



ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar

ISSN: 0138-6204

revista@icidca.azcuba.cu

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
Cuba

Borroto-Mato, Dacelis; Lorenzo-Izquierdo, Magdalena; García-Gutiérrez, Roxana; Reyes-Linares, Arlyn

Aspectos generales sobre la determinación de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas

ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. 51, núm. 3, septiembre-diciembre, 2017, pp. 58-65

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
Ciudad de La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223158039009>

- 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

Aspectos generales sobre la determinación de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas

Dacelis Borroto-Mato*, Magdalena Lorenzo-Izquierdo, Roxana García-Gutiérrez, Arlyn Reyes-Linares

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (Icidca). Vía Blanca No. 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.

*dacelis.borroto@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

Se presenta una revisión bibliográfica sobre la formación y determinación de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas. Se abordan aspectos generales sobre el origen de los alcoholes superiores y factores que influyen en la formación de los mismos como: la cepa *Saccharomyces cerevisiae* empleada y la relación carbono-nitrógeno presente en el medio de fermentación, así como los métodos que se emplean en su determinación. Se comentan los trabajos reportados actualmente relacionados con la determinación de alcoholes superiores, tanto por el método cromatográfico, como por el método espectrofotométrico.

PALABRAS CLAVE: alcoholes superiores, bebidas alcohólicas, método cromatográfico y método espectrofotométrico.

ABSTRACT

A bibliographic review is presented on the determination of higher alcohols in alcoholic beverages. General aspects about the origin of higher alcohols and factors influencing the formation of these alcohols are discussed, such as: the *Saccharomyces cerevisiae* strain used and the carbon-nitrogen ratio present in the fermentation medium, as well as the methods used in its determination. The current reported work related to the determination of higher alcohols by both the chromatographic method and the spectrophotometric method is discussed.

KEYWORDS: higher alcohols, alcoholic beverages, chromatographic method and spectrophotometric method.

INTRODUCCIÓN

Los alcoholes tienen diferentes fines: constituyen las materias primas fundamentales para la elaboración de bebidas alcohólicas y pueden ser comercializables como tal en sus diferentes especificidades, principalmente alcoholes finos y rectificados (1).

En la fermentación alcohólica se producen junto con el etanol, muchos compuestos denominados mayoritarios. Entre estos, se destacan en importancia los alcoholes superiores: 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-

butanol, separados en las columnas rectificadoras en forma de aceite de fusel (alcoholes con más de dos átomos de carbono) (2). En una segunda etapa de destilación las concentraciones de esos compuestos pueden ser controlados en sus rangos de concentración para que los productos finales clasifiquen como alcoholes o aguardientes (3).

En la producción de algunas bebidas alcohólicas, los alcoholes superiores se consideran impurezas y su concentración puede ser lo suficientemente elevada como para rendir un desagradable sabor y olor penetrante. Estas concentraciones usualmente se determinan en las fábricas por

métodos espectrofotométricos que no consideran la concentración del 1-propanol. La adecuación de la técnica y su comparación con los resultados obtenidos por cromatografía de gases, será de gran utilidad para establecerla como método de rutina.

Actualmente, aunque es costosa tiene mayor uso la cromatografía de gases en la determinación de alcoholes superiores, entre otros congéneres, en matrices de destilados alcohólicos y es posible su aplicabilidad en la modulación de parámetros fermentativos en las destilerías, garantizando de esta forma un producto final con la calidad organoléptica requerida.

Aspectos generales

Los compuestos que integran la fracción aromática de las bebidas alcohólicas son también denominados congéneres. Los congéneres son compuestos químicos formados principalmente durante los procesos de fermentación y añejamiento, por la interacción química entre algunos ácidos orgánicos con el alcohol etílico para formar ésteres, los aldehídos, ácidos orgánicos, alcoholes superiores y furfural. La operación de destilación permite eliminar del producto un mayor o menor contenido de congéneres dependiendo del tipo y la eficiencia de dicha operación (3).

Los congéneres se designan también con el nombre de impurezas volátiles y contribuyen a dar a la bebida alcohólica el sabor y aroma propios de la materia prima. Su concentración puede ser lo suficientemente elevada como para rendir un desagradable sabor y olor penetrante en el producto, así como aportar una sensación de aspereza al paladar; adicional a esto, se les atribuye sean la causa del dolor de cabeza, irritación y malestar que aparecen tras una ingestión considerable.

