

ARTICULO ORIGINAL

Concentración de metanol en caña paraguaya en muestras remitidas al Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología, durante el período 2007-2010 provenientes de 3 departamentos y el municipio Capital**Methanol concentration in Paraguayan *caña* in samples remitted to the National Institute of Technology, Standardization and Metrology, during the 2007-2010 period from three departments and the capital*****Aguayo T, Villagra V**

Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN). Asunción-Paraguay

RESUMEN

La caña paraguaya es la bebida alcohólica tradicional del Paraguay, con graduación alcohólica de 35%(mínimo) a 45%(máximo) en volumen a 20 °C (o 35° a 45° Gay Lussac) preparada exclusivamente por fermentación de la melaza de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y obtenida a partir de su destilado con posterior dilución. De acuerdo a la Norma paraguaya de caña NP 3 001 84 (Junio /2010 Tercera Edición), la caña paraguaya debe tener ciertas características de conformidad para su consumo en humanos. Existen compuestos volátiles con acciones tóxicas y/o organolépticas con parámetros mínimos y máximos de aceptabilidad, entre los que se encuentra el metanol, cuya concentración máxima permitida es de 10 mg% expresada en alcohol anhidro (equivalente a 10 mg /dL). Con el propósito de contribuir al control de calidad de la caña paraguaya, en este estudio se cuantificó metanol en muestras de la citada bebida. Se identificaron los distritos con mayor concentración de metanol en caña en 3 departamentos de nuestro país (Central, Cordillera y Paraguairí) y en el municipio Capital. El metanol fue cuantificado por cromatografía gaseosa en los Laboratorios del Organismo de Investigación y Asistencia Tecnológica (OIAT) del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN). El promedio de metanol en caña fue de 3,78 mg/dL (Desviación estándar: 5,80 n: 48) hallándose valores fuera de lo permitido en 6 de 48 cañas provenientes de distritos del departamento de Cordillera y de municipio Capital. Deben analizarse la toxicidad de otros compuestos de la caña paraguaya para asegurar su inocuidad.

Palabras claves: metanol, caña paraguaya, cromatografía gaseosa.**ABSTRACT**

The Paraguayan *caña* is the traditional alcoholic beverage of Paraguay and has an alcohol content of 35% (minimum) to 45% (maximum) by volume at 20 °C (35° to 45° Gay Lussac grades). It is prepared exclusively by the fermentation of sugar molasses (*Saccharum officinarum*) and obtained from the distillate with subsequent dilution. According to the Paraguayan Standard of caña NP 3001 84 (June/2010 Third Edition), the Paraguayan *caña* must have certain characteristics for human consumption. The spirit contains several volatile compounds with toxic and/or organoleptic actions with minimum and maximum parameters of acceptability. Among them, methanol has an allowed

*Autor Correspondiente: **Dra. Tania Aguayo**, Laboratorio de Micotoxinas y Plaguicidas del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. Avda. Artigas 3973 y Gral. Roa. Asunción-Paraguay. Email: taguayo@intn.gov.py. Fecha de recepción: mayo de 2011, Fecha de aceptación: noviembre de 2011

maximum concentration of 10 mg%, expressed in anhydrous alcohol (equivalent to 10 mg/dL). In order to contribute to the quality control of the Paraguayan *caña*, this study quantified methanol in samples of the beverage. The districts with the highest concentration of methanol in the *caña* in three departments of our country (Central, Cordillera and Paraguari) and in the capital were identified. Methanol content was quantified by gas chromatography in the Laboratories of the Research and Technological Assistance Organism (OIAT in Spanish) of the National Institute of Technology, Standardization and Metrology (INTN in Spanish). The mean methanol content was 3.78 mg%(mg/dL) (SD:5.80 n: 48) and 6 out of 48 samples showed values over the maximum allowed value in districts from Cordillera and the capital. Other compounds of the Paraguayan *caña* must be quantified to evaluate the toxicity and ensure their safety and quality.

Keywords: methanol, paraguayan *caña*, gas chromatography.

