

# Determinación de alcoholes superiores por cromatografía de gases y espectrofotometría

Dacelis Borroto-Mato\*, Magdalena Lorenzo-Izquierdo, Nancy Herrera-Marrero, Arlyn Reyes-Linares y Silvia Mato-Pérez

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

Vía Blanca 804 y Carretera Central. San Miguel del Padrón. La Habana, Cuba.

\*dacelis.borroto@icidca.azcuba.cu

## RESUMEN

En el presente trabajo se establecieron procedimientos para la determinación de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas destiladas por cromatografía gaseosa y una modificación al método espectrofotométrico descrito por la norma NC 535:2007, se compararon ambas técnicas a partir de una muestra real. Se analizaron las características de desempeño de los dos métodos, la sensibilidad de la técnica con límites de detección (entre 0.05 y 0.30 mg.L<sup>-1</sup>) y cuantificación (entre 0.16 y 0.96 mg.L<sup>-1</sup>). Se determinaron alcoholes superiores con un coeficiente de correlación mayor que el 0.99 y coeficiente de variación < 5 % para un nivel de confianza de 95 %. De la comparación entre los métodos se derivó que no existen diferencias significativas entre las precisiones alcanzadas por los métodos de trabajo con los estadígrafos de Fischer y de Student. Se logró validar un procedimiento analítico en cromatografía de gases y, que a su vez, fue comparable con el método espectrofotométrico.

**Palabras clave:** método cromatográfico, método espectrofotométrico, alcoholes superiores, 1-propanol.

## ABSTRACT

Procedures for determination of higher alcohols by gas chromatography were established and a modification of spectrophotometric method described by NC 535: 2007 standard, in distilled alcoholic beverages. Both techniques were compared from a real sample. Performance characteristics of two methods, sensitivity of technique with detection limits (from 0.05 to 0.30 mg.L<sup>-1</sup>) and quantitation (between 0.16 and 0.96 mg.L<sup>-1</sup>) were analyzed. Higher alcohols were determined with a correlation coefficient greater than 0.99 and coefficient of variation < 5 % for a confidence level of 95 %. From comparison of methods was derived there is not significant differences between accuracies achieved by working methods using statisticians Fischer and Student. It was possible to validate an analytical procedure in gas chromatography and which in turn was comparable to spectrophotometric.

**Key words:** chromatographic method, spectrophotometric method, higher alcohols, 1-propanol.

## INTRODUCCIÓN

La determinación de alcoholes superiores (AS) en bebidas alcohólicas es de gran interés para las diferentes destilerías del Grupo Empresarial AZCUBA. Una elevada concentración de estos alcoholes en los mostos puede ser prevista en la producción, durante el curso de la fermentación, y expresa la necesidad de contar con métodos de análisis precisos y exactos que permitan su identificación y cuantificación.

En la producción de algunas bebidas destiladas, los alcoholes superiores se consideran impurezas, y su concentración puede ser lo suficientemente elevada como para producir un desagradable sabor y olor penetrante. Estas concentraciones usualmente son determinadas 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 diferentes laboratorios, será de gran utilidad para establecerla como método de rutina.

El presente trabajo tiene como objetivos comparar los resultados obtenidos de alcoholes superiores por las dos técnicas: espectrofotométrica (NC-535 2007) (1) y cromatográfica (NC- 508:2011) (2) y determinar parámetros de linealidad, especificidad, exactitud (ensayo de recuperabilidad o recobrado) y límites de detección y cuantificación con procedimientos del Comité Nórdico de Análisis de Alimentos (NMKL) en la técnica analítica por cromatografía de gases, para evaluar las diferentes calidades de los alcoholes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Método cromatográfico

Según la norma NC- 508:2011(2). Se empleó un cromatógrafo de gases modelo GC-17A (SHIMADZU, Japón, Kioto) con columna capilar CP-WAX 10 (60 m. x 0.25 mm d.i. 0.25  $\mu$ m espesor de película) con detector de llama (FID) y equipado con inyector automático.

- Gas portador: Hidrógeno 128 kPa.
- Temperatura de columna: 40 °C por 10 min., 40 °C a 70 °C a 5 °C/min.
- Temperatura del Inyector: 150 °C.
- Temperatura del Detector: 250 °C.
- Volumen de inyección: 1  $\mu$ l *Split* 1:25.

Como patrones se utilizaron acetaldehído, acetal, acetato de etilo, metanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol y como estándar interno 1-pentanol, reactivos de la firma Sigma-Aldrich, E.E.U.U, con una pureza superior a 99 %. Estas son firmas productoras regidas por sistemas de gestión de la calidad certificados, según las normas ISO, con certificado de pureza y libre de otras impurezas de congéneres del etanol. El agua para el análisis cumplió con la norma (NC-ISO/IEC3696 2004) (3).

