Determinación de alcoholes superiores por cromatografía de gases en destilados

Dacelis Borroto-Mato*, Magdalena Lorenzo-Izquierdo, Roxana García-Gutiérrez y Nancy Herrera-Marrero
Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).
Vía Blanca 804 y Carreta Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.
*dacelis.borroto@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

La producción de aguardiente se ha visto afectada en las fábricas debido a la elevada concentración de alcoholes superiores en destilados. En este trabajo se determinaron alcoholes superiores totales en destilados tanto a nivel industrial como a nivel de laboratorio. El método empleado fue la cromatografía de gases. Fueron evaluadas 9 muestras de destilados para el análisis a nivel industrial y 4 muestras de destilados a nivel de laboratorio, formuladas con 4 mieles tributarias. Estas últimas fueron identificadas como: I, II, III y IV (Proceso (mezcla de mieles), Ifraín Alfonso, Melanio Hernández y Uruguay), de acuerdo con el ingenio de procedencia de las mieles tributarias. Los alcoholes superiores 1-propanol y 2-metil-1-butanol, se detectaron en una menor cuantía en los destilados industriales, este hecho nos advierte sobre la necesidad de su cuantificación mediante la cromatografía de gases.
Palabras clave: alcoholes superiores, destilados, cromatografía de gases.

ABSTRACT

Production of spirits has been affected in factories due to high concentration of higher alcohols in distillates products. In this work, total higher alcohols were determined in fermentations both at industrial level and at laboratory level. Method used was gas chromatography. Ninedistillates samples were evaluated for analysis at industrial level and four distillates samples at laboratory level formulated with four tributary molasses. These molasses were identified as I, II, III and IV (Process (mixture of molasses), Ifraín Alfonso, Melanio Hernández and Uruguay) according to origin of tributary molasses. Higher alcohols 1-propanol and 2-methyl-1-butanol were detected to a lesser extent in industrial distillates, this fact warns us about the need for their quantification by gas chromatography.
Key words: higher alcohols, distillates and gas chromatography.

INTRODUCCIÓN

En la fermentación alcohólica son producidos junto con el etanol, muchos compuestos denominados mayoritarios. Entre éstos, algunos de los más importantes resultan 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) (1). En una segunda etapa de destilación las concentraciones de esos compuestos pueden ser controlados en sus intervalos de concentración para que los productos finales clasifiquen como alcoholes o aguardientes (2).

En el proceso de transformación de azúcares en alcohol, elevadas concentraciones de melazas o siropes pueden afectar la supervivencia de levaduras que tienen diferentes tolerancias a las concentraciones de azúcares y de etanol y no pueden realizar la fermentación en tal medio. Los azú-

cares empleados en la fermentación suelen ser: dextrosa, maltosa, sacarosa y lactosa (azúcar de la leche). El número de levaduras es contado en el laboratorio, o en la industria, mediante cámaras de conteo de Neubauer (3).

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

La cuantificación del etanol producido en la fermentación no solamente nos informa sobre la biosíntesis del metabolito primario más importante de esta fermentación, sino también nos permite realizar importantes cálculos que evalúan de forma integral la eficiencia de un sistema: rendimientos en fermentación en base a azúcares suministrados y/o consumidos, índice de consumo de miel y productividad del sistema.

Para evaluaciones que incluyan la fracción aromática, de igual forma los valores de los componentes mayoritarios, deben referirse al grado alcohólico de la fermentación de la cual provienen, pues la generación de estos, está estrechamente relacionada con la síntesis de etanol.

El objetivo de este trabajo es determinar la concentración de alcoholes superiores totales en destilados, tanto a nivel industrial como a nivel de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Detección de alcoholes superiores totales en destilados a nivel industrial

Fueron evaluadas 9 muestras de destilados de destilerías del Grupo Empresarial AZCUBA, procedentes de diversas regiones del país (tabla 1), colectadas en la campaña 2014-2015. Estas muestras procedieron de destilerías con diferentes esquemas tecnológicos, en cuanto a importantes parámetros operacionales en el área de fermentación (disponibilidad de sistemas de enfriamiento, capacidades instaladas para la propagación desde el laboratorio, volumen efectivo de operación en la sala de fermentadores, así como el tipo de materia prima que procesan durante la campaña (jugo de filtros, miel B, miel final o mezcla de estos sustratos).

Estos fermentados fueron destilados según el procedimiento descrito en la norma para grado alcohólico (5) determinando así su grado alcohólico por densimetría digital y alcoholes superiores por el método cromatográfico descrito.

