

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



DETERMINACIÓN DE METANOL
EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
KARLA FRANCISCA RODAS LÓPEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, ABRIL DE 2008

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



DETERMINACIÓN DE METANOL
EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
KARLA FRANCISCA RODAS LÓPEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, ABRIL DE 2008

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE METANOL EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS POR
CROMATOGRAFÍA DE GASES**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
KARLA FRANCISCA RODAS LÓPEZ**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

ASESORES:

**DR. NÉSTOR GUILLERMO ORELLANA VELADO
DR. LUIS GILBERTO PARADA GÓMEZ**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, ABRIL DE 2008

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÁVEZ

FISCAL

DR. RENÉ MADECADEL PERLA JIMÉNEZ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO

DR. RAFAEL ANTONIO GÓMEZ ESCOTO

DIRECTOR DE LA ESCUELA DE QUÍMICA

LIC. JOSÉ ALFREDO DÍAZ

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiar mi camino.

A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional y respeto, condiciones sin las cuales no hubiese sido posible lograr esta meta.

A mi amiga Pochacco, por no dejarme desfallecer en momentos difíciles.

A mis asesores por sus conocimientos, paciencia, y apoyo brindado.

A todos aquellos que de una u otra forma contribuyeron.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	II
RESUMEN	III
1. INTRODUCCIÓN	1
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	3
2.1 HISTORIA DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS	4
2.2 TIPOS DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS	6
2.2.1 WHISKY	6
2.2.2 TEQUILA	7
2.2.3 RON	8
2.2.4 VODKA	8
2.2.5 LICOR	9
2.3 METANOL	9
2.3.1 METABOLISMO DEL METANOL	11
2.3.2 MECANISMOS DE ACCIÓN	11
2.4 PRINCIPIOS GENERALES DE CROMATOGRAFÍA	13
2.4.1 INSTRUMENTACIÓN	13
2.4.2 APLICACIONES	20
2.5 VALIDACIÓN	21
2.5.1 LINEALIDAD	21
2.5.2 EXACTITUD	23
2.5.3 REPETIBILIDAD	25
2.5.4 LÍMITE DE DETECCIÓN	25
2.5.5 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	26

3.	PARTE EXPERIMENTAL	
3.1	METODOLOGÍA	28
3.2	ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN	29
3.3	VALIDACIÓN DEL MÉTODO	29
3.4	RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	31
3.5	ELABORACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN	31
4.	DISCUSIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS	
4.1	LINEALIDAD DEL MÉTODO	33
4.2	EXACTITUD DEL MÉTODO	33
4.3	DETERMINACIÓN DE LA REPETIBILIDAD	35
4.4	LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	42
4.5	CROMATOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LA DETERMINACIÓN DE METANOL EN MUESTRAS DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS SELECCIONADAS	44
4.6	RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE METANOL EN MUESTRAS DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS	51
5.	CONCLUSIONES	55
6.	REFERENCIAS	56
7.	ANEXOS	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Normativas para el metanol	10
Tabla 2	Resultados obtenidos al elaborar la curva de calibración 01 para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.	33
Tabla 3	Resultados obtenidos de regresión lineal curva 01	35
Tabla 4	Resultados obtenidos al elaborar la curva de calibración 02 para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.	36
Tabla 5	Resultados obtenidos al elaborar la curva de calibración 03 para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.	36
Tabla 6	Resultados obtenidos de regresión lineal curva 02	38
Tabla 7	Resultados obtenidos de regresión lineal curva 03	39
Tabla 8	Resumen de resultados obtenidos al elaborar las curvas de calibración (01), (02) y (03) para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.	40
Tabla 9	Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración 01, 02 y 03 para la cuantificación de metanol por estandarización externa.	41
Tabla 10	Exactitud del método cromatográfico.	42
Tabla 11	Resultados obtenidos del análisis de sensibilidad, límite de detección y cuantificación.	43
Tabla 12	Resultado de la determinación de metanol en muestras de vodka.	51
Tabla 13	Resultado de la determinación de metanol en muestras de Whisky.	52
Tabla 14	Resultado de la determinación de metanol en muestras de Ron.	53
Tabla 15	Resultado de la determinación de metanol en muestras de Tequila.	53
Tabla 16	Resultado de la determinación de metanol en muestras de chaparro.	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Metabolismo del metanol.	11
Figura 2	Diagrama de un cromatógrafo de gases.	14
Figura 3	Cromatógrafo de gases.	14
Figura 4	Inyector de muestra para un cromatógrafo de gases.	16
Figura 5	Columna capilar	17
Figura 6	Detector de Ionización de Llama.	20
Figura 7	Curva de calibración (01)	34
Figura 8	Curva de calibración (02)	37
Figura 9	Curva de calibración (03)	38
Figura 10	Cromatógrama correspondiente a la muestra de Whisky WR	44
Figura 11	Cromatógrama correspondiente a la ampliación muestra de Whisky WR	45
Figura 12	Cromatógrama correspondiente a la muestra de chaparro CK	46
Figura 13	Cromatógrama correspondiente a la ampliación muestra de chaparro CK	47
Figura 14	Cromatógrama correspondiente a la muestra de Ron RY	48
Figura 15	Cromatógrama correspondiente a la muestra de Tequila T	49
Figura 16	Cromatógrama correspondiente a la muestra de vodka VF	50

RESUMEN

Concentraciones altas de metanol presente en bebidas alcohólicas ha provocado numerosas intoxicaciones a nivel mundial, con síntomas tales como: náuseas, vómitos, cefaleas, dolores abdominales y perturbaciones visuales. Dejando como secuelas ceguera irreversible y muerte.

El objetivo principal del presente trabajo es la determinación de metanol por cromatografía de gases con el método de estandarización externa, para luego hacer una comparación de los resultados con las normativas vigentes, con el propósito de verificar la calidad de las bebidas alcohólicas que se consumen en el país.

Para asegurar que el método utilizado para la determinación de metanol aporta resultados confiables, se determinaron sus principales propiedades analíticas, tales como linealidad, exactitud, repetibilidad, límite de detección y límite de cuantificación. Comprobando que el método cumple con éstas en las condiciones de trabajo empleadas.

En la parte experimental, se describe la metodología empleada y las condiciones de operación para la cuantificación de metanol en las muestras de bebidas alcohólicas.

Sobre un total de 38 muestras de bebidas alcohólicas. Que comprenden 17 vodkas, 8 whiskies, 4 roncs, 6 tequilas y 3 chaparros, se concluyó que los niveles de alcohol metílico encontrados en un 21% de las muestras presentaron valores levemente superiores a lo estipulado por las normativas.

De los resultados obtenidos se observó que las determinaciones muestran que un 79% por ciento de las muestras se encuentran dentro de los límites establecidos.

1. INTRODUCCIÓN

En el trabajo realizado se hace un resumen de la historia de las bebidas alcohólicas, clasificándolas de acuerdo al tipo de bebida, su origen y características.

El metanol es el principal componente del destilado en seco de la madera. Es uno de los disolventes más usados y encuentra aplicación, tanto en el campo industrial como en diversos productos de uso doméstico. Dentro de los productos que contienen metanol se puede mencionar el denominado “alcohol de quemar” constituido por los alcoholes metílico y etílico, solvente en barnices, tintura de zapatos, limpiavidrios, líquido anticongelante y solvente para lacas. Además, los combustibles sólidos envasados también contienen metanol. ⁽¹⁾

El metanol se utiliza para degradar soluciones de alcohol etílico, práctica que ha dado lugar a numerosas intoxicaciones, dado el uso fraudulento de estas mezclas en bebidas alcohólicas.

Además la fermentación produce cantidades variables de metanol y otros compuestos. Por lo que la intoxicación por metanol ocurre frecuentemente por vía digestiva, en el caso de bebidas alcohólicas adulteradas. Los individuos pueden sobrevivir, con secuelas como la ceguera irreversible, pues la retina es el sitio que primero sufre la manifestación de la intoxicación con metanol. ⁽¹⁾

Por lo que se plantea la necesidad de verificar la calidad de las bebidas alcohólicas, determinando el contenido de metanol.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 HISTORIA DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS

La destilación del alcohol era relativamente poco conocida hasta fines del siglo XVI. Tanto los griegos como los romanos, conocían únicamente la elaboración de vino, el cual en ocasiones perfumaban con hierbas aromáticas. También elaboraban cierta clase de bebidas con alta concentración de azúcar y jugo de frutas, similares a los que hoy conocemos con el nombre de jarabes. No hay indicios que permitan suponer que en aquel entonces se poseyera el arte de la elaboración de bebidas embriagantes. Es probable que hayan sido los alquimistas árabes, en el siglo X, los verdaderos descubridores de los secretos de la destilación del alcohol. Hasta hace aproximadamente un siglo, solo se extraía el alcohol etílico del vino o del orujo. La creciente demanda y la diversidad de usos obligaron a buscar esta sustancia en los más diversos productos vegetales, y en la actualidad ocupa el primer lugar la extracción de alcohol etílico de cereales y de caña o melaza de azúcar. ^(11,12)

Para poder separar el alcohol etílico de los productos que le acompañan, es necesario recurrir a la destilación, eliminando parte de los compuestos volátiles; el alcohol etílico neutro se obtiene por la rectificación, considerándose alcohol neutro o alcohol rectificado, el obtenido por la destilorectificación del mosto que han sufrido la fermentación alcohólica. Todos los alcoholes neutros se consideran aptos para elaborar bebidas alcohólicas, vinagre y perfumes.

La obtención de alcohol etílico en El Salvador, se realiza principalmente partiendo de la melaza de caña de azúcar, aunque como ya se mencionó se puede obtener partiendo de azúcar, granos, frutos y otros. ⁽²⁾

Las bebidas alcohólicas se componen principalmente de agua y alcohol etílico, sin embargo son los compuestos volátiles los que van a definir su calidad y características organolépticas y sanitarias, principalmente aquellos que se originan en la fermentación alcohólica paralelamente al etanol, y debido a un deficiente estado de conservación que puede dar lugar a fermentaciones acéticas y tartáricas, con la formación posterior de ácidos

volátiles como acético, propiónico y butírico, que generan olores indeseables y la pérdida de calidad en el destilado.⁽¹³⁾

La fermentación alcohólica denominada también como fermentación del etanol o incluso fermentación etílica) es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire (oxígeno - O_2), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono por lo general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) Para obtener como productos finales: etanol (cuya fórmula química es: CH_3-CH_2-OH), dióxido de carbono (CO_2) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. El etanol resultante se emplea en la elaboración de algunas bebidas alcohólicas, tales como whisky, vodka, ron, etc. Aunque en la actualidad se empieza a sintetizar también etanol mediante la fermentación a nivel industrial a gran escala para ser empleado como biocombustible. Las levaduras y bacterias causantes de este fenómeno son microorganismos muy habituales en las frutas y cereales y contribuyen en gran medida al sabor de los productos fermentados. Una de las principales características de estos microorganismos es que viven en ambientes completamente carentes de oxígeno (O_2), máxime durante la reacción química, por esta razón se dice que la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico.

Fermentaciones naturales: la fermentación alcohólica con la emisión de ciertas cantidades de etanol se produce de forma espontánea en la naturaleza siempre que se encuentre un azúcar y una atmósfera pobre de oxígeno, es por esta razón que ocurre espontáneamente en el interior de algunas frutas que se puede decir sufren un proceso de maduración anaeróbica, tal y como puede ser el melón curado que muestra olor a alcohol, o los mismos coco.

Fermentaciones específicas: las fermentaciones específicas son manipuladas por el hombre con el objeto de obtener el etanol en ciertas bebidas. Para ello se emplean principalmente los azúcares de las frutas, los cereales y de la leche. La producción de estas bebidas es en la mayoría de los casos local debido a la disponibilidad de los substratos, por ejemplo en los países mediterráneos la uva es frecuente y por lo tanto la fermentación del

vino también, el mismo patrón puede hacerse con otros materiales como el arroz en Asia o el maíz en Latinoamérica. De esta forma la tradición de los procesos de fermentado se han asociado a las diversas etnias o grupos sociales. ⁽¹³⁾

2.2 TIPOS DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS

Las bebidas destiladas son las descritas generalmente como aguardientes y licores; Entre ellas se encuentran bebidas de muy variadas características y que van desde los diferentes tipos de licor, hasta los whiskies, tequilas, rones y vodkas entre otras.

2.2.1 WHISKY:

El whisky es el aguardiente compuesto obtenido por mezcla de aguardientes de malta y destilado de cereales, previamente envejecidos por separado en recipientes de roble y bajo determinadas condiciones ambientales de temperatura y humedad.

Aguardientes de malta, es el obtenido por destilación de caldos fermentados de cebada malteada en su totalidad. Su graduación alcohólica, como mínimo, será de 60° centesimales en volumen (grados Gay-Laussac) sin alcanzar los 80°. ^(14,15)

Destilado de cereales, es el alcohol obtenido por destilación de caldos de cereales, sacarificados y fermentados. Su graduación alcohólica será de 80°, como mínimo, sin alcanzar los 96° centesimales en volumen.

Características del Whisky elaborado:

El whisky contendrá un mínimo del 25% del alcohol absoluto procedente del aguardiente de malta.

La graduación alcohólica del whisky será de 35°, como mínimo, y 58° centesimales en volumen como máximo, según su productor.

Las impurezas volátiles del whisky estarán comprendidas entre los límites siguientes, expresados en mg/100 mL de alcohol absoluto:

Ácidos (expresado como ácido acético): 25-70.

Ésteres (expresado como acetato de etilo): 35-95.

Aldehídos: 8-40.

Furfural: Exento-4.

Alcoholes superiores: 150-370.

Metanol: Exento-30.

El extracto seco no excederá del 3% en el peso del producto.

La materia mineral total no excederá del 0.25%, en la que el cobre y el cinc no pasarán del 0,04% y el arsénico y el plomo del 0.01%, expresados en peso del producto. Coloreado con caramelo natural o no. ^(14,15)

2.2.2 TEQUILA:

Es un licor destilado originario de México, pudiéndose encontrar variedades ambarinas e incoloras. Al igual que el mezcal, se elabora a base del jugo extraído del agave, en particular el llamado agave azul [*Agave tequilana (Caducifolia.ssp.tequilana.cv.azul)*]. Para llamarse tequila, la bebida debe de contener al menos un 51% de agave, aunque los tequilas más puros contienen 100% agave. El agave se mezcla con jarabe de maíz o de caña de azúcar. También existe jarabe de agave que contiene caramelo para agregarle sabor al cual se le llama *mixto*. ^(14,16)

De acuerdo a las características adquiridas en procesos posteriores a la destilación y rectificación, el tequila se clasifica en cuatro tipos: ⁽¹⁷⁾

- . Tequila blanco
- . Tequila joven u oro
- . Tequila reposado
- . Tequila añejo

2.2.3 RON:

Bebida alcohólica obtenida exclusivamente a partir de aguardientes o destilados para ron o sus mezclas, provenientes de mostos fermentados de jugos, melazas u otros derivados similares, provenientes de la caña de azúcar y añejados en recipientes de roble durante un tiempo determinado, Añejamiento (envejecimiento, maduración): Es el proceso de transformación lenta del aguardiente o destilado para ron o de sus mezclas, que le permite adquirir las características organolépticas típicas del ron, mediante procesos fisicoquímicos que en forma natural tienen lugar durante su permanencia en recipientes de madera de roble. De manera que al final posea el gusto, el aroma, la madurez y el sabor que le son característicos. Alcanza 80° de contenido alcohólico pero se rebaja añadiendo agua destilada. ⁽¹⁸⁾

Requisitos organolépticos para el ron

Aspecto: líquido brillante, transparente, sin partículas en suspensión, ni sedimentos.

