

METODOS RADIOISOTOPICO PARA EL ESTUDIO DE LA DESTRUCCION DE LA SACAROSA EN EL PROCESO TECNOLOGICO AZUCARERO

TERESA BERMUDEZ, B. VERJOVSKY, L. MELTZER, Y L. SOBENIN

(Trabajo recibido en octubre de 1969)

Aunque la industria azucarera tiene muchos siglos de historia, hasta ahora una cantidad bastante grande de azúcar se pierde en el proceso. Estas pérdidas pueden ser de dos tipos: *determinadas e indeterminadas*. Las últimas aparecen en el balance general del ingenio pero que no pueden ser determinadas por los métodos analíticos de rutina.

Aunque la cantidad de las pérdidas indeterminadas en sí no es muy grande por ejemplo: en el Central "Martínez Prieto" a principios de la zafra del año 67 alcanzaron un valor de 0.811% y en la década del 11 al 20 de abril, alcanzaron un valor de 0.849%, a nivel nacional que son de bastante significado. La existencia de esas pérdidas está relacionada con la destrucción de la sacarosa en el proceso tecnológico y es necesario mencionar que durante cada etapa del proceso resultan menores que los errores inherentes a los métodos de análisis que se usan actualmente, de ahí la falta de precisión de estos para determinarlas, debiéndose añadir además, que los productos de la destrucción de la sacarosa, no permanecen constantes, toda vez que interactúan químicamente con otros productos existentes en el jugo de la caña.

De los trabajos publicados [1, 2, 3 y otros] y de las experiencias en los propios centrales, sabemos que los factores que principalmente afectan estas pérdidas son: temperatura, tiempo, pH, pureza de los jugos y procesos bioquímicos.

La destrucción de la sacarosa tiene lugar tanto en medio ácido como en medio alcalino y en este último medio se destruyen también los azúcares invertidos. Pero los métodos utilizados en estos trabajos son métodos indirectos, sólo aproximados, y necesitan una revisión adicional, por lo que se hace necesario elaborar un método directo, más sensible y preciso. Uno de los métodos que presenta estas características es el método de trazadores radiactivos.

En la revisión de la literatura se han encontrado trabajos que hacen uso de los trazadores radiactivos en el estudio de los azúcares [4, 5, 6, 7 y 8] pero ninguno de ellos se refiere al estudio de la destrucción de la sacarosa.

El método que se propone puede resumirse del siguiente modo: se introduce sacarosa marcada con C^{14} en el jugo, se someten éstos a tratamientos

CENIC

Publicación periódica del Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

Serie B. Ciencias Físicas

Vol 1. No. 2. Diciembre de 1969

Método radioisotópico para el estudio de la destrucción de la sacarosa en el proceso tecnológico azucarero.

en condiciones semejantes a las del central. Se separan las sustancias obtenidas de este tratamiento por métodos cromatográficos y se miden las actividades de las diferentes zonas del cromatograma. Este método es directo, tiene gran sensibilidad y permite además determinar qué ocurre con los productos de la destrucción.

Se ha estimado teóricamente la precisión y la sensibilidad de este método y los cálculos preliminares efectuados han permitido establecer un valor estimado para la actividad mínima (A_{\min}) en mc que necesitamos para un experimento, suponiendo que los conteos útiles son mucho mayores que los ruidos de fondo:

$$A_{\min} = \frac{Q}{3.7 \times 10^7 q p v \delta^2 t_{\text{med}}} \quad (1)$$

t_{med} tiempo de medición en seg.

δ error relativo medio cuadrático de medición.

Q volumen total del jugo en el experimento.

q volumen para la muestra que se toma para separación cromatográfica.

p Destrucción de sacarosa que deseamos medir.

v Eficiencia de detección.

De la fórmula (1) es fácil comprobar que para realizar los trabajos a nivel de planta piloto, con un volumen Q de 100 L, usando separación cromatográfica de papel en la que q sería de 5 μ l, con exploración del radio-cromatograma el contador G-M que tiene eficiencia (v) de 0.01 y usando como tiempo de medición 1,000 segundos para medir destrucción (p) del orden de 0.1% con precisión de 10%, para un experimento, necesitaríamos una actividad mínima de 5,000 mc, y siendo el precio de la sacarosa marcada con C^{14} en el mercado mundial de \$200 por mc, es evidente que este camino no resulta práctico.

Si usamos un equipo de centelleo líquido con una eficiencia (f) de 1, y cromatografía preparativa para la separación, podemos bajar la actividad mínima por lo menos 1000 veces, resultando todavía este tipo de experimento bastante caro, por lo que es necesario empezar los trabajos a nivel de laboratorio reproduciendo en él las condiciones del central; en este caso podemos trabajar con cantidades de jugo tan pequeñas como uno o algunos ml y bajar la actividad para un experimento hasta el orden de microcurie para las mismas condiciones de medición.

