



Tecnología, Ciencia, Educación

ISSN: 0186-6036

imiqac@sercom.com.mx

Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos A.C  
México

Hernández Domínguez, J.; Solís Fuentes, Julio A.; Durán de Bazúa, Carmen  
Separación de fructosa de melaza de caña de azúcar por acomplejamiento con hidróxido de calcio  
Tecnología, Ciencia, Educación, vol. 18, núm. 1, enero-junio, 2003, pp. 16-24  
Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos A.C  
Monterrey, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48218104>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

# Separación de fructosa de melaza de caña de azúcar por acomplejamiento con hidróxido de calcio

J. Hernández-Domínguez, Julio A. Solís-Fuentes\* y Carmen Durán-de-Bazúa\*\*

Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana.

Av. Dos Vistas s/n carretera Xalapa-Las Trancas, 91000 Xalapa, Ver., México

Fax (+52) -2812-9963. Correo electrónico (e-mail): jsolis@uv.mx

\*\* PIQAYQA, Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química, UNAM

Edificio "E", Labs 301-303, Cd. Universitaria, 04510 México, D.F.

Fax (+52) 55-5622-5303. Correo electrónico (e-mail): mcduran@servidor.unam.mx

## RESUMEN

Se estudió el proceso de separación de fructosa de melaza de caña de azúcar hidrolizada enzimáticamente, mediante el tratamiento con hidróxido de calcio para formar un complejo de fructosa de menor solubilidad que la glucosa. Para ello se utilizó un diseño factorial central compuesto con tres variables independientes:  $X_1$  (concentración de azúcares de la solución en °Brix),  $X_2$  (relación molar hidróxido de calcio/fructosa) y  $X_3$  (tiempo de reacción). Los resultados mostraron que la melaza hidrolizada de 72.5°Brix contenía 31.9% de sacarosa, 7.9% de fructosa y 6.2% de glucosa y que la cantidad de fructosa separada respondió a la ecuación  $Y = -91.076 + 0.497X_1 + 50.797X_2 + 1.335X_3 - 0.002X_1^2 - 8.473X_2^2 - 0.214X_2X_3$ , que se optimiza cuando el sistema reaccionante opera durante 88.0 minutos, con una relación molar hidróxido de calcio/fructosa de 2.73 y una concentración de 19.49°Brix. El óptimo se obtuvo de la construcción de gráficas de contorno y de superficie de respuesta para el análisis del sistema a valores alternativos de las variables consideradas.

**Palabras clave:** Fructosa, melaza de caña de azúcar, acomplejamiento, hidróxido de calcio

**Keywords:** Fructose, sugarcane molasses, complexing, calcium hydroxide

## INTRODUCCIÓN

El creciente desarrollo de la industria de los derivados de la caña de azúcar ha hecho posible la evolución de los subproductos y residuos a materias primas, dejando de ser, definitivamente, productos desechables para convertirse, luego de su transformación, en productos de considerable valor económico (Agüero-Torres y Bell-García, 1988); tal es el caso de las melazas, subproducto del procesamiento tradicional de la caña de azúcar en la producción de sacarosa, las cuales son un material potencialmente valioso que durante mucho tiempo han sido utilizadas principalmente en la alimentación animal y para bebidas espirituosas. Sin embargo, existen otras muchas alternativas de empleo de estos materiales, algunas bien conocidas. Una de tales posibilidades es la recuperación de fructosa de las melazas de la caña de azúcar. Como es sabido, la fructosa es un edulcorante que se ha convertido en pocos años, gracias a los jarabes de maíz altos en fructosa y su amplia aplicación en diversas ramas, en uno de los edulcorantes naturales más importantes en la industria de los alimentos (Dwivedi y Raniwala, 1980; Coker y Venkatasubramanian, 1985).

Al ser las melazas un material residual de un conjunto de tratamientos térmicos y químicos del jugo de un material vegetal, sean caña de azúcar o frutas como los cítricos, la piña, etc., tienen, por lo general, una composición compleja de constituyentes algunos propios del material original y otros aparecidos como productos de reacción: diversos azúcares, principalmente

puestos, orgánicos e inorgánicos: aminoácidos, vitaminas, ácidos orgánicos, gomas y sustancias cromóforas derivadas del furfural y de reacciones de encafecimiento no enzimático, caramelización, etc. La recuperación de fructosa puede pensarse desde diferentes vías, pero principalmente visto desde una mezcla de azúcares donde la semejanza química de glucosa y fructosa representa a menudo el obstáculo principal para su separación por métodos sencillos y económicos.

Son conocidos varios métodos para la separación de glucosa y fructosa en mezclas de carbohidratos de diversos grados de sofisticación incluso utilizados a escalas comerciales (Odawara y col., 1979), entre otros: los que emplean resinas orgánicas (por ejemplo, resina de intercambio catiónico de sulfonato de poliestireno) o inorgánicas para adsorber selectivamente la fructosa y separar fracciones cromatográficas (Coker y Venkatasubramanian, 1985) o como los reportados por Fan (1988), donde la fructosa se separa cuando la mezcla se pone en contacto con el microorganismo *Pullularia pullulans* que preferentemente utiliza glucosa o el método descrito por Bringer y Sahm (1988), que emplea un mutante de *Zymomonas mobilis* que también metaboliza glucosa y no fructosa.