Aroma y sabor: característico del tipo de ron, libre de olores y sabores extraños.

Color: característico del tipo de ron. ⁽¹⁸⁾

2.2.4 VODKA:

Es la bebida alcohólica nacional de Rusia y Polonia, su significado es el de “agüita”, una forma delicada y diminutiva de llamar al agua. Originalmente la producción de esta bebida es a partir de los productos de agricultura locales más baratos y abundantes como el trigo, maíz, papas, caña de azúcar o la combinación de cualquiera de estos.

Es la bebida obtenida de alcoholes de materias amiláceas. Esta compuesta de agua y etanol. Contiene un rango de alcohol entre 35 y 70% en volumen. El clásico vodka ruso tiene unos 40 grados centesimales en volumen. En países como El Salvador, el vodka es la bebida alcohólica de mayor consumo; esta representa más del 87% de la demanda global de licores formando parte así de su cultura popular. ⁽¹⁹⁾

2.2.5 LICOR:

Un licor es una bebida alcohólica dulce, a menudo con sabor a frutas, hierbas, o especias.

Algunos licores son preparados por infusión de ciertas maderas, frutas, o flores, en agua o alcohol, y añadiendo azúcar, etc. Otras se hacen por destilación de agentes aromáticos. La distinción entre licor y bebida alcohólica no es simple, especialmente porque en la actualidad muchas bebidas alcohólicas están disponibles con sabores dulces. Sin embargo las bebidas alcohólicas con sabor no son preparadas por infusión. El contenido de alcohol no es una característica distintiva, la mayoría de los licores tienen menos grados alcohólicos que las bebidas alcohólicas, pero algunos licores pueden tener hasta 55 grados.⁽²⁰⁾

2.3 METANOL

Es conocido que algunas bebidas alcohólicas poseen altos niveles de metanol, compuesto que por su elevada toxicidad es necesario disminuir en el destilado, este compuesto ingerido, en pequeñas cantidades puede producir: náusea, cefaleas, dolores abdominales, vómito y perturbaciones visuales (visión borrosa y sensibilidad a la luz).⁽²¹⁾ La dosis tóxica es de 10-30 mL (100 mg/Kg.), aunque ingesta de menor cantidad pueden provocar síntomas; presenta una dosis letal media de 340 mg/Kg. (60-240 mL),⁽²²⁾ y según la tabla 1.1 que presentan las normativas para el metanol y muestra la norma Salvadoreña NSO 71.09.01:98 para alcohol etílico potable donde se ve que el contenido de metanol permisible es de 39.50 mg de metanol en 100mL de etanol anhidro según la norma.⁽²³⁾

Dosis elevadas de este compuesto puede producir ceguera y hasta la muerte. De ahí el interés por conocer si las bebidas alcohólicas que se consumen en el país contienen metanol y de ser así cuantificarlo y compararlo con las normativas vigentes, en la tabla 1 se hace referencia a dichas normas incluyendo los valores permitidos de metanol en bebidas como whiskies, tequilas y rones.

Nombre	Referencia	Bebida	Metanol permitido (mg/100)
Norma salvadoreña (CONACYT)	NSO 71.09.01:98	Para alcohol etílico potable	39.5
Norma guatemalteca obligatoria 2003 (COGUANOR)	NGO 33011	Ron	280
Norma técnica nicaragüense 2001	NTON 03036-01	Aguardiente	30
Norma oficial mexicana 1995	NOM-142-SSA1-1995	Bebidas alcohólicas	300
Norma técnica peruana 2002	NTP 211.001	Pisco	100
Norma oficial mexicana 1995	NOM-142-SSA1-1995	Tequila	300
Norma técnica peruana 2002	NTP 210.022	Ron	20
Comisión Nacional de Alimentos, CONAL, Estados Unidos 25.	CAPITULO XIV	Bebidas alcohólicas	200
Comisión Nacional de Alimentos, CONAL, Estados Unidos 25.	CAPITULO XIV	Para alcohol etílico potable	50
Decreto 365 DE 1994 (Colombia)	Diario Oficial No. 41.220, del 11 de febrero de 1994	Whisky	33

Tabla 1. Normativas para el metanol

2.3.1 METABOLISMO DEL METANOL

El alcohol metílico puede ser absorbido por la piel, alvéolos pulmonares y mucosa gástrica; una vez absorbido, se distribuye rápidamente a todos los órganos.

Su biotransformación se realiza principalmente en el hígado, obteniéndose como producto final dos metabolitos activos: formaldehído y ácido fórmico, cuya reacción es catalizada por las enzimas alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa, su eliminación se hace en mayor parte por la orina como ácido fórmico ó formaldehído; también se elimina en menor porcentaje por vía entero-hepática.⁽²⁴⁾

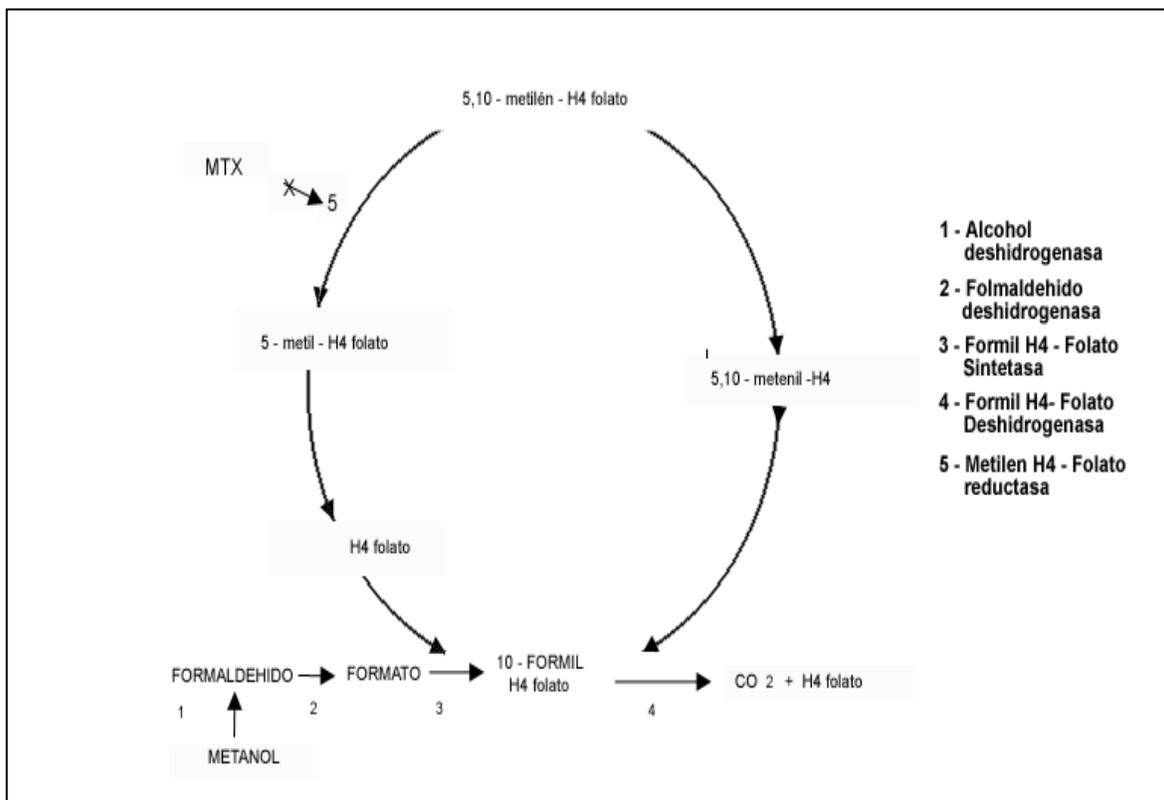


Figura 1. Metabolismo del metanol

Los metabolitos activos (formaldehído y ácido fórmico), son los responsables de las alteraciones clínicas que se producen; tienen la propiedad de precipitar las proteínas de los nervios, desnaturalizando los mismos. A nivel del nervio óptico, se ha demostrado que en primer lugar produce degeneración de las células ganglionares de la retina, seguido de una desmielinización del nervio óptico, generando ceguera total, que generalmente es de carácter irreversible. ⁽²⁴⁾

2.3.2 METODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE METANOL

La mayor parte de los métodos usados en la determinación de metanol se basan en su oxidación a formaldehído y una posterior determinación de este último. Algunos de los métodos usados son: el del reactivo de Schiff, ⁽²⁵⁾ del ácido cromotrópico, ⁽²⁶⁾ refractometría ⁽²⁷⁾ y cromatografía de gases. ⁽²⁶⁾

Para cuantificar el metanol contenido en las bebidas alcohólicas se usará la cromatografía, ya que ésta técnica presenta las siguientes ventajas con respecto a los otros métodos: es eficiente, permite alta resolución, requiere cantidades pequeñas de muestras (μL), alta sensibilidad, alta velocidad de análisis y buena exactitud. De hecho esta técnica, es posiblemente la que más se ha desarrollado en los últimos años en cuanto a análisis químicos, y se basa en la separación de una mezcla de dos o más compuestos diferentes (o iones) por la distribución entre dos fases, una de ellas estacionaria y la otra móvil. ^(28,29)

La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como soporte, de gran área superficial, la función básica del soporte es la de "mantener" (sostener, retener) la fase estacionaria. Idealmente debería ser un material inerte que "mantiene" la fase estacionaria sobre su superficie como una película delgada. La mayoría de los soportes cromatográficos están hechos de diatomita.

La fase móvil es un fluido (puede ser gas o un líquido) que se usa como portador de la mezcla. El proceso cromatográfico, aparentemente simple en la práctica, es en realidad una compleja unión de fenómenos tales como hidrodinámica, cinética, termodinámica, química de superficie y difusión. ^(28,29)

2.4 PRINCIPIOS GENERALES DE CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases es una técnica en la que se volatiliza la muestra y se inyecta en una columna cromatográfica. A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.

Existen dos tipos de cromatografía de gases (GC): la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (GC).⁽²⁸⁾

2.4.1 INSTRUMENTACIÓN

La GC se lleva a cabo en un cromatógrafo; la figura 1.2 nos muestra la imagen de un cromatógrafo de gases Shimadzu (GC-14A), Éste consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), sistema de procesamiento de datos y el detector. En la figura 1.1 se pueden observar estos componentes en forma de diagrama.⁽²⁸⁾

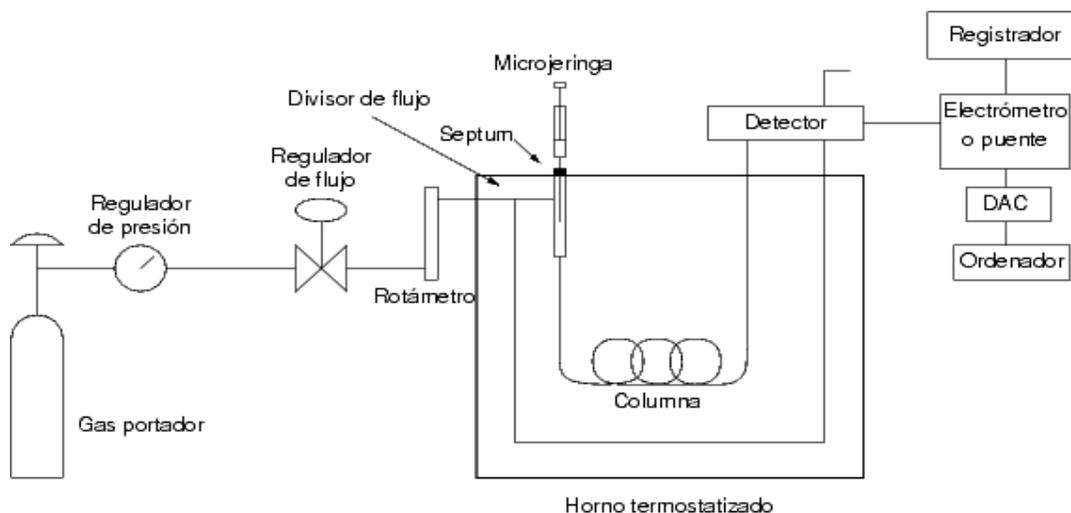


Figura 2. Diagrama de un cromatógrafo de gases.⁽²⁸⁾

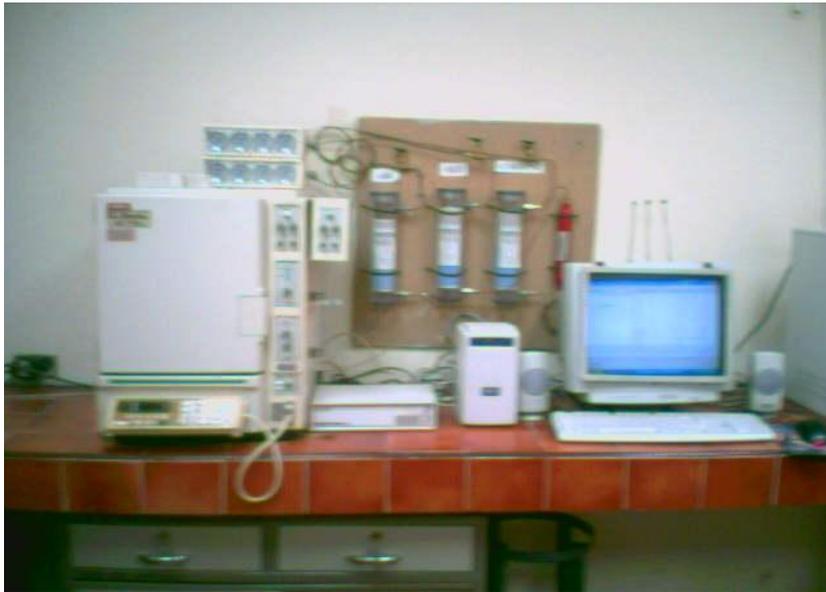


Figura 3. Cromatógrafo de gases

Gas Portador

El gas portador cumple básicamente dos propósitos: transportar los componentes de la muestra y crear una matriz adecuada para el detector. ⁽²⁹⁾

Un gas portador debe reunir ciertas condiciones:

- Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria)
- Debe ser capaz de minimizar la difusión gaseosa
- Fácilmente disponible y puro
- Económico
- Adecuado al detector a utilizar

El mejor gas a usar en la columna cromatográfica como portador de los analitos es el hidrógeno, sin embargo dada su peligrosidad, es más usado como gas de encendido en el detector FID, junto con el aire. ⁽²⁸⁾

Sistema de inyección de muestra

La inyección de muestra es un apartado crítico; ya que se debe inyectar una cantidad previamente establecida, adecuada al método y debe introducirse de forma rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida; este efecto se produce con cantidades elevadas de analito. El método más utilizado emplea una microjeringa (de capacidad de varios microlitros) para introducir el analito en una cámara de vaporización instantánea, que está sellada por una junta de goma de silicona llamada septa o *septum*, que puede observarse claramente en la figura 1.3. ⁽²⁸⁾

Si la columna empleada es empaquetada, el volumen a inyectar será de unos 20 μL , y en el caso de las columnas capilares dicha cantidad suele ser de 1 μL . Para obtener estas cantidades, se utiliza un divisor de flujo a la entrada de la columna que desecha parte del analito introducido.

