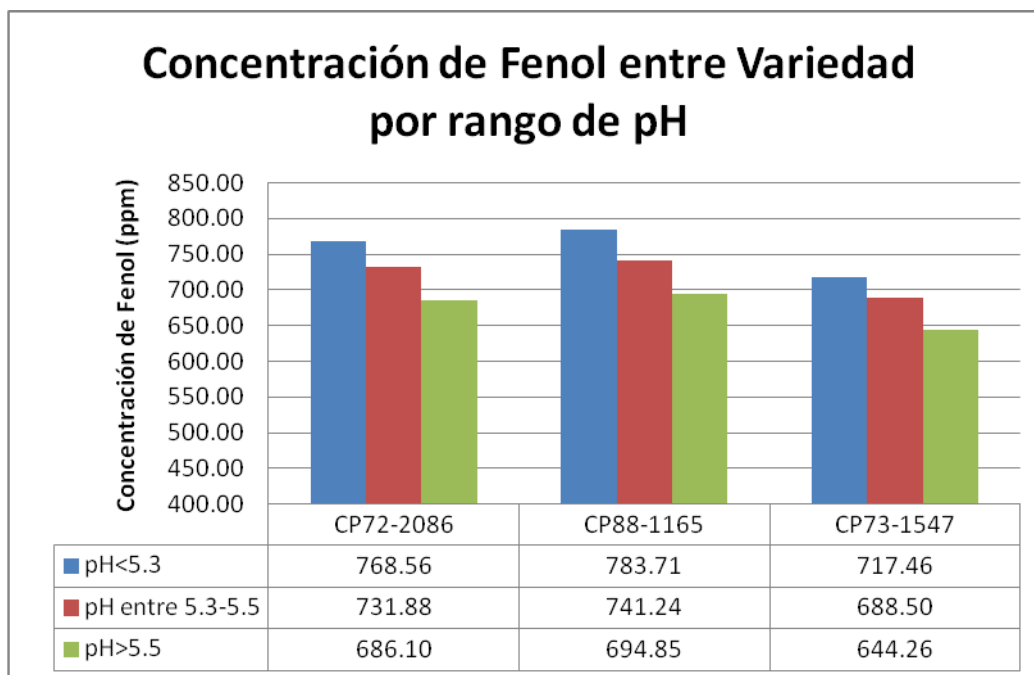
VARIEDAD CP73-1547	
ESTRATO ALTITUDINAL	CONCENTRACIÓN FENOL (ppm)
Medio	707,75
Bajo	741,04
Litoral	757,03

Fuente: elaboración propia.

4.2. Concentración de compuestos fenólicos totales entre cada variedad de caña, por rango de pH como indicativo del deterioro

A continuación, en la figura 6 se muestra un análisis gráfico comparativo de las diferentes concentraciones de compuestos fenólicos totales entre cada variedad de caña analizada (CP72-2086, CP73-1547 y CP88-1165), por rango de pH como indicativo del deterioro.

Figura 6. **Concentración de fenoles totales entre cada variedad de caña por rango de pH**

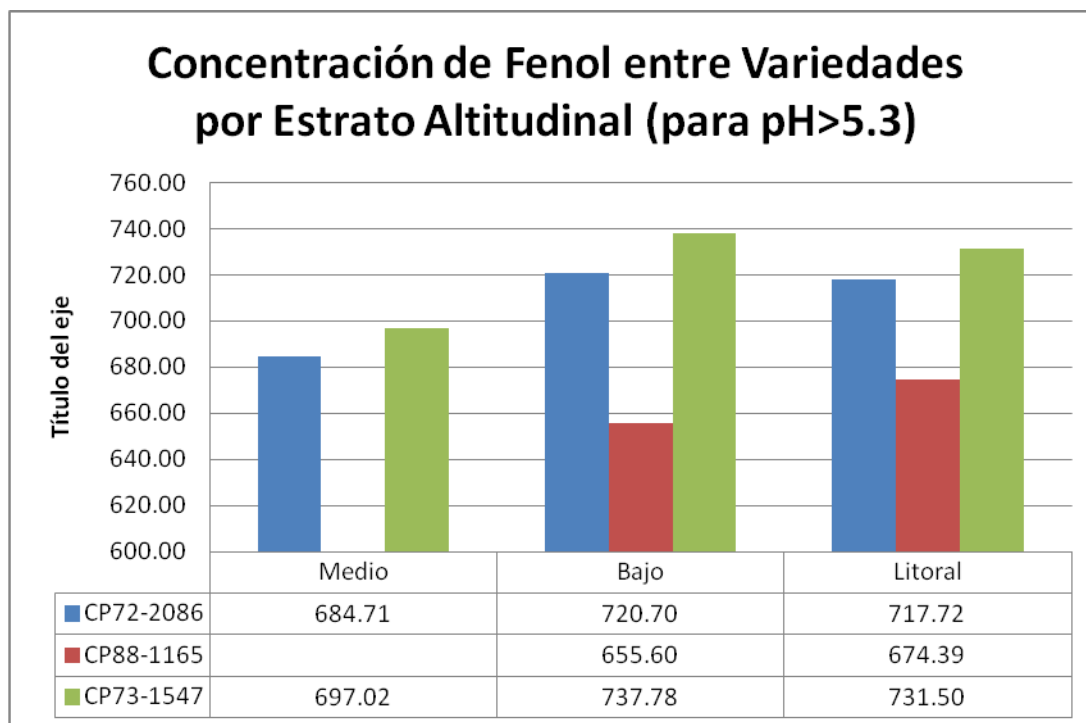


Fuente: elaboración propia.

4.3. **Concentración de compuestos fenólicos totales de cada variedad de caña por estrato altitudinal, para pH mayor a 5,3**

A continuación, en la figura 7 se muestra un análisis gráfico comparativo de las diferentes concentraciones de compuestos fenólicos totales entre cada variedad estudiada (CP72-2086, CP73-1547 y CP88-1165) por estrato altitudinal, para pH mayor a 5.3.

Figura 7. **Concentración de fenoles totales entre cada variedad de caña por estrato altitudinal, para pH mayores a 5,3**



Fuente: elaboración propia

4.4. **Análisis estadístico**

A continuación, en la tabla XI se muestra el análisis estadístico realizado para el estudio de los datos por variedad de caña y así determinar si la hipótesis planteada es aceptada o rechazada. Se utilizó el contraste de significación de t de student.

