

50824
70

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



**"ESTUDIO CROMATOGRÁFICO DE BEBIDAS
ALCOHÓLICAS
Y
SU UTILIDAD EN QUÍMICA LEGAL".**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :
MELÉNDEZ CÓRDOVA **NORMA**

DIRECTOR : Q.F.B. VALENTIN ISLAS PÉREZ
ASESOR : M. en C. A. LOURDES CASTILLO GRANADA

MÉXICO, D.F.

ENERO 2003.

FES ZARAGOZA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A la vida

Que día a día me brinda la oportunidad de:
Aprender y descubrir,
De equivocarse y corregir,
De caer y levantar,
De luchar y defender aquello en lo que creo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A Dios

Te doy gracias por la fortaleza que me has dado para lograr mis metas. Porque siempre que te necesito estas ahí junto a mí. Te doy gracias por los padres tan lindos que me diste y por permitir que hoy compartan conmigo este momento. Te doy gracias por lo que soy, por todo lo que me has dado y cuanto he recibido.

A mis Padres

A quienes me han heredado el tesoro más valioso que puede darse a un hijo "amor".

A quienes sin escatimar esfuerzo alguno han sacrificado gran parte de su vida para educarme y brindarme la oportunidad de tener una formación profesional, por la confianza que han tenido en mí.

A quienes nunca podré pagarles ni con toda la riqueza del mundo todos sus desvelos y sacrificios.

A quienes considero mis dos mejores amigos pues han sido mis consejeros y confidentes en todo momento de mi vida.

A quienes me han enseñado que la perseverancia es una de las virtudes más importantes para alcanzar el éxito.

Por todo eso y tantas cosas más ...

gracias

¡Los quiero mucho!

D

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A mi hermano Joel

Porque desde nuestra infancia hemos compartido tantas cosas juntos que me conoces mejor que nadie y sabes que sobran las palabras para decirte que te quiero y que siempre contarás conmigo en todo momento.

Por todo el cariño y la comprensión que me has dado durante todo este tiempo.

Por tus palabras de aliento y tus consejos que me han servido para ser mejor cada día, y vencer los obstáculos que se presentan en el camino.

Por ser como eres gracias.

A mis amigos

Fabiola, Raúl y Ulises a quienes les agradezco su amistad sus consejos y su apoyo, por todos los buenos y malos momentos que hemos compartido juntos y por habernos soportado más allá de la paciencia de amigos.

A Maribel y Marcos por el apoyo que me brindaron al inicio de este proyecto y por nuestra amistad que espero perdure siempre.

A todos los demás que faltan de mencionar nunca pierdan esa chispa e inteligencia que los hace ser mejor que los demás y esperando que algún día pueda regresar y devolver el aprecio y ayuda que me brindaron.

E

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A mis profesores

Q.F.B. Valentín Islas Pérez:

A quien le agradezco su amistad y apoyo para realizar este proyecto, y también por la oportunidad que me brindo para superarme en el ámbito profesional.

M. en C. A. Lourdes Castillo Granada:

Por su apoyo, paciencia y tiempo en la realización de este proyecto, por su amistad.

M. en C. Maricela Arteaga Mejía:

Por permitir realizar este proyecto en el laboratorio de proyectos ambientales de la FES Zaragoza.

A mis sinodales:

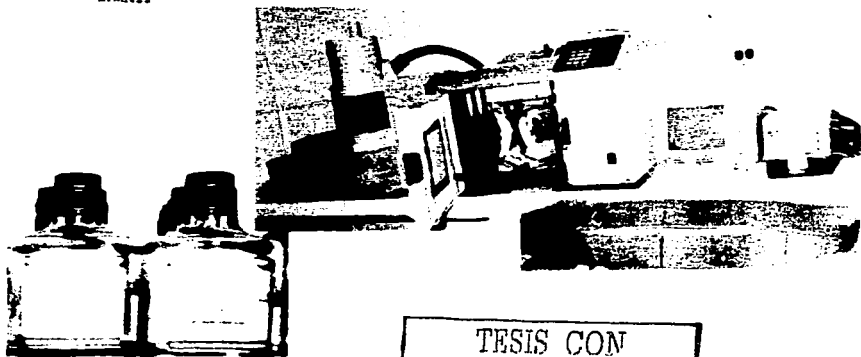
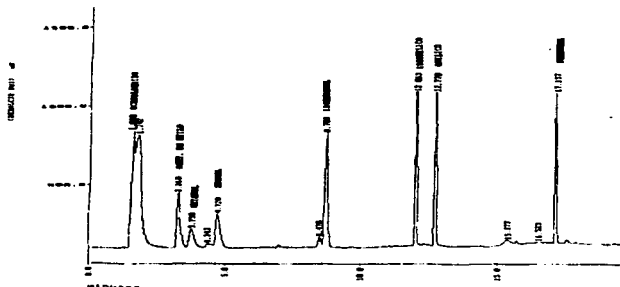
M en C. Ma. Gloria Velásquez Vaquero, Q.F.B. Valentín Islas Pérez, M en C. A. Lourdes Castillo Granada, M en C. Maricela Arteaga Mejía, Dra. Mabel Fragozo Serrano por su disponibilidad para revisar este proyecto.

Gracias.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

F

ESTUDIO CROMATOGRÁFICO DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS Y SU UTILIDAD EN QUÍMICA LEGAL



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE.....	2
GLOSARIO.....	4
RESUMEN.....	7
INTRODUCCIÓN.....	9
1. FUNDAMENTO TEORICO.....	11
1.1 Industria de las bebidas alcohólicas.....	11
1.2 Clasificación de las bebidas alcohólicas destiladas.....	13
1.3 Componentes del mosto.....	14
1.4 Obtención de etanol.....	14
1.5 Levaduras que se encuentran en el mosto.....	15
1.6 Diagrama general para la elaboración de bebidas alcohólicas congenericas.....	16
1.6.1 Importancia de la adición de SO ₂	17
1.7 Condiciones para llevar a cabo la fermentación.....	17
1.7.1 Temperatura.....	17
1.7.2 Presencia de aire.....	18
1.8 Legislación en materia de bebidasalcohólicas.....	19
1.9 Especificaciones sanitarias de las bebidas alcohólicas.....	20
1.9.1 Especificaciones químicas de Tequila.....	21
1.9.2 Especificaciones químicas de Brandy.....	22
1.9.3 Especificaciones químicas de Ron.....	25
1.10 Especificaciones a vigilar.....	26
1.10.1 Especificaciones Sanitarias.....	26
1.10.2 Especificaciones Químicas.....	26
1.11 Aspectos toxicológicos de los principales componentes de las bebidas alcohólicas.....	29
1.11.1 Etanol.....	29
1.11.2 Metanol.....	30
1.11.3 Alcoholes superiores.....	32
1.11.4 Acetato de etilo.....	33
1.11.5 Acetaldehído.....	33
1.11.6 Furfural.....	35
1.12 Acidez.....	35
1.13 Cromatografía de gases.....	38
1.13.1 Fundamento.....	38
1.13.2 Instrumentación.....	40
1.13.3 Ventajas y desventajas de la cromatografía de gases.....	46

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

1.13.4 Aplicaciones.....	47
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	48
3. OBJETIVOS.....	49
4. HIPÓTESIS.....	50
5. METODOLOGÍA.....	51
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	58
6.1 Resultados de C.G de muestras de Brandy.....	58
6.1.1 Gráfica de % Alc. vol de Brandy.....	61
6.1.2 Cromatogramas de muestras de Brandy.....	62
6.1.3 Resultados estadísticos de brandy.....	65
6.2 Resultados DE C.G de muestras de Ron.....	67
6.2.1 Gráfica de % de Alc. vol. ron.....	70
6.2.2 Cromatogramas de muestras de Ron.....	71
6.2.3 Resultados estadísticos de ron.....	74
6.3 Resultados de C.G de Tequila.....	75
6.3.1 Gráfica de % Alc. vol de tequila.....	78
6.3.2 Cromatogramas de muestras de Tequila.....	79
6.3.3 Resultados estadísticos tequila.....	82
7. CONCLUSIONES.....	84
SUGERENCIAS.....	87
ANEXO NOM-142-SSA1-1995.....	88
ANEXO NOM-006SCFI-1994.....	93
ANEXO NMX-V-002-NORMEX-1999.....	102
BIBLIOGRAFIA.....	108

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GLOSARIO

- Agave:** Planta de la familia de las amarilidáceas, de hojas largas y fibrosas, de forma lanceolada de color verde azulado, cuya parte aprovechable para la elaboración de tequila es la piña o cabeza. La única especie admitida para los efectos de esta NOM, es la tequiliana weber, variedad azul, que haya sido cultivada dentro de la zona señalada en la declaración.
- Abocado:** Procedimiento para suavizar el sabor de una bebida alcohólica mediante la adición de uno o más componentes.
- Aditivos:** Aquellas sustancias que se adicionan directamente a los alimentos y bebidas, durante su elaboración para proporcionar o intensificar aroma, color o sabor; para mejorar su estabilidad o para su conservación.
- Etanol** Es el producto obtenido por fermentación, principalmente alcohólica de los mostos de las materias primas de origen vegetal que contienen azúcares o de aquellas que contienen almidones sacarificables (caña de azúcar, mieles incristalizables, jarabe de glucosa, jarabes de fructosa, cereales, frutas, tubérculos, entre otras) y que dichos mostos fermentados son sometidos a destilación y rectificación. Su fórmula es $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$.
- Añejamiento** Transformación lenta que permite al producto adquirir las características sensoriales deseadas, por procesos fisicoquímicos que en forma natural o
- Maduración:** tienen lugar durante su permanencia en recipientes de madera de roble blanco o encino. Para el caso de cerveza se pueden utilizar tanques metálicos disecados apropiadamente, para este fin.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**Bebida
alcohólica
destilada:** Producto obtenido por destilación de líquidos fermentados que se hayan elaborado a partir de materias primas vegetales en las que la totalidad o una parte de sus azúcares fermentables, hayan sufrido como principal fermentación, la alcohólica, siempre y cuando el destilado no haya sido rectificado totalmente, por lo que el producto deberá contener las sustancias secundarias formadas durante la fermentación y que son características de cada bebida, con excepción del vodka, susceptibles de ser abocadas y en su caso añejadas o maduradas, pueden estar adicionadas de ingredientes y aditivos permitidos por la secretaría.

**Bebida
alcohólica:** Aquella obtenida por fermentación, principalmente alcohólica de la materia prima vegetal que sirve como base utilizando levaduras del género *Saccharomyces*, sometida o no a destilación, rectificación, redestilación, infusión, maceración o cocción en presencia de productos naturales, susceptibles de ser añejadas, que pueden presentarse en mezclas de bebidas alcohólicas y pueden estar adicionadas de ingredientes y aditivos permitidos por la secretaría, con una graduación alcohólica de 2% a 55% en volumen a 20°C (293K).

**Bebidas
alcohólicas
preparadas y
cócteles:** Productos elaborados a base de bebidas alcohólicas destiladas, fermentadas, licores genuinos o mezclas de ellos, pueden adicionarse de otros ingredientes y aditivos permitidos por la secretaría.

Bouquet: Número de componentes generados en el curso de la fermentación, constituyentes del aroma y sabor.

**Buenas
prácticas de
fabricación:** Conjunto de normas y actividades relacionadas entre si, destinadas a garantizar que los productos tengan y mantengan las especificaciones requeridas para su consumo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Delito** Es el acto u omisión que sancionan las leyes penales.
- Dilución:** De ser necesario, para obtener la graduación comercial requerida se debe usar agua destilada o desmineralizada potables
- Etiqueta, todo rótulo:** Marbete, inscripción imagen u otra forma descriptiva o gráfica, ya sea que esté impreso, marcado, grabado, en relieve, hueco, estarcido o adherido al empaque o envase del producto.
- Ingrediente:** Cualquier sustancia o producto, incluidos los aditivos, que se empleen en la fabricación o preparación de un alimento o bebida no alcohólica y esté presente en el producto final, transformado o no.
- Métodos de análisis:** Procedimientos analíticos utilizados en el laboratorio para comprobar que un producto satisface las especificaciones que establece la norma.
- Mosto :** Líquido extraído de la materia prima vegetal después del proceso de trituración y prensado.
- Mosto fermentado :** Es el producto preparado únicamente con azúcares provenientes de la caña de azúcar y que son sometidos a una fermentación alcohólica. Durante la fermentación principalmente alcohólica los azúcares se convierten en alcohol etílico y subsecuentemente el mosto pasa a ser mosto fermentado.
- Pectina:** Componente de la pared de las células en las plantas.
- Rectificado** Destilación fraccionada de un líquido para purificarlo o separar sus componentes

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

La comercialización e ingestión de bebidas alcohólicas es un problema latente en nuestra sociedad ya que el 60% de las que se venden en México son de dudosa procedencia, se sospecha que no llevan a cabo un control sanitario en su producción, posiblemente en los establecimientos que se comercializan les adicionan agua para diluirlas y etanol para corregir porcentaje del mismo, con este tipo de adulteraciones se pone en riesgo la salud de la población así como un daño económico por el fraude en que se incurre en la elaboración y venta de bebidas alcohólicas adulteradas. La Ley General de Salud acorde con el código penal sancionará a quien se dedique a la producción y comercialización de bebidas alcohólicas que **no cumplan** con el contenido de compuestos orgánicos volátiles establecidos por la normatividad correspondiente.