En caso de muestras sólidas, simplemente se introducen en forma de disolución, ya que en la cámara de vaporización instantánea el disolvente se pierde en la corriente de purga y no interfiere en la elusión. ⁽²⁸⁾

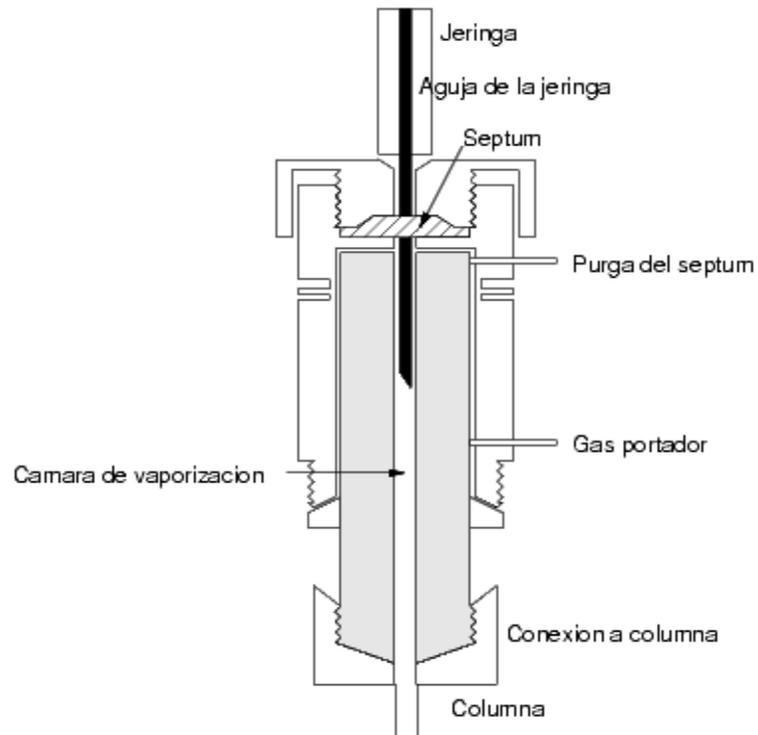


Figura 4. Inyector de muestra para un cromatógrafo de gases

Columnas y sistemas de control de temperatura

La columna es el lugar donde ocurre la separación; en GC se emplean dos tipos de columnas: las *empaquetadas* o *de relleno* y las columnas capilares (columnas *tubulares abiertas*) Estas últimas son más comunes en la actualidad debido a que presentan mejor resolución, tiempos de análisis más cortos, puesto que hay más platos teóricos por unidad de área, y los picos cromatográficos son más estrechos. La longitud de estas columnas es variable, de 2 a 50 metros, y están construidas en acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón. Como lo muestra la figura 1.4, debido a su longitud y a la necesidad de ser introducidas en un horno, las columnas suelen enrollarse en una forma helicoidal con diámetros de 10 a 30 cm., dependiendo del tamaño del horno. ⁽³⁰⁾



Figura 5. Columna capilar

La temperatura es una variable importante, ya que de ella va a depender el grado de separación de los diferentes analitos. Para ello, debe ajustarse con una precisión de décimas de grado. Dicha temperatura depende del punto de ebullición del analito o analitos y por lo general se ajusta a un valor igual o ligeramente superior a él. Para estos valores, el tiempo de elusión va a oscilar entre 2 y 30-40 minutos. Si tenemos varios componentes con diferentes puntos de ebullición, utiliza un programa de temperatura con lo cual ésta va aumentando ya sea de forma continua o por etapas. En muchas ocasiones, el elegir correctamente el programa de temperatura puede significar separar bien o no los diferentes analitos. ⁽³⁰⁾

Factores que afectan la eficiencia de una columna

Entre los factores que afectan la eficiencia de una columna están: longitud, diámetro interno, tamaño de las partículas del relleno, naturaleza de las fases, cantidad de fase estacionaria, temperatura, velocidad del gas portador y cantidad de muestra inyectada. ⁽³⁰⁾

El detector:

El detector es un dispositivo capaz de convertir una propiedad física, no medible directamente, en una señal y ofrecernos información sobre la naturaleza y magnitud de la propiedad física. En cromatografía, un detector funciona comparando una propiedad física entre el gas portador puro y el mismo gas portador llevando cada uno de los componentes que previamente se han separado en la columna, esta acción se traduce en una señal tipo eléctrica, que posteriormente se amplificará mediante un registrador gráfico, integrador u ordenador permitiendo observar los componentes que salen de la columna. ^(29,30)

Clasificación de los detectores

Universales: responde a la mayoría de los solutos que pasan por él.

Específicos ó selectivos: exhibe una gran respuesta a un grupo particular de sustancias con un mínimo de respuesta a otras.

Detectores destructivos y no destructivos: esta clasificación, obviamente, es en referencia a si la muestra es destruida o no.

Detectores según su modo de respuesta: dependientes del flujo másico. Producen una señal que es proporcional a la cantidad de soluto que pasa a través de él en la unidad de tiempo pero es independiente del volumen de gas portador requerido para la elusión.

Dependiente de la concentración. Dan una señal proporcional a la cantidad de soluto por unidad de volumen de gas portador que pasa a través de él.

Detectores según el proceso de detección ionización, óptico-espectroscópico, electroquímico, etc. ⁽³⁰⁾

Características de un detector ideal

Sensibilidad, respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud, tiempo de respuesta corto independiente del caudal de salida, intervalo de temperatura de trabajo amplio, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400°C, temperaturas típicas trabajo, estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales, alta fiabilidad, no destructivo, manejo sencillo y respuesta semejante para todos los analitos, o respuesta selectiva y altamente predecible para un reducido número de analitos. ^(29,30,32)

Detectores más usados en cromatografía de gases

Detector de ionización a la llama: basado en la medida de las variaciones de la corriente de ionización en una llama oxígeno-hidrógeno debido a la presencia de sustancias eluídas.

Detector de conductividad térmica: se basa en los cambios en la conductividad térmica de la corriente de gas portador debido a la presencia de moléculas del analito que abandona la columna. Responde a la concentración del soluto en el gas portador y no es destructivo

Detector de captura electrónico: Basado en la electronegatividad de las sustancias eluídas y su habilidad para formar iones negativos por captura de electrones.

Detector de espectrometría de masas. ⁽³¹⁾ Determina la masa molecular de la sustancia de interés y proporciona una valiosa información estructural de la misma. Combinaciones como la GC/MS (Cromatografía de gases/Espectrometría de Masas) permite además la determinación cuantitativa de compuestos volátiles en muestras *Detector de Fotometría a la Llama:* basado en la medida de la intensidad de la emisión molecular de la fluorescencia de heteroátomos complejas previa separación cromatográfica. ^(30,32)

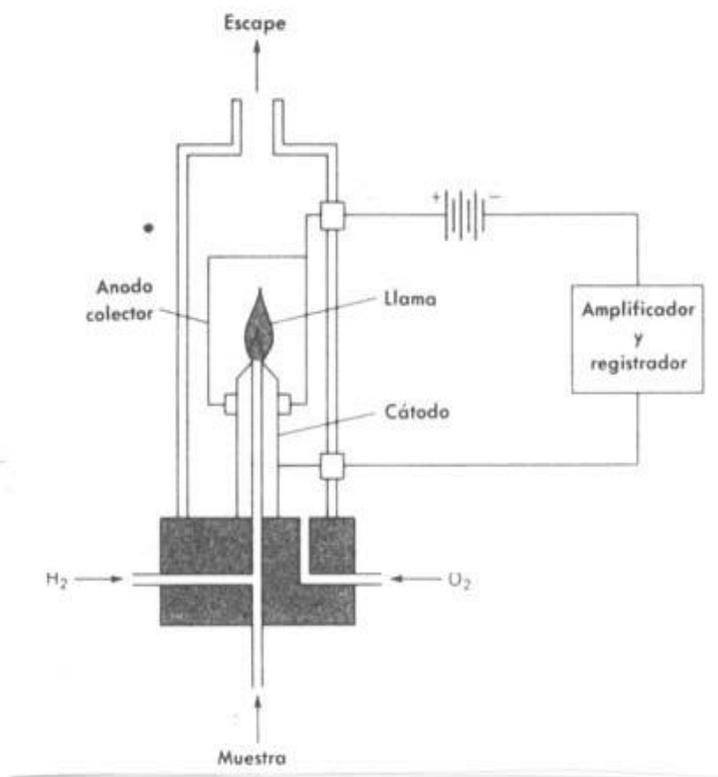


Figura 6. Detector de ionización a la llama. ⁽³²⁾

2.4.2 Aplicaciones

La GC tiene dos importantes campos de aplicación. Por una parte permite separar mezclas orgánicas complejas, compuestos organometálicos y sistemas bioquímicos.

Su otra aplicación es como método para determinar cuantitativa y cualitativamente los componentes de la muestra. Para el análisis cualitativo se suele emplear el tiempo de retención, que es único para cada compuesto dadas unas determinadas condiciones (mismo gas portador, rampa de temperatura y flujo) o el volumen de retención. En aplicaciones cuantitativas, integrando las áreas de cada compuesto o midiendo su altura y recurriendo a una curva de calibración se obtiene la concentración o cantidad presente de cada analito.

2.5 VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Existen numerosas definiciones de validación analítica; así ha sido definida como un proceso mediante el cual se demuestra la aplicabilidad de un método analítico y consiste en el establecimiento de una evidencia documentada que demuestre con alto grado de probabilidad, que el método es lo suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de los intervalos definidos

Para realizar una validación efectiva se necesita tener en cuenta una serie de parámetros importantes para llegar a conclusiones significativas sobre el comportamiento del método. Dentro de estos tenemos: Linealidad, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación. ^(33,36)

2.5.1 LINEALIDAD

Es la capacidad de este para asegurar que los resultados analíticos obtenidos directamente o mediante una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo definido.

Este parámetro se expresa mediante la construcción de una curva de calibración en la que una cantidad medida “y” se relaciona en proporción directa con la concentración conocida “x” de una serie de patrones. ^(33, 34,35)

El procedimiento consiste en que el analista toma una serie de estándares los cuales se miden en el instrumento de acuerdo al método, en las mismas condiciones en que serán medidas las muestras problema. Una vez establecida la grafica de calibración, se puede obtener la concentración del analito de cualquier muestra por interpolación. Como es común, el grafico tiende a una línea recta. Sin embargo no todos los datos caerán en la línea recta, lo cual se debe a errores aleatorios en el proceso de medición. Por lo tanto se debe trazar la mejor línea recta a través de los puntos. Esto se logra utilizando una técnica estadística conocida como análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados en el cual se consideran dos suposiciones:

1 – Que existe una relación lineal entre la variable medida “y” y la concentración del analito “x”. Esta es una suposición matemática denominada modelo de regresión, que se representa por la ecuación:

$$y = a + bx \quad \text{Ecuación (1)}$$

Donde:

y = la respuesta del equipo, en este caso el área.

a = intercepto

b = pendiente de la recta

x = concentración

2 - Cualquier desviación de los puntos individuales respecto de la recta, es consecuencia del error en la medición.

Para simplificar los cálculos en la aplicación del método de mínimos cuadrados se definen tres cantidades S_{xx} , S_{yy} y S_{xy} .

Las dos primeras son la suma de los cuadrados de las desviaciones de la media para los valores individuales x y y, mientras que la tercera es la suma de los productos de las desviaciones de la media para los valores individuales x y y; las cuales se definen como:

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2/n \quad \text{Ecuación (2)}$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2/n \quad \text{Ecuación (3)}$$

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i/n \quad \text{Ecuación (4)}$$

El calculo de S_{xx} , S_{yy} y S_{xy} permite la evaluación de parámetros de interés tales como:

La pendiente de la línea:

$$b = S_{xy} / S_{xx} \quad \text{Ecuación (5)}$$

La ordenada en el origen (intercepto) :

$$a = \bar{y} - bx \quad \text{Ecuación (6)}$$

La desviación estándar de la regresión:

$$S_r = \sqrt{(S_{yy} - b^2 S_{xx}) / (n - 2)} \quad \text{Ecuación (7)}$$

Y el coeficiente de correlación:

$$r = S_{xy} / \sqrt{S_{xx} \cdot S_{yy}} \quad \text{Ecuación (8)}$$

El coeficiente de correlación debe ser igual o mayor de 0.99, mientras que la potencia de correlación, r^2 mayor o igual a 0.98^(33, 34, 36)

2.5.2 EXACTITUD

La ISO 5725-2,6 (1994) define este término como la estrecha relación que existe entre la media aritmética obtenida de varios resultados analíticos en el procedimiento en estudio y el valor real o valor de referencia aceptado; la cual está influenciada por errores sistemáticos como la utilización de equipos de medición no adecuados, una calidad de reactivos incorrecta o no utilizar el método analítico apropiado.

Para poder realizar un cálculo de la exactitud del método a validar, es necesario disponer de un valor de referencia. Mediante pruebas estadísticas se determina si entre el valor medio obtenido a partir de los resultados experimentales y el valor de referencia no existe diferencia significativa que conduzca al rechazo del resultado. Si esta diferencia existiera, se redefinirá el procedimiento (por ejemplo incluyendo la realización de correcciones) de manera que los resultados obtenidos sean coherentes.⁽³⁶⁾

Dentro de este contexto se indican a continuación tres posibles vías de obtención del valor de referencia. Estas posibles son:

Mediante una referencia externa. La referencia externa puede consistir en: un material de referencia certificado (M.R.C.), un material de referencia (M.R.)/Patrón químico ó una muestra obtenida a partir de un programa ínter laboratorio.

Mediante comparación de métodos. Comparación interna, mediante el estudio del comportamiento de un analito en una muestra analizada por diferentes métodos en el propio laboratorio ó comparación externa, mediante la participación en un programa ínter laboratorio.

Mediante el método de adiciones. Este consiste en añadir una cantidad conocida de patrón a la muestra y comparar la diferencia entre los resultados que se obtienen de la muestra sin adicionar y la muestra adicionada, con el valor teórico de la adición que se toma como valor de referencia.