Impurezas en bebidas alcohólicas

La presencia de otros compuestos que no son etanol ni agua son precisamente las sustancias que tienen su origen fundamentalmente como coproductos de la fermentación, o provenientes de la materia prima, como acompañantes o formados durante el proceso de separación y purificación.

Puede tenerse idea de la variedad de impurezas que se consideran en la caracterización de los alcoholes, observando las referencias internacionales de los alcoholes finos (neutros) o rectificadas (industriales) (4), entre ellas se pueden distinguir las especies correspondientes a familias químicas como son:

- Los alcoholes superiores. Por definición los que poseen más carbonos que el etanol, los más significativos son: propanoles, butanoles y pentanoles con sus isómeros más comunes. Están determinados oficialmente por la NC-535:2007 (5).
- Los aldehídos. Son los compuestos de mayor volatilidad presentes, destacándose el acetaldehído y los acetales (dietilacetal, 1,1-dietoxietano). Están determinados oficialmente por la NC-508: 2011(6) y NC-519: 2007(7).
- Los ésteres. Se originan básicamente mediante la reacción de esterificación entre un ácido orgánico y un alcohol. Su importancia radica en su contribución decisiva a las propiedades organolépticas del alcohol etílico destilado. El procedimiento de destilación actúa en forma correspondiente con la de un reactor de esterificación, por ello los sistemas de destilación en sí se comportan como esterificadores. Su determinación también se encuentra dentro de las normas oficiales (8, 9 y 6).
- Metanol. En todos los alcoholes potables la determinación de este compuesto es solicitada, dada su toxicidad. Su presencia es muy pronunciada en el alcohol sintético y en aquellos naturales procedentes de fermentaciones de sustancias con alto contenido en pectinas, como las frutas y algunos granos. Su presencia en alcoholes de caña es muy baja. Se determina químicamente por el método de la fucsina (Reactivo de Schiff) (10) aunque también ha sido popular por el método del ácido cromotrópico. Hoy han sido suplantadas estas técnicas por la cromatografía gaseosa (11).
- Carbamato de etilo. En los últimos años han aparecido algunas regulaciones en países como Canadá y Suiza que han establecido valores máximos para esta especie en bebidas destiladas de 150 µg/L (ppm) (12). Por otra parte la Unión Europea hasta ahora no ha emitido norma sobre el carbamato de etilo, pero ha publicado recomendaciones oficiales (13). En Brasil se vienen realizando investigaciones sobre los valores encontrados en los aguardientes de caña (cachaza) y de yuca o mandioca (tiquira) de este compuesto (14).

Factores que influyen en la formación de la fracción aromática en bebidas alcohólicas

Se ha demostrado que dentro de los factores que pueden determinar la composición de la fracción aromática (especialmente los alcoholes superiores) de fermentaciones derivadas de jugos y melazas provenientes de la fabricación de azúcar

de caña (15), se encuentran: la cepa *Saccharomyces cerevisiae* empleada, y la relación carbono-nitrógeno, específicamente nitrógeno amínico y amoniacal presentes en el medio de fermentación.

La cepa *Saccharomyces cerevisiae* empleada

La cepa *Saccharomyces cerevisiae* pertenece a un grupo de levaduras llamadas anaerobias facultativas. Estos microorganismos fermentan hexosas como glucosa y fructosa bajo condiciones aerobias y anaerobias.

En cultivos discontinuos aerobios, esta levadura, típicamente fermenta cerca de un 70 % de la glucosa disponible a etanol y CO₂, un 20 % se incorpora a la biomasa y un 8 % se usa en la producción de glicerol y solo un 2 % rendirá CO₂ y H₂O vía fosforilación oxidativa dentro de la mitocondria (16).

La relación carbono-nitrógeno presente en el medio de fermentación

El contenido de nitrógeno asimilable en el medio de cultivo, constituye otro elemento que juega un papel importante en la duración y progreso de la fermentación alcohólica, ya que la disponibilidad del mismo puede incrementar la población durante el período de crecimiento celular. La limitación de carbono y nitrógeno, es importante para la optimización de la fermentación de hexosas por *Saccharomyces cerevisiae* (17).