Las muestras de Brandy, Ron y Tequila analizadas en el presente trabajo fueron obtenidas de tiendas de vinos y licores, restaurantes y discotecas ubicadas en diferentes Áreas de la Zona Metropolitana. La concentración de compuestos orgánicos volátiles se determinaron por cromatografía de gases, el análisis de los resultados obtenidos permitió detectar bebidas alcohólicas que **no cumplen** con el % de etanol pues presentan una concentración inferior a lo que señala la normatividad vigente (35 a 55%), en algunos casos, hay muestras que no cumplen con el contenido de compuestos orgánicos volátiles establecidos en la normatividad correspondiente.

A los resultados obtenidos de % etanol en Ron, Brandy y Tequila se les realizó un análisis de varianza en el cual se observó que existe variación en el % de etanol por lo tanto el establecimiento de donde fueron obtenidas las muestras juega un papel muy importante. Para determinar en que establecimiento es más

TEXIS CON
FALLA DE ORIGEN

frecuente encontrar estas variaciones en la concentración de etanol se realizó la prueba de Tukey.

Se observó de manera particular que las discotecas son los lugares más frecuentes en los que se encuentran concentraciones inferiores en el % de etanol de acuerdo a la normatividad establecida. De no cumplir con la normatividad vigente se considera que la bebida esta adulterada.

Finalmente resulta una aportación de gran importancia derivada del presente trabajo, el hecho de que el estudio cromatográfico de bebidas alcohólicas proporciona datos confiables y reproducibles que pueden ser considerados por la Secretaria de Salud para intensificar programas de verificación y vigilancia en la producción y comercialización de bebidas alcohólicas, ya que hay gran preocupación por la relevancia que ha adquirido la adulteración de bebidas alcohólicas en México.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INTRODUCCIÓN

La Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO) estructuró y desarrolló en 1999 un Programa Nacional de Verificación y Vigilancia de Bebidas Alcohólicas cuyo objetivo, es que cumplan con veracidad la información comercial, sobre todo en lo que se refiere a su denominación, declaración de cantidad, contenido neto, lote, y desde luego, todo lo relativo a las especificaciones sanitarias de sus componentes, por ello verifiqué 1'013,502 productos de los cuales se inmovilizaron 23,368 correspondientes a 55 marcas de pseudo tequila, mismas que no cumplieron con la Normatividad vigente y cuya comercialización prohibió PROFECO en todo el país. En cuanto al comercio informal PROFECO realizó 21 visitas de verificación a discotecas, bares y licorerías a través de las cuales se obtuvieron 36 muestras de bebidas alcohólicas de dudosa procedencia que se ostentaban como vodka, whisky, brandy, coñac y ron, así como 21 productos que ostentaban la denominación tequila, mismas que se analizaron en el laboratorio de PROFECO, el cual dictaminó que todas eran bebidas adulteradas encontrándose las siguientes alteraciones¹:

BEBIDA ALCOHÓLICA	ADULTERACIÓN
Ron	<ul style="list-style-type: none">☞ No cumple con el contenido de componentes orgánicos volátiles característicos del ron.☞ Presentan desviaciones en el porcentaje de etanol que declara en etiqueta.☞ No contiene los alcoholes superiores establecidos para el ron.
Brandy	<ul style="list-style-type: none">☞ No cumple con el porcentaje de etanol.☞ No cumple con la especificación sanitaria relativa al metanol (excedido).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tequila	<ul style="list-style-type: none">⊗ No cumple con el porcentaje de etanol.⊗ No cumple con el contenido de compuestos orgánicos volátiles característicos del tequila.⊗ Contiene principalmente etanol y agua.⊗ Presenta materia extraña.
---------	---

Las bebidas alcohólicas ron, brandy y tequila son producto de la destilación de líquidos fermentados que se elaboran a partir de materias primas vegetales en las que la totalidad o una parte de sus azúcares fermentables, siguen la ruta principal de la fermentación alcohólica, siempre y cuando el destilado no haya sido rectificado totalmente, por lo que el producto deberá contener las sustancias secundarias como son acetaldehído, acetato de etilo, metanol, alcoholes superiores y furfural de acuerdo a los rangos de concentración que establece la normatividad correspondiente para cada tipo de bebida.

En caso de no cumplir con la normatividad vigente se establece que la bebida esta adulterada y por tanto se emite una sanción que aplica la Ley General de Salud apoyada del código penal tipificando el tipo de delito en que se incurrió.¹⁷

Desde el punto de vista analítico es importante conocer cuales son las especificaciones en cuanto al contenido de componentes volátiles característicos de una bebida alcohólica para que la Química Legal tenga un patrón de comparación y determinar por cromatografía de gases si hay adulteración o no en bebidas alcohólicas que se sospechen estén adulteradas por el etiquetado, tipo de envase, holograma, anomalías en el sello que garantiza que la botella no ha sido abierta, pues hoy en día la elaboración de estos productos de forma clandestina los hace altamente peligrosos para la salud. ^{1, 5, 6, 7, 84.}

TESIS CON
CALA DE ORIGEN

1. FUNDAMENTO TEÓRICO

El consumo de alcohol en el país es un problema de salud pública, una tercera parte de la población nacional esto es 32 millones de mexicanos, es consumidora asidua. Del total de la población nacional alrededor del 10% son mujeres las que consumen bebidas alcohólicas y 22% hombres. Por otra parte estas cifras van en aumento, se reporta que el 70% de accidentes automovilísticos, 80% de divorcios, 60% de suicidios y 14.6% de homicidios están vinculados con el alcoholismo.

La encuesta nacional de adicciones del 2001 mostró que 38% de los adictos a bebidas alcohólicas tienen edades entre los 15 y 19 años. También hay preocupación en la Secretaría de Salud ya que en zonas indígenas del país se presenta un excesivo consumo.^{10,11}

Ante esta demanda y consumo la posibilidad de producción de bebidas adulteradas aumenta con las consecuencias nocivas a la población consumidora.^{12,13}

1.1 INDUSTRIA DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS

México es el séptimo país en producir bebidas alcohólicas en el mundo y el único productor de tequila.^{54,55}

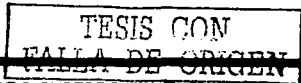
En México el Ron Bacardí es la bebida más popular, seguida por las marcas de Brandy Presidente y Don Pedro (producto de Allied Domecq). Las dos posiciones que le siguen están ocupadas por Sauza y José Cuervo, de la bebida de exportación Mexicana la más conocida, es el Tequila.⁵⁵

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Por todo ello la industria Mexicana esta preocupada por la relevancia que en México ha adquirido la adulteración de bebidas alcohólicas, ya que el 60% de las que se venden en México son de dudosa procedencia sin control sanitario, esto denunció el presidente de la empresa Bacardi de América Latina. De los 20 millones de cajas de bebidas alcohólicas que se producen anualmente, hay 12 millones que no pagan impuestos. Por lo cual se firmó un convenio entre los productores de bebidas alcohólicas con la Secretaría de Salud para desalentar la producción y comercialización de bebidas alcohólicas adulteradas el cual consiste en verificar, vigilar e inspeccionar los establecimientos que se dedican a la elaboración de estos productos de manera ilegal. Los empresarios aseguran que la industria ha sufrido un grave perjuicio por la caída de 40% en sus ventas en 1995 se producían los mismos 20 millones de cajas, lo cual equivalía a un consumo per cápita de siete litros por año a la fecha este indicador es de tres litros anuales.^{54,55}

Al referirse a las bebidas adulteradas los empresarios dijeron que este fenómeno va en aumento a partir de 1995 con la crisis económica y luego en 1998 cuando los legisladores autorizaron un impuesto del 2% a las bebidas alcohólicas. También se refirió a que se requiere un "esfuerzo serio" de la autoridad y la industria para frenar el problema.⁵⁵

Las bebidas ilegales se venden principalmente en las periferias de los estados tienen un costo menor al comercial de 12 o 14 pesos por litro, son marcas desconocidas pero en envases de los fabricantes serios, es conocido que los países que tienen excesivo pago de impuestos a bebidas alcohólicas se genera una industria ilegal, irregular y de contrabando. Por eso los industriales sugieren a la legislatura del Congreso de la Unión que se reconsidere el gravamen, porque "más vale la no evasión que la evasión".⁵⁶



1.2 CLASIFICACIÓN DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS DESTILADAS

Las bebidas alcohólicas destiladas se clasifican en : congenéricas y no congenéricas¹⁶

Las congenéricas, son aquellas en donde el vegetal usado para su elaboración es tradicional considerando dentro de este grupo uva, agave y caña de azúcar.

Están representadas por brandy, ron, tequila.

Brandy: Deriva de la destilación del mosto (jugo) fermentado de uvas.

Ron: Deriva de la destilación del mosto (jugo) fermentado de caña de azúcar.

Tequila: Deriva de la destilación del mosto (jugo) fermentado de las cabezas maduras de agave.

Las bebidas alcohólicas no congenéricas se obtienen apartir de la adición de diferentes componentes para darle características organolépticas deseadas y están representadas por el Vodka y la Ginebra. El Vodka se elabora apartir del aguardiente sin aroma y que obtiene casi todo su carácter del etanol. La Ginebra, se obtiene a partir de una base alcohólica procedente de una fermentación y aromatización con componentes vegetales de los que el enebro es el más importante. estas bebidas alcohólicas se rectifican y pueden ser susceptibles de ser abocadas es decir se pueden adicionar ingredientes y aditivos permitidos por la Secretaría de Salud.^{16,17}

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

1.3 COMPONENTES DEL MOSTO

Los principales componentes que contiene el mosto de las materias primas de origen vegetal tradicional son:¹⁸

Agua

Azúcar (glucosa, fructosa)

Acidos (tartárico y málico)

Sales minerales: K_2O , CaO , MgO , Na_2O , Fe_2O_3

Peptonas, proteínas, aminoácidos

Enzimas: invertasa, oxidasa, pectasa, pectinasa

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.4 OBTENCIÓN DE ETANOL

Todos los componentes antes mencionados son importantes para que la levadura se desarrolle y genere productos finales en la fermentación que se lleva a cabo mediante un proceso anaerobio.^{3,19}

Este proceso se representa en la siguiente reacción¹¹:

Azúcares + levaduras \longrightarrow Etanol + CO_2 + Energía + Subproductos

En una bebida alcohólica la concentración de etanol se expresa como grados Gay Lussac que se definen como la relación entre la cantidad de etanol contenido en un volumen total de líquido.⁴¹

$$G.L = \frac{\text{cantidad de etanol}}{\text{volumen total de muestra}}$$

1.5 LEVADURAS QUE SE ENCUENTRAN EN EL MOSTO

Las levaduras más representativas que se encuentran en todos los mostos y representan el 90% que intervienen en el proceso fermentativo son:

- *Saccharomyces oviformis*. Es capaz de alcanzar un elevado grado alcohólico.

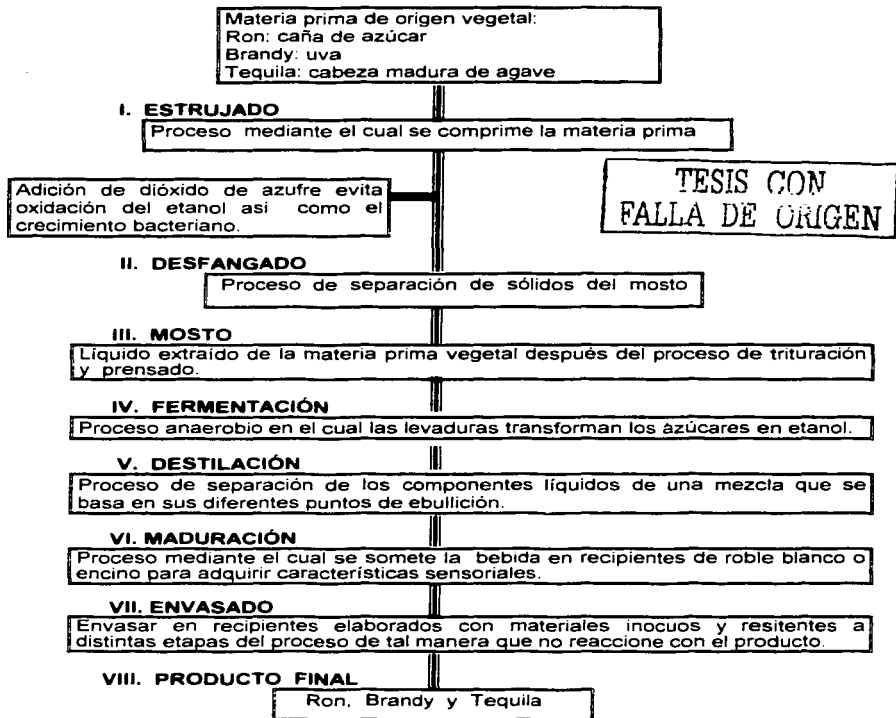
- *Saccharomyces pombe*. Tiene la propiedad de hacer desaparecer el ácido málico por tanto desadificar el mosto.^{20,21}

- *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus (elíptica)*, *Kloeckera apiculata (apiculada)*. Son levaduras con un alto rendimiento en alcohol, poder alcohológeno, resistencia a temperaturas elevadas, débil formación de ácido acético, fermentación del ácido málico.^{22,23}

