

**Elaboración de una bebida fermentada a base del vástago de maíz (*Zea mays*)****Elaboration of a fermented beverage based on corn stem (*Zea mays*)**

Ibarra-Bravo, E.<sup>1</sup>, Contreras-Morales, A.<sup>1</sup>, Pacheco-Lezama, E.<sup>1</sup>, Sánchez-De los Santos, A. L.<sup>1</sup>, Sánchez-Zamora, E. N.<sup>1</sup>, Serrano-Santiago, E. Y.<sup>1</sup>, Yañez-Sánchez, S- I.<sup>1</sup>, Bravo-Delgado HR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ingeniería en Procesos Bioalimentarios de la Universidad Tecnológica de Tehuacán. Prolongación de la 1 sur No. 1101, San Pablo Tepetzingo C.P. 75859, Tehuacán, Puebla, México. \*rafael.bravo@uttehuacan.edu.mx

**RESUMEN**

La industria productora de maíz (*Zea mays*) genera grandes cantidades de residuos, los cuales corresponden principalmente a hojas, tallos y raíces, descendientes de un vástago principal sobre el cual se rige el desarrollo de la plántula. En dichos subproductos de la cosecha, el tallo principal de la planta, presenta capas que almacenan reservas alimenticias, en especial azúcares, que pueden ser transformados añadiendo un valor agregado. En el presente trabajo se elaboró una bebida alcohólica fermentada a base del tallo del maíz. Las formulaciones se desarrollaron mediante un diseño factorial  $2^k$  teniendo como factores el sustrato (g) y la concentración de levadura (g/L, *Saccharomyces cerevisiae*, Red Start<sup>®</sup>). El mejor tratamiento en el cual se utilizó 34 °Brix y 2.5 g/L de levadura. Se escaló a un bioreactor de 10 L de capacidad y se realizó una cinética de fermentación midiendo cada 6 h por un periodo de 72 h azúcares reductores, °Brix, etanol, densidad, acidez, pH, biomasa y cuantificación de acetaldehídos. Se obtuvo un producto con contenido de etanol de 23.8%, que de acuerdo a la NOM-142-SSA1/SCFI-2014 se encuentra bajo la clasificación como bebida de contenido alcohólico alto.

**Palabras clave:** Fermentación, residuo, vástago, tallos de maíz.

**Abstract**

The producing industry of maize (*Zea mays*) generates large amounts of waste, which mainly correspond to leaves, stems and roots descendants of the main offspring of the plantule development. In such crop by-products, the main stem of the plant presents layers that store food reserves, especially sugars, that can be transformed into a food grade product providing an added value. The aim of this research was to elaborate a fermented alcoholic beverage based on corn stalk. The development of the formulation of the beverage, involved an experimental design considering two factors: the substrate (g) and Brix degrees. *Saccharomyces cerevisiae* yeast was used (Red Start<sup>®</sup>) as a catalyst and depleted sugars were determined using DNS solution by spectrophotometric method. Likewise, an ethanol quantification was made by colorimetric method with potassium dichromate where the results achieved showed the most favorable concentration for the production of the final beverage. The finished product is classified by the NOM-142-SSA1/SCFI-2014 in which accordance to the containing ethanol of 23.8%, it is classified as a high alcohol beverage.

**Key words:** Fermentation, waste, stems of maize.

---

1\* Autor responsable

Recibido: Mayo 2019. Aceptado: Agosto 2019

Publicado como ARTÍCULO en la Revista Tecnológica Agrobioalimentaria 3(1): 49-58, 2019, ISSN 2395-8332

## I. INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento de los recursos naturales ha sido fuente de inspiración para la elaboración de bebidas alcohólicas. Las bebidas alcohólicas se producen a partir de diversas materias primas, pero especialmente a partir de cereales, frutas y productos azucarados (Ramirez, 1891).

Todo líquido azucarado sufre esta fermentación de manera espontánea debido a la acción de las levaduras que, en ausencia de aire, destruyen la glucosa y otros azúcares produciendo dióxido de carbono y etanol (Casado, 2001).