Bichsel y col. (1981), describen un proceso relativamente simple para la obtención de soluciones de fructosa a partir de un material que contenga sacarosa y/o fructofuranósidos. Este material puede ser de diversos orígenes como las melazas cítricas provenientes de la elaboración de jugos concentrados de frutas o las melazas de caña. En presencia de sacarosa, el material requiere que ésta primero se hidrolice en sus correspondientes monosacáridos: fructosa y glucosa, para después ser tratado con una base de calcio (hidróxido de calcio) y producir un complejo de fructosa-calcio, insoluble en agua.

De acuerdo con Bichsel y col. (1981), lo anterior es posible dado que los grupos hidroxilo de los carbohidratos son débilmente ácidos y posibilitan la reacción con un óxido de metal básico o hidróxido, formándose un complejo que cuando el metal es el calcio puede ser  $\text{CaC}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$  o  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$ , cada uno con un enlace Ca-O-CH- relativamente estable. Otra posibilidad es la formación de un complejo relativamente débil,  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$ .

En el caso de los monosacáridos glucosa y fructosa el resultado es la obtención de complejos fructosa-calcio menos solubles en agua que los correspondientes complejos glucosa-calcio, permitiendo con ello su separación mediante filtrado.

to de la mezcla compleja, es posible reconstituir la fructosa mediante la restauración de sus protones antes substituidos, lo cual puede lograrse mediante la reacción del complejo con un ácido, carbónico o fosfórico. Con este último se restaura la solubilidad de la fructosa en agua y se forma una sal de fosfato de calcio insoluble,  $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$  o sus hidratos, que es posible separar, nuevamente, por filtración.

Esta investigación tiene como objetivo evaluar el proceso para la obtención de soluciones de fructosa a partir de las melazas de caña hidrolizadas y, posteriormente, tratadas con hidróxido de calcio. Para ello se realiza un análisis de superficie de respuesta mediante un diseño experimental factorial que considera el efecto de la concentración de la mezcla de carbohidratos en la melaza de caña, la cantidad de hidróxido de calcio agregado y el tiempo de reacción sobre la cantidad de fructosa separada de la mezcla. Este estudio es parte de uno más amplio para la selección de un método sencillo de separación de los monosacáridos glucosa y fructosa desde una mezcla multicomponente, como pueden ser las melazas de diferentes orígenes o el mismo jugo de caña, en el contexto de una investigación diseñada para estudiar la obtención de jarabes de fructosa a partir de la caña de azúcar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de melaza de caña se obtuvieron del ingenio "Mahuixtlán" ubicado en Mahuixtlán, Municipio de Coatepec, Veracruz, México. Éstas se recogieron en garrafas y se almacenaron en un congelador hasta su análisis y procesamiento.

### Metodología general

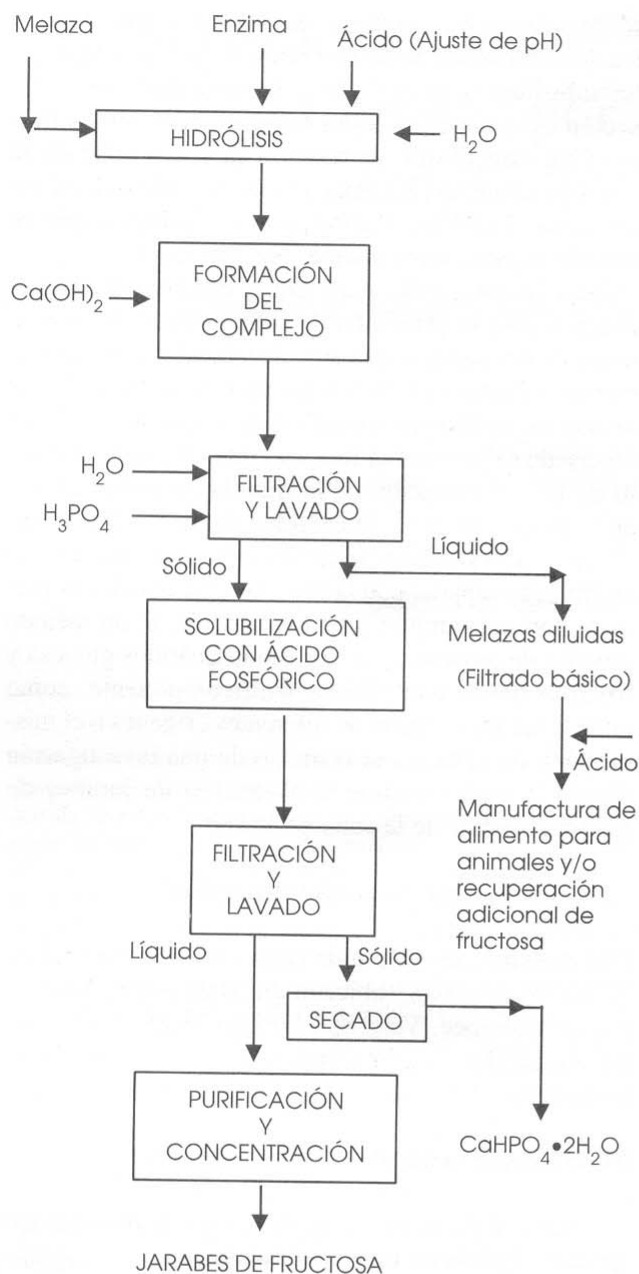
La Figura 1 presenta, en un diagrama, la metodología general seguida en los experimentos.