Los productos finales de la fermentación además del etanol son: acetaldehído, acetato de etilo, metanol, alcohol isobutilico, alcoholes amilicos en pequeñas cantidades que les confieren a las bebidas alcohólicas un aroma y sabor característico y que las diferencian de otras.^{23,24}

Las bebidas alcohólicas destiladas se producen a partir de materias primas vegetales (agave, uva, caña de azúcar) las cuales contienen azúcares y son sometidas a un proceso en el cual se comprime la materia prima y se obtiene el jugo o mosto de la misma, este proceso se conoce como estrujado, posteriormente se hace una separación del material sólido y el jugo o mosto este proceso se conoce como desfangado, posteriormente se somete el mosto (jugo) al proceso de fermentación produciendo en mayor porcentaje etanol y otros productos secundarios. Después de este proceso se lleva a cabo la destilación en la cual se obtiene etanol y pequeñas cantidades de sustancias volátiles como ésteres, aldehidos, alcoholes superiores, las cuales confieren a las bebidas alcohólicas ciertas características organolépticas.^{14,15}

1.6 DIAGRAMA GENERAL PARA ELABORACIÓN DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS CONGENÉRICAS



1.6.1 Importancia de la adición de SO₂

Previo al desfangado se adiciona **dióxido de azufre (SO₂)** con los siguientes propósitos:

- ☞ Evitar el desarrollo de bacterias y levaduras aerobias en el mosto por arriba de los niveles permitidos. La actividad del SO₂ se basa en reducir los citocromos y las uniones sulfuro de las proteínas presentes dentro de los microorganismos que pudieran contaminar.
- ☞ Impedir que se inicie la fermentación mientras se lleva a cabo la eliminación de sólidos del mosto (desfangado).
- ☞ Controlar la fermentación por inhibición del crecimiento de levaduras y bacterias no deseadas. La fracción de anhídrido sulfuroso que se encuentra en estado gaseoso libre, sin combinarse, es la que produce este efecto.
- ☞ Efecto antioxidante protegiendo al mosto del aire, el SO₂ tiene carácter reductor.
- ☞ Evitar oxidaciones por destrucción de oxidasas, catalizadoras enzimáticas de la oxidación de los mostos.^{2,3}

1.7 CONDICIONES PARA LLEVAR A CABO LA FERMENTACIÓN

1.7.1 Temperatura:

La temperatura es un factor preponderante para el desarrollo de las levaduras.

La temperatura óptima para la multiplicación y capacidad de fermentación en las levaduras es de 22 °C a 28° C.³

1.7.2 Presencia de aire :

El control de la presencia de aire durante la fermentación es importante, pues a mayor aireación se favorece el crecimiento de bacterias aerobias como *Acetobacter* y se encuentra en la mayoría de los jugos de frutas y vegetales, consume azúcares sin transformarlos en etanol. También se produce un crecimiento mayor de levaduras.²³

En cambio, si al iniciarse la fermentación se elimina el contacto con el aire, las levaduras se multiplican escasamente, lo que origina que una proporción mayor del azúcar presente se transforme en alcohol y anhídrido carbónico.^{23,25}

El anhídrido carbónico originado en la fermentación actúa como gas protector, ya que desplaza al aire y con ello desvanece la posibilidad de supervivencia de los organismos aerobios (levaduras superficiales, mohos, bacterias).²⁶

1.8 LEGISLACIÓN EN MATERIA DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS

El objetivo del H. Congreso de la Unión es adecuar las exigencias nacionales en el ámbito de la Salud, Asistencia y Seguridad Social con el fin de proteger a todos los mexicanos. Es por ello que tiene la obligación de recibir las reformas y adiciones y a su vez promover las reformas en los rubros de efectos del ambiente en la salud, control sanitario de medicamentos, alimentos, etc. Así como de autorizaciones sanitarias y sanciones administrativas. Por todo lo antes mencionado la Ley General de Salud reglamenta el derecho a la protección de salud que tiene toda persona en el artículo 4º del la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, establece las bases y modalidades para el acceso a los servicios de salud y concurrencia de la Federación y Entidades Federativas en materia de salubridad general.⁵³

La Ley General de Salud, en materia de salubridad general; se encarga de la organización, control y vigilancia de la prestación de servicios y de establecimientos de salud, así como operación y funcionamiento de establecimientos que se dedican a la fabricación, distribución, envasamiento, transportación, almacenamiento, venta y consumo de bebidas alcohólicas por lo cual podrá ordenar, y practicar visitas de inspección a los establecimientos correspondientes para verificar el cumplimiento de las disposiciones legales, de no ser el ministerio publico tipificará el tipo de delito de acuerdo a lo que establece el código penal y sancionará a quien haga o permita la adulteración, contaminación o alteración de las bebidas alcohólicas o cualquier otra sustancia o producto de uso o consumo humano con inminente peligro para la salud, se le aplicará de uno a nueve años de prisión y multa equivalente de cien a mil días de salario mínimo general vigente en la zona económica de que se trate.⁵³

En seguida se presentan las especificaciones sanitarias para determinar si una bebida alcohólica esta adulterada o no, de acuerdo a las Normas elaboradas por la Dirección General de Normas en acuerdo con la Secretaría las cuales organiza y vigila que se cumplan con la normatividad correspondiente.⁵³

1.9 ESPECIFICACIONES SANITARIAS DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS.

Para detectar las modificaciones que pudiesen haberse efectuado durante su elaboración las bebidas alcohólicas son sometidas a un control sanitario a través de una serie de normas elaboradas por la Dirección General de Normas en coordinación con la Secretaría de Salud y son las siguientes:

Norma Oficial Mexicana NOM-142-SSA1-1995. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial. ⁴³

*Esta norma se utiliza de manera general para el análisis de compuestos orgánicos volátiles en bebidas alcohólicas y en este caso se utilizo para el análisis de brandy ya que no existe una norma especifica para esta bebida.

Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-1994 Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones. ⁴⁴

Norma Mexicana NMX-V-002-NORMEX-1999. Bebidas alcohólicas destiladas Ron-Especificaciones. ⁴²

La Secretaría de Salud se apoya de estas Normas con el objetivo de vigilar que se cumplan las especificaciones sanitarias de sus componentes en cuanto a:

Porcentaje de alcohol: volumen que declara en su etiqueta
Contenido de compuestos volátiles característicos de la bebida
Etiquetado
Envasado

Dicho control sanitario en lo que respecta a contenido de compuestos orgánicos volátiles en las bebidas alcohólicas se lleva a cabo realizando un perfil cromatografico (identificación y cuantificación) de los componentes orgánicos volátiles con lo cual se verifica si la bebida ha sido modificada o adulterada en cuanto a contenido de compuestos volátiles.¹

1.9.1 Tequila:

Es una bebida alcohólica regional obtenida por destilación y rectificación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído dentro de las instalaciones de la fabrica, derivado de la molienda de las cabezas maduras de agave, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometido a fermentación alcohólica con levaduras siendo susceptible de ser enriquecido por otros azúcares hasta en una proporción no mayor de 49%. El tequila es un líquido que de acuerdo a su tipo, es incoloro o amarillento cuando es madurado en recipientes de madera de roble o encino.

Especificaciones químicas de tequila de acuerdo a NOM-006-SCFI-1994.⁴⁴

	Tequila blanco		Tequila joven u oro		Tequila reposado		Tequila añejo	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Porcentaje de alcohol a 20°C	35,0	55,0	35,0	55,0	35,0	55,0	35,0	55,0
Valores expresados en mg/100 mL								
Alcoholes superiores (en alcohol amílico)	20	400	20	400	20	400	20	400
Metanol	30	300	30	300	30	300	30	300
Aldehídos	0	40	0	40	0	40	0	40
Esteres	2	270	2	350	2	360	2	360
Furfural	0	1	0	1	0	1	0	1

1.9.2 Brandy:

Pertenece a la familia de bebidas alcohólicas destiladas proveniente de la uva es un licor aterciopelado, blando, liso que se distingue sobre todo por su gran bouquet y sutil fragancia de uvas, características que son obtenidas en su proceso de añejamiento dentro de barriles de roble nuevo.^{3,23}

Especificaciones químicas de acuerdo a NOM-142-SSA1-1995.⁴³

ESPECIFICACIONES	LIMITE	
Por ciento de alcohol en volumen (% alc. vol.)	Mínimo 35	Máximo 55
Valores expresados en mg/100 mL		
Metanol	0-300	
Aldehídos (acetaldehído)	0-40	
Furfural	0-4	
Alcoholes superiores (aceite de fusel o alcoholes de peso molecular superior al alcohol etílico, expresado como alcohol amílico).	0-500	
Esteres (Acetato de etilo)	2-200	

NOTA: Esta NOM-142-SSA1-1995 se emplea de manera general cuando se realizan análisis a bebidas alcohólicas, en este caso se empleo para establecer las especificaciones de brandy debido a que no existe una norma específica para esta bebida en cuanto al contenido de componentes volátiles.

Problemas que ocasiona el exceso de dióxido de azufre en el vino de base para la elaboración del brandy

1. El pH puede bajar hasta niveles inaceptables por la producción de ácido sulfúrico.
2. La presencia de SO₂ favorece la formación de acetaldehído durante la fermentación deteriorando el aroma del brandy.²³

En las áreas que son tradicionalmente productoras de vino, cada vez se utilizan más los cultivos puros de *Saccharomyces cerevisiae*.

En muchos casos se practica una fermentación malo-láctica (MLF) tras la fermentación alcohólica. Aunque se pueden aislar una variedad de bacterias ácido lácticas del mosto y del vino nuevo, *Leuconostoc oenos* es la responsable de la MLF y supone prácticamente el 100% de la microflora de bacterias ácido lácticas al final de la fermentación.^{3,22}

Se cree que la producción en la destilación de lactato de etilo a partir del ácido láctico formado en la MLF es beneficioso para conferir << delicadeza >> al brandy. Sin embargo, es esencial que la MLF se haya completado antes de la destilación, de lo contrario se obtendría un brandy con un aroma pobre.^{21,22}

La acidez protege contra alteraciones bacterianas, pero es necesario almacenarlo a una temperatura de 0-5 °C para evitar que el glicerol sea metabolizado a ácido acético con la posterior formación a acroleína. En las últimas etapas de la fermentación o del almacenamiento se puede desarrollar una película superficial de levaduras, tales como *Candida*, *Hansenula* y *Pichia*, que puede perjudicar al buqué. Los residuos de la uva y otros materiales particulados se eliminan del vino de base justo antes de la destilación, pero pueden permanecer las células de levadura. El diseño de los destiladores varía en cierta medida en función de la región productora. Para destilar el brandy Coñac se utilizan alambiques y una destilación en dos etapas. La primera no es selectiva y proporciona un destilado con un contenido en alcohol del 28%, el *brouillis*. Éste se somete a una destilación selectiva y se obtienen tres fracciones.²²

La primera fracción, (las cabezas), contienen buena parte del acetaldehído presente y se descarta, la segunda fracción recolectada es el brandy, y la tercera fracción se recicla.

Las cantidades excesivas de ácidos grasos son perjudiciales pero se produce una eliminación notable a través de la formación de sales con el cobre de las paredes de los alambiques por el acero inoxidable u otros materiales.²²

El brandy se madura en toneles de roble nuevo, aunque existe una cierta variación de acuerdo con el área productora. La madera utilizada y su tratamiento se consideran de gran importancia para definir las características del brandy.¹²

El acetato de etilo es un éster, importante con influencia en el aroma y en el sabor. La presencia de 2-butanol en el brandy se considera indicativa del crecimiento de bacterias ácido lácticas en las uvas o en el mosto. Esto implica que se ha utilizado una materia prima de mala calidad sin embargo, no existe ninguna prueba de que el 2-butanol tenga un efecto adverso sobre el sabor o sobre el aroma en el brandy.^{21,22}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.9.3 Ron:

Es la bebida alcohólica obtenida de la destilación de mostos fermentados preparados únicamente con azúcares provenientes de la caña de azúcar los destilados podrán ser rectificadas y debiendo ser sometidos a un periodo de maduración ponderado mínimo de seis meses, pudiendo ser añejados únicamente en recipientes de roble blanco o encino y susceptibles de ser saborizados, aromatizados y abocados.⁴²

Especificaciones químicas de acuerdo a NMX-V-002-NORMEX-1999.⁴²

PARÁMETROS	RON		RON	
	Mínimo	Máximo	añejo Mínimo	añejo Máximo
Etanol (% Alc. vol.)	35	55	35	55
Extracto seco (g/L)	0,01	15	0,01	15
Cenizas (g/L)	0	0,6	0	0,6
Valores expresados en mg/100 mL				
Acidez volátil (como ácido acético)	5	120	5	120
Aldehídos (como acetaldehído)	0	40	0	40
Esteres (como acetato de etilo)	2	200	2	200
Alcoholes superiores (Aceite de fusel)	30	400	30	400
Furfural	0	4	0	4
Metanol	0	10	0	10

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

1.10 ESPECIFICACIONES A VIGILAR:

1.10.1 Especificaciones Sanitarias

- Porcentaje de etanol volumen que declara en su etiqueta.
- Contenido de compuestos volátiles característicos de la bebida y de acuerdo a la normatividad vigente.
- La relación entre el volumen total de líquido y la cantidad de alcohol que contiene de acuerdo a la normatividad correspondiente.
- Domicilio fiscal.
- No tienen la declaración de cantidad.
- No presentan denominación genérica.
- Carecen de leyendas precautorias.
- Omiten el país de origen.
- Carecen de información en idioma español.
- Identificación de lote.