Tabla XI. **Análisis estadístico por contraste de significación (t de student) entre variedades de caña**

	Grados de libertad	T crítica	T calculada	Conclusión
CP72-2086 Y CP73-1547	219,70	1,96	1,59	Tcalculada < Tcrítica (Ho es rechazada) NO hay diferencia estadísticamente representativa entre las dos variedades de caña
CP72-2086 Y CP88-1165	137,94	1,96	4,54	Tcalculada > Tcrítica (Ho es aceptada) SI hay diferencia estadísticamente representativa entre las dos variedades de caña
CP73-1547 Y CP88-1165	185,86	1,96	5,10	Tcalculada > Tcrítica (Ho es aceptada) SI hay diferencia estadísticamente representativa entre las dos variedades de caña

Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La determinación de la concentración de compuestos fenólicos totales en jugo de caña fue realizada para la caracterización de las principales variedades de caña de azúcar utilizadas en Ingenio Trinidad, ya que los mismos contribuyen a la generación de color en azúcar durante el proceso fabril.

El estudio realizado es representativo, ya que se tomaron muestras cada 65 toneladas de caña que ingresaban al Ingenio, siendo las mismas correspondientes a las variedades de interés: CP88-1165, CP73-1547 y CP72-2086; y la preparación de la misma fue realizada por medio de un procedimiento de CONCECANA, el cual se basa en la utilización de una desfibradora y prensa hidráulica para la extracción del jugo (anexos 1 y 4).

El análisis fue realizado por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (anexo 1), que se basa en la reducción de los óxidos de wolframio y molibdeno por la oxidación de fenoles en soluciones de medio básico. El método se encuentra validado para jugo de caña por SPRI (apéndice 3).

Se realizó una curva de calibración (anexo 2) y, a partir del modelo matemático obtenido se determinaron las concentraciones de fenol en el jugo de caña. Se evaluó la concentración de compuestos fenólicos en diferentes estratos por variedad de caña, y se elaboraron análisis gráficos comparativos de las concentraciones de compuestos fenólicos entre cada variedad por rango de pH como indicativo de deterioro y de la concentración de fenoles totales entre cada variedad por estrato altitudinal para pH mayor a 5,3. El análisis

estadístico de los resultados se realizó por medio de un contraste de significancia (t de student) de la concentración de fenol por variedad de caña.

Para el análisis de la concentración de fenoles totales por variedad de caña en diferentes estratos altitudinales, se observa en las tablas VIII y X que para las variedades CP72-2086 y CP73-1547, los estratos bajo y litoral presentan un mayor contenido de fenol en comparación con el estrato medio, 737ppm y 731ppm para la CP72-2086 y 741ppm y 757ppm para la CP73-1547 en estratos bajo y litoral respectivamente. La causa de este comportamiento es que los estratos altitudinales bajo y litoral se encuentran a un nivel más cercano sobre el nivel del mar, por lo que en la mayoría de los casos son sometidos a condiciones de humedad y estrés hídrico, lo que ocasiona que la planta se vea obligada a generar un mecanismo de defensa para no deteriorarse y descomponerse, siendo en este caso la generación de fenoles la forma de protección de la caña. En el caso de la variedad CP88-1165 (tabla IX) no se cuenta con información de la concentración de fenol en el estrato medio, ya que la mayor parte de siembra de esta caña se encuentra situada en las zonas baja y litoral, sin embargo, la concentración de fenol en estas zonas es menor en comparación con las otras dos variedades, 663 ppm (estrato bajo) y 684 ppm (estrato litoral); este comportamiento se debe a que esta variedad posee un contenido mayor de agua en su estructura, por lo que el estrés por cambios de humedad o hídrico no producen un efecto drástico en la concentración de fenol.

También se determinó la concentración de fenoles totales entre cada variedad por rango de pH como indicativo del deterioro de la caña de azúcar. En la figura 6 se observa que, para valores de pH menores a 5,3 el contenido de fenol en las tres variedades de caña tiende a incrementar, mientras que cuando se presenta un aumento en el pH de la misma, la concentración de fenol disminuye. Este comportamiento se debe a que valores inferiores a 5,3 en

el pH de jugo de caña representa un indicativo de deterioro del mismo, es decir, caña en estado de putrefacción y fermentación. En este caso la variedad CP88-1165 presenta mayor contenido de fenol debido a la cantidad de horas quema que la caña tuvo, ya que desde que la caña es quemada se empieza a deteriorar y, como se mencionó anteriormente, se presenta la generación de fenoles como mecanismo de defensa de la misma, creando así una disminución del pH en el jugo.

Por otro lado, se analizó la concentración de fenoles totales por estrato altitudinal para las tres variedades de caña cuando el pH de las mismas es mayor a 5,3, es decir que, no se encuentran en estado de descomposición.

A partir de la figura 7 se observa un comportamiento similar para las tres variedades de caña en los diferentes estratos, siendo la variedad CP73-1547 es la que presenta un mayor contenido de fenoles, seguida de la CP72-2086; mientras que la variedad CP88-1165 es la que presenta un menor contenido de fenoles en los estratos bajo y litoral cuando las condiciones de descomposición no están presentes. Este comportamiento se debe a que las variedades CP73-1547 y CP72-2086 son más susceptibles a los cambios en las condiciones en las que se encuentran por lo que cualquier estrés de humedad, por plagas o hídrico se ve reflejado en una liberación de grandes cantidades de fenol como mecanismo de defensa de las mismas, mientras que la CP88-1165 es más resistente a los cambios por lo que la generación de fenol es menor.

Finalmente se realizó un análisis estadístico por contraste de significancia (t de student) con un 95 por ciento de confiabilidad para determinar el cumplimiento de la hipótesis planteada (tabla de valores críticos de distribución t, anexo 3). Basándose en los resultados obtenidos, a partir de la tabla XI, se determina que no existe diferencia significativa de concentración total de fenol

entre las variedades CP72-2086 y CP73-1547, mientras que para la comparación de las variedades CP72-2086/CP88-1165 y CP73-1547/CP88-1165 sí existe diferencia significativa en la concentración de fenol en jugo de caña. Por los resultados mencionados, la hipótesis nula es rechazada y se acepta la hipótesis alternativa propuesta.

6. LOGROS OBTENIDOS

A continuación se muestran los logros obtenidos en los 6 meses de realización de EPS, y posteriormente, la etapa final de análisis de datos y correlación de resultados.

- Aportes de datos de la concentración de fenol en el jugo de caña de azúcar de tres diferentes variedades, basándose en variables como el estrato altitudinal y pH del jugo.
- Desarrollo de la técnica de Folin-Ciocalteu como un método de medición de fenol en laboratorio, para futuras temporadas de zafra, logrando así tener un control sobre la cantidad estimada de fenol que ingresa al proceso fabril.
- Implementación del desarrollo de nuevos proyectos de investigación a nivel laboratorio, sobre la caracterización de los componentes del jugo de caña de azúcar.