### Técnicas analíticas

Las técnicas de análisis que se seleccionaron para determinar las características químicas de las melazas y de los productos del proceso de separación se describen a continuación.

### Determinación de sólidos solubles (Brix)

Para la determinación de sólidos disueltos en las soluciones de melaza se utilizó un refractómetro con escala de 0-100°Brix marca Warner Lambert Technology



**Figura 1. Diagrama experimental para la recuperación de fructosa por acomplejamiento con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (Bichsel y col., 1981)**

tra se homogeneizó previamente y se filtró ya que presentaba materiales en suspensión.

#### Determinación de pH

Se utilizó un potenciómetro marca Conductronic Mo-

ción de melaza completamente homogeneizada e introduciendo el electrodo de vidrio hasta quedar cubierto. Para este tipo de modelos de potenciómetro que no cuentan con ajuste automático de temperatura es necesario tomar la temperatura de la muestra y hacer el ajuste correspondiente.

#### Determinación y cuantificación de carbohidratos

La sacarosa, glucosa y fructosa fueron cuantificadas mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR o HPLC, por sus siglas en inglés), siguiendo la metodología descrita por Matissek y col. (1998). Se utilizó un cromatógrafo de líquidos Varian Modelo 9012 con una columna APS y un detector de índice de refracción Varian Modelo 350. Se utilizó un sistema acetonitrilo/agua 85:15, a 1 mL/min y bajo una presión de 0 a 6 atm. El volumen de inyección fue de 10 mL. Antes de cada inyección, las muestras con concentraciones aproximadas de 10 mg/mL se filtraron en membranas con poros máximos de 0.5 mm (Chaplin y Kennedy, 1994; Nollet, 1992).

#### Acomplejamiento de la fructosa con hidróxido de calcio

Las muestras de 100 g de melaza acondicionadas a concentraciones definidas por el modelo experimental, se hicieron reaccionar con cantidades suficientes de solución de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  determinadas por la relación molar establecida en la matriz de diseño, a temperaturas inferiores a  $10^\circ\text{C}$  durante el tiempo requerido por el mismo diseño experimental, descrito líneas abajo, para la formación de los complejos monosacárido-calcio. La mezcla resultante se filtró a temperaturas relativamente bajas ( $10^\circ\text{C}$ ) y bajo vacío. El complejo fructosa-calcio se presenta en forma de pasta insoluble la cual se lavó repetidamente con agua de cal fría para obtener un complejo de fructosa relativamente más puro.

#### Reacción del complejo fructosa-calcio con ácido fosfórico

El precipitado de fructosa-calcio obtenido se dispersó en agua fría (aproximadamente 100 mL) y se agregó suficiente ácido fosfórico concentrado hasta lograr un pH ligeramente ácido. La mezcla resultante se filtró para la recuperación de la solución de fructosa. La fructosa en la solución se cuantificó mediante CLAR (HPLC) y se calculó la cantidad separada con base en

## Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental compuesto de Box y Wilson que es útil para realizar análisis de superficie de respuesta. Se consideraron tres variables independientes:  $X_1$  = concentración de la solución en °Brix;  $X_2$  = relación molar hidróxido de calcio/ fructosa y  $X_3$  = tiempo de reacción entre la base de calcio y la melaza hidrolizada y, como variable dependiente, la respuesta  $Y$ , esto, es la cantidad en gramos de fructosa recuperada/100g de melaza. El diseño factorial  $2^3$  se inició con los niveles: 15 y 25 °Brix para la concentración, 2.25:1 y 3.75:1 para relación molar hidróxido de calcio/fructosa y 60 y 120 minutos para el tiempo de reacción, obteniéndose 8 puntos de diseño. Este diseño básico de tres variables en dos niveles se amplió a un diseño compuesto con la adición de 6 puntos axiales y 2 puntos centrales obteniéndose un total de 16 puntos de diseño (Montgomery, 1991).

## Cálculo de $\alpha$

Según Cochran y Cox (1973), las distancias ( $\alpha$ ) del valor central de cada variable a los puntos axiales, debe estimarse para hacer que los coeficientes de regresión sean ortogonales uno al otro, para minimizar el sesgo si la forma verdadera de la superficie de respuesta no es cuadrática o para darle al diseño la propiedad de ser relacionado. Los diseños rotacionales para cualquier número  $K$  de variables  $X$  pueden construirse a partir de tres componentes. Los valores de  $\alpha$  deben ser  $2^{K/4}$  para que el diseño sea rotacional, así,  $2^{K/4} = 2^{3/4} = 2^{0.75} = 1.6817$ . Para obtener los valores de las variables de los puntos complementarios, se multiplicó la distancia del punto central al siguiente punto por el valor de  $+\alpha$  y  $-\alpha$  y se sumó al punto central (Cochran y Cox, 1973; Montgomery, 1991). La Tabla 1 presenta los valores para los tres niveles de cada factor que se analizan en el presente trabajo, mismos que se estandarizaron en niveles  $-1$  (nivel bajo),  $0$  (nivel central) y  $1$  (nivel alto) y los puntos axiales a  $+\alpha$  y  $-\alpha$  unidades del punto central de cada variable. La Tabla 2 presenta la matriz completa del diseño compuesto, donde se aplicaron los valores de cada factor con sus correspondientes niveles.