INTRODUCCION

La *caña* paraguaya es la bebida alcohólica tradicional del Paraguay, con graduación alcohólica de 35% a 45% en volumen a 20 °C, preparada exclusivamente de la melaza de *caña* de azúcar (*Saccharum officinarum*) y obtenida a partir de su destilado con posterior dilución en agua. La graduación alcohólica del destilado debe estar comprendida entre 68% y 72% en volumen a 20 °C (1,2). Se llama *caña* paraguaya añejada a la bebida alcohólica tradicional del Paraguay de graduación alcohólica entre 35% y 45% en volumen a 20 °C obtenida a partir del destilado alcohólico preparado exclusivamente de la melaza de *caña* de azúcar con graduación alcohólica del destilado comprendida entre 68% y 72% en volumen a 20 °C y añejada durante no menos de 1 año en recipientes de roble (*Quercus* sp), madera paraguaya o similar apropiada, de capacidad no superior a 700 litros, usualmente con agregado de caramelo para corrección del color (3).

La *caña* paraguaya está compuesta principalmente por agua y etanol en proporciones variables, y de componentes secundarios que confieren a la bebida sus características peculiares de aroma y sabor, como ácidos orgánicos, aldehídos, ésteres, alcoholes superiores, alcoholes propílico, isobutílico, amílico e isoamílico y metanol, entre otros compuestos (4-7). El conocimiento de los componentes químicos de la *caña* paraguaya tuvo un aporte significativo, a partir del trabajo realizado por Velázquez y Martínez en la Facultad de Ciencias Químicas en 1994 (7) y es una cuestión de importancia, no solo para los fabricantes y/o organismos certificadores como el Organismo Nacional de Normalización y Certificación (ONNC) que forma parte del Instituto Nacional de Tecnología y Normalización y Metrología (INTN), sino para la comunidad científica debido a la complejidad química de la matriz y el nivel muy bajo de concentración de analitos(6).

La producción de *caña* como bebida es estimada en 30 millones de litros por año (8) y el consumo está ampliamente distribuido en todo el país. La mayor área de cultivo de la *caña* de azúcar se ve en los Departamentos de Guairá, Caaguazú y Cordillera seguidos por Paraguari, Central y Caazapá (9).

Según un estudio periodístico con datos de la Cámara Paraguaya de Fabricantes de Cerveza (CAPAFACE) y Centro de Industriales de *Caña* (CICAL) los paraguayos toman más bebidas alcohólicas que leche (8). El contenido de alcohol varía de 4% a 9% en las cervezas, el vino tiene en promedio 12%, y las *cañas* llegan al 50%. De acuerdo a datos del Banco Central del Paraguay del año 2009, las bebidas y tabacos de producción nacional se consumen 6 veces más que los lácteos (10). Esto indica que el consumo de bebidas alcohólicas, entre los que se encuentra la *caña*, es masivo en todo el territorio nacional y es prioritario controlar su calidad para evitar problemas de salud pública.

La *caña* se obtiene por destilación de diversos productos fermentados de la *caña* de azúcar (*Saccharum officinarum*). Luego de la cosecha, las desmenuzadoras quiebran y

aplastan la caña con el subsiguiente rompimiento de las estructuras fibrosas y células extrayéndose una gran parte del zumo. Luego se realiza el estrujado obteniéndose el mosto que es filtrado y concentrado a fuego directo en pailas abiertas a una temperatura que alcanza 106°C hasta conseguir un estado de melaza (4,11) Esta melaza, que contiene alrededor de un 5% de azúcar, es fermentada y destilada obteniéndose así la caña blanca. El azúcar que se encuentra en la melaza, hace que la caña conserve el sabor original del material crudo. En la fermentación alcohólica, las enzimas de las levaduras (*Sacharomyces cerevisiae*) transforman la glucosa en alcohol. Los caracteres organolépticos describen a la caña paraguaya como un líquido de aspecto límpido y cristalino, incoloro o débilmente amarillo ámbar con sabor y olor característicos (1).

