



Revista Industrial
y Agrícola de
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea
1851-3018

Tomo 99 (1):
61-64; 2022



ESTACION EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

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

Fecha de
recepción:
01/06/2021

Fecha de
aceptación:
16/07/2021

Determinación de azúcares reductores en azúcar crudo por el método de Luff-Schoorl

Michael Saska*, Edgardo A. Figueroa**, B. Silvia Zossi** y R. Marcelo Ruiz***

* Investigador Invitado; ** Sección Química de los Productos Agroindustriales; *** Director Asistente Tecnología Industrial. EEAOC. Email: silviazossi@eeaoc.org.ar

RESUMEN

Se compararon las metodologías Luff-Schoorl (método oficial) y Lane-Eynon (método aceptado) para la determinación de azúcares reductores en azúcares crudos, y se validó la primera para un limitado número de muestras en términos de repetibilidad y recuperación. Los resultados indicaron que los valores obtenidos al analizar las muestras por ambas técnicas no presentan diferencias estadísticamente significativas, aunque para un intervalo de concentraciones entre 0,1% y 1% de azúcares invertidos, aquellos obtenidos mediante Luff-Schoorl fueron 11,5% mayores. Dado que en los ensayos de recuperación de esta metodología se obtuvieron valores mayores a 100%, se propuso una modificación en la determinación del coeficiente de estandarización del reactivo con el fin de corregir posibles desviaciones en el procedimiento ICUMSA GS1-5. Con esta modificación, en el rango de concentraciones 0,1% - 1% de azúcares reductores, los resultados obtenidos por el método de Luff-Schoorl fueron solamente 8% más altos a aquellos obtenidos con la técnica de Eynon-Lane.

Palabras clave: azúcar crudo, azúcares reductores, Luff-Schoorl.

ABSTRACT

Determination of reducing sugars in raw sugar by the method of Luff-Schoorl

Two ICUMSA methods were compared for determination of reducing sugars in cane raw sugar, viz. the Luff-Schoorl "Official" and Lane-Eynon "Accepted" methods. The former one was validated on a limited number of samples in terms of repeatability and recovery. The two methods produced statistically identical results, although in the 0,1 to 1,0 % reducing sugar range the Luff-Schoorl numbers were 14% higher than those by the Lane Eynon method. The reducing sugar recovery in the Luff Schoorl procedure was on average 106 %. A modification of the standardization procedure was proposed to correct for this apparent bias in the ICUMSA GS1-5 procedure. With this modification, in the 0.1 - 1.0 % range, the Luff Schoorl numbers were only 8 % higher than those obtained by the Lane Eynon method.

Key words: raw sugar, reducing sugar, Luff-Schoorl.

INTRODUCCIÓN

Los azúcares crudos de buena calidad son procesados a jarabe en plantas embotelladoras de bebidas carbonatadas de América Central y Sudamérica, mediante el uso de adsorbentes y resinas de intercambio iónico. Ninguno de estos procesos remueve los azúcares invertidos tal como lo hace la refinación tradicional por re-cristalización de la sacarosa.

En este tipo de proceso, la concentración de azúcares reductores en el azúcar crudo es relevante y su determinación analítica es un servicio importante provisto por el Laboratorio de Físico Química de la Sección Química de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), certificado bajo Norma IRAM 9001: 2015, que, además, participa en ensayos de aptitud con el organismo acreditado LGC (U.K.) con resultados satisfactorios.

Las determinaciones de azúcares reductores en azúcar crudo se realizan en este laboratorio empleando el método de Eynon-Lane (ICUMSAGS1/3/7-3, 2015a). En 1998, se llevó a cabo un estudio comparativo del método mencionado con el de Luff-Schoorl y la metodología de Berlín para esta matriz entre varios laboratorios (ICUMSA, 1998). Los resultados indicaron que la técnica de Luff-Schoorl presentaba precisión y repetibilidad superiores. Esto motivó que esta técnica fuera calificada como "método oficial" por ICUMSA y el método de Eynon Lane, como "aceptado".

Los objetivos de este trabajo fueron validar el método de Luff-Schoorl en términos de repetibilidad y recuperación y compararlo con el método de Eynon Lane en las condiciones de nuestro laboratorio para la matriz de azúcares crudos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con muestras de azúcar crudo producidas por industrias de la provincia siguiendo estrictamente los procedimientos dados por ICUMSA (2005), con la excepción del tiempo necesario para alcanzar la ebullición (cuatro minutos en lugar de dos minutos) por las limitaciones de equipamiento existentes en el laboratorio. La temperatura de la muestra, después del enfriamiento, estuvo comprendida entre 25°C y 30°C.