CONCLUSIONES

1. La concentración de fenoles totales entre cada variedad de caña presenta variaciones estadísticamente representativa entre las variedades CP72-2086/CP88-1165 y CP73-1547/CP88-1165, con un 95 por ciento de confiabilidad.
2. Las variedades CP72-2086 y CP73-1547 presentan la mayor concentración de fenoles totales en los estratos bajo y litoral (concentración mayor a 730 ppm).
3. La concentración de fenoles totales es inversamente proporcional al valor de pH del jugo de la misma para las tres variedades de caña analizadas, teniendo una mayor concentración para valores menores a pH 5,3 por deterioro y descomposición de la caña.
4. Las variedades CP72-2086 y CP73-1547 son las que presentan una mayor concentración de fenoles totales en el estrato bajo y litoral para pH mayores a 5,3 por ser susceptibles a cambios en estrés de humedad, hídrico y de plagas.

RECOMENDACIONES

1. Utilizar los valores de concentración de fenol en jugo de caña como un indicador determinante de la variedad a utilizar durante en proceso de fabricación de azúcar.
2. Utilizar las variedades con menor contenido fenólico para azúcar blanca y variedades con contenidos de fenol más alto para azúcar cruda.
3. Investigar el impacto de la adición de compuestos sulfitados para la remoción de compuestos fenólicos durante el proceso fabril en la etapa de clarificación.

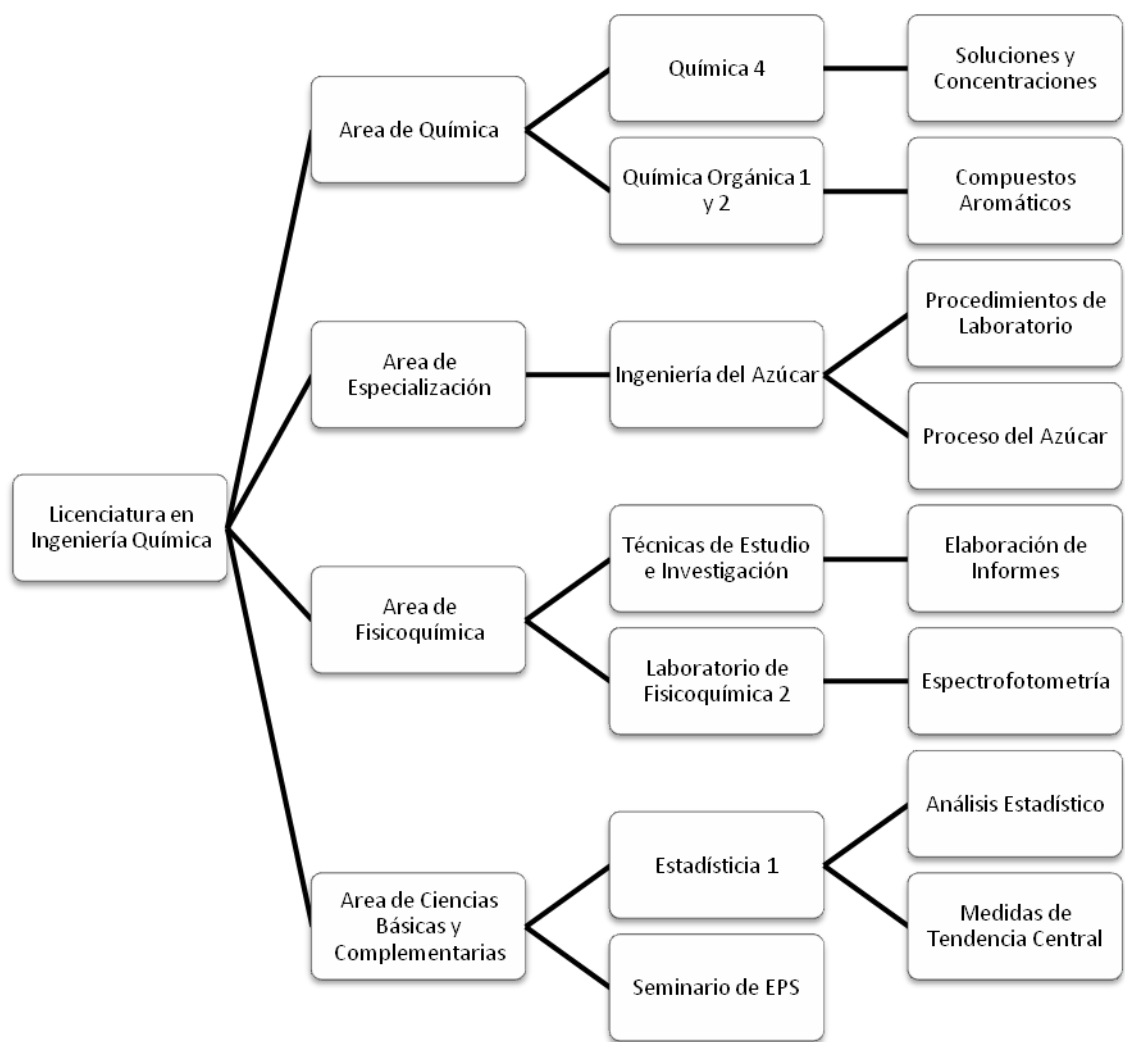
BIBLIOGRAFÍA

1. AGUIRRE, M.; POVEDA, C. *Jugo de caña de azúcar envasado en vidrio*. [en línea] Disponible en Web: www.dspace.espol.edu.ed/. [Consulta: 6 de agosto de 2013].
2. BUENAVENTURA, C. N. et al. *Manual de laboratorio para la industria azucarera*. Colombia: Tecnicaña, 1989. 227 p.
3. CENGICAÑA. *El cultivo de la caña de azúcar en Guatemala*. Guatemala: Artemis Edinter, 2012. 512 p.
4. CONCEJO EDITORIAL MNCN. *Determinación colorimétrica de compuestos fenólicos en agua mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu*. [en línea] <http://www.mncn.csic.es/>. [Consulta: 28 de agosto de 2013].
5. LARRAHONDO, Jesús Eliécer. *Composición y características químicas de la caña de azúcar*. Colombia: Universidad del Valle, 2012. 110 p.
6. MEDEIROS, Fernando. *Proceso de fabricación de azúcar*. 3a ed. Editorial Universitaria de UFPE, 2011. 447 p.
7. MILLER & MILLER. *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4a ed. Madrid: Prentice Hall, Pearson Educación., 2002. 296 p.