## Desarrollo de los experimentos

Se diluyeron cantidades fijas (aproximadamente 100g) de melaza de caña de azúcar hasta diferentes concen-

**Tabla 1.**

*Niveles de los factores del diseño compuesto-central*

Nivel 1	Factores (variables independientes)		
	$X_1$ (°Brix)	$X_2$ (gmol/gmol)	$X_3$ (minutos)
- a	11.6	1.74 : 1	40
- 1	15.0	2.25 : 1	60
0	20.0	3.00 : 1	90
1	25.0	3.75 : 1	120
a	28.4	4.26 : 1	140

estas soluciones se les determinaron valores de pH, sacarosa, glucosa y fructosa para, posteriormente, efectuar una reacción enzimática de hidrólisis de la sacarosa con la enzima invertasa, siguiendo la técnica descrita por Gasca-León y col. (2000).

Las soluciones de melaza hidrolizada se trataron con soluciones de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en concentraciones establecidas por el diseño experimental, para la formación de complejos fructosa-calcio, mediante el procedimiento descrito antes. Una vez separado y lavado el precipitado de fructosa-calcio, se hizo reaccionar con ácido fosfórico, para liberar y separar por filtración la solución de fructosa del precipitado de fosfato de calcio resultante. Las soluciones de glucosa obtenidas de la primera etapa de filtrado y las de fructosa resultante después de la separación se analizaron en sus contenidos de sacarosa, glucosa y fructosa.

**Tabla 2.**

*Matriz de diseño*

Puntos del diseño	Constante $\beta_0$	Variables independientes		
		$X_1$	$X_2$	$X_3$
1	1	15	2.25 : 1	60
2	1	25	2.25 : 1	60
3	1	15	3.75 : 1	60
4	1	25	3.75 : 1	60
5	1	15	2.25 : 1	120
6	1	25	2.25 : 1	120
7	1	15	3.75 : 1	120
8	1	25	3.75 : 1	120
9	1	20	3.00 : 1	40
10	1	20	3.00 : 1	140
11	1	20	1.74 : 1	90
12	1	20	4.26 : 1	90
13	1	11.6	3.00 : 1	90



### Análisis de regresión y de superficie de respuesta

Para la realización del análisis de los resultados se empleó el paquete estadístico Statistica (Statsoft, 1998), el cual ajustó los datos al modelo de segundo orden:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_{12} + \beta_5 X_{22} + \beta_6 X_{32} + \beta_7 X_1 X_2 + \beta_8 X_1 X_3 + \beta_9 X_2 X_3 \quad (1)$$

Para el análisis de superficie de respuesta se elaboraron gráficas de superficie de respuesta para las diferentes combinaciones de variables independientes.

### Tipificación de la superficie e identificación de óptimos globales

Se utilizó la metodología descrita por Cochran y Cox (1973) para la realización de un análisis y la transformación del modelo de regresión al modelo canónico:

$$Y = Y_0 + \lambda_1 W_1^2 + \lambda_2 W_2^2 + \dots + \lambda_K X_K^2 \quad (2)$$

donde las  $W_i$  son las variables independientes y las  $\lambda_i$  son constantes. La naturaleza de la superficie de respuesta puede determinarse a partir del punto estacionario  $Y_0$  y la magnitud y signo de  $\lambda_i$ : si las  $\lambda_i$  son positivas  $Y_0$  es un punto de respuesta mínimo; si las  $\lambda_i$  son negativas  $Y_0$  es un punto máximo y si las  $\lambda_i$  son de signo distinto  $Y_0$  es un punto de silla.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 3 muestra algunas características de la melaza de caña utilizada en este estudio y de la melaza tratada con la enzima invertasa. Después de la reacción hidrolítica, la melaza sujeta a la reacción con hidróxido de calcio tuvo 0.448 g de sacarosa, 23.69g de fructosa y 21.93g de glucosa por cada 100 gramos de melaza *invertida*. Las Figuras 2 y 3 presentan los cromatogramas obtenidos mediante CLAR (HPLC), los tiempos de retención de estos tres carbohidratos fueron 5.96, 6.59 y 9.97 minutos para fructosa, glucosa y sacarosa, respectivamente.