Las Gramíneas o actualmente denominadas poáceas, forman una de las familias más numerosas, con 700 géneros y cerca de 10.000 especies descritas en todo el mundo (Jewsbury G., 2017).

El cuerpo vegetativo de las plantas superiores terrestres, donde hay tejidos y órganos diferenciados se denomina cormo. El cormo está constituido por la raíz y el vástago, unidos por el cuello. La raíz es el órgano de fijación, absorción, conducción y almacenamiento de sustancias. El vástago está formado por el tallo y las hojas (Dimitri, 1985).

El vástago es delgado, cilíndrico, excepto en la parte inferior en que puede ser ligeramente prismático con abundantes cicatrices de las hojas (León J., 1968).

El tallo de las Gramíneas está formado por nudos y entrenudos o internodios. A este tallo se le denomina caña. Los entrenudos pueden ser, de acuerdo a la sección, cilíndricos como en los cereales o comprimidos como en muchos pastos. Por su consistencia, pueden ser herbáceas (cereales y forrajera), subleñosos: (caña de castilla) o leñosos (tribu Bambúceas). (Jewsbury, 2017).

En la mayoría de las especies son huecos, pero puede haber macizos como en la “caña de azúcar”, “sorgo”, “maíz” (Jewsbury, 2017).

El maíz, *Zea mays*, es una especie monocotiledónea anual, perteneciente a la familia de las poáceas (gramíneas). Los tallos de maíz se utilizan en la elaboración de forrajes (Lopatinsky, 2008).

Es importante a nivel industrial, ya que su uso es amplio para la producción alimentaria, cuenta con una diversidad de productos de los más comunes son aceite, harina, jarabes y bebidas fermentadas artesanales (Werner, 2007).

El material lignocelulósico consiste en residuos de productos de la agricultura; luego de cosechar un cierto cultivo quedan rastrojos sobre la superficie compuestos de hojas, tallos y raíces (Jiménez *et al.*, 2006).

El vástago de maíz tiene un contenido de 53.2% de carbohidratos en base seca (Di Marco y Aello, 2001), lo cual permite su utilización para la realización de una bebida alcohólica, ofreciendo a los agricultores una forma distinta de utilizar el vástago de maíz que en su mayoría es ofrecido como consumo animal, o en su defecto, es desechado.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### *Diseño experimental*

Se aplicó la metodología de Superficie de Respuesta (RSM), para obtener la formulación óptima del proceso de fermentado del vástago de maíz, aplicando el criterio de selección la mayor producción de etanol y mayor cantidad de azúcares consumidos. En la tabla a se muestran los factores y niveles utilizados en el proceso. El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza por la prueba de TUKEY ( $P < 0.05$ ), con la ayuda del programa estadístico Minitab®17.

**Tabla 1.** Diseño experimental para la selección del mejor tratamiento en la fermentación del vástago de maíz.

Núm. De experimento	°Brix	Inóculo g/L
1	5.85	2.5
2	20	2.5
3	20	2.5
4	30	4
5	30	4
6	20	2.5
7	10	4
8	30	1
9	34.14	2.5
10	20	4.62
11	20	2.5
12	5.85	2.5
13	20	0.37
14	20	2.5
15	20	2.5
16	20	2.5
17	10	1
18	20	0.37
19	20	4.62
20	10	4
21	34.14	2.5
22	20	2.5
23	20	2.5
24	10	1
25	30	1
26	20	2.5

*Proceso de fermentación*

En la figura 1, se muestran las operaciones unitarias a las que se sometieron los tratamientos. La fermentación se realizó en un biorreactor de 10 L de capacidad en condiciones anaerobias, en el cual se mantuvo la temperatura a 25 °C y agitación a 100 rpm cada 6 horas durante 72 horas.