8. OROZCO Vásquez, Héctor, et al. *Catálogo de variedades promisorias de caña de azúcar de la agroindustria azucarera guatemalteca*. Guatemala: Cengicaña. 2004. 40 p.
9. PORTA, Antonio. *Fabricación del azúcar*. España: Salvat, 1955. 809 p.
10. REIN, Peter. *Ingeniería de la caña de azúcar*. Alemania: Bartens, 2012. 880 p.
11. SPENCER, Guilfor; MEADE, George. *Manual del azúcar de caña*. 9a ed. España: Montaner y Simón, 1967. 940 p.
12. SOZZI, Silvia B. et al. *Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina)*. [en línea] <http://www.scielo.org.ar/>. [Consulta: 27 de agosto de 2013]
13. VAN DER POEL, P. W.; SCHIWECK, H; SCHWARTZ, T. *Sugar technology, beet and cane sugar manufacture*. Alemania: Bartens, 1998. 1119 p.

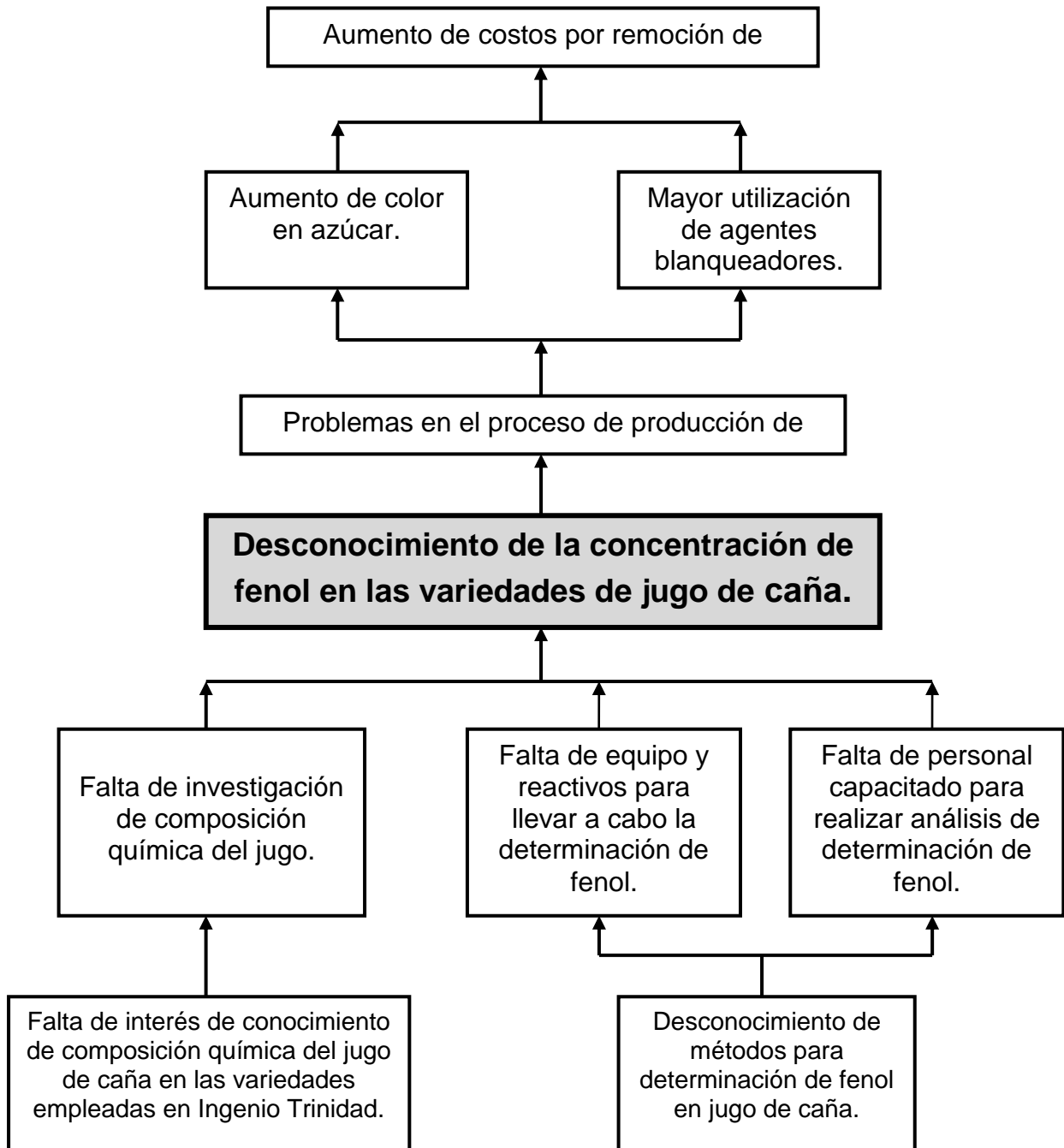
APÉNDICES

Apéndice 1. **Tabla de requisitos académicos**



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. **Árbol de problema**



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 3. Validación del método de Folin-Ciocalteu

El método de Folin-Ciocalteu es empleado para la determinación de fenoles totales contenidos en diferentes sustancias como agua, vinos y extractos vegetales. Sin embargo, el método fue validado para su utilización en la medición de fenoles totales en jugo de caña por “Sugar Processing Research Institute”, Inc. New Orleans, LA 70179, U.S.A., empleando el análisis descrito en el anexo 2, obteniendo los siguientes resultados.

Datos de la curva de calibración para fenoles

<u>Concentración (ppm)</u>	<u>Absorbancia</u>
0.0	0.000
1.0	0.059
2.0	0.123
3.0	0.171
4.0	0.293
6.0	0.353
7.0	0.445
8.0	0.503
9.0	0.555
10.0	0.617
11.0	0.681
12.0	0.748

K= 15.940

B= 0.1184

$R^2 = 0.9987$

Longitud de onda= 650

Referencia:

Instituto " Sugar Processing Research Institute", Inc. New Orleans, La 70179, U.S.A.

Tomando en cuenta que el método ya se encuentra validado, únicamente se realizó la curva de calibración bajo las condiciones del laboratorio de Ingenio Trinidad.

Fuente: elaboración propia.