Todos los resultados se deben obtener de la aplicación completa del método, es decir sin omitir ninguna de las etapas que lo integran. La exactitud se puede evaluar: comparando el método analizado con uno de referencia; utilizando materiales de referencia de valores conocidos o realizando estudios de recobro. ^(31, 33,35)

En el presente trabajo para la determinación de la exactitud se preparan diversas muestras a las que se les adiciona una cantidad conocida de metanol, para obtener una concentración específica.

La exactitud del método se expresa como porcentaje de recobro ó porcentaje error.

$$\% \text{ de recobro} = \frac{\text{concentración calculada}}{\text{concentración original}} \times 100 \quad \text{Ecuación (9)}$$

$$\% \text{ de error} = 1 - \frac{\text{concentración calculada}}{\text{concentración original}} \times 100 \quad \text{Ecuación (10)}$$

El grado de exactitud se determina restándole a 100% el porcentaje de error.

Criterios de aceptación

Muestra enriquecida

Los porcentajes de recuperación obtenidos, deben encontrarse dentro del $100\% \pm 4S$, donde S es la mayor desviación estándar obtenida en la determinación de la precisión del método o del sistema. Al graficar la respuesta del ensayo (cantidad total encontrada), contra la cantidad de analito adicionada, la pendiente debe ser mayor o igual a 0.95. ⁽³⁴⁾

2.5.3 REPETIBILIDAD

Es la medida de la precisión de un método llevada a cabo sobre la base de un número suficiente de determinaciones de una muestra homogénea, en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio con los mismos equipos y reactivos; generalmente en un corto intervalo de tiempo, por lo cual evalúa la variabilidad intrínseca del proceso. También se nombra precisión intra-ensayo.

El parámetro estadístico que caracteriza a este estudio es la desviación estándar ⁽¹⁷⁾ o preferiblemente el coeficiente de variación (desviación estándar relativa).

El tratamiento estadístico consiste en el análisis de varianza (ANOVA) para establecer si existen o no diferencias significativas entre las curvas de calibración hechas por el mismo analista en diferentes días. Para lo cual recurrimos a la prueba F de Snedecor. Si no existe diferencia significativa según la prueba F con un nivel de significancia del 5% se puede establecer que el método es repetible en el intervalo de concentración establecido.

2.5.4 LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección, se define como la cantidad ó concentración más pequeña de un analito que puede ser detectada con suficiente precisión, a partir del ruido ó señal del blanco, pero no necesariamente cuantificada con exactitud expresión (11).

Cuando las medidas se realizan sobre el límite de cuantificación expresión (12), y se requiere tener una referencia del límite de detección, éste puede ser estimado multiplicando por tres la desviación estándar de la concentración de un blanco ó un fortificado con analito

cercano al nivel más bajo del rango de trabajo, tomando un número de lecturas no menor de 10. De esta forma, el límite de detección se calcula mediante la expresión (11):

$$\mathbf{LD= 3 S_{bl} / b} \quad \mathbf{(11)}$$

Donde S_{bl} es la desviación estándar de las lecturas obtenidas con el blanco y b es la pendiente de la curva de calibración. Se divide entre el valor de la pendiente para tener expresado el límite de detección en unidades de concentraciones. ^(31, 32, 33,36)

2.5.5 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación de un procedimiento analítico, es la concentración más baja de analito en una muestra que puede ser determinada cuantitativamente con un nivel aceptable de precisión y exactitud expresión (12). Este se establece cuando es necesario especificar el límite más bajo de las medidas en el rango de trabajo del método, que permite obtener un nivel aceptable de exactitud expresión (12).

El límite de cuantificación se estima sobre la base de 10 veces la desviación estándar de la concentración de un blanco, tomando un número de lecturas no mayor de 20. De esta forma, el límite de cuantificación se calcula mediante la expresión (12):

$$\mathbf{LC= 10 S_{bl} / b} \quad \mathbf{(12)}$$

El significado de los términos de la expresión (12) es el mismo que en el caso del límite de detección. El valor 10 está relacionado con el error aleatorio relativo inherente a la determinación de la concentración del analito.

Ambos límites pueden determinarse mediante la relación señal/ruido. Este procedimiento será de aplicación en el caso de métodos instrumentales. Otros autores señalan la variante de análisis repetidos con o sin corrección de lectura frente a un blanco en el caso de métodos espectroscópicos y cromatográficos, respectivamente.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 METODOLOGÍA

El método utilizado para determinar metanol en bebidas alcohólicas fue el de cuantificación de metanol por estandarización externa, usando cromatografía de gases (“Official Methods of Analysis of the A.O.A.C”, 14ª edición, 1984. 5.008-5.011).

Todas las determinaciones de metanol se realizaron en un cromatógrafo de gases Shimadzu (GC-14A), el cual posee un detector de ionización de llama y un sistema de inyección manual tipo split/splitless. El horno estaba equipado con una columna capilar de 50 m. de longitud, con un espesor de la película de la fase estacionaria de 0.33 μm de polietilenglicol y diámetro interno de 0.2 mm. La fase móvil utilizada fue nitrógeno.

El método consiste en la inyección de una pequeña cantidad de muestra en el inyector de un cromatógrafo de gases, en el que los componentes de la muestra son vaporizados y transportados por un gas inerte a través de una columna capilar con un líquido de partición que presenta solubilidad selectiva con los componentes de la muestra, ocasionando su separación. Los componentes que eluyen de la columna pasan por el detector, el cual genera una señal eléctrica proporcional a su concentración, la que es transformada en una grafica llamada cromatograma, en donde idealmente, cada componente va a estar representado por una banda o pico de forma gaussiana; esta serie de picos sirven como base para los análisis cualitativo y cuantitativo.

La identificación de cada componente, registrado como un pico en el cromatograma, se realiza por inyección del o los componentes en forma pura, los cuales se sospecha contiene la muestra, midiendo el tiempo de retención en esas condiciones. También se puede comprobar por adición del componente a la muestra e inyectándola nuevamente para apreciar el incremento de altura o área del pico correspondiente.

La cuantificación se puede efectuar por cualquiera de los tres métodos siguientes; normalización, estandarización interna y estandarización externa, siendo este último el utilizado en este trabajo.⁽³⁷⁾

El trabajo experimental consta de las siguientes etapas:

- Establecimiento de las condiciones de operación en el cromatógrafo de gases Shimadzu (GC-14A)
- Validación del método.
- Recolección de muestras.
- Cuantificación del metanol contenido en muestras.

3.2 ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN.

Las condiciones de operación se deben establecer en cada caso de acuerdo a la situación geográfica y al aparato. En este trabajo las condiciones a utilizar se establecieron en base a pruebas realizadas en el cromatógrafo Shimadzu (GC-14A) y utilizando soluciones de metanol y etanol, determinando lo siguiente:

- Temperatura del inyector 200°C
- Temperatura del detector 225°C
- Cantidad de muestra inyectada 1µL
- Flujo del gas portador 10 mL/min.
- Temperatura de la columna, en este caso se procede a programarla de la siguiente forma: comenzamos con una temperatura inicial de 60°C manteniéndola en este valor por 2 minutos, proseguimos con un aumento lineal de 10°C por minuto hasta llegar a una temperatura final de 200°C

3.3 VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Los parámetros estudiados se seleccionaron en función de las características y objetivos del método analítico utilizado. En este trabajo se considera la linealidad, exactitud, repetibilidad, límite de detección y límite de cuantificación.

Linealidad.

Este parámetro se determinó analizando ocho soluciones patrón con concentraciones de 19.8, 39.6, 79.2, 158.4, 237.6, 316.8, 475.2 y 600 mg de metanol / 100 mL, utilizando como disolvente una disolución acuosa de etanol al 40% (v/v). El cálculo de la línea de regresión y del coeficiente de correlación se efectuó por mínimos cuadrados, a partir de las

áreas promedio de tres replicas para cada caso y de los valores de concentración respectivos.

Exactitud.

Se prepararon tres muestras a las concentraciones de 100, 350 y 600 mg / 100mL y se procedió a determinar el contenido de metanol de las soluciones por triplicado, determinando el porcentaje de recobro, porcentaje de error y la desviación estándar relativa (DER).

Repetibilidad

Para la determinación de la repetibilidad se elaboraron por el mismo analista y durante tres días de la misma semana, tres curvas de calibración de las cuales el resumen se muestra en la tabla 3.5. Estas curvas que presentan el área promedio contra la concentración, se ajustaron por el método de mínimos cuadrados demostrando la relación lineal existente se aplico el tratamiento estadístico (ANOVA) el cual consiste en el análisis de varianza, para establecer si existen o no diferencias significativas entre las curvas de calibración hechas.

Límite de detección y límite de cuantificación.

Se realizó posteriormente a la determinación de los parámetros linealidad y exactitud, para lo cual se empleó una aproximación basada en la comparación de las señales medidas de muestras que contienen pequeñas cantidades conocidas de metanol y se determinó la relación señal ruido.

Una relación señal – ruido de 3:1 se considera generalmente aceptable para el límite de detección y una relación señal – ruido de 10:1 para estimar el límite de cuantificación.

$$LD = 3 S_{bl} / b \quad (11)$$

$$LC = 10 S_{bl} / b \quad (12)$$

Donde:

S_{bl} = Desviación estándar de la respuesta de los n blancos.

b = Pendiente de la recta de calibración.

3.4 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.

Las muestras se obtuvieron aleatoriamente agrupándolas según su tipo en vodka, whisky, tequila, ron y chaparro. Se colectaron en los diferentes establecimientos que las comercializan, tales como supermercados y expendios; se tomó en cuenta la información siguiente: nombre del producto, graduación alcohólica, fecha de producción e identificación de lote producción, a excepción del chaparro que es una bebida de fabricación casera.

Se analizaron un total de 38 muestras entre las que tenemos 17 vodkas, 8 whiskies, 6 tequilas, 4 rones y 3 chaparros.

3.5 ELABORACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN.

Para cuantificar el metanol presente en las muestras de bebidas alcohólicas utilizando una curva de calibración con patrones externos se procedió así:

En un balón volumétrico de 100 mL. se preparó una solución llevándolo aproximadamente a la mitad con etanol al 40% V/V Se midió 0.75 mL de metanol y fue transferido al balón, luego se aforó con la solución de etanol al 40% V/V. Se homogenizó, obteniendo una solución de concentración de 600 mg/100mL.

Posteriormente se prepararon siete soluciones por dilución de la anterior, a las concentraciones de 475.2, 316.8, 237.6, 158.4, 79.2, 39.6 y 19.8 mg/100 mL.

Se procedió a inyectar 1 μ L de cada una de las soluciones por triplicado en el cromatógrafo de gases, para obtener las áreas que nos permiten elaborar la curva de calibración correspondiente, que es útil para la cuantificación de metanol en las muestras de bebidas alcohólicas.

4. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados obtenidos en la validación del método utilizado, así como, los resultados de la determinación de metanol en las muestras de bebidas alcohólicas.

4.1 LINEALIDAD DEL MÉTODO

La linealidad del método se determinó preparando ocho soluciones patrón con concentraciones de metanol de 19.8, 39.6, 79.2, 158.4, 237.6, 316.8, 475.2 y 600 mg / 100mL, preparadas según se explico en la parte experimental, se inyectó por triplicado cada una de estas soluciones durante un día de trabajo. En la tabla 3 se muestran los resultados del área medida en cada caso y su respectivo promedio

C (mg/100mL)	A ₁	A ₂	A ₃	A (promedio)
19.8	3 677	3684	3679	3680
39.6	7011	7003	7016	7010
79.2	14481	14512	14537	14510
158.4	30028	29900	30192	30040
237.6	42475	42491	42510	42492
316.8	56424	56415	56418	56419
475.2	86140	86125	86137	86134
600.0	133949	113953	113975	113959

Tabla 2. Resultados obtenidos al elaborar la curva de calibración 01 para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.

Aplicando el método de mínimos cuadrados se procede a la determinación de los términos de la ecuación correspondiente a la curva de calibración mostrada en la figura (7), partiendo de las lecturas del área promedio correspondiente a tres replicas versus la concentración en mg /100mL.

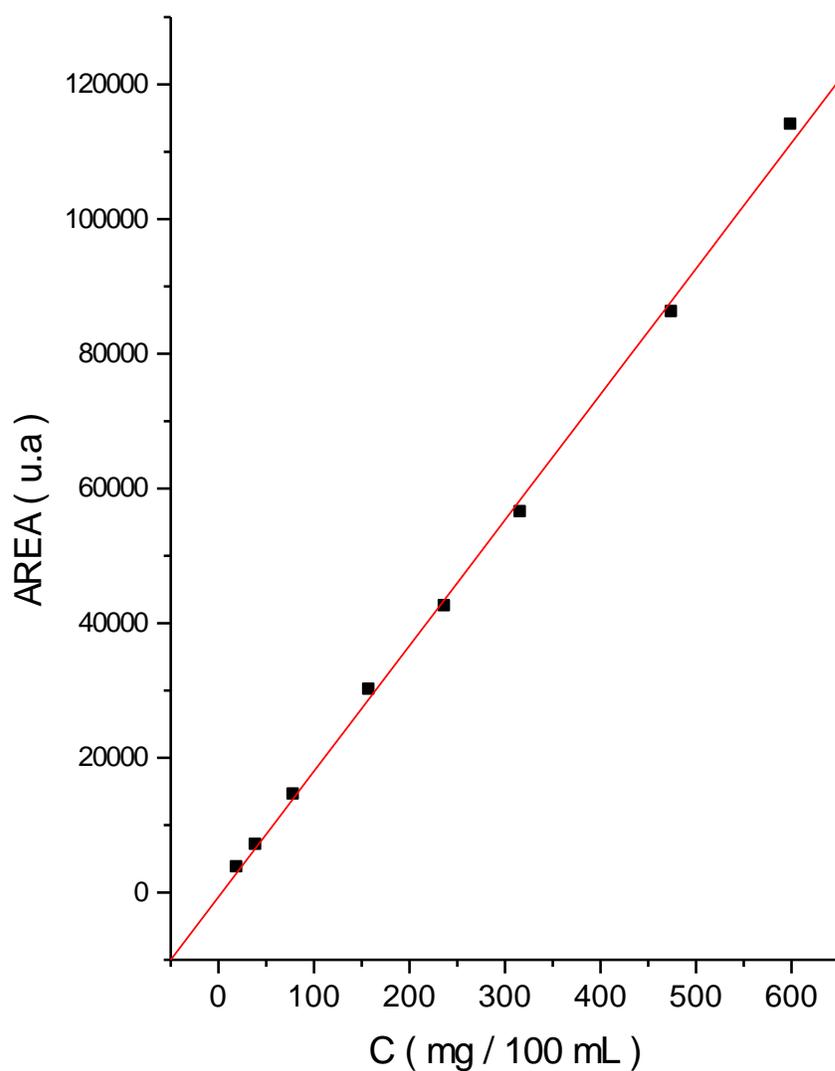


Figura 7. Curva de calibración (01)

El coeficiente de correlación se calculó a través de la ecuación (8), obteniendo un valor de 0.999, lo cual indica que existe relación lineal entre la concentración del analito (x) y el área medida (y), en el rango de 19.8 a 600 mg/100mL. Los valores de pendiente (b) e intercepto (a) son los reportados en los resultados de regresión lineal en la tabla 4.1. De acuerdo a las ecuaciones (5) y (6); también se calculó la desviación estándar de la regresión (Sr) utilizando la ecuación (7).