Se analizaron 16 muestras de azúcar crudo producidos en Tucumán durante la campaña 2014, con una concentración de azúcares invertidos entre 0,1% y 2,4%, almacenadas a granel desde diciembre de 2014 a marzo de 2015 en depósitos cerrados no climatizados, en condiciones de temperatura y humedad elevadas, características del verano de la provincia.

Dado que la metodología recomienda emplear como patrón de azúcares reductores una solución de sacarosa invertida por hidrólisis ácida, se preparó en el laboratorio una solución de azúcar invertido respetando las condiciones dadas por ICUMSA y se comparó con una solución estándar de glucosa.

Todas las muestras fueron analizadas por ambos métodos Luff-Schoorl (ICUMSA2015b) y Eynon-Lane a volumen constante (ICUMSA, 2015a).

Mediante el software R se determinó el número necesario para que las comparaciones fueran estadísticamente significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de determinar el número necesario de muestras para realizar el estudio, se realizó un test t de potencia estadística para muestras pareadas, dando como resultado para $n = 16$ (número de muestras analizadas), con un nivel de significancia $\alpha = 95\%$, un tamaño del efecto (d) de 0,2% y un poder de 0,999 mayor a 0,8, que es lo recomendado (R Core Team, 2020).

Se confirmó en el laboratorio que las condiciones dadas por la bibliografía para obtener la solución de azúcar invertido son adecuadas, obteniendo en forma paralela el factor de estandarización al emplear una solución patrón de glucosa. Los resultados de la titulación de la solución patrón se muestran en la Tabla 1. Estos datos permitieron obtener el factor de estandarización al utilizar una solución estándar de glucosa.

Tabla 1. Determinación del factor de estandarización (Fx) con soluciones de sacarosa hidrolizada y glucosa.

Efecto	Tiosulfato (ml)	Título diferencial (ml)	Glucosa** (mg)	Factor
Blanco (agua)	25,1	--	--	-
Sacarosa hidrolizada*	13,5	11,6	29,2	1,07
Glucosa (32,15mg/25ml)	13,3	11,8	29,8	1,05

*Concentración teórica de azúcares reductores: 31,25 mg/25ml (ICUMSA, 2009)

** Tabla 10 (ICUMSA, 2009) o mediante correlación: $\text{Glu (mg)} = 0,016\text{DT}^2 + 2,32\text{DT} + 0,15$

DT = título diferencial

El coeficiente de variabilidad (CV%) promedio entre duplicado de titulaciones fue de 1,6%, mientras que para todo el proceso de análisis (muestreo, pesada, disolución de azúcar y titulación) fue de 2,6%.

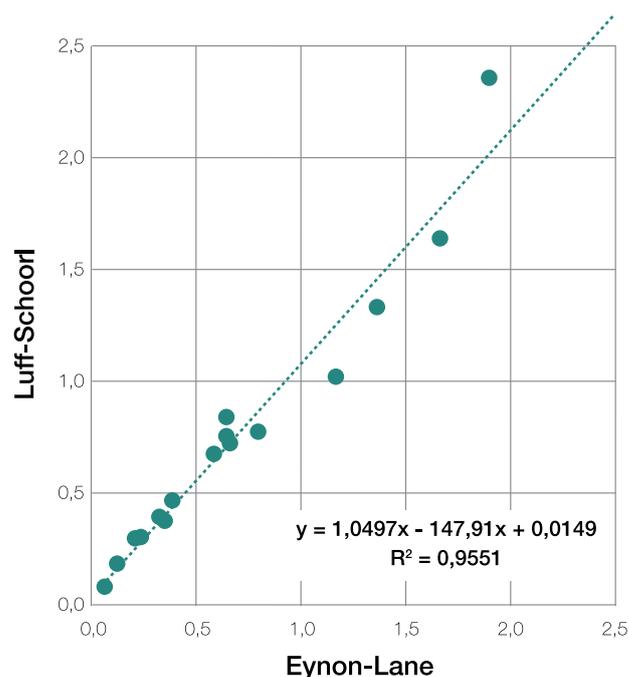
Los resultados de las concentraciones de azúcares reductores (AR) en las muestras de azúcar crudo analizadas por ambos métodos estuvieron comprendidos entre 0,1% y 2,4% (Figura 1). La metodología Luff-Schoorl presentó concentraciones de azúcares reductores 8,5% superior, en promedio, a los valores determinados con el método de Eynon Lane. En el rango de concentraciones comprendidas entre 0,1% y 1%, más habituales de encontrar en azúcares crudos de caña de azúcar, se obtuvo una diferencia relativa promedio del 11,5% (Tabla 2). La concordancia de los dos métodos en ambos rangos fue entonces mejor que la reportada por ICUMSA (1998), donde se afirmaba que con la técnica de Luff-Schoorl se obtenía resultados 17% inferiores en azúcares crudos de caña con concentraciones de azúcares reductores entre 0,1% y 0,7%.