La Norma Paraguaya de caña establece los requisitos de identidad y calidad de la bebida alcohólica destilada denominada "Caña Paraguaya" NP 3 001 84 (Junio /2010, Tercera Edición) que debe tener ciertas características de conformidad para su consumo en humanos (1,3). Existen compuestos volátiles con acciones tóxicas y/o organolépticas con parámetros mínimos y máximos de aceptabilidad. Esta norma establece requisitos de calidad e identidad que son usualmente investigados en bebidas alcohólicas provenientes de la caña de azúcar como ser acidez volátil, expresada en ácido acético, ésteres totales expresados en acetato de etilo, aldehídos totales expresados en acetaldehído, suma de alcoholes superiores expresados en alcohol isobutilico, furfural, y metanol, entre otros compuestos (3,4,7). En este contexto la concentración máxima permitida de metanol es de 10 mg % (mg/dL) de acuerdo a la recientemente aprobada Norma Paraguaya NP 3001 84 (Junio/2010, Tercera Edición) (3) siendo anteriormente el límite máximo permitido de 200 mg/dL expresado en alcohol anhidro (1). En otros países limítrofes el límite máximo en bebidas destiladas de caña de azúcar es de 20 mg en 100 mL de alcohol anhidro, y hasta 200 mg% (2,12,13). El metanol es un líquido incoloro y volátil a temperatura ambiente. Su uso es muy habitual en la industria, laboratorios y en el propio hogar como alcohol de quemar o formando parte de productos comerciales. Además, existe un uso fraudulento de esta sustancia como sustituto del etanol en bebidas alcohólicas fabricadas clandestinamente (12,14). En este contexto, en diciembre de 2006 se registraron casos graves de intoxicación por bebidas alcohólicas no identificadas, en localidades del Dpto. de Cordillera de acuerdo al Boletín Epidemiológico del MSP y BS. Estas muestras fueron confiscadas por el Ministerio Público y remitidas para su análisis al MSP y BS (Instituto Nacional de Alimentos y Nutrición "INAN") y al INTN. Se constató en las muestras que el nivel de metanol cuantificado era muy superior a los valores permitidos y cercano a 40.000 mg% (14). Los síntomas y signos de la intoxicación por vía oral generalmente afectan al SNC, tracto gastrointestinal, ojos y en casos graves pueden aparecer convulsiones, coma y edema cerebral, pérdida de visión y ceguera irreversible por atrofia del nervio óptico, siendo este ultimo el criterio clínico del diagnóstico de intoxicación grave por metanol (15).

La dosis mínima letal se considera que es de 30 mL de metanol puro, aunque en la bibliografía se barajan cifras muy dispares en relación con la dosis tóxica que produce ceguera y/o es mortal, existiendo una gran variabilidad interindividual a este respecto. El pronóstico mejora si la dosis ingerida ha sido fraccionada en el tiempo, si de forma simultánea se ha ingerido alcohol etílico o si se aplica tempranamente el tratamiento adecuado. Independientemente de cuál sea la dosis letal, la mortalidad por metanol es muy alta (hasta un 50%) (14,15).

El nivel "seguro" de metanol en sangre es de 5 mg/dL. Este nivel puede ser alcanzado en un adulto de 70 kg de peso al ingerir 1.950 mg de metanol (16).

El metanol es metabolizado por la enzima alcohol-deshidrogenasa a formaldehído y subsecuentemente por la enzima aldehído-deshidrogenasa a ácido fórmico. Estos metabolitos causan acidosis metabólica, ceguera, inestabilidad cardiovascular y muerte, atribuidas a la toxicidad del metanol (17,18).

El metanol no proviene del metabolismo de levaduras (*Sacharomyces cerevisiae*), sino de la actividad de las enzimas pécticas que descomponen la pectina, polisacárido del bagazo que puede estar presente en el caldo debido a fallas del proceso de prensa o filtrado (9). La presencia de metanol no es deseable en la bebida alcohólica, por las características de toxicidad, incluso a bajas concentraciones (5). Además, puede haber contaminación post-fermentación y destilación por su conservación en recipientes de envase inadecuados o por su agregado como sustituto del etanol en bebidas alcohólicas fabricadas clandestinamente (14). Con respecto a los envases que contienen esta bebida, en un estudio (19) realizado por la Universidad Federal de San Carlos en San Pablo, Brasil, se analizaron muestras de aguardiente de caña (cachaza brasileña, similar a la caña paraguaya) cada tres meses durante un período de tres años. Se cuantificaron alcoholes, acetaldehído, acetato de etilo, polifenoles, metanol, n-butílico, n-propílico, isobutílico, isoamílico, y acidez. Estos componentes (excepto el alcohol n butílico) variaron su concentración a través del tiempo en la caña almacenada en recipientes de roble, y en recipientes de vidrio mantuvieron su concentración a través del tiempo con excepción del acetato de etilo. En este estudio ninguno de los componentes sobrepasó el límite máximo permitido por la legislación brasileña, (13,19).