Regresión lineal:

Parámetro	Valor	Sd
a	-543.48	807.37
b	186.22	2.59

Tabla 3. Resultados obtenidos de regresión lineal curva 01

$$y = a + bx$$

$$r = 0.999$$

$$Sr = 1447.99 \quad n = 8$$

4.2 DETERMINACIÓN DE LA REPETIBILIDAD

Para la determinación de este parámetro un analista elaboró durante tres días de la misma semana, tres curvas de calibración manteniendo las condiciones de linealidad ya mencionadas. En las tablas 4 y 5 se presentan los resultados obtenidos y los promedios de las áreas correspondientes a las curvas de calibración (02) y (03); los resultados de la curva (01) se presentaron en la tabla 2 y 3.

C (mg/100mL)	A ₁	A ₂	A ₃	A (promedio)
19.8	3590	3584	3679	3618
39.6	7018	7074	7016	7036
79.2	14407	14328	14537	14424
158.4	30268	30219	30192	30226
237.6	42542	42514	42510	42522
316.8	56741	56725	56418	56628
475.2	86559	86560	86137	86418
600.0	113264	113272	113975	113503

Tabla 4. Resultados obtenidos al elaborar la curva de calibración 02 para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.

C (mg/100mL)	A ₁	A ₂	A ₃	A (promedio)
19.8	3555	3442	3675	3557
39.6	7102	7185	7151	7146
79.2	14284	14263	14368	14305
158.4	30630	29561	31735	30642
237.6	42364	41189	42492	42015
316.8	56419	55407	56567	56131
475.2	85326	85134	86337	85599
600.0	112040	113537	113162	112913

Tabla 5. Resultados obtenidos al elaborar la curva de calibración 03 para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.

En las figuras 8 y 9 se presentan graficados los resultados del área promedio contra la concentración de las curvas (02) y (03), el ajuste de la línea se realizó con el método de mínimos cuadrados siguiendo el procedimiento descrito en la sección 3.1 de este trabajo. Los resultados se presentan en las tablas 4.4 y 4.5. El coeficiente de correlación lineal r se calculó a través de la ecuación (8), obteniendo los valores de 0.999 y 0.999 respectivamente lo que indica que existe relación lineal entre la concentración del analito (x) y el área medida (y), en el rango de 19.8 a 600 mg/100mL.

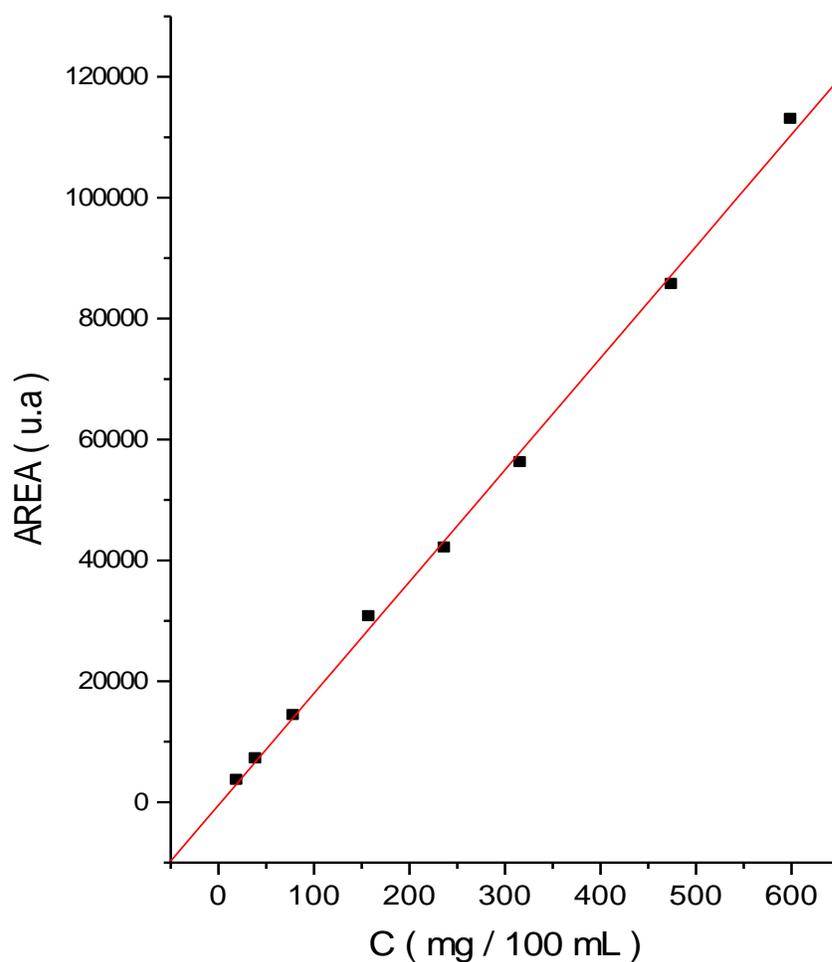


Figura 8. Curva de calibración (02)

Regresión lineal:

Parámetro	Valor	Sd
A	-489.81	985.65
B	184.89	3.16

Tabla 6. Resultados obtenidos de regresión lineal curva 02

$$y = a + bx$$

$$r = 0.999$$

$$Sr = 1767.72 \quad n = 8$$

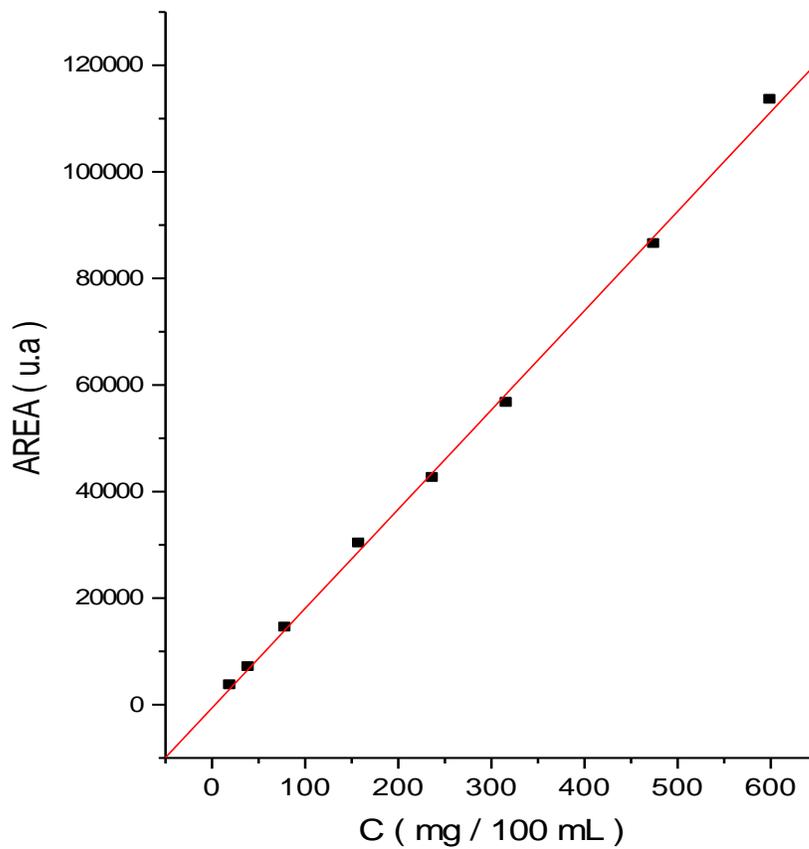


Figura 9. Curva de calibración (03)

Regresión lineal:

Parámetro	Valor	Sd
a	-663.18	968.41
b	186.62	3.10

Tabla 7. Resultados obtenidos de regresión lineal curva 03

$$y = a + bx$$

$$r = 0.999$$

$$Sr = 1736.80 \quad n = 8$$

El tratamiento estadístico para determinar la repetibilidad, consiste en el análisis de varianza (ANOVA) para establecer si existen o no diferencias significativas entre las curvas de calibración hechas por el mismo analista en diferentes días. Si no existe diferencia significativa según la prueba F con un nivel de significancia del 5% se puede establecer que el método es repetible en el intervalo de concentración establecido.

Para ello se determina el valor F experimental, el cual se calcula de acuerdo a:

$$F_{Exp} = (Sr_1)^2 / (Sr_2)^2 \quad (15)$$

Donde Sr_1 y Sr_2 corresponden a las desviaciones de la regresión de las dos curvas de calibración que se comparan, de tal forma que el numerador $(Sr_1)^2$ sea mayor que el denominador $(Sr_2)^2$. El valor de F experimental se compara con el valor de F de tabla, considerando n_1-2 grados de libertad en el numerador y n_2-2 grados de libertad en el denominador, para un nivel de significancia del 5%. La prueba F establece una hipótesis nula, la cual se confirma o rechaza de acuerdo al resultado de la comparación planteando dos situaciones:

- 1) si $F_{Exp} < F_{Tabla}$ se confirma la hipótesis nula establecida, que en este caso es que no existe diferencia significativa entre las curvas de calibración que se están comparando, por lo que el método cumple con la condición de repetibilidad en las condiciones de trabajo establecidas.
- 2) Si $F_{Exp} > F_{Tabla}$ la hipótesis nula se rechaza es decir, que si existe diferencia significativa entre las curvas de calibración que se comparan.

En la tabla 8 se presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración 01, 02 y 03 resumidas en la tabla 4.6. Para las tres comparaciones se tiene que $F_{Exp} < F_{Tabla}$ y por lo tanto no existe diferencia estadística significativa lo que demuestra que el método de determinación de metanol por estandarización externa usando cromatografía de gases (“Official Methods of Analysis of the A.O.A.C”, 14^a edición, 1984. 5.008-5.011) cumple con la condición de repetibilidad, en las condiciones de trabajo empleadas.

C (mg/100mL)	Curva 01 \bar{A}	Curva 02 \bar{A}	Curva 03 \bar{A}
19.8	3680	3557	3618
39.6	7010	7146	7036
79.2	14510	14305	14424
158.4	30040	30642	30226
237.6	42492	42015	42522
316.8	56419	56131	56628
475.2	86134	85599	86418
600	113959	112913	113503
	a = -543.48 b = 186.22 Sr = 1447.99 r = 0.999 n = 8	a = -489.82 b = 184.89 Sr = 1767.72 r = 0.999 n = 8	a = -663.18 b = 186.62 Sr = 1736.80 r = 0.999 n = 8

Tabla 8. Resumen de resultados obtenidos al elaborar las curvas de calibración (01), (02) y (03) para la cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas por estandarización externa.

Curva	(Sr)	Datos (N)	F _{Exp}	Conclusión
1	1447,99	8	$(Sr_2)^2 / (Sr_1)^2 = 1.22$	F _{Exp} < F _{Tabla}
2	1767,72	8		

1	1447,99	8	$(Sr_3)^2 / (Sr_1)^2 = 1.20$	F _{Exp} < F _{Tabla}
3	1736,80	8		

2	1767,72	8	$(Sr_2)^2 / (Sr_3)^2 = 1.02$	F _{Exp} < F _{Tabla}
3	1736,80	8		

$$F_{\text{Tabla}}: F_{6, 6, 5\%} = 4.28$$

Tabla 9. Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración (0.1), (0.2) y (0.3) para la cuantificación de metanol por estandarización externa.

4.3 EXACTITUD

Para la determinación de este parámetro se realizó un ensayo de porcentaje de recobro, para conocer la exactitud a diferentes concentraciones. La curva de calibración utilizada para este ensayo es la curva 01 cuyo rango de concentración es de 19.8 a 600 mg /100mL. Los valores de intercepto, pendiente y coeficiente de correlación para esta curva son: $a = -543.48$, $b = 186.22$ y $r = 0.9994$. Para este ensayo se prepararon tres muestras de concentración conocida se inyectaron por triplicado para determinar la concentración final de metanol. Y se procedió al cálculo del porcentaje de recobro, los resultados del análisis se muestran en la tabla 10.

C (mg/100mL)	Área promedio	Recobro (%)
20	3330	101.1
250	46637	101.7
500	92000	99.8

Tabla 10. Exactitud del método cromatográfico

Promedio del %recobro =100.89

Los resultados obtenidos y presentados en la tabla 10. Muestran que el promedio del porcentaje de recobro es 100.89, lo que indica que la exactitud del método para la determinación de metanol en los niveles de concentración especificados es aceptable.

4.4 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN Y DETECCIÓN

Para la determinación del límite de cuantificación y detección, se midió la relación señal / ruido, por tratarse de un método instrumental, se programó el equipo para trabajar al área mínima y poder tomar datos de áreas antes y después de los picos cromatograficos más pequeños encontrados en estas condiciones; se tomó un total de 20 muestras con 10 valores de área para cada una, luego se sacó un promedio y la desviación estándar del ruido para aplicarlos en las ecuaciones (11) y (12).

Muestra	Tiempo de retención (min.)	Área (u.a)	Concentración (mg / 100 mL)	Media	Desviación. Estándar.
1	10.896	8	2.96		
2	10.941	11	2.98		
3	10.941	11	2.98		
4	10.958	8	2.96		
5	10.968	8	2.96		
6	10.906	8	2.96		
7	10.941	11	2.98		
8	10.951	10	2.97		
9	10.916	10	2.97		
10	10.941	11	2.98	2.97	S = 0,22809
11	10.916	8	2.96		
12	10.951	10	2.97		
13	10.911	11	2.98		
14	10.913	11	2.98		
15	10.9137	8	2.96		
16	10.917	10	2.97		
17	10.941	10	2.97		
18	10.939	8	2.96		
19	10.916	11	2.98		
20	10.927	8	2.96		LC = 1.22X10⁻²
n = 20					LD = 3.67X10⁻³

Tabla 11. Resultados obtenidos del análisis de sensibilidad, Limite de detección y cuantificación.

El valor del límite de cuantificación que se reporta en la tabla 4.9 es 1.22×10^{-2} mg/100mL calculado utilizando la ecuación (11) con los valores de la tabla (4). Este valor obtenido de límite de cuantificación indica la concentración más baja de metanol en una muestra que puede ser determinada cuantitativamente, con un nivel aceptable de exactitud, utilizando el método en estudio.