La interacción entre ambos factores puede incidir significativamente sobre la formación de estos compuestos; es decir cada cepa puede tener un perfil de síntesis para determinados alcoholes superiores, dependiendo de las condiciones nutricionales del mosto (altas o bajas relaciones C: N), suplementado el N vía sulfato de amonio. Se han implementado diversas técnicas especiales para separar el *fusel oil* durante la producción de bebidas destiladas, las cuales por lo general son costosas; por lo que resulta factible disminuir su concentración en los mostos, previniendo su producción durante el curso de la fermentación (18).

Al respecto, la literatura reporta algunos trabajos referentes al empleo de cepas de levaduras alcoholeras mutantes con una producción ya sea incrementada o disminuida para estos congéneres, en dependencia del producto final deseado, permitiendo de esta forma reforzar sabores y características aromáticas (18).

La cantidad de azúcar a adicionar en el medio de fermentación no puede llevarse a cabo de forma

arbitraria, se hace necesario un ajuste correcto ya que bajos niveles disminuyen la velocidad de su utilización en la formación de etanol haciendo más lento el proceso (19).

Las mieles cubanas contienen aproximadamente un 0,5 % de nitrógeno, de cuya cantidad menos de la mitad se encuentra en forma asimilable para las levaduras, de ahí que en dependencia de ello, en la fermentación sea necesario adicionar nitrógeno para obtener resultados óptimos. Tradicionalmente en destilerías nacionales se emplea la urea, el sulfato y/o el fosfato de amonio; estas dos últimas son las preferidas para el trabajo en el laboratorio ya que son utilizadas por todos los géneros de levaduras y por ende son las formas más usuales de adición del ion amonio (20), pero estos resultan más caros y se prefiere la urea para trabajos en fábricas.

Formación de alcoholes superiores

Los alcoholes superiores se producen mayoritariamente a partir de aminoácidos aromáticos y de cadena ramificada a través de dos vías metabólicas (17):

- Vía catabólica o vía de Ehrlich: Los aminoácidos son primeramente transaminados a 2-oxoácidos, después descarboxilados a aldehídos y finalmente reducidos a los correspondientes alcoholes superiores.
- Vía anabólica o del piruvato: A través de intermediarios 2-oxoácidos que están a su vez involucrados en la biosíntesis de estos aminoácidos ramificados.

Las proporciones relativas atribuidas a estas dos vías son del 25 % y 75 %, respectivamente. Para una cantidad fija de nitrógeno amoniacal, las concentraciones de alcoholes superiores se incrementan al aumentar el contenido en azúcares (17).

Métodos empleados en la determinación de alcoholes superiores

Existe una gran variedad de métodos químicos para la determinación de congéneres en los alcoholes según se muestra en la tabla 1.

Los métodos para la determinación de la concentración de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas resultan muy importantes en la actualidad, ya que se pueden utilizar debido a su veracidad, confiabilidad y reproducibilidad.

Los más utilizados son los cromatográficos pues son muy amplios y versátiles para el análisis

Tabla 1. Referencia de métodos utilizados para la determinación de sustancias o congéneres presentes en los alcoholes

Sustancia	Método	Fundamento
Aldehídos	Volumetría Redox	Yodometría empleando bisulfito de sodio (Na ₂ SO ₃)
Esteres	Volumetría ácido-base	Saponificación con hidróxido de sodio (NaOH)
Alcoholes superiores	Técnica espectrofotométrica	Tratamiento con dimetilamino-benzaldehído en medio sulfúrico(538-543nm)

Fuente: Hernández (21)

ta químico y también de fácil manipulación, aunque los métodos volumétricos son de mayor uso en los laboratorios de las destilerías ya que los cromatógrafos son muy costosos (21).

Método cromatográfico

La cromatografía de gases es de las técnicas cromatográficas la más utilizada y se caracteriza porque la muestra es volatilizada e inyectada en la cabeza de una columna cromatográfica. Los componentes de la muestra se distribuyen entre la fase móvil (gas portador que puede ser: nitrógeno, helio, argón e hidrógeno, este último es el utilizado en nuestro laboratorio) y la fase estacionaria, en nuestro caso que se determinan componentes mayoritarios como aldehídos, ésteres, ácidos y alcoholes, estos eluyen a distinta velocidad en función de sus diferentes afinidades con la misma; por eso la más utilizada es la de tipo carbowax donde el material que se emplea es el polietilenglicol.