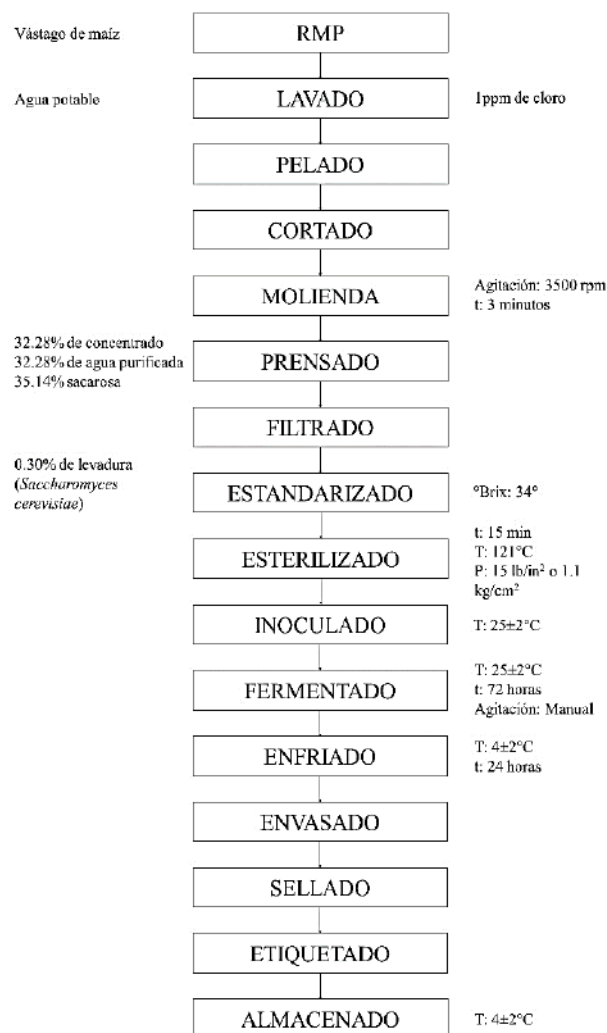


Figura 1. Diagrama de bloques del proceso de fermentación.

*Clarificación de la muestra*

De las muestras fermentadas se tomaron aproximadamente 30 mL, se filtraron en una bureta de 50 mL empacada con carbón activado, y se centrifugaron a 3500 rpm por 5 min en una centrifuga (Hernle Labnet modelo Z 326). Se trabajó con el sobrenadante con el fin de que no altere el color de las muestras en las determinaciones.

### *Determinación de azúcares reductores por el método DNS (Ácido- 3,5-dinitro salicílico)*

Se realizó la determinación de azúcares reductores utilizando el método espectrofotométrico propuesto por Miller (1959). Se preparó el reactivo DNS, disolviendo 0.8 g de NaOH en 10 mL de H<sub>2</sub>O destilada, se agregó 15 g de tartrato de sodio-potasio tetra hidratado y 0.5 g de DNS (ácido-3,5-dinitrosalicílico), se mezcló y se aforó con H<sub>2</sub>O destilada en un matraz aforado (Kymax®) de 50 mL y posteriormente se guardó en un frasco ámbar a 4°C para su posterior uso. Se realizó una curva de calibración usando 0.5 mL de un patrón de glucosa al 0.4% (Sigma Aldrich, USA) y 0.5 mL de reactivo DNS, se calentaron a ebullición durante 5 min, los tubos se enfriaron a chorro de agua y se dejaron reposar por 5 min a temperatura ambiente y se agregaron 5 mL de H<sub>2</sub>O a cada tubo. La lectura se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo Genesys 10S uv-vis) a 540 nm.

### *Cuantificación de producción de etanol por el método colorimétrico del dicromato de potasio*

#### *Preparación de soluciones*

De acuerdo con lo descrito por Oviedo *et al.*, (2009), se preparó una solución oxidante la cual consistió en una mezcla formada por 4.165 g de dicromato de potasio y 250 mL de ácido sulfúrico y posteriormente se aforó con agua destilada a 1 L (solución b), se preparó una solución saturada de carbonato de potasio (reactivo grado técnico, solución c). En tubos de ensayo se adicionaron 4 mL de la solución b y 2 mL de la solución c, esto gota a gota hasta que finalizó el burbugeo (solución d).