El valor del límite de detección que se reporta en la tabla 4.9. Es 3.67×10^{-3} mg / 100mL que se ha calculado utilizando la ecuación (12) con los valores de la tabla (4). El valor de límite de detección obtenido indica la concentración mas baja de metanol en una muestra que puede ser detectada mas no cuantificada, con un nivel aceptable de exactitud, utilizando el método (“Official Methods of Analysis of the A.O.A.C”, 14ª edición, 1984. 5.008-5.011)

4.5 CROMATOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LA DETERMINACIÓN DE METANOL EN MUESTRAS DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS SELECCIONADAS

En este apartado se presentan los cromatogramas correspondientes a algunas de las muestras analizadas, en algunos de los casos se ha hecho una ampliación para observar los detalles. En su mayoría presentan dos picos cromatograficos, el primero correspondiente al metanol con un tiempo de retención de 10.8 - 10.9 minutos y el segundo que corresponde al etanol con un tiempo de retención de 11.3 - 11.4 minutos. De los cromatogramas también se extrae los valores de las áreas de los picos, con estos datos y los de la curva de calibración del metanol es posible obtener la concentración para dicho compuesto.

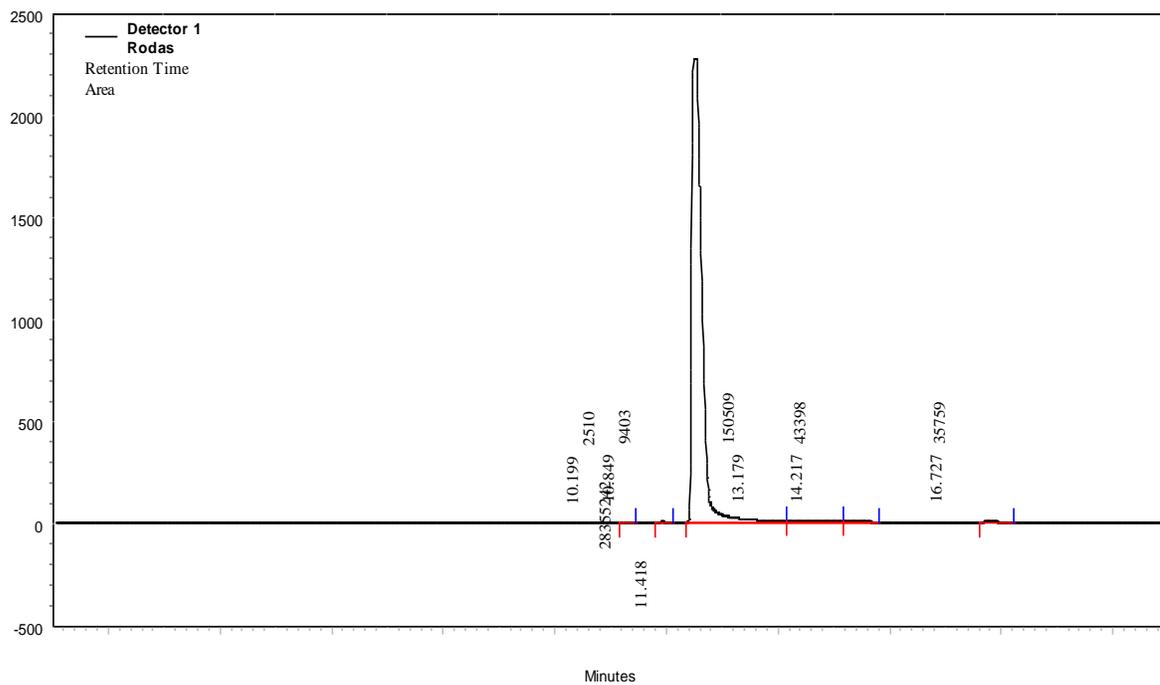


Figura 10. Cromatograma correspondiente a la muestra de Whisky WR

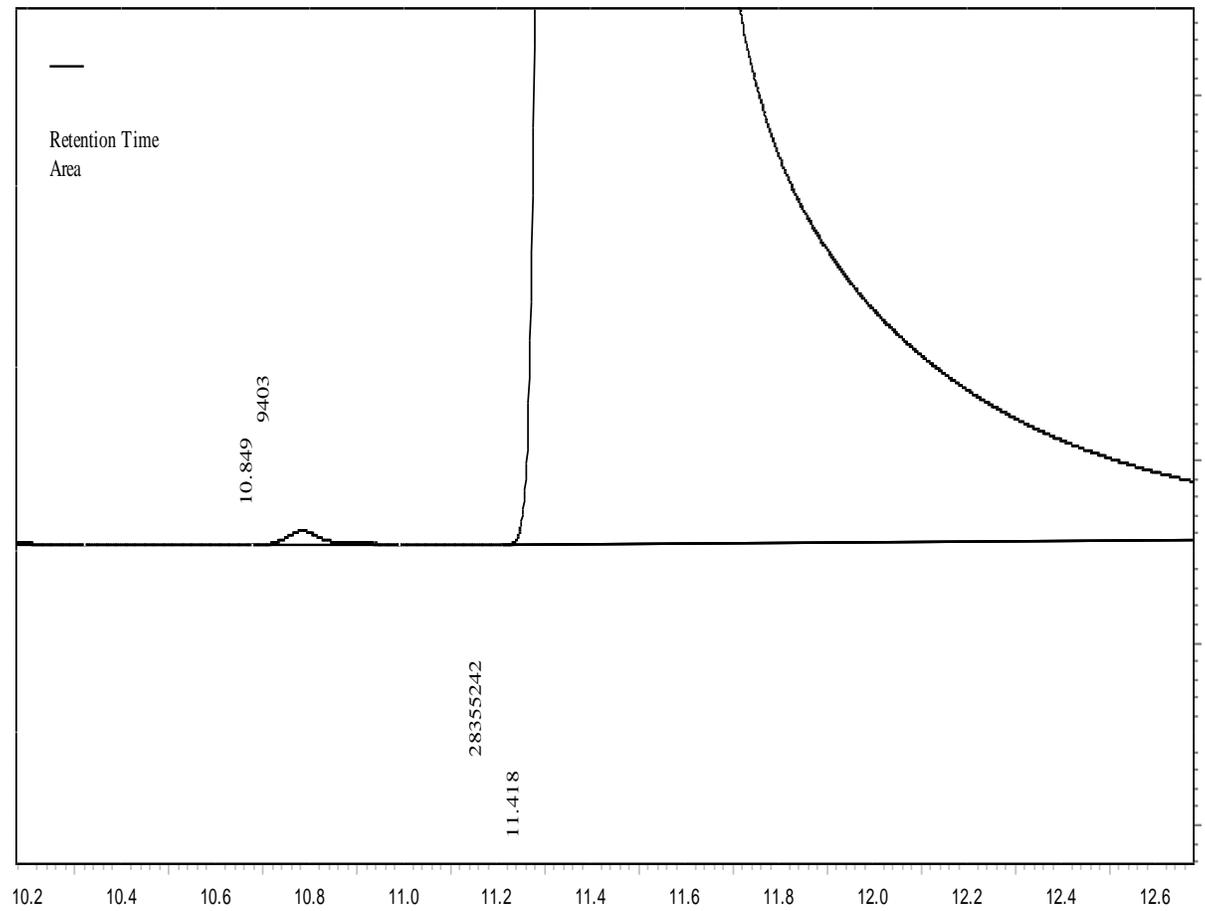


Figura 11. Cromatógrama correspondiente a la ampliación muestra de Whisky WR.

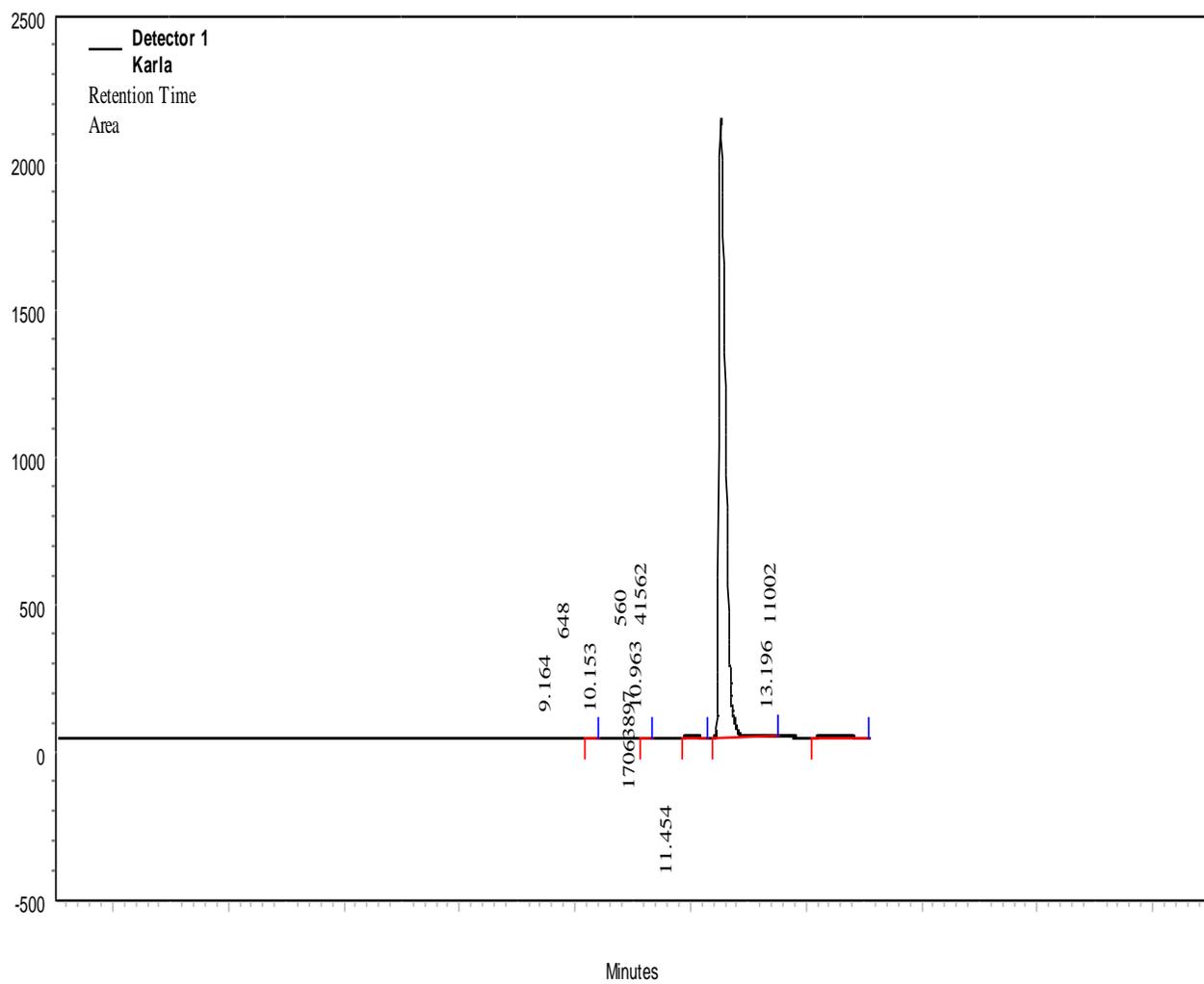


Figura 12. Cromatógrama correspondiente a la muestra de chaparro CK.