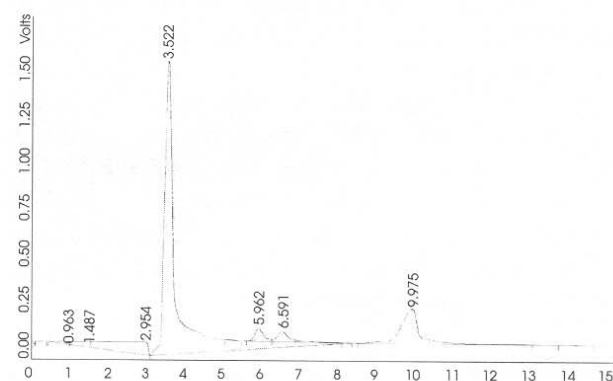
La Tabla 4 presenta la composición de las soluciones fructosadas separadas mediante el procedimiento estudiado, los resultados están referidos a las cantidades de fructosa y glucosa separadas de cada 100 gramos de melaza de caña de 72.5°Brix, para cada uno de los experimentos diseñados del modelo central compuesto. En estos resultados se hace evidente que salvo los experimentos 4 y 13, las soluciones fructosadas tu-

**Tabla 3.**

*Características fisicoquímicas de la melaza de caña*

	Melazas	Melazas hidrolizadas
Concentración, °Brix	72.5	72.5
Valor de pH	6.6	6.6
Sacarosa*	31.906	0.486
Fructosa*	7.977	23.690
Glucosa*	6.218	21.930

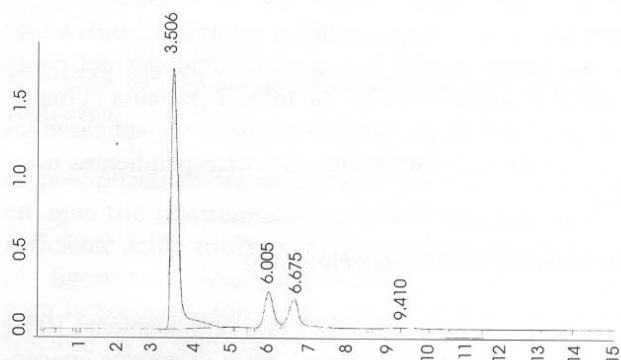
\*g/100g de melazas



**Figura 2. Cromatograma para fructosa, glucosa y sacarosa en la melaza de caña**

y que las condiciones representadas por los experimentos 13 al 16 lograron las cantidades más altas de separación de fructosa de la melaza.

La Tabla 5, presenta el destino de las cantidades de glucosa y fructosa originalmente presentes en la melaza hidrolizada. Así, para el experimento 1, en el que la melaza hidrolizada se trató con 1.9 moles de hidróxido de calcio por cada mol de fructosa existente en la melaza, previamente diluida a 15°Brix, durante un tiempo de reacción de 60 minutos, la cantidad total de fructosa de la melaza hidrolizada se distribuyó como sigue:



**Tabla 4.**

Valores de respuesta para el diseño central compuesto (donde M es la relación de las moles de hidróxido de calcio por cada mol de fructosa existente en la melaza)

Experimento	Tiempo	Relación M	Concentración	Composición de la solución*	
				Fructosa	Glucosa
1	60	1.9	15	3.6907	0.8284
2	60	1.9	25	4.6600	0.7138
3	60	3.2	15	9.0935	1.5665
4	60	3.2	25	8.5356	5.4170
5	120	1.9	15	2.5862	0.3344
6	120	1.9	25	4.8038	0.7966
7	120	3.2	15	8.9990	1.6802
8	120	3.2	25	7.1582	1.6692
9	40	2.55	20	6.9489	1.2444
10	140	2.55	20	5.8569	0.0000
11	90	1.46	20	0.7452	0.3276
12	90	3.6	20	6.3658	1.3156
13	90	2.55	11.6	11.816	2.3052
14	90	2.55	28.4	12.152	1.6270
15	90	2.55	20	13.022	1.0864
16	90	2.55	20	12.850	1.2812

\*En g de monosacárido/100g de melaza pura

**Tabla 5.**

Balace de fructosa y glucosa durante su separación por la formación del complejo insoluble, su filtración y su lavado

Exp.	Melazas hidrolizadas*		Complejo fructosa-calcio		Filtrado		Agua de lavado	
	Fructosa	Glucosa	Fructosa	Glucosa	Fructosa	Glucosa	Fructosa	Glucosa
1	100	100	15.50	3.76	50.86	63.50	33.64	32.74
2	100	100	20.26	3.24	54.90	83.27	24.83	13.48
3	100	100	37.89	7.12	27.35	48.24	34.76	44.64
4	100	100	35.57	24.62	7.93	18.86	56.50	56.52
5	100	100	10.78	1.52	67.42	60.89	21.80	37.59
6	100	100	20.02	3.62	71.70	90.58	8.28	5.80
7	100	100	37.50	7.64	14.97	34.75	43.53	57.61
8	100	100	29.83	7.59	6.38	14.20	63.79	78.21
9	100	100	28.95	5.66	15.72	11.20	55.33	83.14
10	100	100	24.41	0.00	22.13	20.77	53.46	79.23
11	100	100	3.11	1.49	83.58	92.61	13.31	5.90
12	100	100	2.53	5.98	9.74	18.45	63.73	75.57
13	100	100	50.85	10.48	20.46	32.73	28.69	36.79
14	100	100	50.95	7.39	13.72	26.12	35.33	66.49
15	100	100	53.82	5.01	11.90	28.64	34.28	66.35
16	100	100	58.61	5.82	13.99	25.02	27.40	69.16

\*En g. de monosacárido/100g de melaza pura

15.5% en el complejo fructosa calcio, 50.86 en el filtrado y 33.64 se removió durante la operación de lavado del precipitado con agua de cal. Dado que el objetivo es separar la mayor cantidad de fructosa presente en la melaza, es evidente que las condiciones

No obstante, no pudieron obtenerse soluciones de fructosa más puras.