#### *Cuantificación de etanol*

En tubos de ensayo de 16 mL se agregaron 2 mL de la solución a (muestra clarificada) y 2 mL de la solución d, se calentaron en baño María a

temperatura entre 80 y 90°C durante 20 min, después del tiempo transcurrido se enfriaron a chorro de agua fría. La lectura se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo Genesys 10S uv-vis) a 440 nm.

### *Determinación de densidad*

La densidad se determinó por el método gravimétrico de balanza y probeta, de acuerdo con OIML (2011), se colocó una probeta de vidrio (Marca: Kimax) de 10 mL en el platillo de una balanza analítica (Marca: OHAUS P4214) y se taró, posteriormente se agregó 10 mL de cada una de las corridas experimentales y se obtuvo el peso del líquido. La densidad se calculó mediante la ecuación 1.

$$\rho = \frac{\text{peso (g)}}{\text{volumen (mL)}} \quad \text{EC. (1)}$$

### *Determinación de pH*

De acuerdo con la NMX-F-317-S-1978, el pH se determinó mediante un potenciómetro calibrado (Marca: HANNA). Se usaron 20 mL de cada una de las corridas experimentales en un vaso de precipitado, en el que se sumergió el electrodo del potenciómetro hasta obtener la lectura de cada muestra.

### *Determinación de °Brix*

De acuerdo a la NMX-F-103-1982, se utilizó el método del refractómetro utilizando un refractómetro (Marca: Atago) con escalas de 0-30 y de 30-60; se tomó una gota de cada muestra experimental y se colocó en la tapa del refractómetro, obteniendo el resultado de manera ocular.

### *Determinación de acidez (% de ácido Aconítico)*

Se tomaron los fundamentos de la NMX-F-102-S-1978 para la obtención y tratamiento de la muestra. De acuerdo con Naranjo (2008), se midió 10 mL de cada corrida experimental y

como indicador se adicionó 3 gotas de fenolftaleína, posteriormente se tituló con NaOH 0.1N y se calculó mediante la ecuación 2.

$$\% \text{Ácido Aconítico: } \left[ \left( \frac{f \cdot v \cdot N}{w} \right) \right] \cdot 100 \text{ EC. (2)}$$

Donde:

f: Factor del ácido aconítico (0.058)

v: Volumen titulado de NaOH (mL)

N: Normalidad (0.1N)

W: Peso de la muestra (g)

### Determinación de biomasa

Se realizó por el método microscópico descrito por Aguilar *et al.*, (2015). De las muestras obtenidas cada 6 horas, se tomó una gota y se colocó en una cámara de Neubauer, se contaron las células en los cuadros de color rojo como se observan en la figura 2, primero con el objetivo de 10x para enfocar toda la cuadrícula y posteriormente con el de 40x en un microscopio (Marca: Motic). La cuantificación se realizó mediante la ecuación 3 para obtener células/mL.

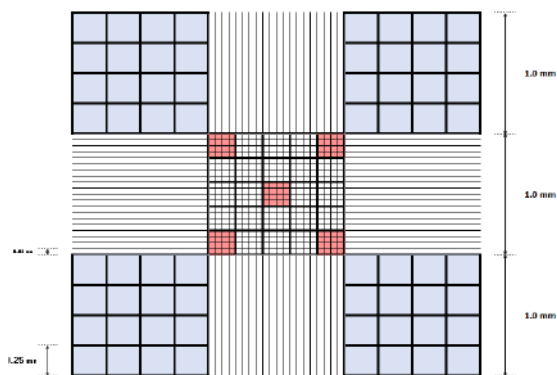


Figura 2. Dibujo de las celdas de una cámara de Neubauer. Fuente: Gómez (2018).

$$\text{Células/mL} : 10,000 \times 5 \times 10 \times A \text{ EC. (3)}$$

Dónde:

A: Número de células contadas en los 5 cuadrantes.