### Método espectrofotométrico

A partir de la norma (NC-535 2007) (1), que tiene en cuenta como alcoholes superiores la suma de 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol, se propusieron modificaciones en cuanto a los patrones porque se incorporaron a la mezcla el 1-propanol y se variaron las concentraciones de estos en la curva patrón.

### Reactivos y soluciones patrones

Se utilizaron reactivos de la firma Sigma-Aldrich, Alemania que tenían una pureza superior a 99 % en volumen y son los mismos que se describen en la norma citada. El agua para análisis cumplió con la norma (NC-ISO/IEC3696 2004) (3).

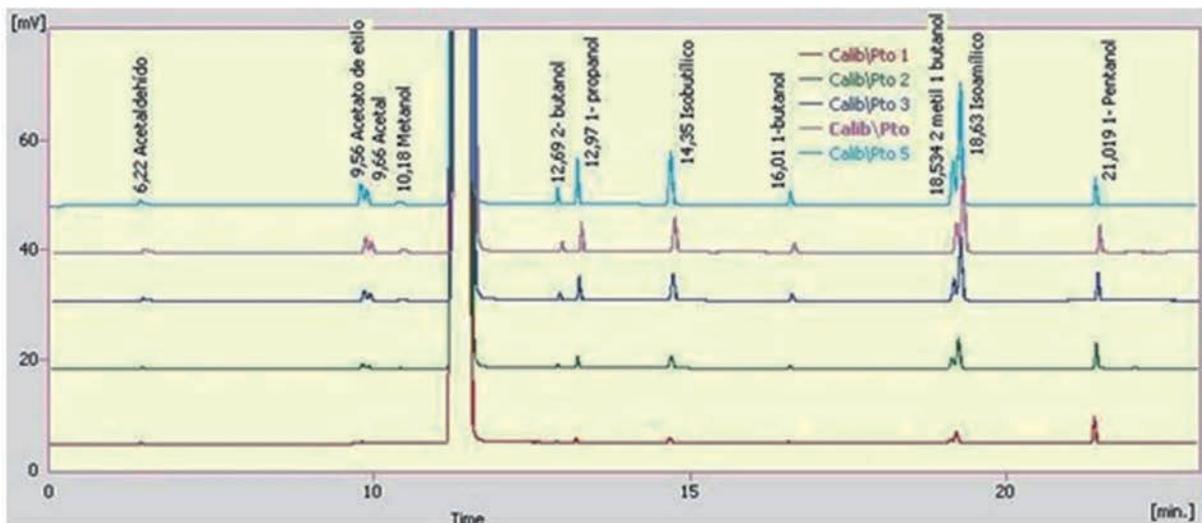
Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de 540nm en un espectrofotómetro SPECORD 210 (Analytikjena, Alemania).

La concentración de alcoholes superiores se expresó en g/100 L de alcohol absoluto (AA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Método cromatográfico

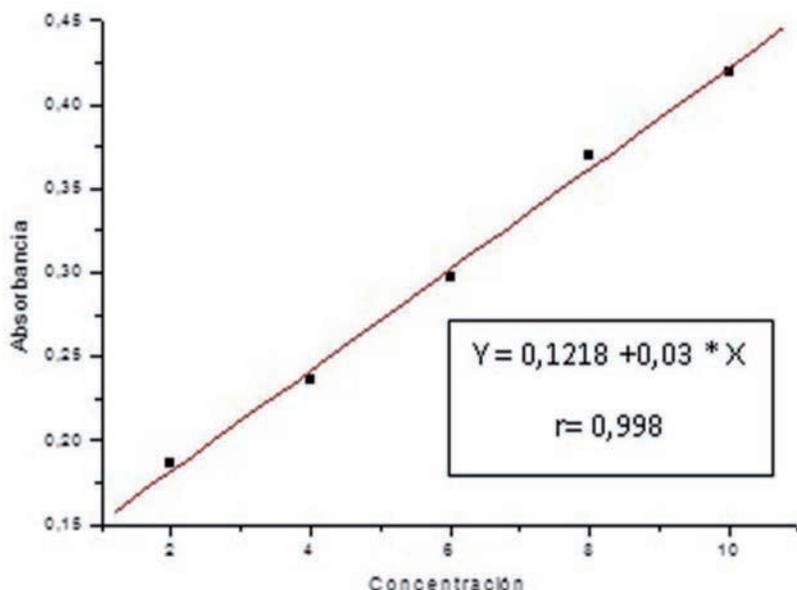
Se desarrolló la curva patrón de cinco concentraciones para cada uno de los compuestos mayoritarios, que exige la norma presente en estas matrices. Con estas condiciones se obtuvo una buena respuesta cromatográfica, con resolución entre picos  $\geq 1$ , que permitió conocer los tiempos de retención de cada compuesto. Los cromatogramas superpuestos de los 5 puntos de la curva se muestran en la figura 1.