La Tabla 6 resume el análisis de regresión de los datos experimentales al modelo de regresión de segundo orden considerado. De acuerdo con éste, la ecuación que perm

$$Y = -91.076 + 0.497X_1 + 50.797X_2 + 1.335X_3 - 0.002X_1^2 - 8.473X_2^2 - 0.019X_3^2 - 0.0033X_1X_2 - 0.000028X_1X_3 - 0.214X_2X_3 \quad (3)$$

Como se puede observar en la Tabla 6, el nivel de probabilidad de los factores  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_1^2$ ,  $X_2^2$  y  $X_2X_3$  es cercano a cero y la prueba F tiene valores altos, lo cual indica que el modelo propuesto de segundo grado podría ser resuelto tomando el efecto de estos factores y explicar la respuesta Y. Esta ecuación puede entonces simplificarse en:

$$Y = -91.076 + 0.497X_1 + 50.797X_2 + 1.335X_3 - 0.002X_1^2 - 8.473X_2^2 - 0.214X_2X_3 \quad (4)$$

**Tabla 6.**  
*Análisis de regresión para las soluciones de melaza*

Coefficientes	Estimados	DE	Relación T	Probabilidad
Intercepción	-91.0763	10.41517	-8.7446	0.000124
$X_1$	0.4979	0.07587	6.5628	0.000600
$X_1^2$	-0.0028	0.00030	-9.3332	0.000086
$X_2$	50.7978	3.96426	12.8140	0.000014
$X_2^2$	-8.4737	0.64639	-13.1094	0.000012
$X_3$	1.3352	0.50958	2.6201	0.039579
$X_3^2$	-0.0191	0.01056	-1.8113	0.120053
$X_1 * X_2$	-0.0033	0.01463	-0.2240	0.830220
$X_1 * X_3$	$-2.8 \times 10^{-5}$	0.00190	-0.0152	0.988397
$X_2 * X_3$	-0.2148	0.08779	-2.4471	0.049988

De acuerdo con la Tabla 7, el modelo de regresión se ajusta convenientemente a los datos experimentales. La Tabla 8 presenta los resultados del análisis de los efectos principales. De acuerdo con ésta, los factores más relevantes en la formación del complejo fructosa-calcio son el tiempo de reacción y la relación molar  $Ca(OH)_2$ /fructosa, lo que corrobora la significancia de estos términos en la ecuación (4).

**Tipificación de la superficie de respuesta**

Como se muestra en la Tabla 9 la forma canónica del modelo ajustado para la separación de fructosa de melaza de caña es:

$$Y = 13.0708 - 0.00277 W_1^2 - 0.01775 W_2^2 - 8.475 W_3^2 \quad (5)$$

Las coordenadas de 88.0 minutos, 2.73 de relación molar hidróxido de calcio/fructosa y 19.49°Brix de concentración, obtenidas con un punto estacionario de 13.269 g de fructosa/100g de melaza, de acuerdo con los valores de  $\lambda$  representan un punto crítico. Este

**Tabla 7.**  
*Análisis de varianza de la regresión*

Efecto	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias cuadráticas	F	Nivel de probabilidad
$X_1$	1.3341	1	1.3341	90.824	0.066557
$X_1^2$	56.7217	1	56.7217	3861.517	0.010244
$X_2$	50.6308	1	50.6308	3446.856	0.010842
$X_2^2$	111.9114	1	111.9114	7618.733	0.007293
$X_3$	0.1341	1	0.1341	9.147	0.203287
$X_3^2$	2.1367	1	2.1367	145.458	0.052665
$X_1 * X_2$	0.0327	1	0.0327	2.224	0.376055
$X_1 * X_3$	0.0001	1	0.0001	0.010	0.935961
$X_2 * X_3$	3.8999	1	3.8999	265.496	0.039022
Ajuste	3.8922	5	0.7784	52.995	0.103900
Error puro	0.0147	1	0.0147		
Total	209.2499	15			

**Tabla 8.**  
*Efectos principales*

Factor	Efecto	DE
Promedio	12.94	0.56
Tiempo (L)	-0.62	0.43
Tiempo (Q)	4.96	0.53
Relación Molar (L)	3.88	0.44
Relación Molar (Q)	-7.12	0.54
Concentración (L)	0.19	0.43
Concentración (Q)	-0.92	0.52
T (L) x RM (L)	-0.12	0.57
T (L) x C (L)	-0.008	0.57
RM (L) x C (L)	-1.39	0.57