Detección de alcoholes superiores en destilados obtenidos a nivel de laboratorio

Fueron analizados fermentados a nivel de laboratorio (300 mL) realizados según metodología de Fundora (6), formuladas con 4 mieles tributarias de la Destilería “Paraíso” colectadas en la campaña 2014-2015. Las muestras fueron identificadas como I, II, III y IV, de acuerdo con el ingenio de procedencia de las mieles tributarias.

Estos fermentados fueron igualmente destilados, según el procedimiento descrito en la norma para grado alcohólico (5) y se determinó así su grado alcohólico, por densimetría digital y, alcoholes superiores, por el método cromatográfico descrito.

Método cromatográfico

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 µm espesor de película) con detector de llama (FID) y equipado con inyector automático. El gas portador que se usó fue el hidrógeno 128 kPa; el volumen

Tabla 1. Fermentados a partir de fermentadores finales de destilerías. Grupo empresarial AZCUBA. Campaña 2014-2015

Muestras	Destilería/Provincia	Descripción tecnológica. Área fermentación			
		Enfriamiento	Propagación*	Materia prima	Volumen operacional
HDu	UEB Heriberto Duquesne / Villa Clara	Presente	Ausente	Jugos de filtro, mezcla mieles B y final	101 m^3
MH1	UEB M. Hernández / Sancti Spíritus	Presente	Presente	Miel final	258 m^3
MH2	UEB M. Hernández / Sancti Spíritus	Presente	Presente	Miel final	258 m^3
MH3	UEB M. Hernández / Sancti Spíritus	Presente	Presente	Miel final	258 m^3
MH4	UEB M. Hernández / Sancti Spíritus	Presente	Presente	Miel final	258 m^3
HMo	UEB H. Molina / Mayabeque	Ausente	Ausente	Miel B	179 m^3
JRa	UEB J. Rabí / Matanzas	Ausente	Ausente	Miel final	131 m^3
ACo	UEB A. Colina / Granma	Presente	Presente	Miel B	180 m^3
AGu	UEB A. Guiteras / Las Tunas	Ausente	Presente	Miel final	210 m^3

* Posean o no capacidades instaladas para la propagación de levaduras a partir de laboratorio con cepas seleccionadas (Presente), o en su defecto (Ausente) propagan a partir de levaduras secas activas comerciales.

de inyección fue de 1µl Split 1:25 y las temperaturas de la columna: 40 °C por 10 min 40 °C a 70 °C a 5 °C/min, del inyector150 °C y del detector 250 °C.

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, EE.UU, 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 (7).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Alcoholes superiores en destilados industriales

La técnica desarrollada por cromatografía de gases fue aplicada a destilados industriales, colectados en 9 destilerías del sistema AZCUBA, durante la campaña 2014-2015. En la figura 1, de manera representativa, se muestran los cromatogramas superpuestos de dos de los destilados, en los que se pudieron identificar los compuestos presentes, mediante su comparación con los identificados en los cromatogramas de cada una de las concentraciones de la curva patrón elaborada.