### Determinación de acetaldehído

De acuerdo a la NOM-142-SSA1-1995 se determinó acetaldehído en el producto final. Se destilaron 50 mL de la muestra de acuerdo con la NMX-V-013-S-1980; se tomaron 5 mL de la muestra destilada en un matraz Erlenmeyer (Kymax®) de 250mL, se mezcló con 5 mL de agua destilada y 1 mL de disolución de bisulfito de sodio 0.05N. Posteriormente se realizó un testigo colocando en un matraz Erlenmeyer (Kymax®) de 250mL 10 mL de agua destilada se agregó 1mL de bisulfito de sodio al 0.05N. Las muestras y el testigo se dejaron reposando 30 min. Se realizó una titulación utilizando como indicador una disolución de almidón y como titulante tiosulfato de sodio y se calculó de acuerdo a la fórmula descrita en la NOM-142-SSA1-1995.

## III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis fisicoquímicos de la materia prima

Se analizaron dos tipos de cultivos de maíz; 1 regado con agua residual y 2 con agua limpia. Los resultados de los análisis fisicoquímicos del jugo del vástago de milpa, permitieron caracterizar la materia prima que se utilizó para la producción de la bebida alcohólica, los cuales se observan en la tabla 2.

Tabla 2. Determinación de °Brix, acidez y pH en dos tipos diferentes de muestra

Cultivo	°Brix	pH	% Acidez (Ácido aconítico)
1	13±0 <sup>a</sup>	5.97±0.009 <sup>a</sup>	0.20±0.012
2	12±0 <sup>b</sup>	5.93±0.009 <sup>b</sup>	0.19±0.012

\*letras diferentes indican diferencia significativa mediante análisis de Varianza con  $\alpha=0.05$  y  $n= 3$ . Los datos son expresados como el promedio de las observaciones  $\pm$  su desviación estándar.

De acuerdo con lo observado en la tabla 2 se utilizó el cultivo 2, el cual tuvo 12 °Brix y 0.19% de acidez, debido a que tiene gran cantidad de sólidos totales los cuales pueden ser

fermentables, además que, las aguas negras pueden contener metales pesados y sustancias tóxicas para el organismos.

*Diseño experimental óptimo*

El diseño experimental de Superficie de Respuesta (RSM) realizado con Minitab® 17, constó de 26 tratamientos donde la cantidad de inóculo y °Brix varían de acuerdo a cada tratamiento como se muestra en la tabla 1.

La tabla 3 muestra los mejores 3 tratamientos, siendo el tratamiento 21 el que produjo mayor cantidad de alcohol en las 48 h de fermentación, el cual se utilizó para el escalamiento a bioreactor de 10 L de capacidad.

Tabla 3. Resultados de contenido de alcohol de los mejores tratamientos

Tratamiento	Inóculo g/L	°Brix	Alcohol mg/mL
1	2.5	5.9	3.9
2	2.5	20	4.8
3	2.5	20	1.8
4	4	30	1.8
5	4	34	3.8
6	2.5	20	3.9
7	2.5	20	4.6
8	1	30	2.3
9	2.5	30	3.4
10	4.6	20	2.4
11	2.5	20	3.3
12	2.5	6	3.4
13	0.4	10	4.6
14	2.5	20	3.7
15	2.5	20	3.5
16	2.5	20	4.8
17	1	20	4.5
18	0.4	20	1.2

9	4.6	20	2.1
20	4	20	4.5
21	4.6	34.1	4.8
22	2.5	20	3.1
23	2.5	10	0.5
24	1	10	1.5
25	1	30	1.8
26	2.5	10	3.7

*Cinética de fermentación*

En la tabla 4 se observa el comportamiento cinético de la fermentación del mejor tratamiento en bioreactor. La fermentación se realizó durante 72 h, y se obtuvieron muestras cada 6 h.