Especificaciones sanitarias de sus componentes.

1.10.2 Especificaciones Químicas:

Desde el punto de vista químico:

- Los que contengan colorantes y otros aditivos que no estén expresamente autorizados.
- Los que no cumplan con las especificaciones sanitarias de establecidas por la normatividad vigente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Los productos finales que presenten desequilibrios físicos químicos tales como precipitaciones, enturbiamientos o gases.⁴¹
- Los que presenten sedimento y materias extrañas, así como los que se hayan contaminado con olores o sabores extraños.
- Los que no cumplan con el contenido de impurezas volátiles.

La Ley General de Salud establece los requisitos que deberán considerar para las bebidas alcohólicas en base a los siguientes artículos:

• Artículo 199: corresponde a los Gobiernos de las Entidades Federativas ejercer la **verificación y control sanitario** de los establecimientos que expendan o suministren al público **bebidas alcohólicas** en estado natural, mezclados, preparados, adicionados o acondicionados, para consumo dentro o fuera del mismo establecimiento basándose en las normas que al efecto se emitan.⁵³

• Artículo 205: el proceso de los productos deberá realizarse en condiciones higiénicas sin **adulteración**, contaminación o alteración.⁵³

• Artículo 206 **se considera adulterado un producto** cuando:

*Su naturaleza o composición no corresponde a aquellas con que se etiquete, anuncie, expendan, suministre o cuando no corresponda a las especificaciones de su autorización o

*Haya sufrido tratamiento que disimule su alteración, se encubran defectos en su proceso o en la calidad sanitaria de las materias primas utilizadas.⁵³

• Artículo 217: Se consideran **bebidas alcohólicas** a aquellas que contengan alcohol etílico en una proporción no mayor del 2% a 55% en volumen.⁵³

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

º Artículo 218 : Toda **bebida alcohólica**, deberá ostentar en los envases la leyenda " El abuso en el consumo de este producto es nocivo para la salud" escrito, con letra fácilmente legible, en colores contrastantes y sin que se invoque o se haga referencia a alguna disposición legal.⁵³

º Artículo 284 La Secretaría de salud podrá identificar, comprobar, certificar y vigilar, en el ámbito nacional la calidad sanitaria de las **bebidas alcohólicas** que se comercializan en territorio nacional. En los casos en que los productos no reúnan los requisitos o características que establezca la legislación correspondiente, la Secretaría de Salud aplicará las medidas de seguridad que correspondan.⁵³

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.11 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS

1.11.1 Etanol

De los componentes orgánicos volátiles que constituyen las bebidas alcohólicas, el etanol es el más importante.^{23,27} es un hidrocarburo alifático líquido e hidroxilado de apariencia clara e incolora. La determinación de etanol o alcohol etílico en bebidas alcohólicas adulteradas es la prueba más frecuente en todo laboratorio forense. La proporción de etanol varía del 2% al 55% dependiendo del tipo de bebida:

PORCENTAJE DE ALCOHOL EN VOLUMEN ⁷

Sidra	2-5 %
Cerveza	3-7 %
Vinos	8-12 %
Destilados(Whisky, brandy, cognac)	40-50%

La concentración de etanol en una bebida es la relación entre la cantidad de alcohol y el volumen total de líquido, en los productos destilados, fluctúa entre 35% y 55 %, de acuerdo con la Normatividad vigente.

El etanol se absorbe en un 20-30% en el estómago, el resto en el intestino delgado (duodeno principalmente), no encontrándose en las heces. Pasa a la sangre a través de la vena porta y desde aquí por el corazón el cual impulsa la sangre a través de las arterias y se incorpora a la circulación general. Todo el alcohol ingerido pasa a la sangre entre 30 y 60 minutos después de la ingestión; en algunas circunstancias puede retrasarse hasta un máximo de 3 horas. ^{26,28,29,46}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Según la cantidad y el grado alcohólico de las bebidas ingeridas, el etanol puede producir grados diversos de depresión del SNC, siendo los efectos proporcionales a la concentración en sangre. Los consumidores asiduos presentan síntomas de intoxicación a partir de concentraciones en sangre de 100-500 mg/dL.¹⁰

A partir de 250 mg/dL y 400 mg/dL de etanol en sangre existe riesgo de coma, que pasa a ser profundo y de larga duración, las alcoholemias superiores a 600 mg/dL se consideran potencialmente letales. En general, los pacientes en coma etílico pueden desarrollar hipotermia y acidosis metabólica, siendo una complicación frecuente la broncoaspiración del contenido gástrico.^{10,30,49,26,45,50}

Por regla general, el etanol se metaboliza a una velocidad de unos 15 mg/dL/h, de forma que se requieren unas 6-7 h para que la alcoholemia descienda unos 100 mg/dL.^{10,28,31,48}

1.11.2 Metanol

El metanol es un alcohol con fórmula CH_3OH , líquido incoloro con densidad 0.796 g/mL y punto de ebullición de 65°C.³⁹

Se encuentra presente en todas las bebidas alcohólicas en proporción variable incluso en trazas. Proviene de la hidrólisis de las pectinas solubles, y propectinas presentes en las materias primas vegetales que se fermentan.^{20,25,16}

Desde el punto de vista legal y toxicológico es importante señalar que el metanol ha sido utilizado como sustituto del etanol en bebidas alcohólicas fabricadas clandestinamente.²⁸

La vía más habitual de intoxicación aguda es la oral con un nivel de metanol en sangre superior a 0,5 g/L.²⁸ El 90-95 % del metanol es biotransformado en el hígado, oxidándose por medio de la alcohol-deshidrogenasa dando formaldehído, que es rápidamente convertido a ácido fórmico por la aldehído-deshidrogenasa. Este último, mediante una oxidación dependiente del folato se convertirá en anhídrido carbónico (CO₂) y agua (H₂O).

En la toxicocinética del metanol interesa fijarse en un detalle: el etanol tiene una afinidad por la alcohol-deshidrogenasa unas 10-20 veces superior al metanol, de ahí la eficacia del etanol como antídoto en intoxicaciones con metanol.

Los efectos tóxicos de la sobredosis de metanol se debe a la formación de los dos metabolitos formaldehído y ácido fórmico ya que en un principio se señaló que el formaldehído desempeñaba un papel preponderante en la toxicidad ocular, estudios posteriores demostraron que por su rápida transformación en ácido fórmico, carecía del papel patogénico. Por tanto, el ácido fórmico es el principal responsable de la toxicidad ocular y acidosis metabólica.^{28,40}

El inicio de la sintomatología cuando hay una intoxicación, varía extraordinariamente, entre 40 minutos y 72 horas, aunque lo habitual suele ser que aparezcan en las primeras 12-24 horas. La congestión de etanol retrasa el cuadro.

Los síntomas y signos de la intoxicación por vía oral generalmente afectan el SNC, los ojos y el tubo gastrointestinal y pueden agruparse de la siguiente forma:

☛ *Sistema nervioso central.* En la intoxicación leve o moderada se produce cefalea, vértigo, letargia o simplemente un estado de embriaguez (similar al de la intoxicación etílica), siendo este último una manifestación temprana; en casos graves pueden aparecer convulsiones y coma.

º Afección ocular. Hay visión borrosa, disminución de la agudeza visual y fotofobia. En la exploración pueden observarse pupilas dilatadas, pérdida del reflejo fotomotor, edema retiniano e hiperemia del disco óptico, y en ocasiones el resultado final es la ceguera irreversible por atrofia del nervio óptico.⁴⁰

º Gastrointestinales. Debido a su acción irritante, en la mitad de los pacientes se producen náuseas, vómitos y dolor abdominal; en un segundo tiempo pueden presentarse manifestaciones clinicobiológicas de pancreatitis aguda.⁴⁰

1.11.3 Alcoholes superiores:

Son compuestos orgánicos con un número superior de átomos de carbono que el etanol y con uno o más grupos hidroxilo. Los más importantes son: 1-propanol, 2 butanol, alcohol isobutílico, alcohol amílico ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$) y alcohol isoamílico ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$).^{14,16}

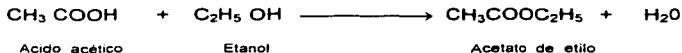
La presencia de alcohol amílico, isoamílico e isobutílico conocida como aceite de fusel, en las bebidas alcohólicas estriba en que la levadura necesita cierta cantidad de nitrógeno para su metabolismo, para ello la levadura utiliza los aminoácidos naturales del zumo de uva y de otras frutas, produciendo alcoholes superiores como consecuencia de este mecanismo, por lo cual se consideran del metabolismo de la levadura.³² Así a partir del aminoácido leucina se produce alcohol amílico, de la isoleucina el alcohol isoamílico, y de la valina el alcohol isobutílico. Los alcoholes superiores son constituyentes del sabor de la bebida.

Estos alcoholes superiores son importantes desde el punto de vista toxicológico pues el alcohol amílico es tóxico a concentraciones superiores de 400 mg/dL en las bebidas alcohólicas y ocasiona efectos en sistema nervioso central, daño en médula ósea, hueso, dolor de cabeza, tos, pérdida completa o parcial de oído, delirio, mareos, náuseas, diarrea, glucosuria, hipoxia, formación de metahemoglobina, coma y muerte.^{10,47}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.11.4 Acetato de etilo:

Es un compuesto resultado de la unión de etanol y ácido acético en un proceso aerobio. Los ésteres de los ácidos volátiles tienen un bajo punto de ebullición, es volátil y de agradable olor, está presente en pequeñas cantidades en las bebidas alcohólicas, contribuye al buqué.²⁹



La cantidad de acetato de etilo presente dependerá del tipo de bebida y de la marca comercial manejada, encontrándose en condiciones normales en cantidades menores a 2 mg/100 mL, una concentración superior a 550 mg/100 mL indica una alteración microbiológica y no del proceso de esterificación de la bebida durante el añejamiento.

Desde el punto de vista toxicológico el acetato de etilo es de gran interés porque ocasiona daño renal, hepático, daño en pulmón, corazón, y origina cataratas en la cornea, disturbios gastrointestinales, náuseas, dolor de cabeza, vómito, depresión en sistema nervioso central, anemia, leucocitosis, hinchazón degeneración adiposa.^{33,52}

1.11.5 Acetaldehído :

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Es un compuesto carbonílico que se encuentra en la mayoría de las bebidas alcohólicas. Se forma como producto de la oxidación secundaria en los procesos de añejamiento, durante el proceso de fermentación (principalmente a temperaturas altas) y durante la destilación de los mostos.

El acetaldehído es un precursor del ácido acético así como del etanol, es formado a partir del piruvato por medio de enzimas glucolíticas.³⁴

Existe una variación en la cantidad presente en las bebidas, que dependerá del tipo de proceso llevado a cabo y tipo de bebida; en las bebidas fermentadas un incremento en la temperatura de fermentación, o en la aereación resulta en una alta cantidad del mismo; para las bebidas destiladas como el brandy, durante la destilación y añejamiento el acetaldehído es producido por oxidación del etanol.¹⁴

El etanol y el acetaldehído reaccionan lentamente para formar acetal, un compuesto de un olor bastante pronunciado y por consecuencia indeseable.

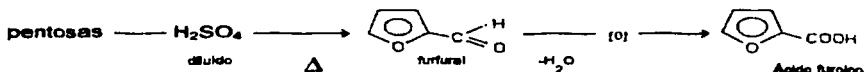
Desde el punto de vista sensorial el acetaldehído es de suma importancia a razón de que sus reacciones con otros compuestos carbonílicos perjudican la calidad final de la bebida.¹⁶

Desde el punto de vista toxicológico es importante mencionar que el acetaldehído a niveles elevados inhibe la enzima mitocondrial la acetaldehído-deshidrogenasa (ALDH2), lo que tiene grandes consecuencias para la célula que el acetaldehído se una covalentemente a la tubulina lo que impide la formación de microtúbulos y la excreción de proteínas, estas quedan almacenadas en el hepatocito aumentando el poder osmótico, al mismo tiempo que retienen agua, con lo que el hepatocito se hincha aumentando 2 o 3 veces su tamaño normal.³⁵

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.11.6 Furfural:

También llamado 2-furan-carbonel, es un compuesto que se forma por la deshidratación de las pentosas en medio ácido y con calor en el proceso fermentativo de acuerdo a la siguiente reacción :



NOTA: El ácido sulfúrico se origina del efecto antioxidante del dióxido de azufre el cual protege al mosto del aire.