L= Efecto lineal, Q=Efecto cuadrático, T= Tiempo, RM= Relación molar

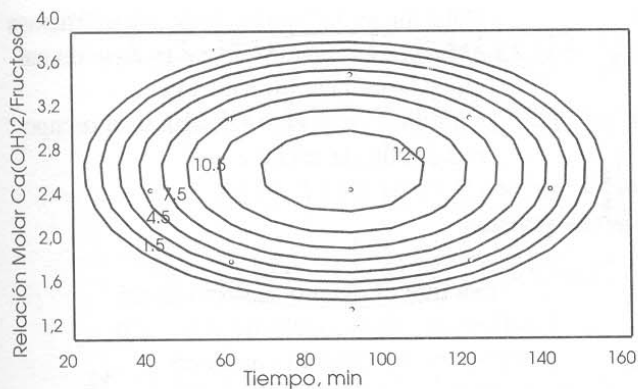
**Tabla 9.**  
*Valores críticos (valores y vectores propios, "Eigenvalues" y "Eigenvectors")*

Variables	Valores			Eigenvalues y Eigenvectors		
	Mín	Crítico	Máx	1	2	3
Tiempo	40.00	88.00	140.00	1.0000	0.00043	-0.00019
Relación molar	1.46	2.73	3.60	-0.00019	0.01270	-0.9999
Concentración	11.60	19.49	28.40	0.00043	-0.9999	-0.0127
$\lambda$				-0.00277	-0.01775	-8.475
$Y_0$	13.269					

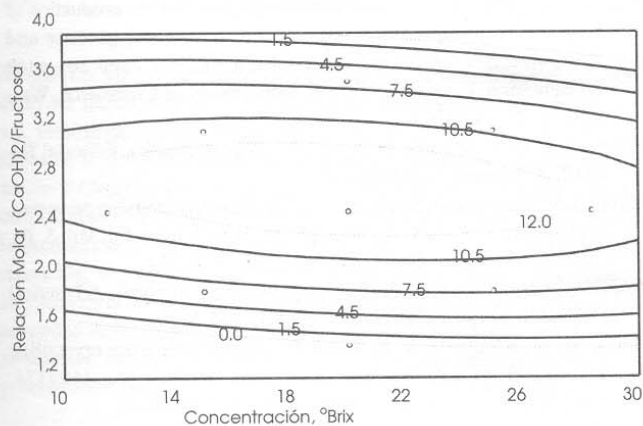
zado y en el intervalo de las condiciones experimentales especificadas para cada variable, los valores críticos encontrados determinan un óptimo en la respuesta Y.

Las Figuras 4 a la 6 presentan los mapas de contorno de las superficies de respuesta para pares de variables.

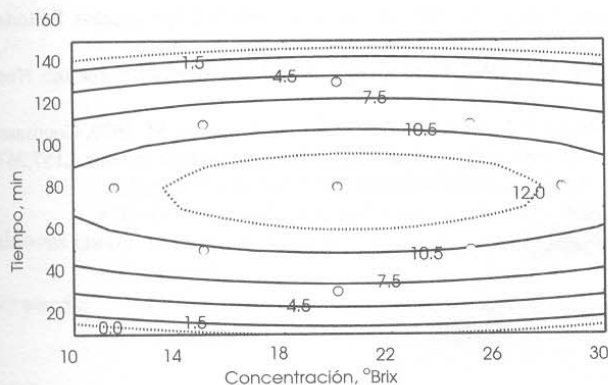




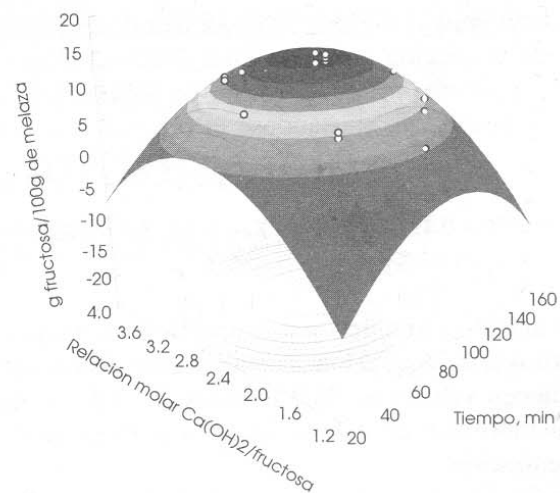
**Figura 4. Separación de fructosa de melaza de caña: Efecto del tiempo y de la relación  $\text{Ca(OH)}_2$  /fructosa**



**Figura 5. Separación de fructosa de melaza de caña: Efecto de la concentración y de la relación  $\text{Ca(OH)}_2$  /fructosa**



**Figura 6. Separación de fructosa de melaza de caña:**



**Figura 7. Separación de fructosa de melaza de caña: Efecto del tiempo y de la relación  $\text{Ca(OH)}_2$  /fructosa**

separada por formación de complejos con hidróxido de calcio en función de dos de las variables y manteniendo la tercera a un valor intermedio del intervalo experimental ensayado. La Figura 7 contiene, además del mapa de contorno, la superficie de respuesta correspondiente cuando las variables independientes son el tiempo de reacción y la relación molar fructosa/calcio.