Hasta aquí se ha supuesto que la sacarosa marcada que se usa en los experimentos es radioquímicamente pura (toda la actividad pertenece a la sacarosa marcada) y que no existe intercambio isotópico entre ella y sus productos de destrucción pero cualquiera de estos factores pueden conducir a errores grandes en las mediciones por lo que deben ser cuidadosamente investigados.

Bermudez T.
Verjovsky B.
Meltzer L.
Sobenin L.

Para la separación cromatográfica fueron seleccionados los siguientes solventes:

- a) Mezcla de butanol-ácido acético y agua (4:1:5)
 - b) acetona-butanol-agua (7:2:1)
 - c) n-propanol-alcohol bencílico-agua-ácido fórmico (50:72:20:20)
- que son los que han demostrado una mejor separación de la sacarosa de los productos de su destrucción.

Para estudiar el intercambio isotópico se efectuaron una serie de experimentos con glucosa marcada con c^{14} : se mezcló una solución de sacarosa pura con una solución de glucosa marcada y se hicieron dos separaciones cromatográficas, una inmediatamente después de mezcladas y otra después de haber permanecido la mezcla durante 8 horas en termostato a una temperatura de 80°C. Después se revelaron los cromatogramas, se eluyeron las zonas de las mismas y se midieron las actividades de estas zonas con el equipo de centelleo líquido. Todas las mediciones se efectuaron en un espectrómetro automático de centelleo líquido modelo NE 8305 (Nuclear Exterprise Ltd., Inglaterra) usando líquido de centelleo NE 220 a base de dioxano purificado y especial para las soluciones acuosas de las cuales admite hasta un 10%. Antes de realizar las mediciones, se sacaron los espectros integrales de los ruidos de fondo, y de una solución standard y seleccionándose el nivel del discriminador de modo que se eliminan casi completamente los ruidos y se obtiene la mayor eficiencia posible (bastante cerca de 100%). Los resultados de las mediciones para diferentes solventes, se dan en la tabla No. 1.

Los resultados recibidos muestran que no existen intercambios isotópicos entre la sacarosa y la glucosa marcada en las condiciones mencionadas. La existencia de una actividad muy pequeña en la zona de sacarosa puede ser explicada por una separación incompleta de la mezcla, o por la presencia de impurezas radioquímicas en la glucosa marcada.

Para los experimentos con sacarosa marcada, se recibió 2 mc de este producto con su certificado de 98% de pureza radioquímica. Para verificar esos datos e investigar la naturaleza de las impurezas se efectuó una separación cromatográfica de la sacarosa marcada usando el solvente (b) anteriormente mencionado. El cromatograma fue separado en sus zonas y éstas eluidas con agua. Posteriormente la actividad de cada una de estas zonas fue medida en el equipo de centelleo líquido; las actividades medidas en este caso están contenidas en la tabla No. 2.

Para tres experimentos se obtuvo, para la zona de sacarosa, la actividad de $96.9 \pm 0.4\%$, lo que muestra una diferencia en los datos del certificado.

Estos resultados también muestran en las zonas de glucosa y fructosa más de 1% de estos productos y como el % de destrucción a determinar es de 0.1%, se ve que es necesario purificar por medio de la separación cromatográfica, la sacarosa recibida.

Tanto para la separación de la sacarosa marcada de los productos que la impurifican como para la recuperación de la propia sacarosa después de cada experimento se han estudiado los métodos de cromatografía de columna usando C activado como adsorbente. Como eluyente se usó primero una solución de fenol al 0.5% y cuando empieza a eluir la sacarosa la solución de fenol que se usa es al 2.5% para disminuir el volumen de las fracciones de sacarosa. Ha sido estudiada la estabilidad de la sacarosa en solución acuosa de fenol en condiciones suaves así como el método de eliminar el fenol de estas soluciones, seleccionándose como bueno el método de hacer 3 extracciones con éter dietílico.

Para la comparación de los resultados del método radioisotópico con otros métodos en uso, se han seleccionado los métodos siguientes:

Método de doble polarización para medir la cantidad de sacarosa antes y después de los experimentos.

Método yodométrico para el estudio de la destrucción en medio ácido.

Método de Spengler para el estudio de la destrucción en medio básico.

Como los métodos regulares no dan bastante precisión con destrucciones pequeñas, se seleccionaron las condiciones de medición (pH, temperatura y tiempo), que dan una destrucción bastante grande. Estos experimentos se efectuaron con soluciones de sacarosa al 5%.