Su concentración varía de acuerdo al tipo de bebida, al tipo de destilación y a las reacciones que presente su proceso de añejamiento. Sin embargo, no contribuye al sabor y aroma de las bebidas, por ser uno de los componentes que se presentan en menor proporción, la función que desempeña es debida a su oxidación al contacto con el aire, formando el ácido furoico el cual se usa como conservador y bactericida.³⁶

Desde el punto de vista toxicológico es de gran importancia observar que la tolerancia al furfural en el aire es de 5 ppm. Ocasiona disturbios en sistema nervioso central, dolor de cabeza, pérdida del sentido, opacidad en cornea.^{28,42}

1.12 ACIDEZ

Las bebidas alcohólicas en general contienen el llamado "extracto seco" el cual se define como la totalidad de las sustancias restantes después del proceso de evaporación o destilación. Entre estas sustancias se encuentran hidratos de carbono, glicerina, ácidos volátiles, combinaciones nitrogenadas, sustancias tánicas y colorantes, alcoholes superiores y minerales.^{20,22}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

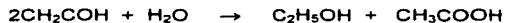
La acidez total titulable: consiste en la neutralización del ácido presente en una bebida alcohólica con una base dando este un color y determinar la concentración de los ácidos presentes en la muestra. Los ácidos orgánicos presentes en una bebida son: ácido tartárico, ácido málico, ácido acético. La actividad de las levaduras durante la fermentación genera pequeñas cantidades de ácido succínico y ácidos volátiles. En el desdoblamiento ácido se forma también ácido láctico, con simultánea desaparición de las correspondientes tasas de ácido málico. En las bebidas enfermas la actividad microbiana puede originar ácido acético, ácido propiónico, ácidos grasos superiores y ácido láctico.^{20,21}

De esta manera el contenido de los ácidos titulables en las bebidas alcohólicas se expresa ; para vinos de uva en ácido tartárico y para bebidas destiladas en **ácido acético**.²³

La determinación analítica está basada en la neutralización del ácido libre con solución valorada de hidróxido de sodio usando fenolftaleína como indicador.¹⁴

El ácido acético, el más importante de los ácidos volátiles por sus efectos en la calidad del producto, es un líquido incoloro de olor y sabor fuertemente ácido, tiene un punto de ebullición de 118°C, densidad de 1.0492 a 20°C. ⁴⁸

El ácido acético se produce en la fermentación en cantidades muy pequeñas a partir de acetaldehído.



Y por oxidación del alcohol etílico:



Cuando la áidez rebasa los límites permitidos hay que suponer que las bacterias acéticas se han desarrollado de manera que el producto tiende a tener mayor concentración de ácido acético. En las bebidas alcohólicas puede indicar, una sobrefermentación que da lugar a sabores censurables.

En las bebidas alcohólicas la mezcla de: ácido tartárico, málico y cítrico, succínico y láctico, se conoce como áidez fija se expresa normalmente en términos de ácido tartárico.

La áidez fija tiene un papel importante en la fermentación, a mayor acidez fija se produce una selección de microorganismos: se elimina el desarrollo de bacterias y fermentan el mosto levaduras más apropiadas; y se produce menos áidez volátil. ^{22,23}

1.13 CROMATOGRAFIA DE GASES

1.13.1 Fundamento

En general, la cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil, (gas o líquido) y retenido selectivamente por una fase estacionaria (puede ser un líquido o un sólido). De acuerdo a la naturaleza de las fases involucradas y a los mecanismos de separación.⁶

Es una técnica analítica precisa y específica, con una alta capacidad de resolución utilizada en la separación, identificación y cuantificación de los componentes de una mezcla compleja.¹⁹ La cromatografía de gases se emplea para analizar mezclas de compuestos volátiles y para cualquier sustancia que pueda calentarse dando una presión de vapor de unos 30 mm Hg sin alterarse o descomponerse. Los cromatógrafos de gases se emplean en gran escala en el análisis de mezclas orgánicas complejas, como las que se encuentran comúnmente en derivados del petróleo, perfumes, sabores, sustancias de origen biológico, insecticidas y pesticidas, plaguicidas, etc. El tiempo de análisis varía de minutos a horas, siendo para la gran mayoría de los análisis entre 5 y 15 minutos.²⁸

El tamaño de muestra varía entre unos cuantos microlitros. La cromatografía de gases es, en muchos casos, la única técnica que permite separar en una sola operación más de 100 componentes de una mezcla.⁶

El buen funcionamiento de un cromatógrafo de gases se verá reflejado en la calidad del análisis. Es necesario considerar por esta razón todos los componentes del sistema, principalmente la columna, el flujo del gas transportador y la temperatura de operación para obtener resultados óptimos.¹⁴ Es conveniente preparar una curva de calibración a concentraciones adecuadas, a las condiciones especificadas para la muestra en análisis.¹²

En Cromatografía de Gases, la fase móvil es un gas inerte, como el helio o nitrógeno y la fase estacionaria puede ser un absorbente sólido como el gel de sílice o los llamados tamices moleculares o bien, puede ser un líquido de elevado punto de ebullición retenido en forma fina película sobre la superficie de un soporte sólido granular inerte, tal como la tierra de infusorios, polvo de ladrillo refractario o sílica fundida.⁶

Los componentes individuales pueden ser colectados en una trampa fría conforme van saliendo de la columna para llevar a cabo otro tipo de análisis por cualquier método instrumental o químico y poder identificarlos plenamente. El tiempo de retención o el volumen para el aire es un factor importante ya que es utilizado para obtener los valores de retención absolutos y relativos para la caracterización de los diferentes compuestos.

1.13.2 INSTRUMENTACIÓN

En la figura A. se ilustran los componentes de un Cromatografo de Gases.

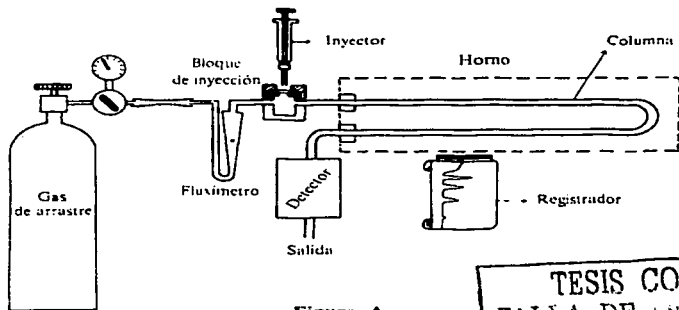


Figura A.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cilindro de gas de arrastre, o gas acarreador, el gas inerte que se va a emplear como fase móvil, y que, como se indicó, generalmente es helio o nitrógeno. El cilindro debe estar provisto de un mano-reductor y de un manómetro. Es muy importante regular con exactitud la presión y el flujo del gas de arrastre. Por lo cual los cromatógrafos de gases se incorporan en general una segunda válvula de regulación y un segundo manómetro.²⁸

Sistema de introducción de la muestra la sección del cromatografo de gases en la cual es introducida la muestra es el inyector, se trata de una pieza conectada a la columna cromatográfica y a la alimentación del gas de arrastre.

Esta pieza contiene un orificio con un septo, generalmente de caucho, silicona ó teflón por la cual las muestras líquidas o gaseosas pueden ser inyectadas con microjeringas.

El inyector debe calentarse a una temperatura mayor del punto de ebullición de los componentes de la muestra, para que la muestra se volatilice completa e instantáneamente y sea introducida en la columna.²⁸

Columnas capilares: estas columnas tienen un diámetro interno menor de 1mm usualmente se construyen son sílice fundida. La gran resistencia a la tensión del tubo de sílice permite la construcción de columnas de pared delgadas flexibles. para proteger la pared delgada de raspaduras, se aplica recubrimiento protector de poliimida sobre la pared exterior.⁶

Hay dos tipos principales de columnas capilares:

Columnas empacadas con partículas sólidas ocupando el total diámetro de la columna (microempacadas).

Columnas tubulares abiertas con una trayectoria para el flujo abierta y sin restricción por en medio de la columna. Estas últimas se dividen en columnas tubulares abierta con pared impregnada (WCOT, de Wall-coated open tubular), columnas tubulares abiertas con soporte impregnado (SCOT, de support-coated open tubular) y columnas tubulares abiertas con capa porosa (PLOT, de porous-layer open tubular).

La superficie interior de la columna capilar (WCOT) de calibre grande (0.53 mm d.i) se encuentra recubierta con la fase líquida estacionaria. Era difícil obtener un recubrimiento uniforme de la superficie hasta que se presentaron las columnas con fases enlazadas (polímeros).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El polímero moja bien la superficie de la columna de sílice fundida, lo que da como resultado en una película muy uniforme que recubre las paredes de la columna.

Diversos grupos funcionales pueden adicionarse a la cadena de polisiloxano para producir fases estacionarias de diferente polaridad o selectividad. Estas fases enlazadas son a la vez termoestables e inextraíbles. Las columnas se pueden lavar con disolventes puros para quitar contaminantes, compuestos no volátiles y productos de pirólisis.²⁸

Así hay 6 buenas razones para cambiar las columnas empacadas por columnas capilares y megaboro: menores tiempos de retención, menor inatacabilidad, duración prolongada, menor sangrado, mayor eficiencia y mejor reproducibilidad.⁶ Los capilares y megaboro se encuentran disponibles en longitudes de 10 a 30 m. Sin embargo, las columnas de 10 m aproximan muy de cerca la capacidad y separación de la columna empacada de 20 m x 2 mm d.i. con una carga de 3%-5%.

La aptitud para manipular el espesor de la película en forma reproducible ha conducido a la preparación de columnas diseñadas, particularmente para cada caso, para el análisis de mezclas muy volátiles o de muy alto punto de ebullición.

El espesor acostumbrado para la película de fase líquida enlazada es de 1-2 μm las películas más gruesas (3-5 μm) permiten el análisis de materiales volátiles sin necesidad de recurrir a temperaturas para la columna por debajo de la ambiente. Las películas con espesor menor de 1 μm sirven para analizar compuestos de alto peso molecular con tiempos de análisis razonables.⁶

Con helio como gas transportador, el flujo óptimo para columna de 0.53 mm d.i. es aproximadamente de 2.5 mL/min. Esto proporciona 2100 platos por metro, dando 21000 platos teóricos con una columna capilar recubierta de calibre grande, de 10m. Esto está muy por encima de la eficiencia de los 3000-4000 platos teóricos totales que se obtienen con una columna empacada típica de 2.0 m.

No hay nada superior a una columna capilar para resolver mezclas con muchos componentes.²⁸

Una medida de la eficiencia de una columna en particular se puede conocer calculando el número de platos teóricos (n) en la columna con la siguiente ecuación:

$$n = 16 \left[\frac{t_r}{W} \right]^2$$

En donde t es el tiempo de retención de la sustancia y W es el ancho de la base del pico obtenido extrapolando los lados del pico hasta la línea base. El valor de n es dependiente de la sustancia que esta siendo analizada y de las condiciones de operación tales como la velocidad de flujo, la temperatura, la cantidad de empaque de la columna y la uniformidad de éste.²⁸

Los platos se construyen de tal forma que permiten el ascenso del vapor y el descenso del líquido es decir refleja el número de veces que el soluto se reparte entre las dos fases durante su paso a través de la columna. Según desciende el líquido de la parte superior contacta con el vapor y los componentes menos volátiles del vapor tienden a condensar. Al mismo tiempo los compuestos más volátiles de la fase líquida tienden a vaporizarse.²⁸

Detector: Cuando el gas de arrastre sale de la columna lleva consigo los diversos componentes de la muestra, los cuales emergen separadamente a tiempos diferentes, que dependen de la magnitud de las fuerzas con que dichos componentes son retenidos por la fase estacionaria. La temperatura del detector debe controlarse para prevenir la condensación.²⁸ Los detectores más significativos en cromatografía de gases son:

Detector de ionización por llama: en este sistema se hace pasar el gas de arrastre que sale de la columna mezclado con hidrógeno por un quemador el cual tiene una pequeña llama alimentada por el hidrógeno y un suministro adicional de aire que generalmente atraviesa un disco de metal poroso situado en la base del quemador. La llama sirve de electrodo existiendo un segundo electrodo por encima a al lado de la llama; se establece de esta manera una diferencia de potencial; cuando solo el gas de arrastre pasa por la llama existe una pequeña corriente de electrodos, pero al pasar las moléculas de la muestra sufren una ionización en la llama y aumenta notablemente la corriente después de amplificada pasa al registrador. Se pueden presentar contaminantes que disminuirán notablemente la sensibilidad; y pueden provenir de la fase estacionaria, de la muestra, del gas de arrastre, del aire, del hidrógeno o del inyector.

Detector de captura de electrones: es también un detector de ionización en el cual mediante el empleo de una pequeña lámina de material radioactivo se ioniza el gas de arrastre; al pasar la muestra y si esta tiene afinidad por electrones capturará algunos de los presentes produciéndose una disminución en la corriente que se produce por ionización del gas de arrastre. Su respuesta no es universal, pero sí presentará una gran sensibilidad para determinados compuestos tales como los halogenados.

Detector de conductividad térmica: se basa en propiedades térmicas de las sustancias y efecto que tiene esta propiedad sobre algunas características eléctricas. Este detector consiste en un filamento de alambre metálico montado coaxialmente en un cilindro metálico, el alambre se calienta por medio de una corriente eléctrica alcanzando una temperatura que depende de la naturaleza del alambre, la corriente y el medio en que se encuentra.

Si se coloca el cilindro metálico en la corriente del gas de arrastre, la temperatura del filamento dependerá de la naturaleza del gas de arrastre y su flujo, al introducir una sustancia tiene un valor de conductividad térmica diferente al de gas de arrastre. Si se colocan dos de estos cilindros en un bloque de metal, y se hace que por uno de ellos fluya solamente el gas de arrastre en tanto por el otro se hace pasar el gas de arrastre y la muestra se tendrán dos temperaturas diferentes para los dos filamentos. Como un cambio en la temperatura produce un cambio en la resistencia eléctrica del filamento tendremos también dos resistencias diferentes.