En el análisis se utiliza detector de ionización de llama (CG-FID) o GC acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM) (22).

Las columnas capilares son las más utilizadas en la actualidad en cromatografía de gases. Se trata de tubos largos, de diámetro muy pequeño, de vidrio o más frecuentemente de sílice fundida, en las que la fase estacionaria está retenida sobre la pared interna de la columna. Un ejemplo de este tipo de columna son las columnas con la pared recubierta (WCOT) (*wallcoated open tubular column*), donde la fase estacionaria está directamente depositada en la pared de la columna sin que exista ningún aditivo considerado como soporte. Estas columnas son flexibles y pueden doblarse en forma helicoidal con un diámetro de varios milímetros (0,2-0,32 mm), ofreciendo importantes ventajas tales como resistencia física, una reactividad mucho menor frente a los componentes de la muestra y flexibilidad.

La columna capilar de pared recubierta más usada en la determinación e identificación de componentes volátiles mayoritarios en alcoholes y

bebidas alcohólicas es la SUPELCOWAX™ 10, este tipo de columna tiene las siguientes características: 100 % polietilenglicol (PEG), fase entrecruzada y químicamente ligada, de polaridad alta, fase prácticamente equivalente a la fase USP G16, amplio intervalo de temperaturas de trabajo y estabilidad térmica elevada (35 °C - 280 °C), compatible con inyecciones de agua y metanol siempre que estos disolventes estén completamente vaporizados cuando entren en la columna y reproducibilidad entre columnas garantizada (23). También pueden ser utilizadas columnas con polaridad intermedia.

El detector de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés) es el detector más extensamente utilizado, aunque existen otros que son también aplicables en cromatografía de gases. La mayoría de los compuestos orgánicos, cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de H₂/aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. Cuando se aplica una diferencia de potencial de unos pocos cientos de voltios entre el extremo del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama, la corriente que resulta (~10⁻² A) se dirige para su medida hacia un amplificador operacional de alta impedancia. La ionización de la llama de compuestos que contienen carbono no es un proceso bien establecido, aunque se observa que el número de iones que se producen es relativamente proporcional al número de átomos de carbono reducidos en la llama.

El FID responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, por ello, es más un detector sensible a la masa, que un sistema sensible a la concentración. Grupos funcionales, tales como carbonilo, alcohol, halógeno y amina, originan en la llama pocos iones o prácticamente ninguno.

Estas propiedades hacen de este detector uno de los detectores generales más utilizados para el análisis de la mayoría de los compuestos orgánicos. Las aplicaciones de este detector son diversas y generalmente de control rutinario. Un ejemplo de ello es la determinación e identificación de com-

ponentes volátiles mayoritarios en alcoholes y bebidas alcohólicas. El FID posee una elevada sensibilidad ($\sim 10^{-13}$ g/s), un gran intervalo de respuesta lineal ($\sim 10^7$), y un bajo ruido. Por lo general, es resistente y fácil de utilizar. Una desventaja de este detector es que se trata de un detector destructivo de la muestra (24).

Existen estudios de Cabañas (25) donde se identificaron los diferentes alcoholes presentes en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases, por medio de la cual se identificó que las bebidas analizadas no contenían alcoholes superiores o bajo contenido de los mismos. Por otro lado, obtuvieron diferentes espectros para diversas concentraciones de sustancias y espectros de los alcoholes presentes en las muestras, como fueron el etanol y el metanol, estos se utilizan como indicadores cuando la bebida, en ese caso "vodka", se encuentra adulterada.