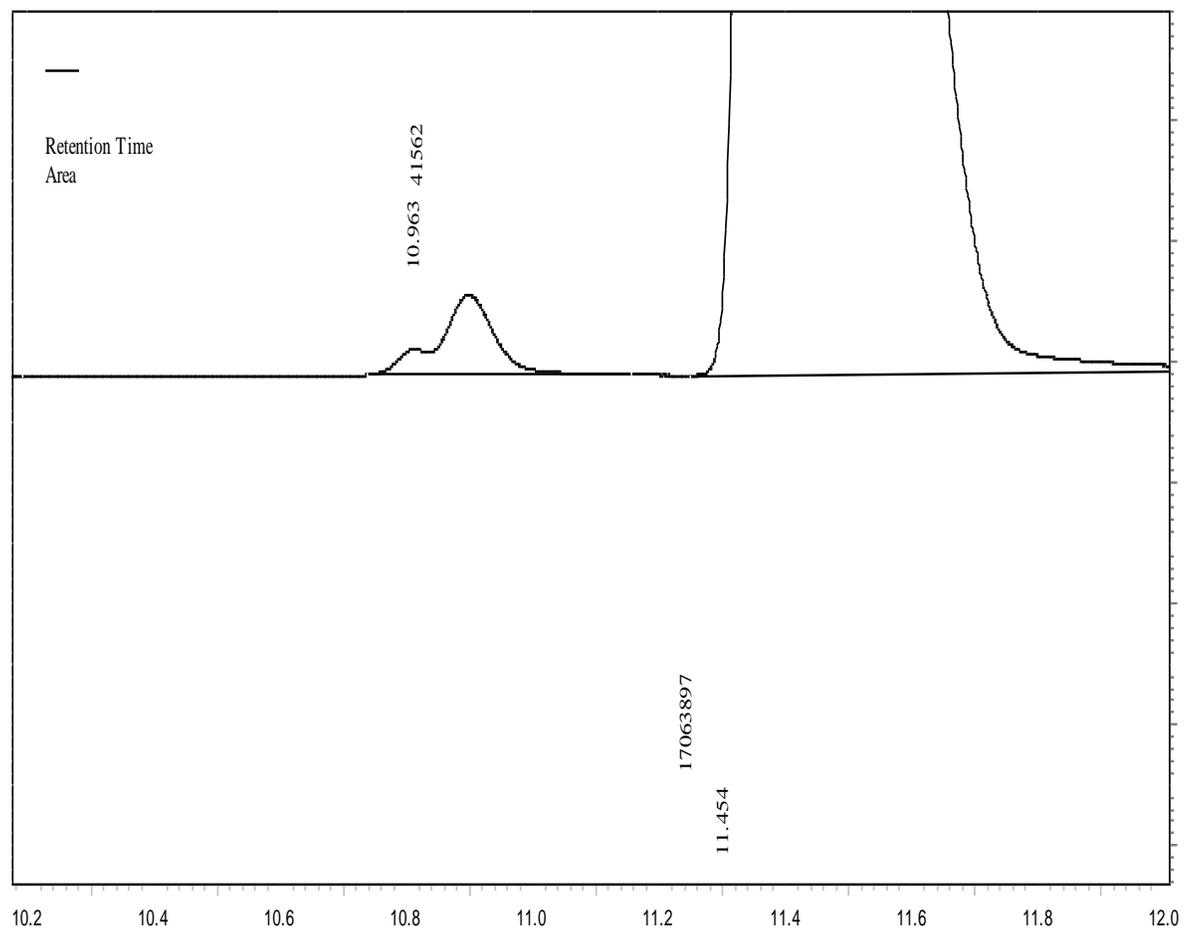


Figura 13. Cromatograma correspondiente a la ampliación muestra de chaparro CK

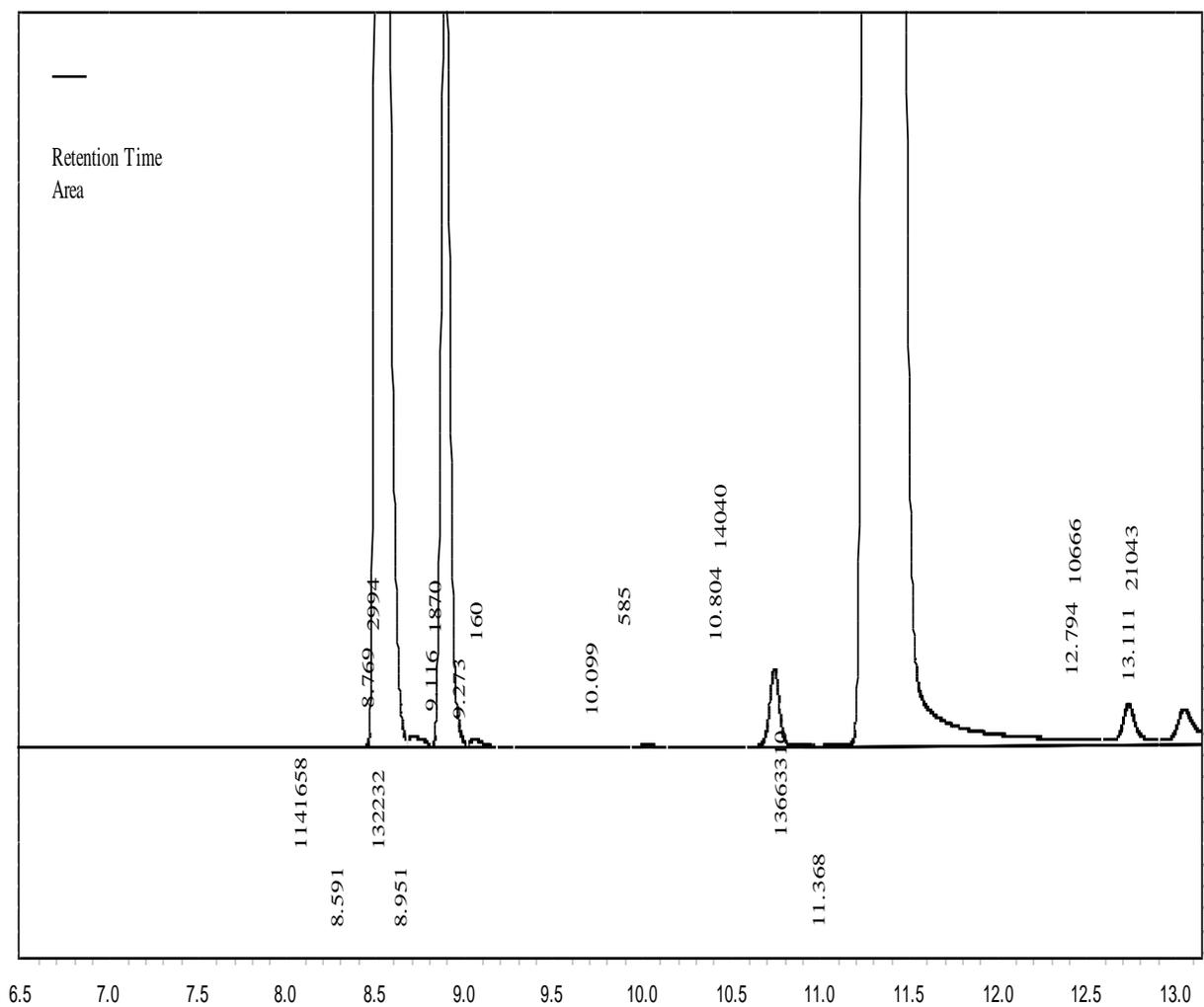


Figura 14. Cromatograma correspondiente a la muestra de Ron RY.

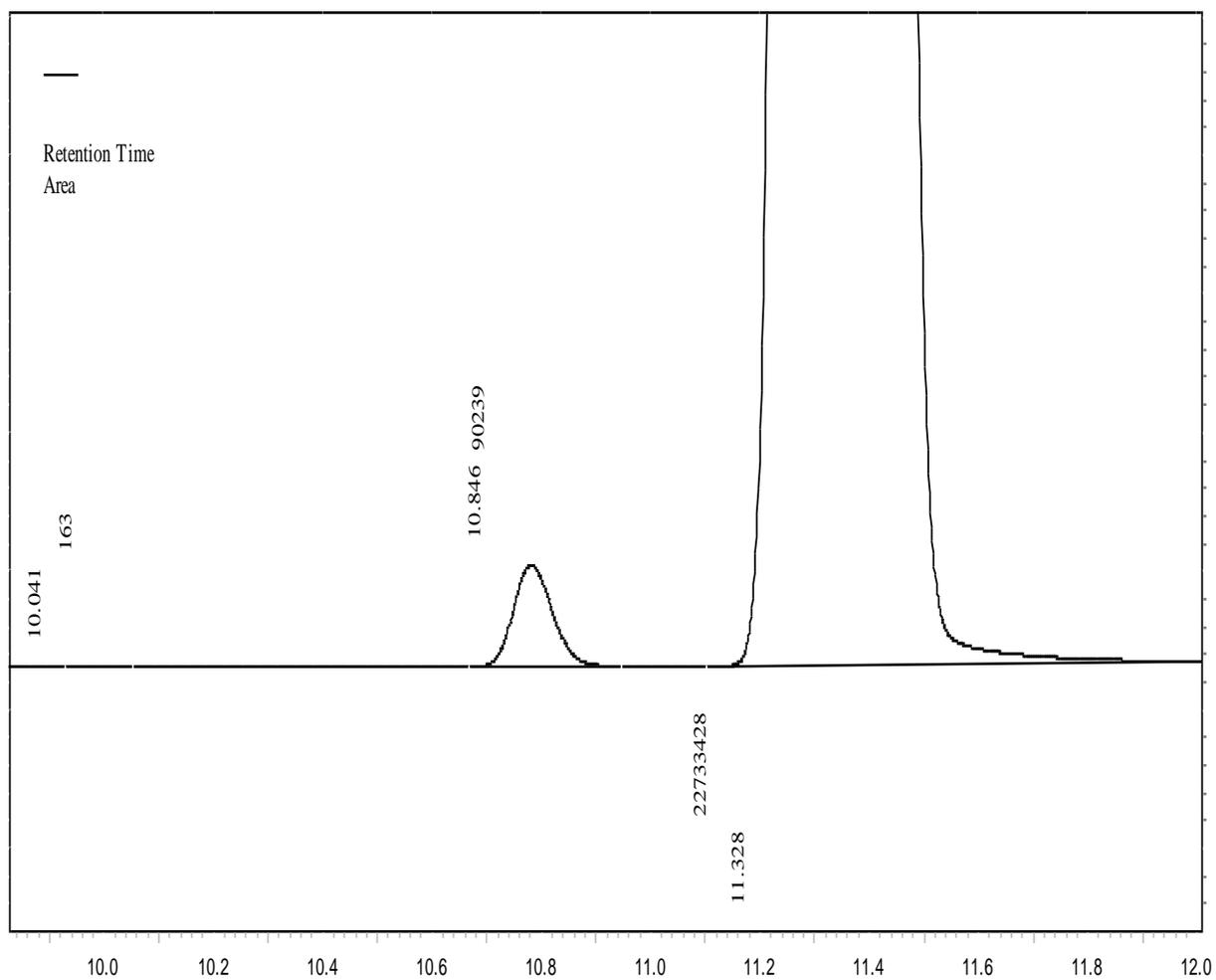


Figura 15. Cromatógrama correspondiente a la muestra de Tequila TE

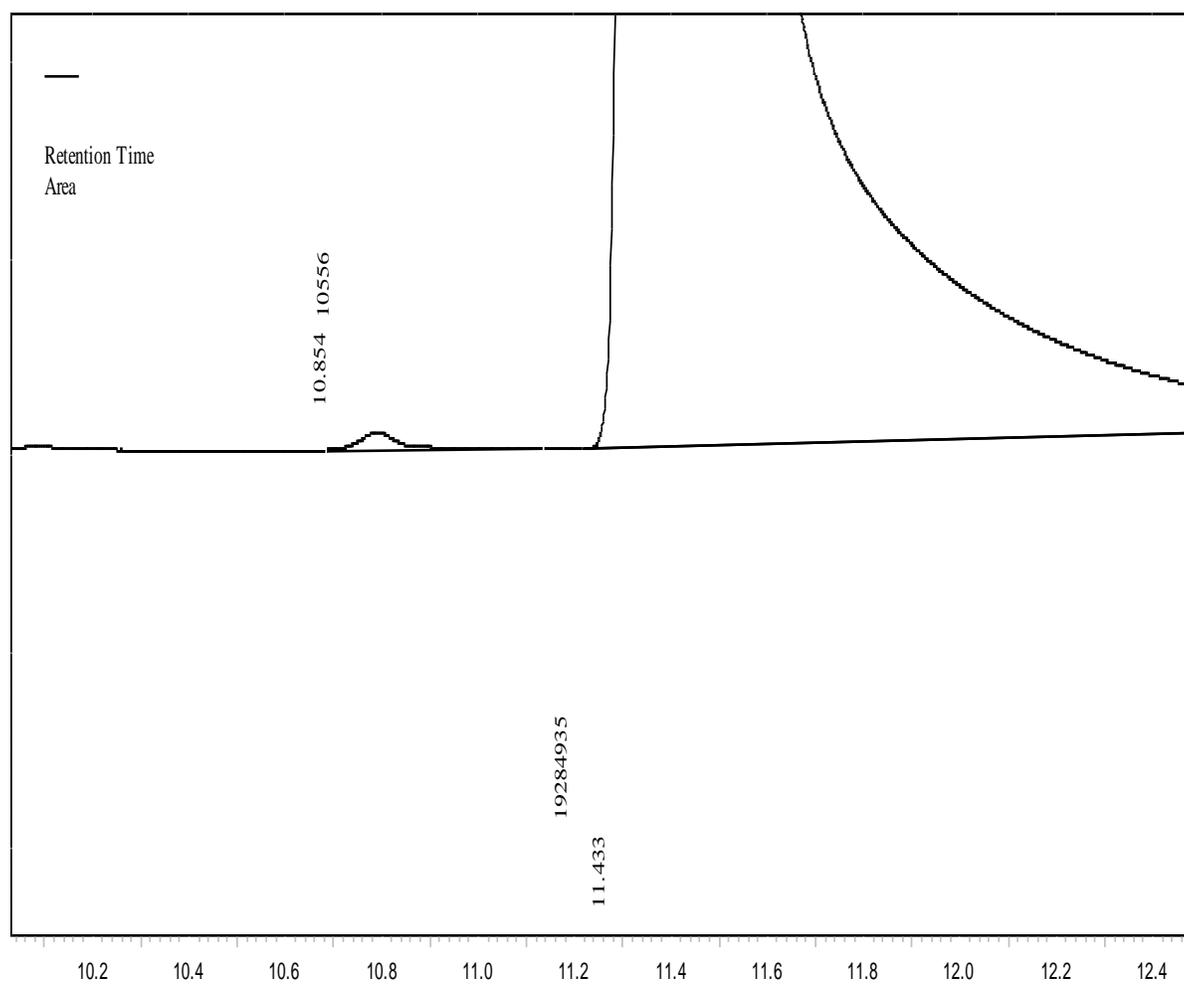


Figura 16. Cromatógrama correspondiente a la muestra de vodka V F

4.6 CUANTIFICACIÓN DE METANOL EN MUESTRAS DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS.

En este apartado se presentan los resultados obtenidos de la determinación de metanol en las muestras de bebidas alcohólicas.

Para calcular la concentración promedio de metanol en una muestra de bebida alcohólica se procede como sigue: se inyecta la muestra, por ejemplo whisky WR en el cromatógrafo de gases, resultando del análisis un cromatograma como el mostrado en la figura 4.3 y 4.4 de donde obtenemos datos de tiempos de retención y áreas correspondientes a los compuestos representados como picos en el cromatograma. En este estudio se utiliza el área promedio de tres determinaciones de la misma muestra para poder calcular la concentración haciendo uso de la ecuación correspondiente a la curva de calibración 01 ($Y = -543.48 + 186.22 X$) en donde Y representa el área y X la concentración.

Whisky	Área promedio	C (mg/100mL)
WQ	6422	37.40
WR	9407	53.43
WS	20781	114.51
WT	16329	90.60
WU	32369	176.74
WV	No detectable	-
WW	No detectable	-
WX	No detectable	-

Tabla 12. Resultado de la determinación de metanol en muestras de Whisky

Vodka	Área promedio	C (mg/100 mL)
VA	667	6.50
VB	930	7.91
VC	1030	8.44
VD	1099	8.82
VE	1769	12.41
VF	10518	59.40
VG	No detectable	-
VH	No detectable	-
VI	No detectable	-
VJ	No detectable	-
VK	No detectable	-
VL	No detectable	-
VM	No detectable	-
VN	No detectable	-
VÑ	No detectable	-
VO	No detectable	-
VP	No detectable	-

Tabla 13. Resultado de la determinación de metanol en muestras de vodka

Ron	Área promedio	C (mg/100 mL)
RY	1487	10.90
RZ	13216	73.88
RA	56741	307.6172
RB	No detectable	-

Tabla 14. Resultado de la determinación de metanol en muestras de Ron

Tequila	Área promedio	C (mg/100 mL)
TC	40864	222.36
TD	67017	362.79
TE	90235	487.48
TF	70804	383.13
TG	55354	300.17
TH	69858	378.05

Tabla 15. Resultado de la determinación de metanol en muestras de Tequila.

Chaparro	Área promedio	C (mg/100 mL)
CI	150223	809.61
CJ	14056	78.39
CK	41662	226.64

Tabla 16. Resultado de la determinación de metanol en muestras de Chaparro

CONCLUSIONES

- 1) Se demostró que el método utilizado para la determinación de metanol en el rango de concentraciones, 19.8 a 600 mg/100mL de etanol al 40% Alcohol. Cumple con ser lineal en las condiciones de trabajo empleadas.
- 2) Para la determinación de la precisión, nos valimos de parámetro repetibilidad demostrando que el método cumple con esta condición al ser aplicado por el mismo analista en diferentes días.
- 3) El ensayo de porcentaje de recobro, utilizando la curva de calibración (01) se realizó sobre tres concentraciones de 100, 350 y 600 mg/100 mL. Presentando un promedio de 100.89 lo que indica que la exactitud del método para la determinación de metanol en los niveles de concentración especificados es aceptable.
- 4) Los límites de cuantificación y detección del método son 1.22×10^{-2} mg/100mL y 3.67×10^{-3} mg / 100mL respectivamente, con una desviación estándar de 0,228.
- 5) Sobre un total de 38 muestras de bebidas alcohólicas analizadas se concluye que el 21% de las muestras presentan un contenido de metanol levemente superior a lo estipulado en la normativa vigente.
- 6) La cromatografía de gases es un método que permite monitorear de manera efectiva la cantidad real de metanol presente en las bebidas alcohólicas que se consumen en el país.