Registrador se emplea para determinar la identidad y la concentración de cada uno de los componentes.²⁸

Las señales del detector pasan a través de un amplificador o electrómetro que esta conectado a un aparato automático que gráfica la señal, que está a un aparato automático que gráfica la señal, esta gráfica resultante es el cromatograma el cual es un pico en forma de campana a un determinado tiempo.⁶

Las curvas resultantes representan exactamente el proceso de distribución tal como ha ocurrido durante el tiempo de residencia de los solutos en la columna.

El buen funcionamiento de un cromatógrafo de gases se verá reflejado en la calidad del análisis. es necesario considerar por esta razón todos los componentes del sistema principalmente la columna, el flujo del gas transportador y la temperatura de operación para obtener resultados óptimos.^{9,28}

1.13.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES

VENTAJAS

- ☞ Separación de muestras complejas.
- ☞ Los gases poseen una viscosidad mucho menor que los líquidos, por lo que se pueden desplazar mucho más rápidamente a lo largo de la columna
- ☞ Resolución mayor
- ☞ Se requiere pequeño volumen de muestra microlitros.

- Se obtienen resultados cualitativos y cuantitativos^{6,9,35}

DESVENTAJAS

- ☞ Sólo para muestras volátiles
- ☞ Se requiere personal especializado
- ☞ Instrumento costoso
- ☞ No funciona con compuestos de peso molecular mayor a 600.
- ☞ No se aplica a compuestos iónicos
- ☞ Si se modifica la presión y la temperatura se modifica el tiempo de retención.

1.13.4 APLICACIONES

La Química Legal es una de las áreas que emplea métodos químicos para el estudio de la materia considerada como un indicio o evidencia involucrada en la comisión de un delito con la finalidad de averiguar la verdad de un hecho. Por ello el ministerio publico se apoya en los resultados analíticos de la química legal para investigar diversos delitos uno de ellos es la aduiteración de bebidas alcohólicas que a su vez origina otros delitos como daños económicos y a la salud de un individuo. La Química Legal ha desarrollado procedimientos en los cuales destaca la metodología en separaciones por cromatografía de gases que en su aplicación particular a bebidas alcohólicas permite separar y cuantificar los componentes orgánicos volátiles presentes en diversas muestras; involucradas con el delito.²⁸

A continuación se presentan las áreas en las que a menudo se indica la investigación de drogas para investigaciones médico-legales.

- ☞ Toxicología forense médico-legal
- ☞ Ambiente laboral
- ☞ Ensayos con drogas
- ☞ Programas sobre abuso de drogas (antidoping)
- ☞ Detección de bebidas alcohólicas que pudiesen estar adulteradas en bares, restaurantes, discotecas, tiendas de vinos y licores, tiendas de autoservicio etc.
- ☞ Análisis de agua contaminadas, Plaguicidas
- ☞ Hidrocarburos en mares en los cuales hay derrames de petróleo.
- ☞ Inhalantes y solventes volátiles (expulsores para aerosoles, lustrador de calzado, pinturas, gasolina).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de los múltiples productos que están sujetos a regulación sanitaria, las bebidas alcohólicas constituyen un apartado especial a razón del riesgo inherente en su consumo; este riesgo lo representan las sustancias que es posible encontrar a consecuencia de los procesos de fermentación y tratamiento en general, así como la identidad del propio producto. Es por tal motivo que la química legal hace necesario el control analítico en bebidas alcohólicas para verificar la calidad sanitaria del producto y en caso de no cumplir con lo establecido por la normatividad correspondiente la Ley General de Salud apoyada del código penal aplicará una sanción por adulteración del producto, de uno a nueve años de prisión y multa equivalente de cien a mil días de salario mínimo general vigente en la zona económica de que se trate.

En el presente trabajo se analizó por cromatografía de gases las bebidas brandy, ron y tequila, las cuales pueden o no cumplir con la normatividad vigente en lo que se refiere a las especificaciones sanitarias de sus componentes.²¹ En nuestro país constituye un grave problema el consumo de bebidas alcohólicas adulteradas debido al fraude en que se incurre y al daño económico que produce a los consumidores.⁵

Por ello dentro del área de Química Legal una de sus funciones es verificar y vigilar que no se comercialicen en el territorio nacional bebidas alcohólicas que no cumplan con las especificaciones sanitarias establecidas en las normas correspondientes.

Es importante mencionar que independientemente de que sean bebidas alcohólicas adulteradas o no la ingestión inmoderada de dichos productos es capaz de perturbar la conducta humana y convertir gradualmente al hombre en un agresor potencial de sí mismo, de su familia (desintegración familiar) e induciéndolo a ocasionar diversos delitos a la sociedad (suicidios, homicidios, violaciones, accidentes de tránsito, laborales, entre otros. etc).²²

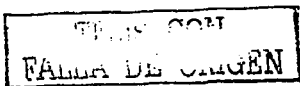
3. OBJETIVO GENERAL:

Evaluar por cromatografía de gases el nivel de concentración de etanol así como de los componentes orgánicos volátiles presentes en muestras de Brandy, Ron y Tequila obtenidas de diferentes zonas del area metropolitana, para determinar de acuerdo a la normatividad vigente si están ó no adulteradas y en caso de estarlo emitir la sanción correspondiente de acuerdo a lo que establece la Ley General de Salud.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

Analizar por cromatografía de gases, si las bebidas alcohólicas en estudio contienen el porciento de alcohol en volumen que declara la etiqueta, así como también verificar si cumplen con el contenido de compuestos orgánicos volátiles: metanol, acetaldehído, acetato de etilo, furfural, alcoholes superiores: alcohol isoamílico, alcohol isobutílico, alcohol amílico establecida por la normatividad vigente.

Realizar un análisis de varianza y prueba de Tukey a los porcentajes de etanol obtenidos del estudio cromatografico de Brandy, Ron y Tequila y observar cual de los establecimientos de donde fueron obtenidas las muestras presentan variaciones que nos permitan detectar la adulteración de las mismas.

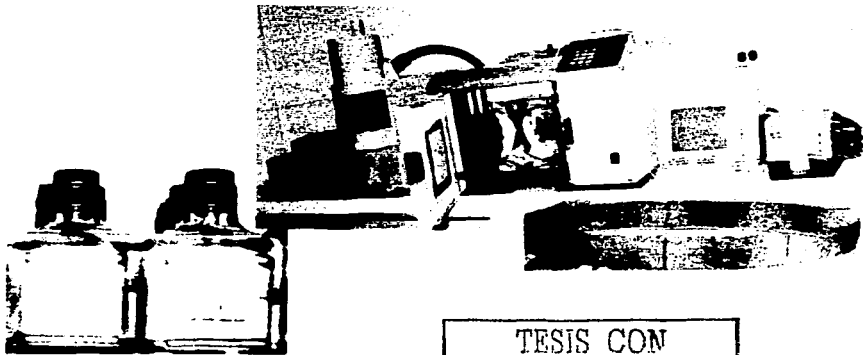
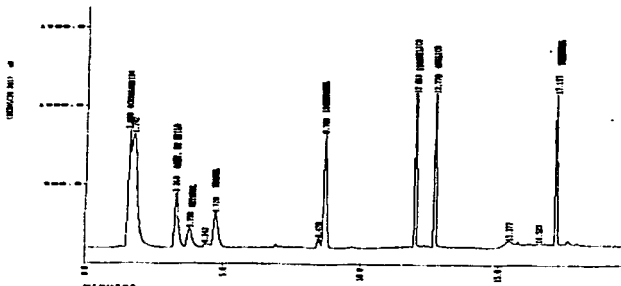


4. HIPÓTESIS

Debido a que los métodos cromatográficos son presentan una alta capacidad de resolución y son útiles para separar mezclas complejas entonces, la obtención de un perfil cromatográfico de bebidas alcohólicas obtenidas de diferentes lugares, es suficiente para identificar y cuantificar algún tipo de componente tóxico y evaluar, si la bebida esta adulterada o no, de acuerdo con las especificaciones sanitarias establecidas por la normatividad vigente, y fundamentar la decisión del ministerio publico para emitir una sentencia y en consecuencia una sanción.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

METODOLOGÍA



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en tres etapas:

ETAPA I MUESTREO

La recolección de muestras de bebidas alcohólicas (ron, brandy y tequila). Las muestras se obtuvieron de tiendas de vinos y licores, discotecas, y restaurantes, ubicados en diversas zonas del área metropolitana. Se colectaron en frascos ambar con capacidad de 20 mL con tapa de bakelita. El número de muestras fue de una por cada establecimiento.

ETAPA II CONDICIONES PARA EL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Se realizaron las determinaciones en un Cromatografo de Gases Perkin Elmer Auto System. Empleando las siguientes condiciones :

Columna PE-WAX (polietilenglicol) Carbowax 20 M, 30 m x 0.53 mm I.D., 1.0 mm
Inyector: Empacado con fibra de vidrio.

Detector Ionización de flama. (FID)

Temperatura del horno : programa de temperatura

Flama Aire-Hidrógeno

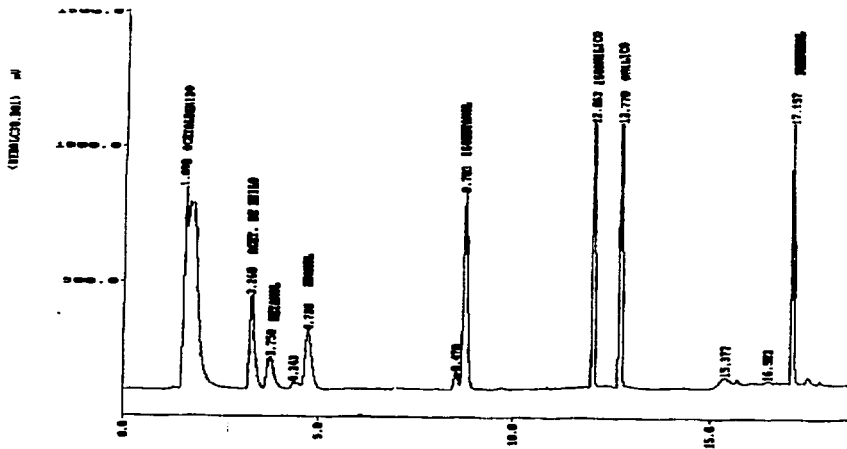
Gas de arrastre Helio

Se establecieron las condiciones de temperatura del horno para una separación adecuada de acetaldehído, acetato de etilo, metanol, etanol, alcohol isobutilico, isoamilico, amilico y furfural que fueron los componentes a cuantificar, se elaboró una curva de concentración conocida con tres niveles de con concentración.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la figura 1 se muestra el cromatograma correspondiente a un punto de la curva de calibración donde se observan los picos señal y sus tiempos de retención para acetaldehído (1.650 min), acetato de etilo (3.260 min), metanol (3.750 min), etanol (4.720 min), alcohol isobutilico (8.703 min), alcohol isoamilico (12.063 min), alcohol amilico (12.770 min) y furfural (17.157 min).

FIGURA 1. CROMATOGRAMA DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN



Temperatura del detector (FID) 200°C

Temperatura del inyector 180°C

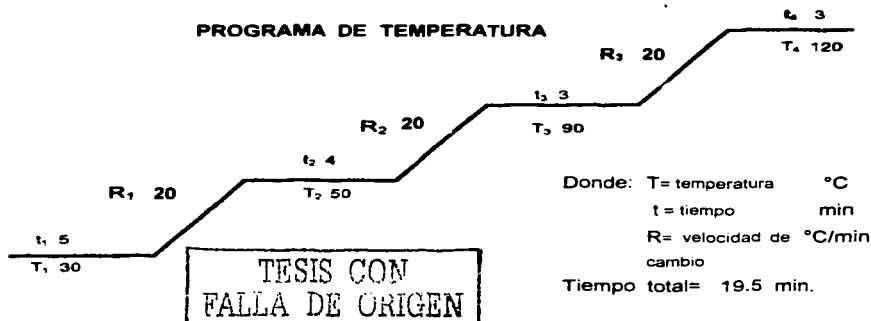
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la tabla 1 se muestra la concentración de los puntos de la curva de calibración, los tiempos de retención característicos de los componentes así como el programa de temperatura empleado.

Las diferentes concentraciones de la curva de calibración se inyectaron 0,5 μ L al cromatografo de gases por duplicado, tomando como referencia el valor promedio.

TABLA 1.

CURVA DE CALIBRACIÓN				
COMPONENTES DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	CONCENTRACIÓN			TIEMPO DE RETENCIÓN (min)
	(1)	(2)	(3)	
	mg/mL			
Acetaldehído	0.1566	0.3132	0.3915	1.650
Acetato de etilo	0.1778	0.3556	0.4445	3.260
Metanol	0.1584	0.3169	0.3962	3.750
Etanol	0.1578	0.3156	0.3945	4.720
Alc. isobutilico	0.1612	0.3224	0.4030	8.703
Alc. isoamilico	0.1626	0.3252	0.4065	12.063
Alc. n-amilico	0.1638	0.3276	0.4095	12.770
Furfural	0.2319	0.4639	0.5799	17.157



TRATAMIENTO PARA LAS MUESTRAS.