Tabla 4. Cinética de la fermentación por 72 horas

muestra	tiempo	Densidad	°Brix	Azúcares Reductores (Abs)	Alcohol (Abs)	AR	°GL -1
0	0	1.080	36.0	0.4	0.28	4.7	0.0
1	6	1.082	34.5	0.3	0.224	4.0	6.6
2	12	1.082	32.5	0.3	0.224	3.6	6.6
3	18	1.086	32.0	0.3	0.207	3.5	9.7
4	24	1.088	31.5	0.3	0.205	3.5	10.0
5	30	1.089	31.0	0.3	0.197	3.3	11.4
6	36	1.091	30.5	0.2	0.193	3.3	12.2
7	42	1.092	30.0	0.2	0.189	3.1	12.9
8	48	1.094	30.0	0.2	0.185	3.1	14.4
9	54	1.110	29.0	0.2	0.18	3.0	16.3
10	60	1.120	29.0	0.2	0.17	2.9	20.0
11	66	1.122	29.0	0.2	0.167	2.8	21.2
12	72	1.136	28.5	0.2	0.16	2.7	23.8

En la figura 3 se observa gráficamente el comportamiento de la cinética crecimiento de biomasa, producción de etanol y la disminución del contenido de sustrato durante la fermentación. De acuerdo a Machín *et al.*, (2016), la levadura crece simultáneamente con la producción de alcohol por un tiempo aproximado de 20 horas. La velocidad aumenta de forma rápida hasta alcanzar el máximo al término de 15 horas.

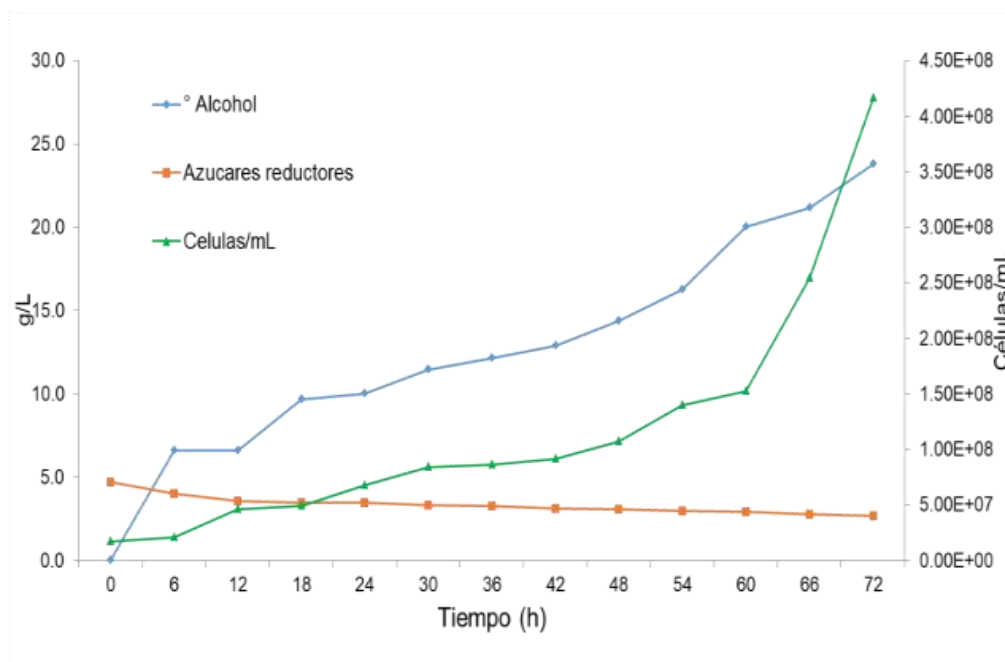


Figura 3. Gráfica de comportamiento cinético de la fermentación respecto a la biomasa, alcohol y azúcares reductores.

De acuerdo a estudios realizados por Valdés *et al.*, 2015, la producción de etanol utilizando levadura *S. cerevisiae* es de 50.5 g/L a las 24 horas de la fermentación. En nuestro estudio se reportó 23.8 % de etanol y un rendimiento de 11.83% utilizando como sustrato el vástago de maíz (Tabla 5).