Se realizó también un análisis de diferencias pareadas con los resultados obtenidos con ambas técnicas, obteniéndose un $t_{\text{exp}} = 1,538$, menor al teórico (2,133, para $p = 0,05$ y $n-1 = 15$). Esto indica que no existen diferencias estadísticas entre ambas metodologías.

Las pruebas ciegas fueron llevadas a cabo por dos analistas en siete muestras. Los valores encontrados

Tabla 2. Resultados de AR obtenidos por ambas metodologías.

Azúcares reductores	
Eynon Lane	Luff Schoorl
0,66	0,83
0,40	0,45
0,81	0,77
0,33	0,39
0,67	0,71
0,25	0,30
0,13	0,17
0,65	0,74
1,67	1,63
1,37	1,32
1,91	2,35
0,08	0,08
1,18	1,01
0,60	0,67
0,36	0,37
0,22	0,29



presentaron muy buena repetibilidad y reproducibilidad al emplear el método de Luff-Schoorl, obteniéndose un CV% promedio de alrededor del 3% (Tabla 3).

Recuperación de azúcares reductores

Se fortificaron siete soluciones de azúcar crudo con soluciones de glucosa, fructosa y una mezcla equimolecular de ambas a diferentes concentraciones. Se determinaron los azúcares reductores por el método de Luff-Schoorl.

La recuperación promedio de azúcares reductores, para todas las muestras analizadas, fue de 106% (Tabla 4). Aunque este valor puede ser aceptable de acuerdo a la bibliografía (Harvey, 2009), es de resaltar que fue siempre, con una excepción, mayor a 100%, por lo que podría sospecharse de un pequeño error sistemático en el procedimiento.

Modificación propuesta del método Luff-Schoorl

En ICUMSA (2015b) se establece para este procedimiento un factor de estandarización del reactivo de Luff-Schoorl (Fx), el cual se determina por titulación de una solución de azúcar invertido en ausencia de sacarosa y cualquier otro no azúcar. Estas condiciones son muy diferentes a aquellas durante la titulación de muestras de azúcar crudo con niveles de compuestos no azúcares importantes y donde la sacarosa está presente en exceso, en concentraciones entre 50 y

Figura 1. Comparación de azúcares reductores en la misma muestra de azúcar crudodeterminados con los métodos de Luff-Schoorl y Eynon-Lane.**Tabla 3.** Resultados obtenidos en pruebas ciegas (expresados en % en peso).

Muestra	Analistas			Promedio	Desv. Est.	CV %
	1	1	2			
1944	1,63	1,67	1,69	1,66	0,03	1,9
1948	1,32	1,40	1,42	1,38	0,05	3,8
1951	2,35	2,26	2,29	2,30	0,05	2,0
2091	1,01	1,07	1,08	1,05	0,04	3,5
2092	0,67	0,71	0,70	0,70	0,02	2,8
2093	0,37	0,39	0,37	0,38	0,01	3,6
2095	0,29	0,31	0,28	0,29	0,01	4,0

Tabla 4. Recuperación de azúcares reductores en muestras de azúcar crudo.

Muestra	Peso de muestra g/100mL	Fortificada con			Azúcares reductores %		
		Glu/Fru	mg/100 mL	mg agregados 100 muestra	Original	Fortificada	R %
2086	40,1	G	185	0,46	0,08	0,55	102
2093	20	G	185	0,93	0,37	1,31	102
2086	40	G	74	0,19	0,08	0,29	112
2095	40	G	74	0,19	0,29	0,49	108
2092	20	G	74	0,37	0,67	1,09	111
2093	20	G	74	0,37	0,37	0,77	108
2086	40	G	96	0,24	0,08	0,34	108
2095	40	G	96	0,24	0,29	0,57	115
2092	20	G	96	0,48	0,67	1,20	110
2093	20	G	96	0,48	0,37	0,91	112
2086	27,8	F	107	0,38	0,08	0,46	99
2095	40	F	107	0,27	0,29	0,57	103
2092	20	F	107	0,54	0,68	1,24	105
2093	20	F	107	0,54	0,37	0,92	103
1670	20	G+F*	101	0,51	0,83	1,38	108
1670	10	G+F*	101	1,01	0,83	1,90	106
1937	20	G+F*	101	0,51	0,45	0,97	102
1939	20	G+F*	101	0,51	0,39	0,90	101

* Mezcla equimolecular de glucosa y fructosa.