Para acetaldehído, acetato de etilo, metanol, alcohol isobutilico, alcohol isoamilico, amilico, y furfural se inyectaron 0,5 μ L por separado de cada una de las muestras y se obtuvieron los cromatogramas.

El etanol se determino individualmente con una dilución 1:1000.

Las determinaciones de los componentes orgánicos volátiles se realizaron por duplicado y se obtuvo el promedio de las concentraciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ETAPA III ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza de un factor en el diseño aleatorio para verificar de manera general si hubo diferencia significativa en cuanto a la adulteración de bebidas alcohólicas entre los lugares de los cuales fueron obtenidas las muestras.

Se realizó el análisis de varianza para observar si hay diferencia significativa en cuanto a la concentración de etanol y posteriormente se aplicó la prueba de Tukey para verificar de manera específica en que lugar se observaron variaciones en el porcentaje de etanol y por tanto concluir si hay adulteración de bebidas alcohólicas.

Cabe mencionar que la prueba de Tukey (DSH) ó prueba significativa honesta se utiliza para observar la variación en concentración de etanol en las bebidas alcohólicas obtenidas de diferentes establecimientos. La fórmula es la siguiente:

$$DSH = q_{\alpha, k, gl \text{ error}} \sqrt{\frac{s^2}{n}}$$

q =se obtiene e tablas donde:

α = 0.05

k =el número de lugares analizados

$gl \text{ error}$ = $N-K$

N = Tamaño de muestra.

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

I. MATERIAL

- ☉ Matraz aforado 10 mL
- ☉ Matraz aforado 100 mL
- ☉ Pipeta volumetrica 1 mL
- ☉ Frascos ambar con tapa con rosca de bakelita capacidad 20 mL
- ☉ Vaso de precipitados 100 mL

INSTRUMENTO

- ☉ Cromatografo de gases Perkin Elmer Auto system

ACCESORIOS DEL INSTRUMENTO

- ☉ Columna PE-WAX (polietilenglicol) Carbowax 20 M, 30 m x 0.53 mm I.D., 1.0 m.m. Temperatura máxima 250°C.
- ☉ Detector de ionización de flama.
- ☉ Gas transportador helio.
- ☉ Flama aire-hidrógeno.
- ☉ Jeringa 1 μ L, 5 μ L.

COMPONENTES DE LA CURVA de CALIBRACIÓN

- ☉ Acetaldehido
- ☉ Acetato de etilo
- ☉ Metanol
- ☉ Etanol
- ☉ Alcohol isobutilico
- ☉ Alcohol isoamilico
- ☉ Alcohol n-amilico
- ☉ Furfural

DISOLVENTES

- ☉ Agua destilada

MUESTRAS

- ☉ Brandy, Ron y Tequila

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II. DIAGRAMA DE FLUJO

Recolectar de muestras de ron, brandy y tequila de tiendas de vinos y licores, restaurantes, discotecas de diferentes zonas del Area Metropolitana.

Establecer los Parámetros instrumentales bajo las cuales se realizo dicho estudio:
Temperatura del detector de ionización de flama (FID) 200°C
Temperatura del inyector 180°C
Programa de Temperatura figura 1.

Prepar curva de calibración de: acetaldehído, acetato de etilo, metanol, etanol alcohol isobutilico, alcohol isoamilico, amilico, furfural .

Inyectar la curva de calibración y calibrar el instrumento de acuerdo al programa de temperatura seleccionado.

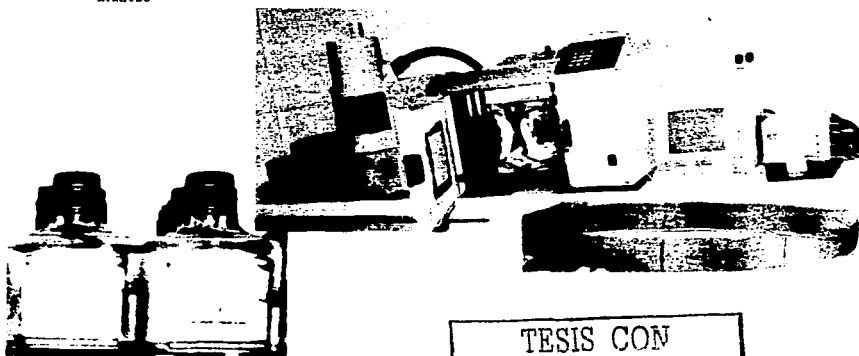
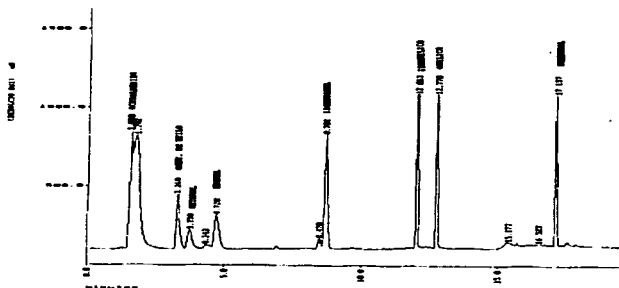
Inyectar directamente 0.5 μL de cada una de las muestras de ron brandy y tequila, al cromatografo de gases para determinar: acetaldehído, acetato de etilo, metanol, alcohol isobutilico, alcohol isoamilico, amilico, furfural

Para la determinación de etanol se preparo una dilución con agua 1:1000 de cada una de las muestras y se inyecto 0.5 μL de muestra al cromatografo de gases .

Se obtuvieron los cromatogramas de cada una de las muestras de ron brandy y tequila obteniendo directamente la concentración de cada uno de los componentes. A los resultados se les realizo un análisis de varianza de un factor en el diseño completamente aleatorio para ver si hay diferencia significativa entre los lugares de los cuales fueron obtenidas las muestras y en los que hubo se realizo una prueba de Tukey para observar de manera más particular que lugar tuvo más desviaciones en el % de Alc. vol. y el contenido de compuestos volátiles.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

6.1 Resultados de Cromatografía de Gases de muestras de Brandy

a). La tabla 1 muestra los componentes orgánicos volátiles identificados en muestras de brandy obtenidas de diferentes establecimientos localizados en diversas zonas del área metropolitana.

TABLA 1

1. TIENDAS DE VINOS Y LICORES, CENTRO COMERCIALES

BRANDY PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES ISOBUTILICO ISOAMILICO n-AMILICO mg/ 100mL			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc vol	Desviación % Alc. vol
Los Reyes	N D	7,84	23,81	8,37	22,92	N D	3,37	43,51	
Iztapalapa	N D	11,17	36,04	9,89	25,39	N D	2,05	45,59	
Nezahualcoyotl	7,62	9,31	25,43	7,47	16,30	N D	3,85	46,20	
Naucalpan	6,33	11,26	81,08	24,54	40,3	N D	1,15	36,19	

2. RESTAURANTES

BRANDY PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES ISOBUTILICO ISOAMILICO n-AMILICO mg/ 100mL			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc. vol	Desviación % Alc. vol
Los Reyes	N D	8,25	24,98	8,43	23,01	N D	1,68	55,25	+0,25
Iztapalapa	N D	3,03	17,90	6,84	18,35	N D	2,95	33,87	-4,13
Nezahualcoyotl	N D	8,31	18,91	6,53	19,73	N D	1,26	42,65	
Naucalpan	N D	7,35	21,50	8,34	22,47	N D	2,39	53,48	

3. DISCOTECA, ANTROS

BRANDY PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES ISOBUTILICO ISOAMILICO n-AMILICO mg/ 100mL			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc. vol	Desviación % Alc. vol
Los Reyes	N D	5,34	19,20	7,07	32,62	N D	1,68	30,63	-4,37
Iztapalapa	N D	7,60	20,64	6,72	19,12	N D	3,95	26,56	-8,44
Nezahualcoyotl	N D	4,02	19,34	7,31	18,65	N D	2,26	20,03	-14,97
Naucaipan	N D	5,14	13,89	8,10	18,25	N D	2,39	41,57	

VALORES DE LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-142-SSA1-1995

ACETALDEHIDO mg/100mL	ACETATO DE ETILO mg/100mL	METANOL mg/100mL	ALCOHOLES SUPERIORES AMILICO ISOBUTILICO, ISOAMILICO mg/100mL	FURFURAL mg/100mL	ETANOL % Alc. vol
0-40	0-200	0-300	0-500	0-4	35-55

NOTA: Esta NOM-142-SSA1-1995 se emplea de manera general cuando se realizan análisis a bebidas alcohólicas, en este caso se empleo debido a que el brandy no tiene una norma especifica para el contenido de componentes volátiles que esta contiene.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para las muestras de brandy procedentes de restaurantes y discotecas ubicadas en la zona de Iztapalapa, se presentan desviaciones negativas en la concentración de etanol, es decir que el porcentaje de etanol obtenido en este análisis cromatográfico es inferior a lo que establece la NOM-142-SSA1-1995 (35-55%)⁴³. Las posibles causas que originan estas desviaciones que muestran una concentración de etanol inferior a lo establecido, son que durante el proceso de fermentación las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* no transformaran totalmente los azúcares en etanol por lo cual no se obtuvo la concentración establecida por la normatividad vigente o se puede deber a que están siendo diluidas con agua durante el proceso de comercialización al menudeo. Cabe mencionar que otro factor importante fue la forma de recolección de las muestras de brandy ya que en los restaurantes y discotecas las muestras eran servidas en vasos y de ahí fueron colectadas en el frasco ámbar lo cual no permitió observar si la botella era nueva o quizás ya estaba abierta días antes y de ahí sirvieron la muestra.

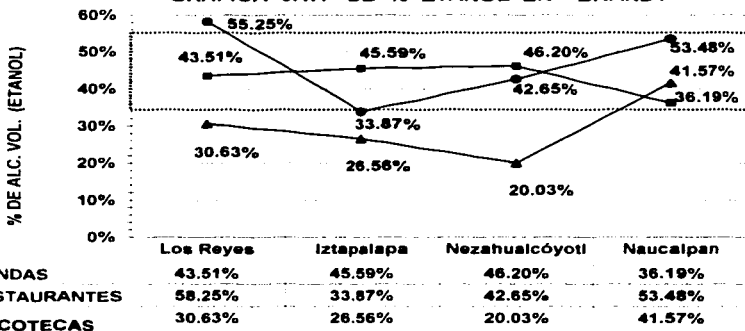
En cuanto al contenido de compuestos orgánicos volátiles el análisis de los cromatogramas muestran que no se detectó la presencia del alcohol n-amílico, un componente de la mezcla de aceite de fusel (alcohol isoamílico, n-amílico e isobutilico). También de manera notable se observó que solo el 50% de las muestras de brandy obtenidas de tiendas de vinos y licores contienen acetaldehído, la ausencia de este compuesto en algunas ocasiones se puede deber a que cuando las bebidas alcohólicas son recién elaboradas y no tienen como mínimo un año de añejamiento es posible encontrar poco o nada de acetaldehído ya que este se forma de la oxidación del etanol.

Es importante mencionar que no se observó la presencia de alcohol n-amílico debido a que quizás el mosto no contenía el aminoácido leucina el cual durante el proceso de fermentación es transformado por las levaduras en alcohol n-amílico.

TESIS COM
FALLA DE ORIGEN

Sin embargo la gráfica 6.1.1 muestra la variación obtenida en las en porcentaje de etanol en las muestras de brandy procedentes de discotecas, tiendas de vinos y licores y restaurantes, en donde se observa que las muestras de brandy obtenidas de las discotecas en su mayoría muestran valores de porcentaje de etanol inferiores a los establecidos en la NOM-142-SSA1-1995, lo cual permite asegurar que estas bebidas alcohólicas están siendo diluidas durante el proceso de comercialización al menudeo por copa lo que se considera una adulteración.