La constante de consumo o constante de saturación de sustrato ( $K_s$ ) tuvo un valor de  $0.03 \text{ h}^{-1}$ , lo cual indica una gran afinidad de la levadura por el vástago de maíz como sustrato. La velocidad específica máxima de crecimiento ( $V_{max}$ ) es igual a la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ), ya que al ser pequeño el  $k_s$  de *Saccharomyces cerevisiae*  $\mu$  se vuelve prácticamente igual a  $\mu_{max}$  (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros cinéticos de la fermentación de vástago de maíz

Parámetro cinético	Valor
$\mu$	$0.21 \text{ h}^{-1}$
td	2.25 h
$K_s$	$0.03 \text{ h}^{-1}$
$K_p$	$5.61 \text{ h}^{-1}$
$V_{max}$	$0.29 \text{ h}^{-1}$

### Acidez vs pH

En la gráfica de la figura 4, se observa el comportamiento fisicoquímico de la bebida, la acidez aumenta y el pH disminuye lo cual es el comportamiento reportado bibliográficamente para la fermentación alcohólica.

De acuerdo con Machín *et al.*, (2016), el pH óptimo en el cual se desarrollan mejor los microorganismos, oscila entre 3.5 y 5.

Las levaduras tienen la ventaja de soportar medios ácidos por lo que el pH obtenido de la bebida fermentada permitió mantener el medio controlado de bacterias para competir por el sustrato, tal y como se observa en la curva de pH de la figura 4.

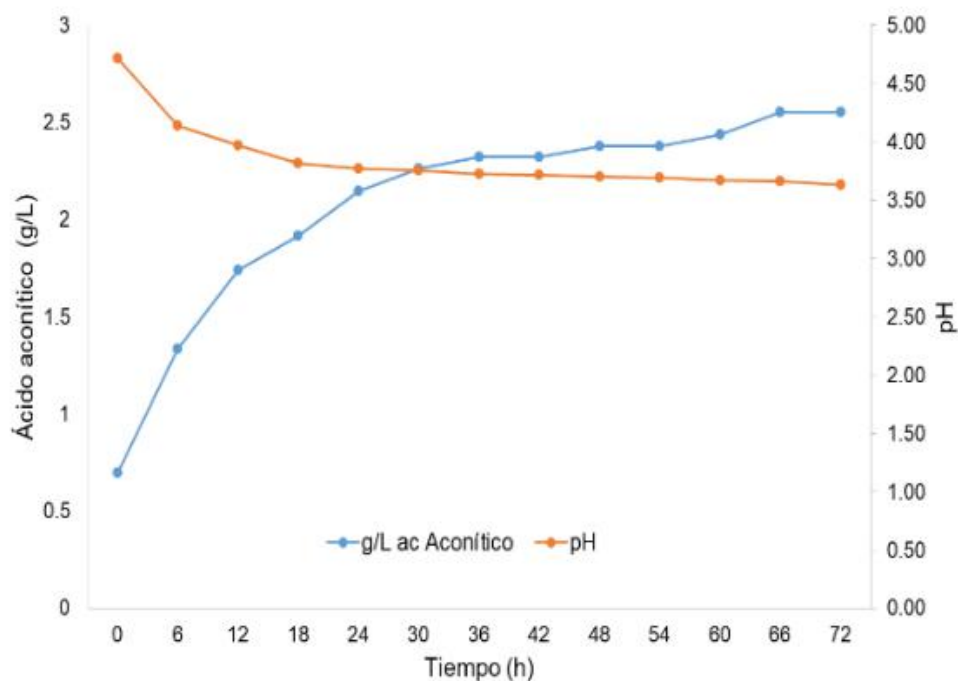


Figura 4. Gráfica de la curva de pH y Acidez.

*Análisis fisicoquímico y toxicológico de la bebida fermentada*

*Determinación de acetaldehído*

En la tabla 6, se muestran los resultados obtenidos tras la determinación de acetaldehído como producto final, por lo que las concentraciones que se observan cumplen con los rangos establecidos de seguridad de acuerdo a la NOM-199-SCFI-2015.