En nuestro país el consumo de la caña paraguaya es elevado, y en general el de las bebidas alcohólicas es mayor que el de leche, constituyéndose esto en un problema de salud pública por los riesgos que causa en la salud y el elevado aumento de accidentes de tránsito por conducir alcoholizado (6,7). Con el propósito de contribuir al control de calidad de la caña paraguaya, este estudio se realizó para conocer el contenido promedio de metanol en muestras de la citada bebida e identificar la procedencia de aquellas con niveles de metanol por encima de lo permitido de acuerdo a la Norma Paraguaya (3) en 3 Departamentos de nuestro país- Central, Cordillera y Paraguarí- en los cuales existen las zonas de mayor cultivo de caña de azúcar y elaboración de la caña, además del municipio Capital por tratarse de una zona de gran comercialización de este producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal. Fueron estudiadas muestras de caña blanca y caña añejada de fabricación nacional que fueron remitidas al INTN, desde el año 2007 al 2010 para su análisis, provenientes de distintos distritos de los Departamentos Central, Cordillera y Paraguarí y del municipio independiente Capital, envasadas en frascos de vidrio o plástico, con marca o a granel sin marca. Se excluyeron las muestras de caña blanca y/o caña añejada no identificadas convenientemente.

El metanol fue cuantificado por cromatografía gaseosa en los laboratorios del Organismo de Investigación y Asistencia Tecnológica (OIAT) del INTN según metodología descrita en un estudio publicado por Alves et al (12).

Se utilizó un cromatógrafo de gases ANTEK 3000 (USA) con detector de ionización en llama (FID). La columna utilizada fue de tipo empacada de 1,83 m de largo por 6,35 mm de diámetro externo y 2 mm de diámetro interno. Se empleó como fase estacionaria 80/120 Carbopack B-AW/5, 0% Carbowax 20 M.7 (Hewlett-Packard, USA). Se utilizó nitrógeno como gas portador, aire sintético e hidrógeno para el detector, todos ellos con pureza de 98,9 a 99,99%. Las condiciones cromatográficas fueron: temperatura inicial 50°C durante 2 min y gradiente 7°C /minuto hasta 165°C, permaneciendo a esta temperatura durante 10 minutos. La temperatura del inyector 170°C, y la del detector 175°C. El flujo de gas portador fue de 1 mL/min, Para la construcción de curvas de calibración se utilizaron diluciones (v/v) de metanol en etanol, ambos con grado cromatográfico (Merck, USA). Para cuantificar los resultados no determinados se usó un cromatógrafo gaseoso con la misma metodología propuesta por Alves et al (12) con columna capilar, cuya sensibilidad es mayor a la de la columna empacada (20). Se empleó un cromatógrafo Agilent Technologies 7890 A con inyector automático y detector

de ionización de llama. La columna capilar utilizada fue HP-INNOWAX 19091N-133. Se utilizó nitrógeno como gas portador, aire sintético e hidrógeno, todos con alta pureza (99,99%). Las condiciones cromatográficas fueron: temperatura inicial 50 °C y gradiente de 10°C por minuto hasta 120°C, permaneciendo a esta temperatura durante 7 minutos. La temperatura del inyector fue de 250°C, la del detector fue de 250 °C. La tasa total de gas portador fue de 14 ml /min. Para la construcción de curvas de calibración se utilizaron como patrones diluciones volumen/volumen de metanol en etanol, grado cromatográfico. El software para análisis de resultados fue Epi Info 2.0.