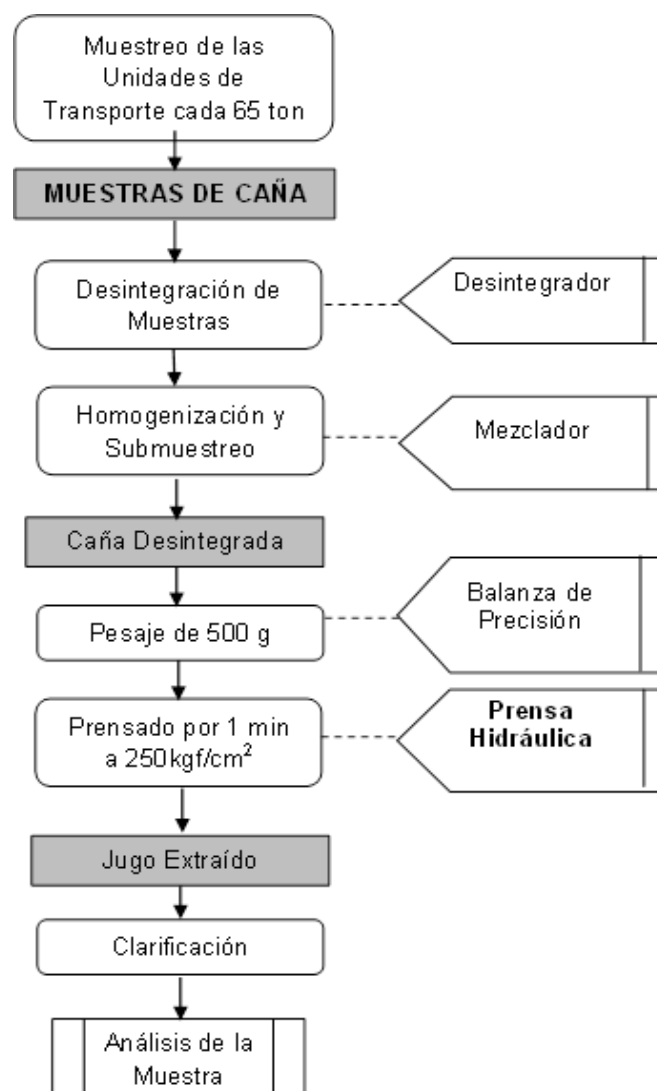
ANEXOS

Anexo 1. Procedimiento de muestreo, preparación y análisis de fenoles en jugo de caña

- **Muestreo y preparación**

Las muestras fueron tomadas cada 65 toneladas de caña que ingresaban al Ingenio y se analizaron únicamente las que correspondían a las variedades de interés en este estudio.

El procedimiento para la preparación de la caña se realizó con base al procedimiento de CONCECANA-SP que aplica una desfibradora de caña y extracción de jugo con prensa hidráulica. A continuación se presenta el diagrama de preparación:

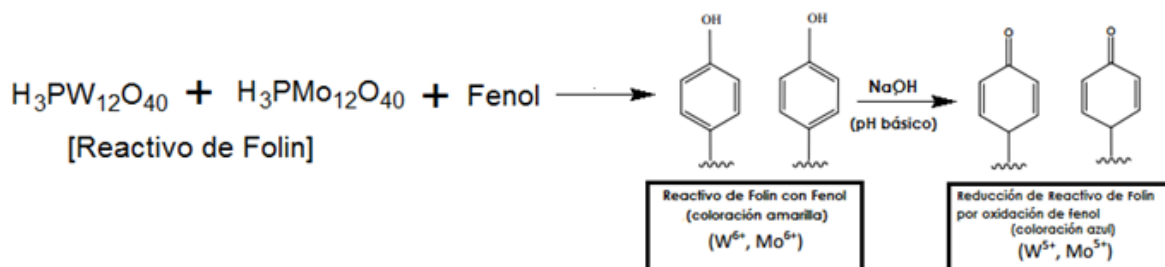


Fuente: FERNANDES, Antonio. *Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar*. p. 110.

- **Análisis**

Los compuestos fenólicos totales en el jugo de caña, se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu. El reactivo de Folin-Ciocalteu es una mezcla de ácido de coloración amarilla (fosfowolfrámico y fosfomolibdico). Estos compuestos se reducen al interaccionar con los compuestos fenólicos dando origen a óxidos de coloración azul (óxidos de wolframio y molibdeno), los cuales exhiben una amplia absorción de luz, con un máximo a 765 nm. La intensidad de la absorción de luz a esa longitud de onda, es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos.

La reacción que se presenta durante el análisis se describe como:



Este método se encuentra validado por “Sugar Processing Research Institute” en Estados Unidos, por lo que únicamente se realizó la curva de calibración para las condiciones en la que se trabajó en el laboratorio de Ingenio Trinidad.

A continuación se detalla el equipo, reactivos y procedimiento empleados durante el análisis.

- Equipos
 - Balones aforados
 - Pipetas

- Tubos de ensayo
- Espectrofotómetro
- Reactivos
 - Ácido caféico
 - Solución de hidróxido de sodio 2M
 - Reactivo de Folin- Ciocalteu
- Procedimiento
 - Tomar 0,5 ml de jugo de primera extracción previamente filtrado y aforar a 50 ml con agua destilada.
 - Depositar 4 ml de la solución anterior en un tubo de ensayo y adicionar 0,4 ml del reactivo de Folin, más 0,8 ml de la solución de NaOH 2M. Agitar la solución durante 5 minutos.
 - Leer la solución en un espectrofotómetro a 650 nm, utilizando como blanco agua destilada.

Nota:

Los tubos de ensayo deben estar limpios y totalmente secos; de lo contrario se forma un precipitado blanco. Por esta razón el blanco se hace únicamente con agua destilada. También es muy importante hacer la lectura a los cinco minutos, pues después de este tiempo se forma un precipitado, lo que ocasiona lecturas falsas.

Anexo 2. Elaboración de curva de calibración para método de Folin-Ciocalteu

- **Preparación de solución de ácido caféico**

Pesar 0.1 g de ácido caféico y aforar a 100 ml con agua destilada (1000 mg/L). A partir de esta primera solución, se preparó una solución de 100 mg/L tomando 10mL de la misma y se aforó a 100 mL.