Tabla 6. Análisis toxicológico

Valor obtenido	Límite máximo
24.4 mg/100mL de alcohol anhidro	40 mg/100mL de alcohol anhidro

El acetaldehído ha mostrado características mutagénicas y carcinogénicas en estudios realizados *in vitro* e *in vivo* tanto en animales como en células. En estudios previos se ha comprobado que el daño ocurre con concentraciones estimadas de 40 a 1,000 µ/mL (Rivera *et al.*, 2016).

**IV. CONCLUSIÓN**

El vástago de maíz es una buena alternativa para la producción de bebidas fermentadas teniendo 23.81 °GL a las condiciones de 34 °Brix y 2.5 g/L de levadura.

La bebida fermentada presentó características organolépticas aceptables con base en la NOM-142-SSA1-1995 además, de ser un producto con bajo contenido de acetaldehído de acuerdo a la NOM-199-SCFI-2015..

**V. REFERENCIAS**

Aguilar, J., Espinoza, M., Cabanillas, J., Ávila, I., García, A., Julca, J., Linares, G. (2015). Evaluación de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces Cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y



- suero lácteo. *Agroindustrial Science*, 5(1), 37-47.
- Casado, F. C. (2001). Proceso de fabricación de bebidas alcohólicas. *Innovación Tecnológica en la industria de bebidas*.
- CONACYT. (2014). Maíz. Ciudad de México: Cibiogem.
- Cortinez, V. (2010). Comparación de Pretratamientos en Residuos Forestales para la producción de Bioetanol de Segunda Generación: Hidrólisis ácida y Líquidos Iónicos. Santiago de Chile.: Universidad de Chile.
- Di Marco, O. N. y Aello, M.S. 2001. En torno al valor nutritivo del maíz para silaje. *Rev. Forrajes y Granos, Agribusiness Journal*. 6 (71): 58-61.
- Dimitri, M. J. (1985). Tratado de morfología y sistemática vegetal. ACME S.A.
- Gómez, V. (22 de diciembre de 2018). Hematología Clínica. Recuperado el 11 de abril de 2019, de <https://www.grupohematologiaclinica.com/programas>
- Jewsbury, G. (2017). Gramíneas ornamentales. Córdoba: Facultad de ciencias agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.
- León, J. (1968). Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales. Primera edición. Lima, Perú: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA.
- Lopatinsky, M. (2008). Obtención de Biocombustible orgánico a partir de *Zea mays* con aplicación de Alfa-Amilasa. Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción.
- Machín, C., Garrido, N., Guevara, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Cuba: ICIDCA.
- Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *anal.chem.* 31: 426-428
- Naranjo, W. D. (2008). Caracterización reológica y térmica de miel de dos variedades de caña (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato: Ecuador.
- NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Norma mexicana. Dirección General de Normas.
- NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados Brix. Foods. Fruits and derivatives. Determination of degrees brix. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Determination of pH in foods. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-V-005-S-1980. Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de ésteres y aldehídos.
- NMX-V-013-S-1980. Bebidas Alcohólicas Destiladas. Determinación del por ciento de alcohol en volumen en la escala Gay-Lussac a 288 K (15°C). Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. (Esta norma cancela a NOM-V-13-1970).
- Norma Oficial Mexicana NOM-142-SSA1-1995. Bienes y servicios. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial.
- Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-199-2015, Bebidas Alcohólicas-Denominación, Especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- OIML. (2011). Guía OIML G-14: Medición de densidad. Obtenido de OIML:

<https://www.oiml.org/en/publications/other-language-translations/spanish/g014-es11.pdf>

- Oviedo, L., Lara, C., & Mizger, M. (2009). Levaduras autóctonas con capacidad fermentativa en la producción de etanol a partir de pulpa de excedentes de plátano Musa (AAB Simmonds) en el departamento de Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1), 1-7.
- Ramírez, Q. (1891). *Teoría y aplicaciones de procesos bioquímicos*. Ingeniería Bioquímica. Ed. Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. México, D.F., México.
- Valdés, A., Bruno, D., Mota., Cristóbal, N. (2015). *Cinética para la producción de bioetanol usando levadura Sacharomyces cerevisiae*. Guadalajara: ICIDCA.