Para el estudio de la destrucción en medio ácido, se añadió a la solución ácido fosfórico. Para realizar el mismo estudio en medio básico se añadió a la solución de sacarosa OHNa. Ambas soluciones fueron puestas en el termostato, y se tomaron muestras para analizar cada 24 horas para el medio básico y cada 2 horas para el medio ácido.

Se eluyeron separadamente, las zonas de sacarosa y de los productos de su destrucción, de los cromatogramas.

Los resultados de las mediciones anteriores, por los distintos métodos mencionados, están dados, para el medio ácido, en la tabla 3, y para el medio básico en la tabla 4.

Los resultados obtenidos en las mediciones muestran una diferencia bastante grande entre los métodos estudiados.

CENIC

Publicación Periódica del Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

Serie B. Ciencias Físicas.

Vol. 1. No. 2. Diciembre de 1969

Las investigaciones realizadas permiten recomendar los métodos radioisotópicos para los trabajos con los jugos industriales en los centrales, usando siempre pequeñas cantidades de jugo en condiciones que reproduzcan las condiciones del central.

T A B L A N o . 1

Actividad relativa en la zona de sacarosa (% de la Activ. total)	
Antes de calentar	Después de calentar
0.57	0.71
1.10	1.07
0.35	0.27
0.36	0.25

T A B L A N o . 2

Núm. de medición	Act. relativa de las zonas en			
	z. de comienzo	z. sacarosa	z. gluc.	z. fruct.
1	0.36	96.6	1.7	1.35
2	0.20	97.3	1.36	1.14
3	0.48	96.9	1.55	1.07
Promedio	0.35	96.9	1.54	1.19

T A B L A N o . 3

pH	Tiempo en termostato en horas	Destrucción de sacarosa en % Determinada por el método		
		Polarización doble	Iodomé- trico	Radioisotó- pico
4.6	2	8.65	9.6	2.15
	4	15.5	17.9	9.2
	6	21.2	15.9	24.2
5.5	2		1.67	1.67
	4		5.17	3.14
	6		5.3	6.7

T A B L A N o . 4

pH	Tiempo en termostato en horas	Destrucción de sacarosa en % Determinada por el método		
		Polarización doble	de Spengler	Radiométrico
12.25	24	4.6	3.56	3.58
	48	5.2	6.7	4.38
	72	9.2	8.9	9.8
12	24		2.33	2.77
	48		3.3	5.76
	72		4.7	6.7

R E S U M E N

5.—Dra. Teresa Bermudez, Ing. B. Verjovsky, Ing. L. Meltzer, Ing. L. Sobenin.

METODO RADIOISOTOPICO EN EL ESTUDIO DE LA DESTRUCCION
DE LA SACAROSA EN EL PROCESO TECNOLOGICO AZUCARERO

La esencia del método utilizado es la siguiente: en una solución bajo investigación se introduce la sacarosa marcada con C14 y luego de un tratamiento semejante al que sufren los jugos industriales en los centrales azucareros, se separa cromatográficamente la sacarosa y sus productos de destrucción.

Para determinar cualitativamente la destrucción de la sacarosa se mide la actividad de las fracciones separadas en un equipo radiométrico con centelleo líquido.

Se ha analizado la sensibilidad del método y evaluado la actividad necesaria de sacarosa marcada.

Se describe el equipo utilizado y los resultados de las investigaciones con soluciones experimentales en medios básicos y ácidos.

S U M M A R Y

In a solution under investigation, labelled sucrose (C14) is introduced. This solution suffers a process similar to that of industrial juice at the sugar mill and thereafter, sucrose is separated chromatographically from the mixture containing its destruction products.

The activity of the separated fractions is measured in radiometric equipment with a liquid scintillation counter in order to determine qualitatively the destruction of sucrose.

The sensibility of the method is analized and the necessary activity of the labelled sucrose is assessed.

The equipment used and the results of the investigations with experimental samples in basic and acid solutions, are described.

BIBLIOGRAFIA

1. Spengler y Todt. Zeitschrift der Wirtschaftsgruppe Zuckerind, 1942, No. 92.
2. Martín A. Zeitschrift Zuckerind, 13, 1963 No. 10, 563 - 565.
3. Jarín, Kolcheva. Sajarnaya Promishlennost. 1966 V.5. (En ruso).
4. Binkley y otros. Intern. Sugar Journal. 61, 1959, 173.
5. Hörning y Hierschmüller. Intern Sugar Journal. 62, 1960, 107.
6. Martín L. y otros. Sugar y Azúcar, 55, 1960, No. 12.
7. Werner. Zeitschrift Zuckerind. 15, 1965, No. 9, 506.
8. Sibley. Anlyt. Chem. 37, 1965, No. 13, 1701.