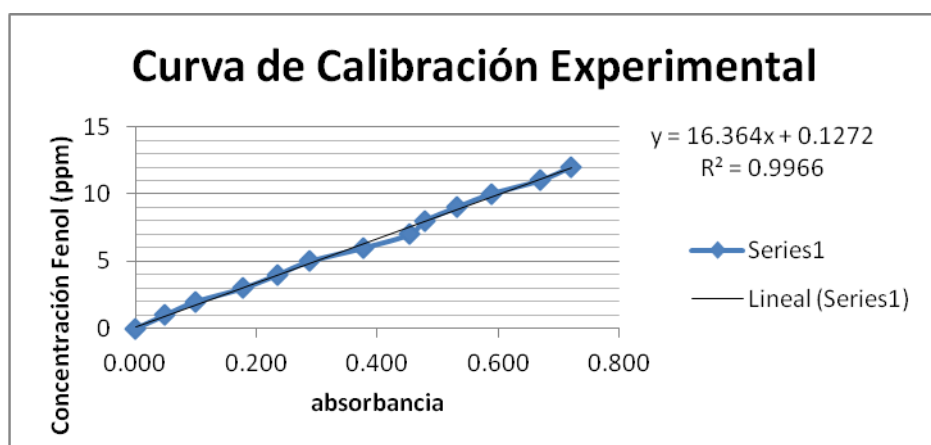
A partir de la segunda solución, se prepararon soluciones de las siguientes concentraciones en mg/L: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12. Para cada una de las soluciones, se tomaron 4 ml de cada una y se colocaron en tubos de ensayo y se adicionó 0,4 ml del reactivo de Folin, más 0,8 ml de la solución de NaOH 2M. Se agitó la solución durante 5 minutos, y se procedió a leer la solución en un espectrofotómetro a 650 nm, utilizando como blanco agua destilada.

A continuación se realizó la curva de calibración para obtener el modelo matemático para el cálculo de concentración de fenol en jugo de caña de azúcar.

Los datos experimentales obtenidos para la curva de calibración se muestran a continuación:

ppm	absorbancia
0	0.000
1	0.049
2	0.099
3	0.178
4	0.235
5	0.289
6	0.377
7	0.453
8	0.479
9	0.531
10	0.588
11	0.669
12	0.720

A partir de ello se gráfico la absorbancia de las muestras en función de la concentración de las mismas para obtener el modelo matemático para la determinación de fenol en jugo de caña.



El modelo matemático obtenido fue:

$$y = 16.364x + 0.1272$$

Donde:

$y = \text{concentración de fenol}$

$x = \text{absorbancia de la muestra}$

Nota: el valor de la concentración obtenido del modelo matemático debe multiplicarse por el factor de dilución (1:100), para obtener el valor real de concentración de fenol en jugo de caña.

Anexo 3. Tabla de valores críticos de la distribución t.

Valores críticos de la distribución t

<i>Valor de t para un intervalo de confianza de Valor crítico de t para valores de P de número de grados de libertad</i>	<i>90%</i>	<i>95%</i>	<i>98%</i>	<i>99%</i>
<i>0.10</i>	<i>0.05</i>	<i>0.02</i>	<i>0.01</i>	
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Fuente: MILLER & MILLER. *Estadística y quimiometría para química analítica*. p. 83.

El criterio de decisión sobre los valores de t calculado y valores de t críticos, son los siguientes:

- Si $t_{cal} < t_{crit}$ entonces las medias no tienen diferencia significativa
- Si $t_{cal} > t_{crit}$ entonces las medias tienen diferencia significativa

Anexo 4. Normas operacionais de determinación de la calidad de la caña de azúcar (CONCECANA-SP)

ANEXO I. NORMAS OPERACIONAIS DE DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DA CANA-DE-AÇÚCAR

FUNDAMENTOS

- N-001. A qualidade da cana-de-açúcar, de fornecedores e própria, destinada à produção de açúcar e de álcool, no Estado de São Paulo, será avaliada através de análise tecnológica em amostras coletadas no momento de sua entrega.
- N-002. Será de responsabilidade da unidade industrial, a operação do sistema de avaliação da qualidade da matéria prima, incluindo todas as etapas, desde a pesagem da cana até o processamento dos dados.

VEÍCULOS DE TRANSPORTE DA CANA-DE-AÇÚCAR

- N-003. Os veículos utilizados para o transporte de cana-de-açúcar deverão permitir, necessariamente, a amostragem por sonda mecânica, horizontal ou oblíqua.
- N-004. Quando a cana for transportada em veículos com uma ou mais carretas, estas serão consideradas cargas separadas para fins de amostragem.
- N-005. Para a amostragem de cargas de cana inteira, por sonda horizontal, os veículos deverão afixar em suas carrocerias, em local visível, o número de vãos passíveis de amostragem.
- N-006. Consideram-se vãos, os espaços passíveis de amostragem, existentes entre fueros ou outras estruturas destinadas à contenção das cargas.
- N-007. As carrocerias deverão possuir, no mínimo, 5 (cinco) vãos, equidistantes ao longo da carroceria, separados entre si por uma

- distância máxima de 1 m (um metro), medida de centro a centro dos vãos. Os casos que não atendam a esta norma serão avaliados pelas partes.
- N-008. Os vãos serão contados a partir da cabina do veículo transportador.

BALANÇA DE PESAGEM DAS CARGAS DE CANA-DE-AÇÚCAR

- N-009. As unidades industriais deverão efetuar, através do INMETRO – Instituto de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial ou por empresas por ele credenciadas, pelo menos, 2 (duas) aferições da balança de pesagem de cana, sendo a primeira no início do período de moagem e a segunda, na metade do período de moagem, afixando o respectivo certificado em local de fácil acesso.
- N-010. As unidades industriais deverão permitir aos representantes das associações de classe dos fornecedores, a qualquer momento, a solicitação para a calibração das balanças de carga, através de entidades credenciadas.

ENTREGA DA CANA-DE-AÇÚCAR

- N-011. A entrega da cana, sob a responsabilidade do fornecedor, deverá ser realizada até 72 h (setenta e duas horas) da queima, no período compreendido entre o início do período de moagem até 31 de agosto e de 80 h (sessenta horas) da queima, a partir de setembro até o final do período de moagem.
- N-012. A cana entregue após os tempos estabelecidos (T) na norma N-011, a critério da unidade industrial, poderá sofrer descontos no valor da tonelada de cana, conforme a expressão:

$$K = 1 - (H - T) \times 0,002$$
, onde:

K = fator de desconto a ser aplicado à quantidade de ATR do produtor;

H = tempo, em horas, da respectiva queima;

T = 72 h entre o início da moagem e 31 de agosto;

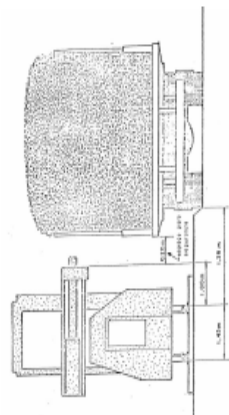


Fig. 1 – Distância entre o veículo e a sonda amostradora

= 80 h, a partir de setembro até o final da moagem.