REFERENCIAS

- (1)http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_1/metanol.htm.(Agosto2005)
- (2)Jovel, A., Reyes, R., tesis de Licenciatura en Química, que tiene por titulo“Cromatografía gas-liquido en la industria licorera”. Universidad de El Salvador, 1986
- (3)Mejia, R, Argueta., tesis de Ingeniería Química, que se titula “Análisis de los congénicos volátiles de bebidas alcohólicas en Centro América”. Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas”, 1979
- (4)Otero, Fernández, et.al. Revista cubana, Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos, 2001; 15 (2):96-100. (septiembre de 2005)
- (5)Gutiérrez, M., guía “intoxicación por metanol”. Universidad Nacional de Colombia http://www.fepafem.org.ve/Guias_de_Urgencias/Intoxicaciones/Intoxicacion_por_metanol.pdf (marzo2006).
- (6)<http://db.dogma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/dogma/mrevista.fulltexte?pid=13049940>
(abril 2006)
- (7)www.2.udec.cl/sqrt/fich/metanol.htm (septiembre 2004).
- (8)<http://www.mailxmail.com/curso/vida/licorescocteles/capituloI.htm>.(septiembre 2005).
- (9)<http://db.dogma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/dogma/mrevista.fulltexte?pid=13049940>
(agosto2006)
- (10)www.lopaisa.com/aguardiente.html Historia de aguardiente (agosto 2006)
- (11)http://www.cibernetia.com/tesis_es/ciencias_tecnologicas/tecnologia_de_los_alimentos/bebidas_alcoholicas/1(febrero 2007)

(12)http://www.presidencia.gov.co/prensa_new/decretoslinea/1994/febrero/11/dec0365111994.pdf.(agosto 2007)

(13)Whisky <http://www.agroinformacion.com/leer-contenidos.aspx?articulo=44> (marzo 2007)

(14)Tequila <http://es.wikipedia.org/wiki/Tequila> (marzo 2007)

(15)Sawyer, B.,el sector tequila en México, 29 de octubre de 2004.

<http://www.owlnet.rice.edu/~sbonsib/spanish/informe.pdf> (agosto 2006)

(16)Proyecto Reglamento Ron, 2006-02-14

http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/per13_t.pdf (octubre 2006)

(17)Norma Salvadoreña NSO 67.16.02:01 CONACYT

(18)Begg, Desmond (2000), Vodka : manual para sibaritas, Koln : B. Taschen Verlag.

<http://es.wikipedia.org/wiki/Vodka> (agosto 2006)

(19)Como hacer licor <http://es.wikipedia.org/wiki/Licor> (octubre 2006)

(20)Metanol http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_1/metanol.html
(septiembre2005)

(21)Norma Salvadoreña, NO71.09.01:98, Alcoholes, alcohol etílico.

(22)Toxicidad por metanol y su efecto sobre las vías visuales

<http://caibco.ucv.ve/caibco/caibco/vitae/VitaeDoce/Articulos/Neurociencias/ArchivosHTML/Neurociencias.pdf> (septiembre 2005)

(23)<http://www.editorial.unca.edu.ar/Investigaci%C3%B3n%20Cient%C3%ADfica/Alimentos/PORCU%20ELIDA.pdf> (febrero de 2006)

- (24) Método colorimétrico para la determinación de Metanol en bebidas alcohólicas.
<http://www.geocities.com/spectroq/vol3no3/metodo.htm> (agosto 2006)
- (25) Refractometría. <http://www.usal.es/~Inorganica/zonaalumnos/erftecnespec/Refractometria.pdf> (agosto 2006)
- (26) Cromatografía de gases.
http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa_de_gases (Marzo 2006)
- (27) www.latina.chem.cinvestav.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/gas.htm (agosto 2004).
- (28) Cromatografía de gases.
<http://marc.pucpr.edu/facultad/mrodriguez/PDF/Q420/Capitulo%2027.pdf> (septiembre 2005)
- (29) http://www.uah.es/otrosweb/investigacion/DocsComun/MemoInves/1999_00/servicio_espectrometria_masas.pdf (abril 2005)
- (30) <http://www.montes.upm.es/Dptos/DptoIngForestal/OperacionesBasicas/Docencia/PDF/Temas/TEMA5.pdf> (septiembre 2005)
- (31) G-CSQ-02, Guía para laboratorios que realizan validaciones de métodos de análisis químicos, ENAC, Madrid, 1996.
<http://bioaplicaciones.galeon.com/ENAC/labalim/Page15.html.validacion>. (junio 2007)
- (32) ISO 5725:1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results Part 1, General principles and definitions.
- (33) Accreditation and Quality Assurance, Journal for Quality, Comparability and Reliability in Chemical Measurement, volume 6, Number 3, marzo 2001.

(34) Formulas y expresiones usadas en validación de métodos.

<http://209.85.165.104/search?q=cache:nXHIvwZq468J:catedras.quimica.unlp.edu.ar/fisicoquimica/tp/tratamiento%2520estadistico%2520dstos%2520fq.pdf+fornulas+y+expresiones+usadas+para+calcular+la+linealidad+de+un+metodo+quimico&hl=es&ct=clnk&cd=18>

(35) Hossein Arsham, Razonamiento estadístico para la toma de decisiones gerenciales

<http://www.staff.vu.edu.au/sarath/Business-stats/opre504S.htm#rppc>

(36) Harmonised guidelines for the in-house validation of methods of analysis, Protocol created under co-operation of ISO, IUPAC and AOAC international, Maryland USA, 1996.

(37) <http://www.alcoholinformate.org.mx/diariooficial.cfm?documento=115>

(38) http://www.cybertesis.cl/tesis/uchile/2005/blanco_p/sources/blanco_p.pdf (octubre 2007)

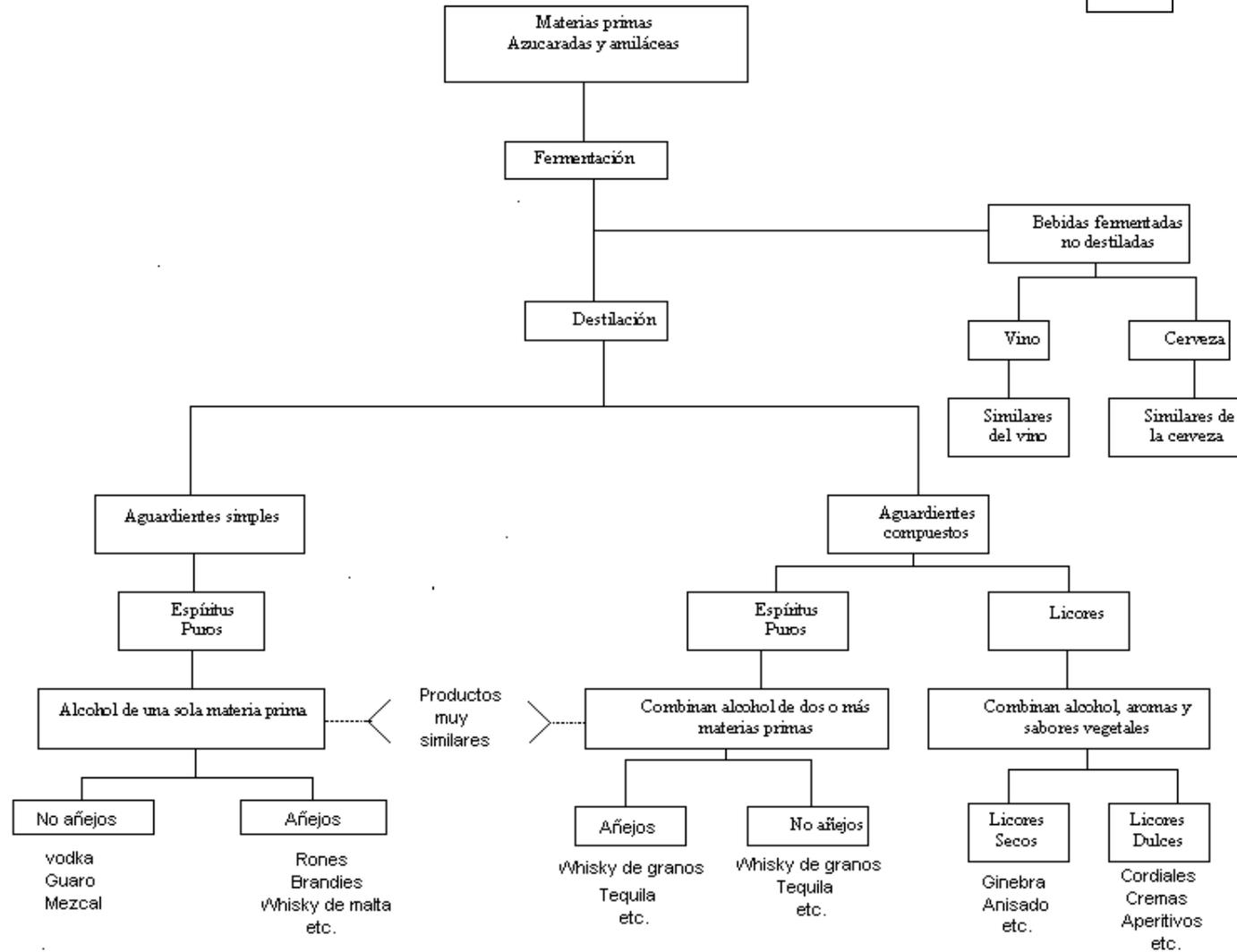
(39) <http://www.mineco.gob.gt/mineco/calidad/acreditacion/polvalmet.pdf> (octubre 2007)

(40) Norma Técnica Nicaragüense 2001 NTON 03036-01.

ANEXOS

ESQUEMA DEL ORIGEN Y CLASIFICACION DE LAS BEBIDAS ALCOHOLICAS

(8)



GLOSARIO

Bebida alcohólica: Producto alcohólico apto para el consumo humano, obtenido por procesos de fermentación de materia prima de origen vegetal y que es sometido, o no, a destilación, rectificación, infusión, maceración o cocción de productos naturales, con un contenido alcohólico mayor de 1 0,5% en volumen; el producto puede o no ser añejado estar adicionado de diversos ingredientes y aditivos.

Bebida alcohólica destilada: Bebida obtenida por fermentación alcohólica de productos de origen vegetal y posterior destilación, la que puede ser añejada de acuerdo a las características de la bebida final que se quiere obtener.

Bebida alcohólica mezclada: Es el producto elaborado a partir de bebidas alcohólicas destiladas, licores o mezclas de éstos, pudiendo ser adicionados otros ingredientes.

Bebida alcohólica adulterada: tendrá la consideración de adulterada, toda bebida alcohólica en la que se haga concurrir alguna de las siguientes circunstancias:

- a) Que contenga una o varias sustancias extrañas a su composición reconocida autorizada.
- b) A la que se le ha extraído parcial o totalmente cualesquiera de sus componentes.
- c) Que haya sido adicionada, coloreada o encubierta en forma de ocultar sus impurezas o disimular su inferior calidad.
- d) Que se le haya agregado un aditivo no autorizado por el Ministerio de Salud.

El alcohol potable es el alcohol etílico al que se le priva de sus impurezas por un proceso de destilación fraccionada, llamado rectificación, o el alcohol que se obtiene directamente por un proceso de separación y purificación a la vez. Es considerado apto para el consumo humano, es aquel que puede utilizarse para la elaboración de bebidas alcohólicas y medicamentos propios por ingestión directa o para análisis de laboratorio utilizado para reactivos químicos y asepsia.

Alcohol no potable es aquel alcohol que por su naturaleza no puede ser para consumo humano. Se consideran no potables el alcohol etílico desnaturalizado, además los alcoholes tales como el metílico, isopropílico y butílico.

Alcohol anhidro: es el alcohol etílico a 100% Vol.

Alcohol desnaturalizado: alcohol etílico al cual se le han adicionado sustancias que no permiten el uso de este, en la fabricación de bebidas alcohólicas; pero sí en la industria y en medicina externa

Alcohol industrial: es el producto alcohólico obtenido mediante la destilación y/o rectificación de mostos que han sufrido fermentación alcohólica y que no es apto para el consumo humano. También puede obtenerse por síntesis específica.

Congénéricos: son compuestos químicos formados principalmente durante los procesos de fermentación y añejamiento por la interacción química entre algunos ácidos orgánicos con el alcohol etílico. Los principales son aldehídos, ácidos orgánicos, furfural y alcoholes superiores. Los congénéricos 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 con que ésta elaborada.

Materia prima: sustancias naturales, procesadas o no que constituyen los componentes principales para la producción de alcohol, o la elaboración de una bebida alcohólica apta para consumo humano.

Fermentación alcohólica: proceso bioquímico anaerobio en el cual las enzimas de las levaduras, catalizan la transformación de los azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono (CO₂). En la fabricación de cerveza esta puede ser alta o baja. (CR) **2.92**

Fermentación alcohólica: es la transformación de los azúcares en alcohol y dióxido de carbono; ésta es causada por las levaduras actúan sobre los azúcares presentes según la ecuación de Gay Lussac.

Añejamiento natural o envejecimiento: es el proceso de transformación lenta del producto recién destilado y diluido, que le permite adquirir las características sensoriales típicas por procesos químicos y físicos que tienen lugar en forma natural durante su permanencia en recipientes de madera de roble blanco o encino. Durante el añejamiento, el alcohol extrae de la madera compuestos tales como taninos, fenol, eugenol, vainilla y otros.

Tiempo de añejamiento: tiempo transcurrido entre la fecha de llenado y de los barriles de roble que contengan el producto en añejamiento, y la fecha de ruptura de los sellos que los certifican.

Título alcoholimétrico: es la cantidad de alcohol contenido en una mezcla hidroalcohólica; se expresa en partes de alcohol por cien partes de la mezcla.

Grado alcohólico: porcentaje en volumen de alcohol etílico contenido en una bebida alcohólica, referido a 20°C.

Contenido o volumen neto: Es la cantidad de líquido contenido en un envase específico, referido a 20°C y expresado en unidades del Sistema Internacional -(SI)¹

Ingredientes: Cualquier sustancia incluidos los aditivos alimentarios que se empleen en la fabricación, preparación y conservación de las bebidas y esté presente en el producto final, aunque posiblemente en forma modificada.

Aguardiente: mezcla hidroalcohólica obtenida por la reducción del alcohol proveniente del proceso de destilación de materias primas fermentadas, a un determinado grado de consumo. La mayor parte de estas bebidas adquieren posteriormente ciertas características propias o típicas según sea la materia primar original del aguardiente y a los tratamientos o procesos a que este se someta como son por ejemplo: añejamiento, mezcla con otros sabores, aromas, etc. En razón de tales características, los aguardientes que pueden ser simples, compuestos, añejos o sin añejar

Nombre del producto: La designación, tipo o clase, en lenguaje corriente, técnico o científico, que en los usos comerciales sirva para identificar un producto determinado.

Marca: Cualquier signo o combinación de signos que distinga o resulte apto para distinguir en el mercado los productos.

Denominación de origen o denominación geográfica: es la que se da a determinadas bebidas alcohólicas y que corresponde al nombre del lugar donde se producen. Tales designaciones solo pueden utilizarse para describir bebidas que han sido elaboradas íntegramente en el sitio nombrado de conformidad con sus leyes y reglamentaciones. Debe estar contemplada en tratados internacionales.