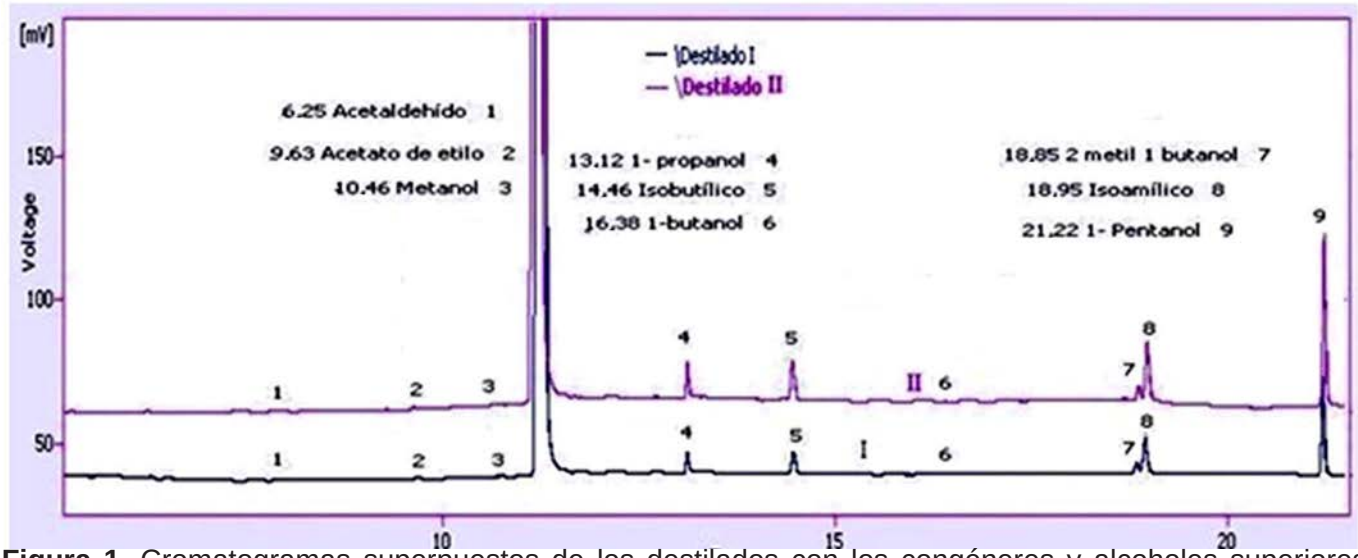

Figura 1. Cromatogramas superpuestos de los destilados con los congéneres y alcoholes superiores identificados, incluyendo los tiempos de retención.

También se pudieron cuantificar cada uno de estos compuestos, mediante el método del estándar interno, que tiene como ventaja que compensa las pequeñas variaciones que se producen en la respuesta cromatográfica, durante la realización de los experimentos y ambos (patrón y componente) sufren las mismas desviaciones en la misma extensión, este método considera la diferencia que existe entre las respuestas específicas de cada componente. La tabla 2 refleja la cuantificación de componentes volátiles mayoritarios en los 9 destilados industriales, obtenidos por destilación simple de fermentados.

Tabla 2. Componentes volátiles mayoritarios en muestras de destilados industriales. detectados mediante cromatografía de gases expresados en g/100 L AA

Destilerías	acetal-dehído	acetato de etilo	Meta-nol	1-pro-panol	2-metil-1-propa-nol	2-metil 1-butanol	3-metil-1-butanol	CT	AST
H. Duquesne	4.9	19.3	3.0	46.2	69.1	52.0	296.5	492.8	463.8
M. Hernández	17.2	14.3	2.0	79.2	109.6	71.3	293.8	590.2	553.9
H. Molina	14.6	16.0	0.7	60.3	180.8	79.6	355.8	707.7	676.5
J. Rabí	5.1	16.0	1.9	58.4	62.6	33.8	209.4	387.2	364.2
A. Colina	6.8	12.6	0.1	41.6	79.3	48.1	272.5	461.0	441.5
A. Guiteras	15.9	36.6	12.1	91.1	80.2	36.1	169.8	441.8	377.1
M. Hernández (2015)	6.1	33.2	1.3	107.8	60.5	43.2	209.1	461.2	420.6
M. Hernández 2015 sulfato F4 grado 4.9	15.6	9.1	2.0	43.7	56.6	40.0	152.1	319.1	292.4
M. Hernández 2015 sulfato F6 grado 4.8	5.9	5.3	3.6	40.5	54.6	33.6	136.4	279.9	265.0

Leyenda: AST (alcoholes superiores totales: suma de1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil 1-butanol y 3-metil-1-butanol). CT (congéneres totales: suma de todos los componentes).

Alcoholes superiores en destilados obtenidos a nivel de laboratorio

La fracción de alcoholes superiores totales (AST) representó en estos destilados un 93 % de la totalidad de componentes volátiles mayoritarios cuantificados.

La contribución porcentual individual dentro de la totalidad de congéneres detectados se refleja en la figura 2,en la que se grafican los valores promedio obtenidos para cada componente mayoritario.

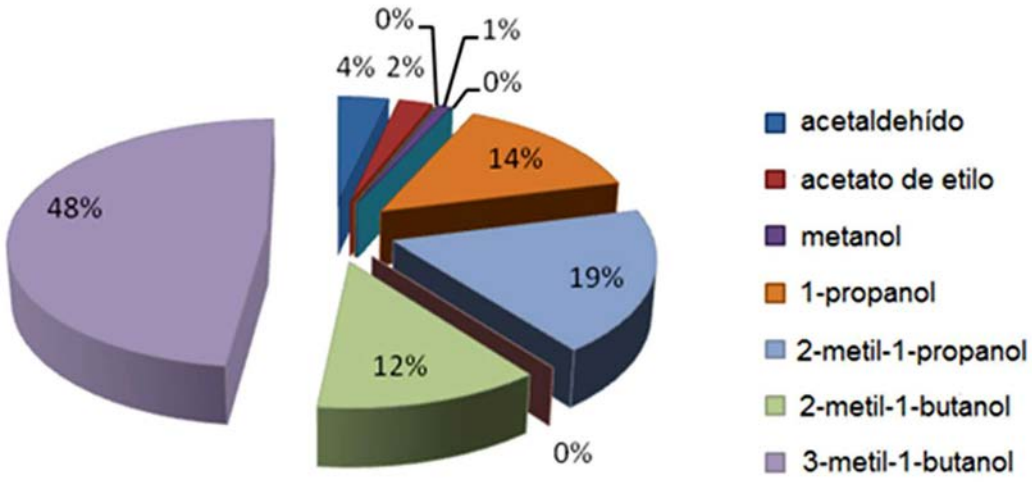

Figura 2. Contribución porcentual de congéneres dentro de la fracción aromática, determinada por cromatografía de gases en los destilados.