**Figura 1.** Cromatogramas de las concentraciones de los congéneres, más el estándar interno (1-pentanol) en la curva patrón.

### Método espectrofotométrico

Se desarrolló la curva patrón de cinco concentraciones, con la mezcla de patrones seleccionados que conforman los alcoholes superiores (AS), con la mezcla de los patrones 1- propanol, 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol (figura 2).



**Figura 2.** Curva patrón en la determinación de AS, por método espectrofotométrico.

El modelo obtenido es lineal, explica más del 99 % de la variabilidad de los datos, y los resultados indican una significativa relación lineal entre las absorbancias y los valores de las concentraciones. La pendiente tuvo una desviación típica relativa menor al 3 % y el término constante no fue significativamente distinto de cero, con un 99 % de confianza.

### Comparación entre los métodos

Se realizaron modificaciones al método espectrofotométrico para que tuviera en cuenta el componente 1-propanol, en el rango de trabajo que exigía la norma (NC-535 2007) (1) y con estas modificaciones realizadas se analizaron muestras de alcohol rectificado con los dos métodos, el de componentes mayoritarios acreditado por CG y por el método alternativo de espectrofotometría, para realizar la comparación de ambos. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Muestras analizadas por los dos métodos

Muestras	AS por GC (g/100L de AA)	AS por UV (g/100L de AA)	Muestras	AS por GC (g/100L de AA)	AS por UV (g/100L de AA)
1	10.38	10.97	7	11.15	10.81
2	11.14	10.81	8	11.09	11.21
3	10.97	11.22	9	10.14	10.22
4	11.24	10.80	10	10.74	10.11
5	11.41	10.11	$\bar{x}$	10.93	10.73
6	10.99	10.98	S	0.40	0.43

Se evaluaron estadísticamente los resultados, mediante la prueba de significación de Fisher y la prueba de Student.

#### Prueba de Fischer

$$F_{exp} = 0.93 \quad F_{tab} = 3.18 \quad GL = 18 \quad p = 0.05$$

Como  $F_{exp} \leq F_{tab}$  se puede establecer que no existen diferencias significativas entre las precisiones alcanzadas por los métodos de trabajo.

#### Prueba de Student

$$t_{exp} = 1.11 \quad t_{tab} = 2.10 \quad GL = 18 \quad p = 0.05$$

Al ser la  $t_{exp} \leq t_{tab}$  indica que no existen diferencias significativas entre las medias de los métodos de trabajo.

Al analizar las medias y las desviaciones estándar de las muestras analizadas, con el método de componentes mayoritarios por CG acreditado y por el método alternativo de espectrofotometría, con las modificaciones propuestas a la norma (NC-535 2007) (1), no existen diferencias significativas entre los métodos de trabajo, lo que concuerda con los resultados del estudio de comparación realizado por Gregory (4) entre los métodos de cromatografía líquida y espectrofotometría.

## CONCLUSIONES

Se determinaron decromatográfica y espectrofotométricamente alcoholes superiores, con un coeficiente de correlación mayor al 0.99, coeficiente de variación < 5 % para un nivel de confianza de 95 %. Se confirmando que los métodos son repetibles y reproducibles, teniendo en cuenta los

factores de variabilidad entre las muestras, días de experimentación y analistas. Las modificaciones propuestas a la NC 535:2007 ofrecen resultados confiables, al analizar los resultados obtenidos de alcoholes superiores, por las dos técnicas, Se puede establecer que no existen diferencias significativas entre las precisiones alcanzadas por los métodos de trabajo al utilizar los estadígrafos de “*F*” de Fischer y “*t*” de Student.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NC-535:2007. Bebidas Alcohólicas. Determinación de alcoholes superiores- Método espectrofotométrico. ININ/Oficina Nacional de Normalización. Cuba.
2. NC-508.2011. 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.
3. NC-ISO/IEC3696.2004. Agua para uso en análisis de laboratorio-Especificación y método de ensayo. Oficina Nacional de Normalización.pp.1-12.
4. Gregory, B. S. 2001. Validación de la técnica analítica para la cuantificación de la nitroglicerina inyectable. Trabajo de diploma, Departamento de Farmacia, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana. Licenciatura en Farmacia.