1000 veces mayores a las de azúcares reductores. Una posibilidad es, entonces, determinar otro factor de corrección basado en la recuperación de azúcar invertido de una solución de azúcar crudo fortificada, representativa de las condiciones de análisis.

Los resultados obtenidos con el método modificado se presentan en la Figura 2. La concordancia entre ambos métodos es estadísticamente significativa, con un coeficiente de Pearson de 0,977. Comparando los resultados alcanzados por las metodologías de Eynon-Lane y Luff-Schoorl modificado, se encontró que con esta última técnica los valores resultaron, en promedio, 5% mayores (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados de azúcares reductores obtenidos por Eynon-Lane y Luff-Schoorl.

AR%	
Eynon-Lane	Luff-Schoorl modificado
0,66	0,78
0,40	0,42
0,81	0,72
0,33	0,36
0,67	0,66
0,25	0,28
0,13	0,16
0,65	0,69
1,67	1,54
1,37	1,25
1,91	2,23
0,08	0,08
1,18	0,95
0,60	0,64
0,36	0,35
0,22	0,28

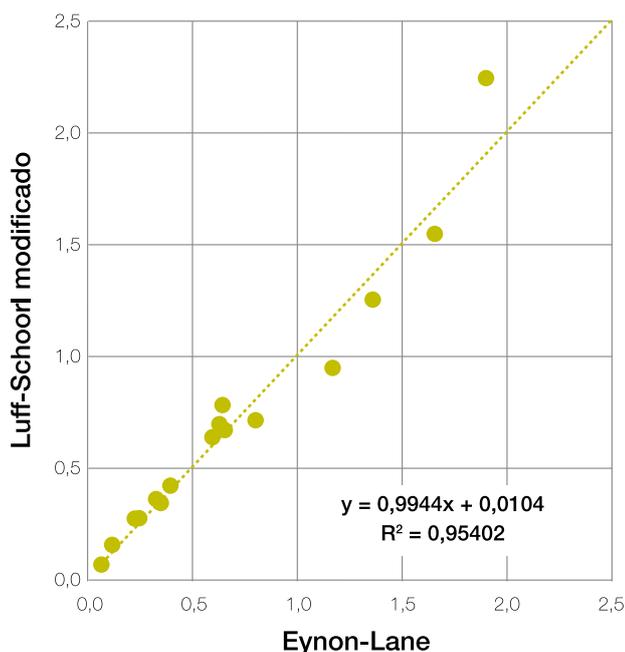


Figura 2. Comparación de la concentración de azúcares reductores en las mismas muestras de azúcar crudo determinadas por los métodos de Luff-Schoorl modificado y Eynon-Lane.

CONCLUSIONES

- Se analizaron muestras de azúcar crudo empleando el procedimiento oficial ICUMSA de Luff-Schoorl, en un rango de concentraciones de azúcares invertidos entre 0,1% y 2,4%, con buena repetibilidad, reproducibilidad y un coeficiente de variación promedio igual a 3%.
- La recuperación de este método se determinó siempre mayor a 100%, con un valor promedio de 106%. Se sugirió un procedimiento de estandarización del reactivo de Luff-Schoorl basado en la medición de la recuperación de fortificación con azúcar invertido.
- En azúcares con concentración de AR entre 0,1% y 1,0%, el método original de Luff-Schoorl presentó resultados promedio superiores en 11,5% a los determinados con el método "Aceptado" de Eynon-Lane; después de la modificación fueron 5% superiores al mismo.
- La concordancia entre los resultados obtenidos por ambos métodos fue mejor que la indicada en la literatura (ICUMSA, 1998).
- La técnica de Luff-Schoorl posee una fácil detección del punto final de la titulación y buena repetibilidad de los resultados.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Harvey, David. 2009. Analytical chemistry 2.0. Electronic Version [En línea]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/50927915_Analytical_Chemistry_20 (consultado el 09-06-2015)
- International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). 2015a. Method GS1/3/7-3 (2005). The Determination of Reducing Sugars in Cane Raw Sugar, Cane Processing Products and Specialty Sugars by the Lane and Eynon Constan Volume Procedure – Accepted. Method book. Bartens, Berlin, Germany.
- International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). 2015b. Method GS1-5 (2009). The determination of reducing sugars in cane raw sugar by Luff Schoorl Procedure – Official. Method book. Bartens, Berlin, Germany.
- International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). 1998. Reducing sugars. Subject 15. En: Report of the Proceedings of the Twenty-Second Session, Berlin, Germany, 1998, pp. 352-369.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. RFoundationforStatistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.