- N-013. Salvo quando dispensados da obrigação, os fornecedores deverão informar, por meios pré-estabelecidos, a hora da queima, às unidades industriais.
- N-014. Será descontado do tempo que compõe o fator K:
- o tempo de interrupção do recebimento de cana nas unidades industriais, motivado por causas não programadas;
 - o tempo de espera na fila de entrega na unidade industrial, desde que não respeitada a proporcionalidade entre as entregas de cana própria e as de fornecedores.
- N-015. Não será aplicado o fator K, quando os serviços de colheita forem efetuados pela unidade industrial ou empresa prestadora destes serviços por ela gerenciada.
- N-016. As unidades industriais deverão controlar os tempos previstos na norma N-011, devendo incluir, em relatórios, os tempos transcorridos nas ocorrências que incidirem descontos devido à demora de entrega.
- N-017. As unidades industriais deverão dispor de local apropriado, antes das balanças de pesagem da tara dos veículos, para remoção dos colmos remanescentes dos carregamentos.

• AMOSTRAGEM DAS CARGAS

- N-018. A amostragem das cargas será efetuada por sonda mecânica, horizontal ou oblíqua.
- N-019. A sonda amostradora deverá estar localizada após a balança de pesagem da carga.
- N-020. No caso de sonda amostradora sobre trilhos, o estacionamento do veículo deverá respeitar a distância de 20 cm (vinte centímetros) entre a coroa do tubo amostrador e a cana dos carregamentos (Fig. 1).

- N-021. As posições de amostragem, quando se tratar de sondas horizontais, serão definidas por sorteio informatizado, levando-se em conta o número de vãos de cada tipo de unidade de transporte. As posições de amostragem e a identificação informatizada das cargas amostradas deverão ser impressas nos Boletins de Análise.
- N-022. As perfurações das cargas, para fins de amostragem, deverão ser feitas no ponto central da área definida pelo sorteio. Quando houver algum impedimento causado por obstáculo físico, a perfuração poderá ser realizada ao redor do local sorteado.
- N-023. Em todos os tipos de sonda amostradora horizontal, o tubo amostrador deve ser introduzido totalmente na carga e esvaziado após cada perfuração. Quando não for possível introduzir totalmente o tubo amostrador, será necessária a re-introdução no mesmo furo.
- N-024. O número de possibilidades de pontos de amostragem, por sondas horizontais, será dado pela equação:

$$P = 2 \times V - 4, \text{ onde:}$$

V = número de vãos para cada tipo de carroceria.

Exemplos:

(a) carroceria com 7 vãos : $P=2 \times 7 - 4 = 10$ possibilidades (Fig.2)

NÚMERO DE UNIDADES DE TRANSPORTE			
Entregas/día	Amostradas/día		%
	Todas		
01-05	06		100,0
06-10	07		75,0
11-15	08		53,8
16-25	10		39,0
26-35	12		32,8
36-45	14		29,6
46-55	17		27,7
56-70	21		27,0
71-85	23		26,9
86-100	25		25,8
>100			25

- N-028. Quando o número diário de carregamentos, por produtor e por fundo agrícola, exceder a 10 (dez), as amostragens deverão ser distribuídas proporcionalmente ao longo do período diário de entrega.
- N-029. Em se tratando de sonda amostradora oblíqua, a amostra será retirada em apenas 1 (uma) posição, seguindo a linha horizontal e central da parte superior do carregamento, em duas etapas e na mesma perfuração, retirando e descartando as sub-amostras de cada etapa.
- N-030. A coroa dentada das sondas amostradoras, horizontais ou oblíquas, deverá ser afiada ou trocada quando demonstrar baixa eficiência de corte, observada pelo esmagamento e extração de caldo.
- N-031. É necessário ajustar todo o conjunto amostrador da sonda oblíqua quando ainda que estando as coroas afiadas, as amostras apresentarem esmagamento e extração de caldo.
- N-032. Qualquer que seja o tipo de sonda amostradora, o peso da amostra final, não poderá ser inferior a 10 kg (dez quilogramas).
- N-033. O desrespeito às normas N-021 a N-032, acarretará a anulação da amostragem efetuada, repetindo-se a operação na mesma carga, em local próximo à anterior.

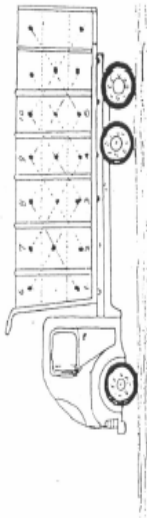


Fig.2 - Veículo com 7 vagões

(b) carroceria com 12 vagões : $P=2 \times 12-4 = 20$ possibilidades (Fig.3)

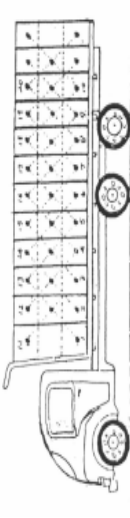


Fig.3 - Veículo com 12 vagões

- N-025. Em se tratando de sonda amostradora horizontal, a amostra será composta por 3 (três) sub-amostras, coletadas em vagões consecutivos e a partir da primeira perfuração, não podendo haver coincidência no sentido horizontal ou vertical. As canas que excederem as extremidades da carroceria serão partes integrantes do primeiro e último vagões, respectivamente.
- N-026. Quando se tratar de carrocerias para o transporte de cana picada, a amostra deverá ser composta por 3 (três) sub-amostras, retiradas em furos dispostos no sentido diagonal das mesmas.
- N-027. O número mínimo de amostra a ser coletado por fundo agrícola (cana de fornecedor e cana própria), obedecerá ao seguinte critério:

• DESINTEGRAÇÃO DA AMOSTRA

- N-034. A amostra a ser analisada, resultante da mistura das amostras simples deverá ser preparada em aparelhos desintegradores com as suas características originais.
- N-035. O desintegrador deverá estar em perfeitas condições mecânicas e operacionais, tendo, no mínimo, um jogo de facas, de contra-facas e de martelos, de reposição.
- N-036. As facas dos desintegradores deverão ser substituídas, diariamente, ou, pelo menos, a cada 250 (duzentos e cinquenta) amostras, independentemente do valor do Índice de Preparo (IP).
- N-037. A contra-faca do desintegrador deverá estar regulada a uma distância de 240,5 mm (dois milímetros, mais ou menos, meio milímetro).
- N-038. As facas e a contra-facas deverão estar sempre afiadas, não devendo apresentar bordas onduladas e arredondadas.
- N-039. Os martelos e contra-martelos deverão ser substituídos quando apresentarem bordas arredondadas.
- N-040. O material desintegrado deverá conter somente partículas pequenas e homogêneas, sem pedaços ou lascas e que forneça um Índice de Preparo (IP) de 90% (noventa por cento). Pontualmente, será permitida uma tolerância de, mais ou menos, 2 (dois) pontos percentuais.
- N-041. A metodologia para a determinação do Índice de Preparo encontra-se na norma N-0137.