Pudieron considerarse representativos los aportes de los alcoholes 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, 1-propanol y 2-metil-1-butanol (en orden descendiente de contribución) y resultó significativo el aporte del 3-metil-1-butanol, que representó cerca del 50 % de la contribución en la fracción aromática, hecho que fija su incidencia sobre la determinación de alcoholes superiores totales.

Aunque los alcoholes 1-propanol y 2-metil-1-butanol se detectaron en una menor cuantía en los destilados industriales, se consideraron representativos dentro de la fracción (>10 %). Los compuestos acetal, 2-butanol y 1-butanol que se presentan en la curva patrón no fueron detectados bajo las condiciones cromatográficas que establece el análisis.

Teniendo en cuenta la composición mayoritaria de la fracción de alcoholes superiores sobre los congéneres totales (figura 2), se muestran solo los resultados para estos componentes, al ser evaluados los fermentados a nivel de laboratorio, por cromatografía gaseosa.

El experimento demostró que la miel tributaria puede ser un factor que incida sobre la formación de los alcoholes superiores totales determinados cromatográficamente (AST): sumatoria de alcoholes 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, 1-propanol y 2-metil-1-butanol. Se detectaron tres grupos de homología para (AST), entre las mieles ensayadas: destacó la miel I, como la de menor síntesis (217.23 g/100 L AA) y las mieles III y IV con concentraciones significativamente mayores (por encima de 350.00 g/100 L AA).

Al particularizar sobre la contribución individual de los alcoholes fusel en esta sumatoria (AST); resultó que, de forma proporcionada, la miel I mostró valores significativamente menores para cada uno de los compuestos contribuyentes, con respecto a las otras 3 mieles evaluadas (figura 3), contrastando con que la miel III propició una mayor formación de cada uno de los alcoholes superiores cuantificados.

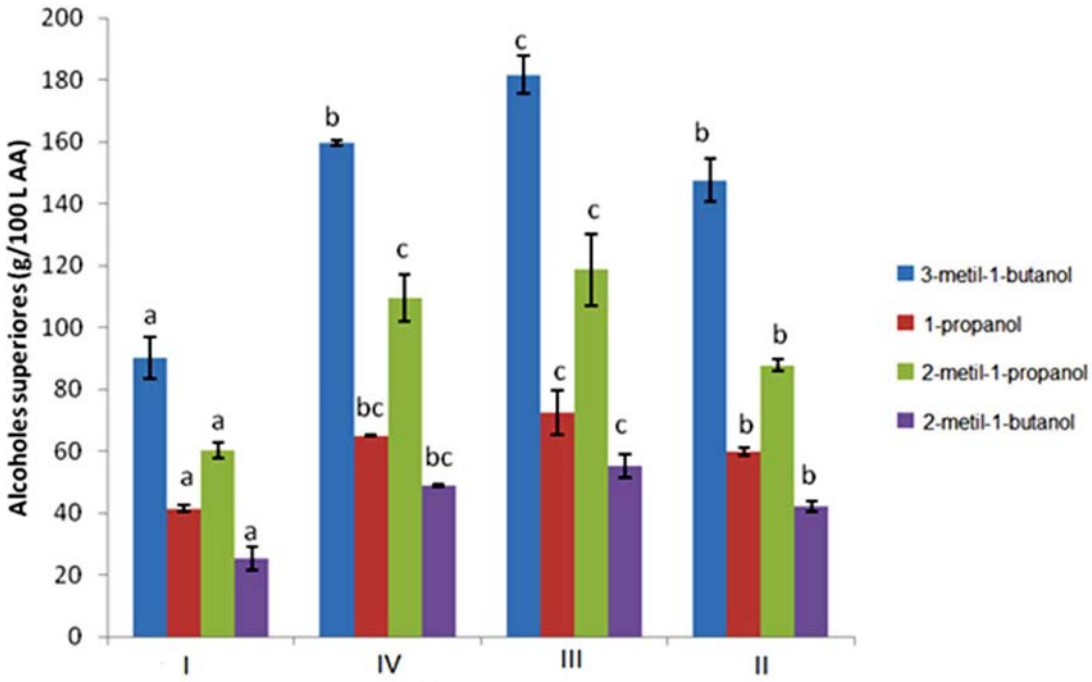

Figura 3. Contribución de alcoholes fusel mayoritarios en la fracción de alcoholes superiores totales, en fermentaciones a nivel de laboratorio con 4 mieles tributarias a Destilería M. Hernández. Letras diferentes denotan diferencias significativas.