Por su parte Jung *et al.* (26) determinaron los perfiles químicos y sensoriales de 12 muestras comerciales de *makgeolli*, un vino de arroz coreano, mediante el análisis de componentes volátiles. Las muestras de vinos fueron analizadas para determinar su acidez, contenido de etanol, el pH y azúcares reductores totales. Se encontró que las composiciones químicas de las muestras de *makgeolli* eran significativamente diferentes. Los compuestos volátiles se extrajeron con microextracción en fase sólida y se analizaron por cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas. En total se identificaron 45 compuestos volátiles: ésteres, alcoholes, aldehídos, ácidos, fenoles y terpenos. Basado en el análisis de componentes principales en el perfil sensorial se detectaron atributos sensoriales como el cereal tostado, mohosos, burbujas, dulce y amargo, la levadura, alcohol y aroma de frutas.

Liu *et al.* (27) investigaron las composiciones volátiles y no volátiles, así como las propiedades sensoriales del vino monovarietal blanco más común en Dinamarca, mediante el muestreo del espacio de cabeza dinámico (DHS) acoplado a la cromatografía de gases-espectrometría de masa (GC-MS), donde se identificaron 79 compuestos volátiles.

Entre los principales componentes no volátiles se analizaron el glicerol, los azúcares y ácidos orgánicos. Se observó una diferencia sensorial primaria entre muestras de vino, la mitad de las cuales se caracterizan por sabores florales y frutales (melocotón / albaricoque, melón, plátano y fresa), mientras que el resto fueron descritos por los sabores menos agradables. La regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) mostró que acetatos y ésteres etílicos de ácidos grasos de cadena recta se asociaron con olores florales y frutales

mientras que los ésteres etílicos de ácidos grasos de cadena ramificada están menos asociados con ellos.

También en el grupo de Wang (28) se realizó una exploración en dos vinos rosados que presentaban un estilo tropical, afrutado y floral mediante el análisis de dilución de extracto de aroma (AEDA) y el análisis cuantitativo. Los volátiles se extrajeron usando extracción líquido-líquido (LLE) seguido de la evaporación asistida por disolvente (SAFE) o un método de muestreo de espacio de cabeza dinámico recientemente desarrollado (HS) que utiliza cartuchos de extracción (SPE) en fase sólida. El análisis de dilución de extracto de aroma se llevó a cabo mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas acoplado a olfatometría (GC-MS / S) y fueron detectados un total de 51 compuestos de aroma con sabor. Se realizó un análisis cuantitativo de 92 sustancias volátiles en ambos vinos para el cálculo de los valores de actividad de olor. El estilo de los vinos afrutados y florales se debió principalmente al 2-feniletanol y una variedad de ésteres, mientras que varios ácidos volátiles fueron vistos como esenciales para el estilo tropical. Cuando se compararon los métodos de extracción, el método HS-SPE fue tan eficiente como seguro para la extracción de la mayoría de los ésteres y alcoholes superiores, que se asociaron con sabor a fruta y caracteres florales, pero era difícil de capturar las sustancias volátiles con mayor polaridad o más alto punto de ebullición que son importantes para el aroma del vino.

Métodos espectrofotométricos

Los métodos espectrofotométricos aunque son de mayor uso en los laboratorios de las destilerías, precisan de la aplicación de las buenas prácticas de laboratorio porque se pueden presentar problemas de contaminación de solventes y alta imprecisión por las fuentes de error humano.

El método espectrofotométrico se rige oficialmente por la NC 535:2007 (5) que se basa en la determinación del contenido de los alcoholes superiores 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol, por medio de la reacción con una solución de p-dimetilaminobenzaldehído (p-DMAB) en medio ácido.

La intensidad del complejo formado se determina por espectrofotometría a una longitud de onda de 540 nm.

Según estudios encontrados Noriega *et al.* (29) determinaron alcoholes a partir de muestras de fermentación mediante un método económico, simple, cuantitativo, y no cromatográfico que utiliza el principio de microdifusión adaptado y validado para muestras de fermentación acetona-

butanol-etanol (ABE). En el método, basado en la oxidación de alcoholes usando dicromato de potasio en medio ácido, y la detección mediante espectrofotometría, se evaluó la variación tanto de la temperatura (35, 45, y 55 °C) como del tiempo de reacción (0 a 125 min). La detección se realizó con un tiempo de análisis de la muestra de 90 minutos a 45 °C, un límite de detección (LOD), y un límite de cuantificación (LOQ) de 0,10 y 0,40 g/L, respectivamente. El método propuesto se ha aplicado con éxito para determinar las concentraciones de 1-butanol y de etanol en muestras de fermentación con la ventaja de que las muestras pueden ser analizadas simultáneamente. Las mediciones obtenidas con el método propuesto se encontraban en buen acuerdo con las obtenidas por el método de cromatografía de gases (GC). Este método propuesto es útil para el análisis rutinario de alcoholes y muestras de detección en laboratorios e industrias.