#### CONCLUSIONES

La melaza es un subproducto importante de la elaboración de azúcar de caña, que sigue ampliando sus posibilidades como materia prima para la obtención de una gran variedad de productos, entre ellos algunos resultantes de la separación de sus mayores constituyentes, como puede ser la fructosa. De acuerdo con su composición, los carbohidratos sacarosa, glucosa y fructosa son los constituyentes presentes en mayor proporción en la melaza de caña. En términos de los resultados obtenidos en el presente trabajo, la melaza de 72.5°Brix tuvo 31.9% de sacarosa, 7.9% de fructosa y 6.2% de glucosa. Después del tratamiento con la enzima invertasa para la hidrólisis de la sacarosa, cambió a 0.48% de sacarosa, 23.690% de fructosa y 21.93% de glucosa.

La separación de la fructosa desde la mezcla multicomponente, que es la melaza de caña, se efectuó mediante la precipitación con hidróxido de calcio, seguida por una separación del sólido y de una

fructosa-calcio. De acuerdo con los resultados obtenidos, dicha separación dependió del tiempo de reacción ( $X_3$ ), de la relación molar  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ /fructosa ( $X_2$ ) y en menor grado de la concentración de sólidos solubles ( $X_1$ ) en la melaza, ajustándose el proceso a la ecuación:

$$Y = -91.076 + 0.497X_1 + 50.797X_2 + 1.335X_3 - 0.002X_1^2 - 8.473X_2^2 - 0.214X_2X_3 \quad (4)$$

El análisis canónico y de superficie de respuesta mostró que la separación se optimiza cuando las variables tienen valores de 88.0 minutos, 2.73 de relación molar hidróxido de calcio/ fructosa y 19.49°Brix de concentración.

En función de lo anterior se puede decir que la separación de fructosa de la melaza de caña puede efectuarse mediante la formación de un complejo con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y procesos de separación posteriores, quedando para otros estudios los análisis a más detalle de las etapas de filtración y re-solubilización del complejo de fructosa y los consecuentes análisis económicos.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al laboratorio del SARA (Servicios de Apoyo a la Resolución Analítica), de la Universidad Veracruzana el apoyo brindado para el procesamiento analítico de algunas de las muestras estudiadas.

#### NOMENCLATURA

DE	Desviación estándar
F	Prueba estadística
K	Cualquier número de variables
L	Efecto lineal
M=RM	Relación molar de hidróxido de calcio por mol de fructosa
Q	Efecto cuadrático
T	Tiempo
$W_i$	Variables independientes transformadas del modelo canónico
$X_1$	Concentración de la solución en °Brix

$X_2$	Relación molar hidróxido de calcio/fructosa
$X_3$	Tiempo de reacción entre la base de calcio y la melaza hidrolizada
Y	Cantidad en gramos de fructosa recuperada/100g de melaza

#### Letras griegas

$\alpha$	$2^{K/4}$ para que el diseño sea rotacional
$\beta_{0,\dots,9}$	Coefficientes del modelo de regresión
$\lambda_i$	Constantes del modelo canónico

#### REFERENCIAS

- Agüero-Torres, C., Bell-García, A. 1988. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar. Pub. GEPLACEA. México, D.F. México.
- Bichsel, E. S., Dark, N. F., Eagan, W. Y. 1981. Production of Fructose and Useful By-Products. Patente 4 263 052, Department of Commerce, Washington, DC. EEUUA.
- Bringer, S., Sahm, H. 1988. Fermentation process for the production of fructose from aqueous mixtures of fructose and glucose and *Zymomonas mobilis* mutants which can be used for such fermentation. Patente 4,742,006, Department of Commerce, Washington, DC. EEUUA.
- Cochran, W. G., Cox, M.G. 1973. Diseños Experimentales. Editorial Trillas S.A. México, D.F. México.
- Coker, L.E., Venkatasubramanian, K. 1985. Starch conversion processes. En Comprehensive Biotechnology. M. Moo-Young, Ed. Vol. 3. Pp. 777-787. Pergamon Press, Inc. New York. EEUUA.
- Chaplin, M.F., Kennedy, J.F. 1994. Carbohydrate Analysis. A Practical Approach. Oxford University Press. Oxford, Inglaterra.
- Dwivedi, B., Raniwala, S. K. 1980. Process of preparing crystalline fructose from high fructose corn syrup. Patente No. 4199374, Department of Commerce, Washington, DC. EEUUA.
- Fan, L. 1988. Process for producing fructose. Patente 4,774,183, Department of Commerce, Washington, DC. EEUUA.
- Gasca-León, M. I., Solís-Fuentes, J.A., Durán-de-Bazúa, M. C. 2000. Sugarcane juice sucrose enzymatic hydrolysis in batch reactors. *Sugar y Azucar*, 95(3):34-44.
- Matissek, R., Schepel, F. M., Steiner G. 1998. Análisis de los Alimentos: Fundamentos, Métodos y Aplicaciones. Editorial Acirbia S.A. México, D.F. México.
- Montgomery, C.D. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Editorial Iberoamericana. México, D.F. México.
- Nollet, M.L. 1992. Food Analysis by HPLC. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, EEUUA.
- Odawara, H., Ohmo, M., Yamazaki, T., Kanaoka, M. 1979. Continuous Separation of Fructose from a Mixture of Sugars. Patente 4,157,267, Department of Commerce, Washington, DC. EEUUA.
- Statsoft. 1998. Statistica for Windows. Tulsa, OK, EEUUA.