• HOMOGENEIZAÇÃO DA AMOSTRA

- N-042. A amostra desintegrada deverá ser homogeneizada em betoneiras adaptadas com raspador, de maneira a impedir a retenção de amostra no fundo do tambor (Fig.4).

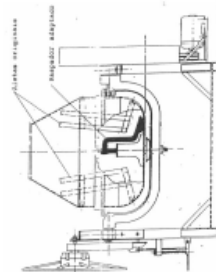


Fig.4 - Homogeneizador, tipo betoneira, detalhando o raspador

44

- N-043. Uma quantidade de amostra homogeneizada de 1,5 kg a 2,0 kg (um e meio a dois quilogramas), aproximadamente, será conduzida ao laboratório onde a amostra final de 500 g (quinhentos gramas) será pesada e servirá para as análises tecnológicas.

• LABORATÓRIO DE ANÁLISES DE CANA-DE-AÇÚCAR

- N-044. O laboratório deve estar localizado no pátio da unidade industrial, próximo do local de coleta de amostra e de seu preparo.
- N-045. A rede elétrica deve estar dimensionada de modo a atender as especificações originais dos fabricantes de todos os equipamentos à plena carga operacional e possuir sistema de aterramento específico. Não será permitida a utilização de qualquer dispositivo que possa alterar as características originais da corrente elétrica exigida pelos aparelhos ou equipamentos de laboratório. Não será permitido o emprego de derivações (extensões) em tomadas, a fim de evitar interferências nos equipamentos.
- N-046. A temperatura interna deve ser mantida à $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ (vinte mais ou menos cinco graus Celsius).
- N-047. Os equipamentos devem estar dimensionados de modo a atender à demanda operacional das análises da unidade industrial (cana de fornecedor e própria), particularmente, no tocante a:
- sonda(s) amostradora(s)
 - desintegrador (es)
 - homogeneizador (es), tipo betoneira
 - balança(s) semi-analítica (s)
 - digestor (es), tipo sul africano
 - aparelho para determinação do índice de preparo
 - prensa(s) hidráulica(s)
 - estufa(s) de circulação forçada de ar
 - refratômetro digital automático, com correção automática de temperatura ou banho termostático a 20°C
 - sacarímetro digital automático
 - espectrofotômetro infravermelho próximo (NIR), quando utilizado para substituir o refratômetro e o sacarímetro.
 - microcomputador ou terminal para processamento de dados etc.

45

Continuación del anexo 4.

N-048.	A balança semi-analítica deve ser instalada em local que atenda ao fluxograma operacional e não deve ter influência de correntes de ar ou de trepidações.
N-049.	Os reagentes devem ser de qualidade p.a. (pró-análise) e de origem comprovada.
N-050.	Os materiais de laboratório: béqueres, funis, frascos coletores de caldo não clarificado e clarificado, balões volumétricos, agitadores, etc., devem ser dimensionados de acordo com o volume diário de análises. Os balões volumétricos, provetas, pipetas e outras vidrarias para medições de volumes deverão ser calibrados.
N-051.	Equipamentos, instrumentais analíticos e reagentes devem ser homologados pelo CONSECANA-SP, através de testes conduzidos e aprovados pela CANATEC-SP.
N-052.	Os boletins ou registros magnéticos, diários, quinzenais e mensais deverão conter os elementos referidos na norma N-060.
N-053.	No gerenciamento e recursos humanos recomenda-se, como ideal, a seguinte estrutura funcional: - Supervisores: apresentar nível técnico reconhecido pelos conselhos regionais respectivos. Responder por todos os funcionários internos e externos do laboratório, necessários ao seu funcionamento. Proceder ou solicitar manutenção e reparos nos equipamentos ou, quando em acordo com o representante da associação de classe, justificar a correção de alguma anormalidade. - Liderança de turno: o nível de formação técnica deverá ser semelhante ao do supervisor ou, no mínimo, 2º (segundo) grau completo e também, deverá responder por todos os funcionários internos e externos, na ausência do supervisor. - Auxiliares de laboratório: os funcionários incumbidos de operar o refratômetro, sacarímetro, equipamentos de determinação do índice de preparo ou o NIR deverão apresentar nível técnico ou, no mínimo, 2º (segundo) grau completo e ter recebido o necessário treinamento. - Demais funcionários: deverão ter, pelo menos, o 1º (primeiro) grau completo e serem devidamente treinados.
N-054.	O funcionamento do laboratório deve ser compatível com o horário
48	
de entrega de cana e com o número de cargas a ser amostrado.	
N-055.	A balança(s) semi-analítica(s), o(s) refratômetro(s) e o(s) sacarímetro(s) devem ser calibrados antes do início do período de moagem, por empresa credenciada e, durante este período, através da utilização de pesos-padrões, soluções de índice de refração conhecidos e pelo tubo de quartzo, respectivamente.
N-056.	A linearidade e a repetitividade do refratômetro e do sacarímetro serão determinadas por leituras de soluções padrões de sacarose, conforme as normas N-138 a N-141.
• PESAGEM DA AMOSTRA PARA ANÁLISE	
N-057.	A pesagem de 500 g (quinhentos gramas), com tolerância de, mais ou menos, 0,5 g (cinco decigramas), da amostra final, homogeneizada mecanicamente, será feita em balança semi-analítica, eletrônica e com saída para impressora e/ou registro magnético, com resolução máxima de 0,1 g (um décigrama). O material restante servirá como contra prova, não podendo ser desprezado, até que sejam concluídas as leituras de brix e de pol.
• EXTRAÇÃO DO CALDO	
N-058.	A extração do caldo, a pesagem do bagaço úmido e as leituras de brix e de pol devem ocorrer imediatamente após a desintegração e homogeneização das amostras.
N-059.	O caldo será extraído em prensa hidráulica com pressão mínima e constante de 24,5 MPa (vinte e quatro mega-pascal e cinco décimos), correspondente à 250 kgf/cm2 (duzentos e cinquenta quilogramas-força por centímetro quadrado), sobre a amostra, durante 1 min (um minuto).
N-060.	O manômetro da prensa deve ser calibrado a cada safra.
N-061.	A calibração da prensa será realizada por Célula de Carga homologada, calibrada por empresa credenciada.
N-062.	Realizada a calibração, será afixada uma etiqueta sobre o
47	

Continuación del anexo 4.

manómetro da prensa, indicando a sua pressão de trabalho, para que a pressão sobre a amostra esteja em conformidade com a norma N-059.

Fuente: Conselho dos Produtores de Cana-de-Açúcar, Açúcar e Alcool. Manual del conductor.
p. 77.