RESULTADOS

El promedio de metanol en caña paraguaya fue de 3,78 mg%±5,80 (media±desviación estándar), que se encuentra dentro de los límites permitidos de acuerdo a la actual Norma Paraguaya de hasta 10 mg/dL (3). Encontramos valores fuera de los permitidos en 6 de 48 muestras, todas con marca comercial (12,5% del total de muestras) con rango de valores entre 10,06 y 27,55 mg de metanol en 100 ml alcohol anhidro (ver tabla 1). Tres de las muestras con valores fuera de los permitido procedían del Departamento de Cordillera, una de Central y dos del municipio Capital.

Tabla 1. Valores de metanol en caña fuera de lo permitido de acuerdo a los distritos

Distrito/Municipio	Concentración de metanol (mg %)
Caña Blanca	
Caacupé	26,19
Tobatí	18,82
Capital	10,06
Caña Añeja	
San Antonio	27,55
Tobatí	15,14
Capital	12,33
Total	6

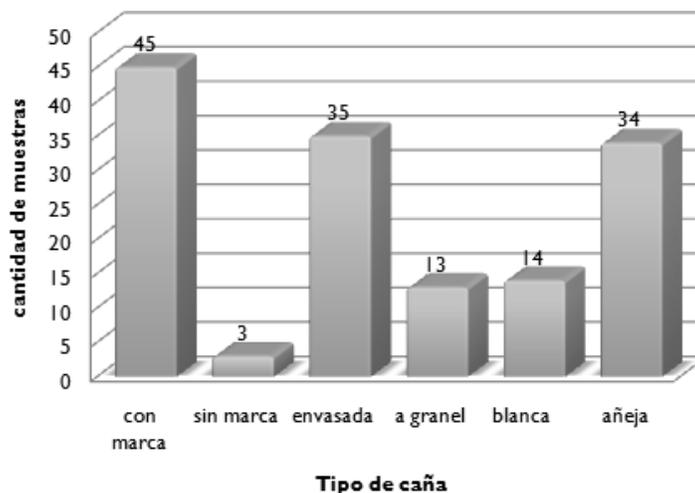


Figura 1. Características de comercialización de las muestras estudiadas

De acuerdo a las características de comercialización, más del 70% de las muestras poseían marca (figura 1) y más del 50% correspondían a cañas añejas. En cuanto a la distribución por distrito, el rango de concentraciones más alto se encontró en el municipio Capital y en Caacupé (figura 2).

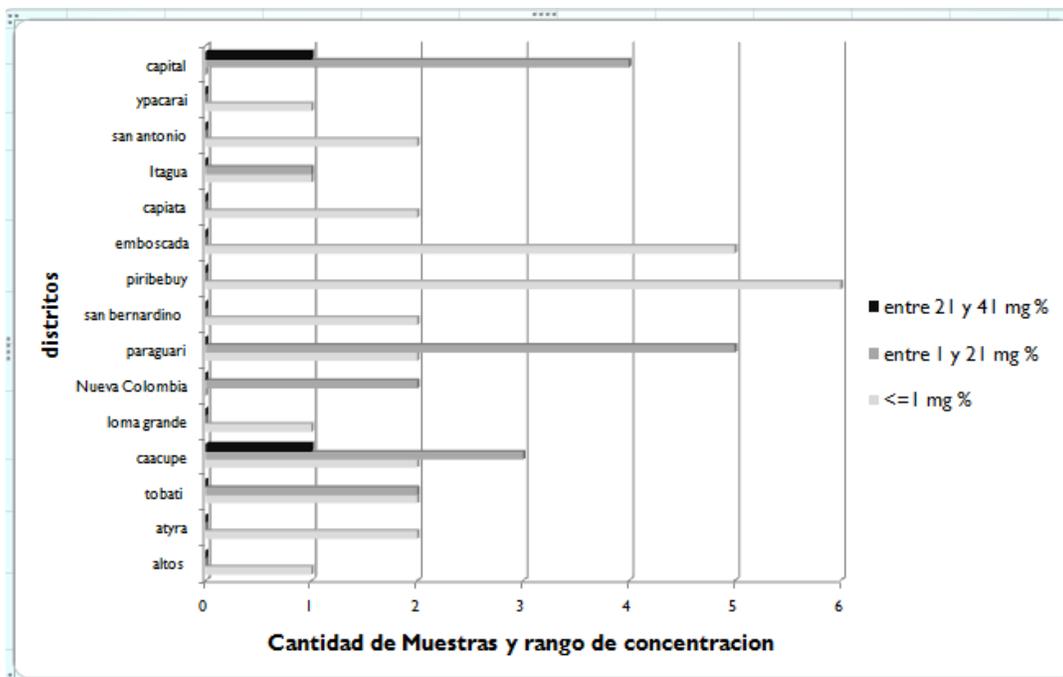


Figura 2. Cantidad de muestras por distrito y rango de concentración de metanol en caña.