Se han encontrado normas de países como México, España, Ecuador, entre otras normas que rigen la determinación de alcoholes superiores por espectrofotometría y solo tienen en cuenta la mezcla de patrones 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol, así mismo la norma cubana que transitó de la NC 83-30:1987 a la NC 535:2007 solo describe a estos patrones en su determinación.

En las destilerías ocurren indisciplinas tecnológicas que conllevan a que en el producto destilado como alcohol rectificado aparezca el 1-propanol

como parte de la fracción de los alcoholes superiores.

Está establecido que para la adecuada extracción y conociendo que la zona de concentración del 1-propanol es en platos superiores a los de los amílicos, es muy importante que la flauta para extracción esté seccionada al menos en dos partes (3).

En estos casos los ensayos que se realizan siguiendo la NC 535:2007 (5) no detecta las concentraciones de 1-propanol, por eso la importancia de poder modificar la norma existente de forma tal que se pueda determinar por espectrofotometría no solo el 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol, sino también el 1-propanol y así darle solución al problema actual en las destilerías.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la formación de alcoholes superiores ocurre durante el proceso de fermentación, por tanto se deben tener en cuenta los factores que influyen en su formación para así poder evitar grandes concentraciones de los mismos. Existen dos métodos para la determinación de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas, el cromatográfico y el volumétrico. El método volumétrico es el utilizado en las destilerías del Grupo Empresarial Azcuba según la norma NC 535:2007 que no incluye al propanol como patrón.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Estévez, R, ed. Manual Tecnológico Industria Alcohólica Cubana. Vol: 3 Alcoholes. Instituto Cubano de Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. 2014. pp.22.
2. Estévez, R, ed. Manual Tecnológico Industria Alcohólica Cubana. Vol: 7 Fermentación. Instituto Cubano de Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. 2014b. pp.40.
3. Estévez, R. Análisis y evaluación del índice de eficiencia en destilerías Plan 2015. Instituto Cubano de Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. 2015.
4. NC-792. Alcohol etílico. Requisitos. ININ/ Oficina Nacional de Normalización. pp.1-17. 2015.
5. NC-535. Bebidas alcohólicas-Determinación de alcoholes superiores-Método Espectrofotométrico. ININ/ Oficina Nacional de Normalización. pp.1-9. 2007.
6. NC-508. Bebidas alcohólicas-Determinación de componentes volátiles mayoritarios en bebidas alcohólicas destiladas, aguardientes y alcohol etílico por cromatografía gas-líquido. Oficina Nacional de Normalización. pp.1-14. 2011.
7. NC-519. Bebidas alcohólicas-Determinación de aldehídos totales-Método Químico. Oficina Nacional de Normalización. pp.1-8. 2007.
8. NC-520. Bebidas alcohólicas-Determinación de ésteres totales-Método Colorimétrico. Oficina Nacional de Normalización. pp.1-10. 2007.
9. NC-534. Bebidas alcohólicas-Determinación de ésteres totales-Método de Saponificación. Oficina Nacional de Normalización. pp.1-8. 2007.
10. Vázquez, M, et al. Manual de Técnicas Analíticas para las Destilerías. Instituto Cubano de

- Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. edit:1th. pp.122. 2012.
11. Cordovés, M. Boletín Notietanol. Revista ICIDCA. Instituto Cubano de Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. N02.2014. pp.1014. <http://www.icidca.cu/publicaciones/Notietanol.htm>. [3feb.2016].
 12. Lachenmeier, D, et al. Cancer risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages from Brazil with special consideration to the spirits cachaça and tiquira. BioMed Central. 2010. pp.1-15. <http://www.biomedcentral.com>. [3feb.2016].
 13. Union, Europea. Recomendaciones Carbamato Etilo. Diario Oficial de la Unión Europea. 2010.
 14. Ho, SS, and YY Eun. Simultaneous determination of methylcarbamate and ethylcarbamate in fermented foods and beverages by derivatization and GC-MS analysis. Chemistry Central Journal: pp.1-8. 2012. <http://journal.chemistrycentral.com>. [3feb.2016].
 15. Scott, D. Diseño de modelos de calibración multivariada para la determinación de metanol en roncs cubanos a partir de Espectroscopia UV- visible Ingenieril, Ingeniería Química, Instituto Superior Politécnico Jose Antonio Echeverría. Ingeniero Químico. pp.93. 2012.
 16. Escalante, E., Rychetera, M., Melzoch, K., Sakoda, H. Effect of aeration on the fermentative activity of *saccharomyces cerevisiae* cultured in apple juice. Revista Mexicana de Ingeniería Química, pp. 211-226. 2012.
 17. Espinosa, E., Billerbeck, G., Simões, D., Schuler, A., Mançois, J., Morais, M. Influence of nitrogen supply on the production of higher alcohols/esters and expression of flavour-related genes in cachaça fermentation. Food Chemistry 138, pp.701-708. 2013.
 18. Domenech, F., Rodríguez, J., León, M., Rodríguez, D., Sánchez, D., Alfonso, A. Influencia de la fuente de nitrógeno y la relación C/N en la obtención de esporas de *Metarhizium anisopliae* cepa No 11 por fermentación en estado sólido. ICIDCA, pp. 59-66. 2001.
 19. Guo, X., Wang, J., Gulfranz, M., Shi, L., Tian, J. Study of Ageing and Production of Wine from Grape fruit by Fermentation process. Food Chemistry. 2003.
 20. Fundora, N. Influencia del empleo de mieles atípicas sobre la fermentación alcohólica. Microbiología. Universidad de la Habana, Facultad de Biología, La Habana, pp. 68. 2002.
 21. Hernández, M. Tendencias actuales en la producción de bioetanol. Facultad de Ingeniería - Universidad Rafael Landívar, 2007. pp. 1-17.
 22. Montoya, S., Páez, C. Documentación de la Técnica de Cromatografía de Gases en el Análisis de Hidrocarburos Alifáticos en Aguas Residuales. Tecnología Química. Universidad Tecnología de Pereira, 2012. pp. 109.
 23. Daron, D, and B Herb. Guía de selección de columnas Agilent J&W para cromatografía de gases. Agilent Technologies. pp.168. 2010. www.agilent.com/chem. [14abr.2016].
 24. Abelló Linde, S.A. Cromatografía de gases: Detector de ionización de llama y detector termoiónico. Barcelona, España. 2012. www.abello-linde-sa.es. [14abr.2016].
 25. Cabañas, K, et al. Determinación de metanol y los alcoholes superiores en el vino mediante la cromatografía de gases. Laboratorio de métodos instrumentales. Práctica 8: pp.8. 2014.
 26. Jung, H, et al. Chemical and sensory profiles of makgeolli, Korean commercial rice wine, from descriptive, chemical, and volatile compound analyses. Food Chemistry. ISSN:152:624-32. doi:10.1016/j.foodchem. 2013.11.1. Epub:2013 Dec 7. PMID:24444985. [14abr.2016].
 27. Liu, J, et al. Instrumental and sensory characterisation of Solaris white wines in Denmark. Food Chemistry. ISSN:166:133-42. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.14. Epub:2014 Jun 5. PMID:25053038. [14abr.2016].
 28. Wang, J.; JM Gambetta, and J. Jeffery. Comprehensive study of volatile compounds in two Australian Rosé wines: Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) of Extracts Prepared Using Solvent-Assisted Flavor Evaporation (SAFE) or Headspace Solid-Phase Extraction (HS-SPE). Food Chemistry. ISSN:64(19):383848. doi:10.1021/acs.jafc.6b01030. Epub:2016.May4. PMID:27141971. [14abr.2016].
 29. Noriega, LJ, et al. 2016 Alternative non-chromatographic method for alcohols determination in *Clostridium acetobutylicum* fermentations. Microbiol Methods. ISSN:0167-7012(16)300884. doi:10.1016/j.mimet.2016.05.001. Epub ahead of print. PMID:27155258. [14abr.2016].
-