Tanto el 1-propanol como el 2-metil-1-butanol mostraron idénticos patrones para las cuatro mieles, en cuanto a los grupos de homología, de acuerdo con el análisis estadístico realizado. La composición porcentual de estos alcoholes, detectada en fermentaciones a menor escala, se correspondió con el patrón observado a nivel industrial en destilerías del Grupo Empresarial AZCUBA.

Estos resultados, en cuanto a la fracción de alcoholes fusel en la composición de destilados a nivel de laboratorio, evidenciaron la sensibilidad y precisión de la técnica cromatográfica para la detección del perfil de síntesis de alcoholes superiores en este tipo de matrices.

Debemos comentar que las fábricas que producen aguardiente para formulación de rones, como por ejemplo la Destilería M. Hernández, a la cual tributan estas mieles, poseen un esquema productivo que evalúa, de forma preliminar, los vinos fermentados al terminar cada fermentador y solo se destina**n** a la columna de destilación para aguardiente los fermentados que cumplan con los requisitos normados.

La cuantificación por cromatografía gaseosa del alcohol 1-propanol posee un importante valor analítico teniendo en cuenta que llegó a representar aproximadamente un 14 % de la fracción de congéneres totales en los destilados (figura 2).

Conocer la concentración del 1-propanol es determinante dentro de los parámetros de calidad para aguardientes cubanos, según la Resolución del MINAL No. 135/01 (8), que señala dentro de los requisitos tecnológicos para los destilados de fermentados de jugos y mieles finales obtenidas, a partir de la producción de azúcar de caña cultivada y procesada en Cuba, que la relación entre alcoholes superiores debe comportarse según:

3-metil-1-butanol < 2.5 (2-metil-1-propanol + 1-propanol)

En cuanto al cumplimiento de esta premisa, las 4 mieles tributarias mantuvieron este criterio para el perfil aromático, que solo puede dilucidarse a través de técnicas cromatográficas.

CONCLUSIONES

- Los alcoholes 1-propanol y 2-metil-1-butanol se detectaron en una menor cuantía en los destilados industriales pero se consideraron representativos dentro de la fracción (>10 %), de ahí la necesidad de su cuantificación empleando la cromatografía gaseosa.
- El experimento demostró que la miel tributaria puede ser un factor que incida significativamente sobre la formación de los alcoholes superiores en la fracción aromática de los destilados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Estévez, R., ed. 2014b. Manual Tecnológico Industria Alcoholera Cubana. Vol.: 7 Fermentación. La Habana, Cuba: ICIDCA.pp.40.
2. Estévez, R. 2015. Análisis y evaluación del indices de eficiencia en destilerías Plan 2015. ICIDCA.La Habana, Cuba.
3. Alexander, W.G., *et.al.*2016. Efficient engineering of marker-free synthetic allotetraploids of Saccharomyces. Fungal Genet Biol:pp.10-17doi:10.1016/j.fgb.2015.11.002.Epub 2015 Nov 7.PMID:26555931. 08/02/16.
4. Scott, D. 2012. Diseño de modelos de calibración multivariada para la determinación de metanol en rones cubanos a partir de Espectroscopia UV- visible Ingenieril, Inganiería Química, Instituto Superior Politécnico Jose Antonio Echeverría.Ingeniero Químico.pp.93.
5. NC-790. 2010. Bebidas alcohólicas determinación del grado alcohólico — métodos de referencia: 1- grado alcohólico por picnometría y 2- grado alcohólico por densimetría digital. Oficina Nacional de Normalización. pp. 1-11.
6. Fundora, N., *et. al*. 2005.Identificación y caracterización fermentativa de cepas de levadura aisladas en la Destilería “A. Guiteras”.Revista ICIDCA.La Habana, Cuba.Vol.: 2.pp.46-50.
7. NC-ISO/IEC3696. 2004. Agua para uso en análisis de laboratorio-Especificación y método de ensayo.Oficina Nacional de Normalización.pp.1-12.
8. MINAL. 2001. Resolución 135 Aguardiente. MINAL.La Habana, Cuba.Vol.:2.Alimenticia.