Se analizaron más muestras del Departamento de Cordillera, zona en donde se encuentran la mayoría de las fábricas de caña y menos muestras del departamento de Paraguari.

DISCUSIÓN

El límite máximo permitido de metanol en caña paraguaya descrito en la anterior versión de la Norma Paraguaya (1) era de 200 mg% (mg/dL), y se redujo actualmente a 10 mg% (mg/dL) (3). Aunque encontramos muestras conteniendo metanol por encima del valor permitido, estas no sobrepasan el valor anterior, que no está vigente actualmente en nuestro país, pero sí en otros países de la región para bebidas destiladas provenientes de la caña de azúcar (2,23,24).

Aunque no existen estudios similares a nivel nacional, el promedio encontrado de metanol en caña de 3,78 mg% es similar a lo descrito en un estudio realizado de cuantificación de metanol en cachaza, bebida alcohólica de la caña de azúcar, similar a la caña paraguaya (5,6). Cabe destacar que el más importante episodio de intoxicación con bebidas alcohólicas contaminadas con metanol en los últimos 10 años en nuestro país, fue en el Departamento de Cordillera (14) y como puede verse en la figura 1, las muestras con valores más altos se encontraron en los municipios Capital y Caacupé este último del Departamento de Cordillera, aunque no se pudieron analizar muestras en todos los distritos de los departamentos incluidos.

Aunque el consumo de bebidas alcohólicas en nuestro país es alto (8), no se han reportado otros casos por intoxicación por metanol en caña u otra bebida alcohólica, hasta la fecha (14).

En Paraguay, el alcoholismo es una causa de accidentes y mortalidad, lo que constituye un problema de salud pública (6,7). El alcoholismo es la primera toxicomanía en muchos países del mundo (21,22). Afecta a un gran número de individuos, en general adultos, pero también y cada vez más los adolescentes van viéndose afectados, no sólo por procesos de alcoholización sino también por problemas relacionados con los consumos de alcohol, aunque no medie la dependencia (accidentes, problemas familiares, escolares, intoxicaciones graves como la ocurrida en el 2006 en nuestro país) (14).

Se requieren más estudios de los componentes de la caña y otras bebidas alcohólicas provenientes de la caña de azúcar (23), para asegurar la inocuidad en cuanto a niveles tóxicos de otros compuestos y no solo del metanol.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organismo Nacional de Certificación y Normalización del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. (ONNC-INTN) Norma Paraguaya NP 3 001 84-Caña Paraguaya-Especificaciones. 2ª ed.: Asunción: Editado e Impreso en INTN; 2007.
2. ANMAT. Código Alimentario Argentino Capítulo XIV: Bebidas espirituosas, alcoholes, bebidas alcohólicas destiladas y licores. /Monografía en Internet /: ANMAT (Citado 16 de febrero de 2011) Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp.
3. Organismo Nacional de Certificación y Normalización del Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. (ONNC-INTN) Norma Paraguaya NP 3 001 84 -Caña Paraguaya-Requisitos Generales. 3ª ed.: Asunción; Editado e Impreso en INTN; 2010.
4. Masson J, Das Graças Cardoso M, Vilela FJ, Araujo Pimentel F, Ramalho de Moraes A, Pereira dos Anjos J. Parâmetros físico-químicos e cromatográficos em aguardentes de cana queimada e não queimada. Ciênc. agrotec. Lavras (revista en Internet). 2007 (citado 20 de agosto 2011) 31;(6):1805-10. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542007000600030.
5. Bogusz Junior S, Mertins Ketzner DC, Gubert R, Andrades L, Bacarin Gobo A. Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciênc. Tecnol. Aliment. (online). 2006 (citado 16 de agosto 2011); 26(4): 793-8. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000400013.
6. Boscolo M, Bezerra CWB, Cardoso DR, Lima Neto BS, Franco DW. Identification and Dosage by HRGC of Minor Alcohols and Esters in Brazilian Sugar-Cane Spirit. J. Braz. Chem. Soc. 2000; 11 (1): 86-90.
7. Velázquez E, Martínez JC. Hacia el mejoramiento de la calidad de la Caña Paraguaya, Tercera Parte Revista de Ciencia y Tecnología FCQ-UNA. Dirección de Investigaciones-UNA Vol. 1, N°2 2000 Pág. 79-83.
8. Avezada N, Domínguez T. En Paraguay se toman más bebidas alcohólicas que leche. Diario Última Hora. Domingo 7 de diciembre de 2008.
9. IICA Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura: Observatorio. Producción de caña de Azúcar. (Internet). San Lorenzo: IICA. Disponible en <http://www.iica.org.py/observatorio/producto-paraguay-cana-produccion.htm>.
10. Banco Central del Paraguay. Bebidas y tabaco se consumen seis veces más que los lácteos según BCP. Diario ABC Color. Domingo 8 de mayo de 2011: 34.
11. Soratto AN, Varvakis G, ORII J. A certificação agregando valor à cachaça do Brasil. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2007; 27(4): 681-7.
12. Silva PHA, Oliveira Santos de J, Dias Araújo L, Faria FC, Fontes Pereira A, De Oliveira VA, et al. Avaliação cromatográfica de compostos voláteis de cachaças produzidas com leveduras de diferentes procedências. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2009; 29(1): 100-6.
13. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº13, de 30 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça. Diário Oficial da União, Brasília DF 2005 jun 30; Seção 1. Brasil. Manual de Métodos de Análises de Bebidas e V.

14. Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Intoxicación por metanol en la 3ª región Sanitaria de Cordillera. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2006; 48(4):1.
15. Paasma R, Hovda KH, Jacobsen D. Methanol poisoning and long term sequelae- a six years follow-up after a large methanol outbreak. *BMC Clinical Pharmacology*. 2009; 9:5: 1-5.
16. Paine AJ, Dayan AD. Defining a tolerable concentration of methanol in alcoholic drinks. *Hum Exp Toxicol*. 2001; 20: 563-8.
17. Barceloux Dg, Bond GR, Krenzelok EP, Cooper H, Vale JA. American Academy of Clinical Toxicology Ad Hoc Committee on the Treatment Guidelines for Methanol Poisoning. American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2002; 40(4):415-46.
18. Olivier Pascual N, Viéitez Vázquez J, Arbizu Duralde A, Asencio Durán M, Ruiz del Río N. Amaurosis bilateral como secuela de la intoxicación aguda por metanol: a propósito de un caso. *Cuad. Med. Forense (revista en la Internet)*. 2003 Abr (citado 2010 Abr. 05); (32): 43-7. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-76062003000200004.
19. Parazzi C, Arthur CM, Lopes JJC, Borges MTMR. Determination of the main chemical components in Brazilian sugar cane spirit aged in oak (*Quercus* sp.) barrels. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 2008; 28(1): 193-9.
20. Barquero Quiros M. Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases. San José Costa Rica: Editorial UCR, 2006.
21. Roldán J, Frauca C, Dueñas A. Intoxicación por alcoholes. *Anales Sis San Navarra (revista en la Internet)* 2003. (citado 16 de febrero de 2010); 26(supl 1):129-39. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v26s1/siete.pdf>.
22. Inmetro. Portaria nº 126, de 2005. Aprova o Regulamento de avaliação da conformidade da cachaça. DOU, Brasília. Diário Oficial da República federativa do Brasil. 2005 jun 24. (Acceso 14 de Septiembre de 2011). Disponible en: www.inmetro.gov.br/legislacao/rtac/pdf/RTAC000955.pdf.
23. MERCOSUR/GMC/RES Nº77/94. Definições relativas as bebidas alcoólicas. (Acceso 14 de Septiembre de 2011). Disponible en: www.mercosur.int/msweb/Normas/normas../Resoluciones/.../9477.P.