GRÁFICA 6.1.1 DE % ETANOL EN BRANDY



PROCEDENCIA

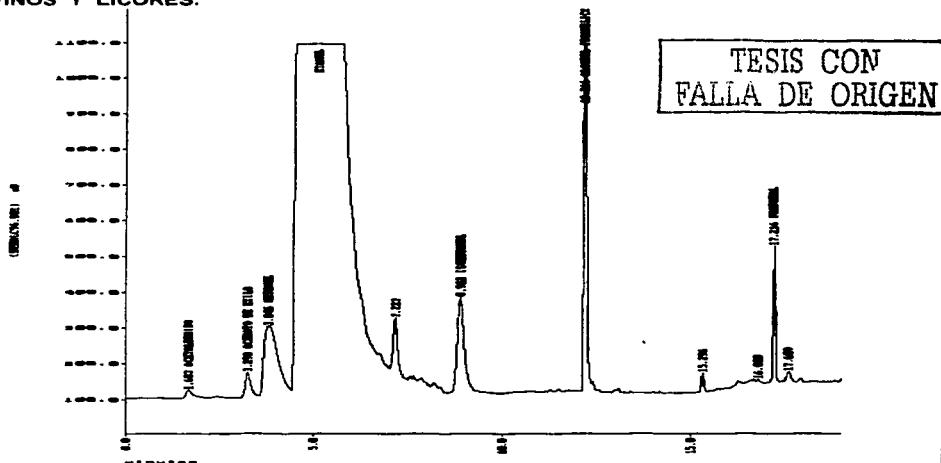
NOTA: El rectángulo punteado indica los valores de % de etanol establecidos por la NOM-142-SSA1-1995 (35-55% de etanol). Brandy especificaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.1.2 CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE BRANDY

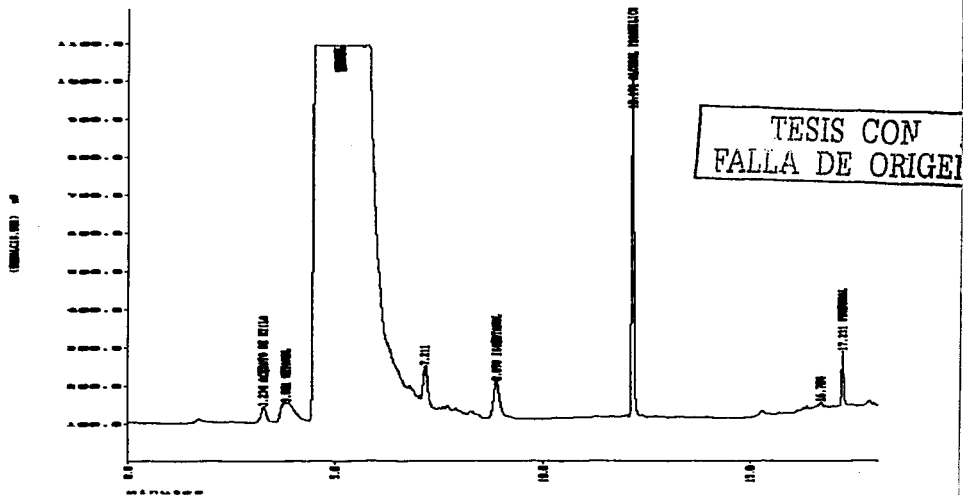
A continuación se presentan tres cromatogramas representativos de muestras de brandy procedentes de diferentes establecimientos.

CROMATOGRAMA 1. MUESTRA DE BRANDY OBTENIDA DE UNA TIENDA DE VINOS Y LICORES.



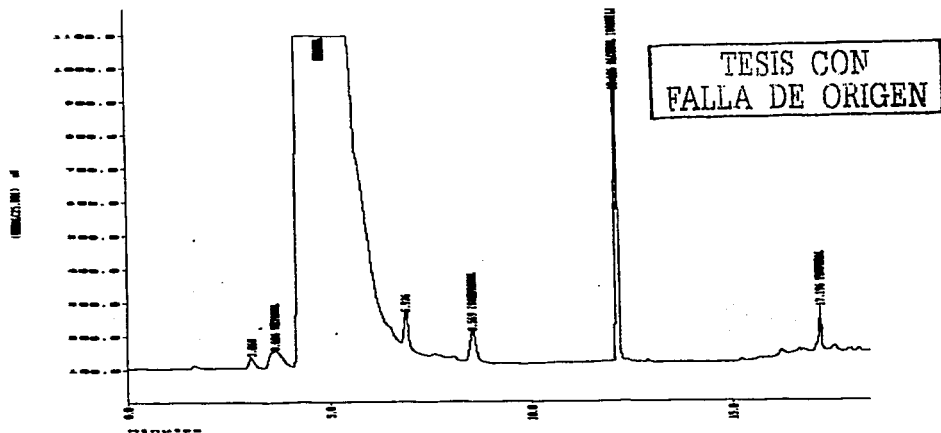
En el cromatograma 1 se observan los componentes orgánicos volátiles que de acuerdo a los tiempos de retención característicos obtenidos en la curva patrón se identifican como: acetaldehído, acetato de etilo, metanol, etanol, alcohol isoamilico, y furfural. De esta muestra de brandy obtenida de una tienda de vinos y licores el componente que no se detecta es el alcohol n-amilico el cual aparece a un tiempo de retención de 12.770 min.

CROMATOGRAMA 2. MUESTRA DE BRANDY OBTENIDA DE RESTAURANTE.



En el cromatograma 2 se muestran los componentes orgánicos volátiles: acetato de etilo, metanol, etanol, alcohol isobutilico, isoamilico y furfural presentes en la muestra de brandy obtenida de un restaurante. Se observa un pico al mismo tiempo de retención del acetaldehído (1.650 min) sin embargo no se detecto ya que la concentración del mismo es inferior al limite de detección. Se observa también la ausencia de alcohol n-amilico el cual tiene un tiempo de retención de 12.770 min.

CROMATOGRAMA 3. MUESTRA DE BRANDY OBTENIDA DE DISCOTECA.



El cromatograma 3 se observan los componentes orgánicos volátiles en una muestra de brandy obtenida de una discoteca con un tiempo de retención característico para cada uno ellos de acuerdo a una curva patrón y corresponden a : acetato de etilo, metanol, etanol, alcohol isobutilico, isoamilico y furfural. También aparece un pico al tiempo de retención (1.650 min) en que aparece el acetaldehído el motivo por el cual no lo detecto es porque su concentración es inferior al límite de detección. Se observa también la ausencia de alcohol n-amílico esto es debido posiblemente a la ausencia de leucina el cual es un aminoácido considerado como componente del mosto el cual utiliza la levadura en el proceso fermentativo para transformarlo a alcohol n-amílico

6.1.3 RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE BRANDY

Por otra parte se realizó un análisis estadístico en el cual se hizo una comparación entre un establecimiento y otro para ver si existe diferencia significativa en cuanto al % de etanol de muestras de brandy obtenidas de tiendas de vinos y licores, restaurantes y discotecas.

El análisis de varianza realizado a los resultados de concentración de etanol de muestras de brandy obtenidas de diferente procedencia se muestra en la siguiente tabla:

TABLA 1.1. ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

BRANDY					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	VARIANZA Ó CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA	F TEORICA
TIENDAS DE VINOS Y LICORES, RESTAURANTES, DISCOTECAS	2	657.389	328.657	4.40	4.26
ERROR	9	672.085	74.67		
F calculada es mayor que F teórica por lo que se rechaza que en $\mu_1=\mu_2=\mu_3$ por lo cual existe diferencia significativa en la concentración de etanol de las muestras de brandy obtenidas de diferentes establecimientos.					μ_1 =TIENDAS DE VINOS Y LICORES μ_2 =RESTAURANTES μ_3 =DISCOTECAS

c). Después de observar que hay diferencia significativa de manera general se realizó la Prueba de Tukey, determinándose así el porcentaje de rangos (q) y la diferencia de medias de los tres establecimientos como lo muestra la tabla 1.2 en la cual se observa que las discotecas y antros son los establecimientos en donde se encuentran con más frecuencia bebidas alcohólicas que no cumplen con el % de etanol que establece la NOM-142-SSA1-1995.

TABLA 1.2 PRUEBA DE TUKEY SE EMPLEA CUANDO HAY DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN EL ANALISIS DE VARIANZA

COMPARACION B VS A	DIFERENCIA DE MEDIAS B-A	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA HONESTA (DSH)	1TABLAS	CONCLUSIÓN
2 Vs 1	4.19	4.3205	3.95	1=2≠3 1= TIENDAS DE VINOS Y LICORES 2=RESTAURANTES 3=DISCOTECAS, ANTROS
2 Vs 3	17.37	4.3205	3.95	
1 Vs 3	13.18	4.3205	3.95	

La prueba de Tukey se realizo para observar la variación en la concentración de etanol de las muestras de brandy obtenidas de los diferentes establecimientos obteniéndose que en discotecas y restaurantes son los lugares más frecuentes a encontrar bebidas alcohólicas con % de etanol inferiores a lo establecido y en las tiendas de vinos y licores es menos frecuente encontrar estas variaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

6.2 Resultados de Cromatografía de Gases de muestras de Ron

La tabla 2 muestra los componentes orgánicos volátiles identificados en muestras de ron obtenidas de diferentes establecimientos localizados en diferentes zonas del área metropolitana.

TABLA 2

1. TIENDAS DE VINOS Y LICORES

RON PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc.vol.	Desviación % Alc. vol
				ISOBUTILICO	ISOAMILICO	n-AMILICO			
Los Reyes	11,10	4,34	ND	3,42	17,32	9,65	2,56	49,66	
Iztapalapa	N.D	1,65	ND	ND	ND	N.D	3,11	47,29	
Nezahualcoyotl	ND	ND	ND	ND	ND	N.D	3,77	57,08	+2,08
Naucalpan	65,49	3,47	ND	2,31	9,61	28,87	1,74	61	

2. RESTAURANTE

RON PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc.vol.	Desviación % Alc. vol
				ISOBUTILICO	ISOAMILICO	n-AMILICO			
Los Reyes	ND	ND	ND	ND	1,29	ND	1,22	57,89	+2,89
Iztapalapa	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1,43	46,57	
Nezahualcoyotl	6,04	3,72	ND	2,44	11,86	ND	2,14	35	
Naucalpan	7,80	4,67	ND	2,38	10,70	ND	3,67	42,54	

3. DISCOTECAS, ANTROS

RON PROCEDECENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100mL	ALCOHOLES SUPERIORES ISOBUTILICO ISOAMILICO n-AMILICO mg/ 100mL			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc. vol.	Desviación % Alc. vol
Los Reyes	5,46	3,79	ND	2,30	10,25	ND	2,15	44,00	
Iztapalapa	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3,03	34,76	-7,24
Nezahualcoyotl	7,14	3,84	ND	2,37	11,10	16,18	3,81	25,63	-12,37
Naucalpan	5,94	4,19	19,86	12,32	27,36	ND	2,23	43,70	

VALORES DE LA NORMA MEXICANA NMX-V-002-NORMEX-1999.

ACETALDEHIDO mg/100mL	ACETATO DE ETILO mg/100mL	METANOL mg/100mL	ALCOHOLES SUPERIORES AMILICO ISOBUTILICO ISOAMILICO mg/100mL	FURFURAL mg/100mL	ETANOL % Alc. vol.
0-40	0-200	0-10	30-400	0-4	35-55

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN

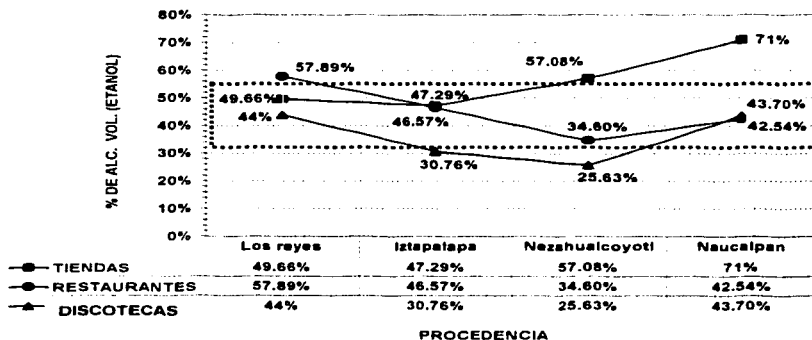
De los valores obtenidos para ron tabla 2 se observa que todas las muestras de ron obtenidas de tiendas de vinos y licores cumplen en cuanto al % de etanol establecido por la Norma Mexicana NMX-V-002-NORMEX-1999 (35 a 55%), pero el 50% de las muestras de ron presentan concentraciones de etanol superiores a lo establecido y además carecen de componentes orgánicos volátiles, por lo tanto están constituidas de etanol, agua y furfural lo cual indica que probablemente fueron diluidas con agua y adicionaron etanol para corregir la concentración por lo tanto no cumplen con lo que establece la normatividad correspondiente. Es importante mencionar que la Secretaría de Salud en coordinación con la Ley General de Salud prohíbe adicionar componentes volátiles para corregir concentraciones y además indica que todos los componentes volátiles deben originarse del mismo proceso fermentativo puesto que a ello deben el nombre de **congenéricas**. Por otra parte las muestras de ron obtenidas de los restaurantes se observa una situación similar a la anterior es decir que carecen de componentes volátiles pero cumplen con el porcentaje de etanol por lo cual se consideran bebidas alcohólicas adulteradas pues no se cumple con las especificaciones sanitarias establecida por la normatividad vigente. En las muestras de ron obtenidas de se observo la ausencia de algunos componentes volátiles pero a diferencia de las muestras de ron procedentes de tiendas de vinos y licores y restaurantes se observo que en estos establecimientos hubo un 50% de muestras de ron que presentan concentraciones de etanol inferiores a lo que establece la NMX-V-002-NORMEX-1999 (35 a 55 % etanol) por lo cual no cumplen con las especificaciones establecidas por la normatividad vigente. En las muestras de ron en su mayoría se observa que no contienen metanol y acetaldehído y algunas de ellas no contienen alcohol n-amílico y acetato de etilo probablemente esto se debió a que se encontraban en concentraciones bajas y al diluirlas la concentración disminuyo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Otro dato importante es que en las discotecas y restaurantes de donde fueron obtenidas las muestras de ron no se pudo observar que botella sirvieron la bebida alcohólica ya que en la barra habían vasos preparados de bebidas alcohólicas.

La gráfica 6.2.1 muestra la variación en concentración de etanol en muestras de ron obtenidas de discotecas, el 50% de ellas presentan concentraciones de etanol inferiores a las establecidas la NMX-V-002.NORMEX-1999 (35-55% etanol), en tanto en las muestras de ron procedentes de los restaurantes se observa que sólo el 25% no cumplen con la normatividad en cuanto a concentración de etanol.

GRÁFICA 6.2.1 % DE ETANOL EN RON



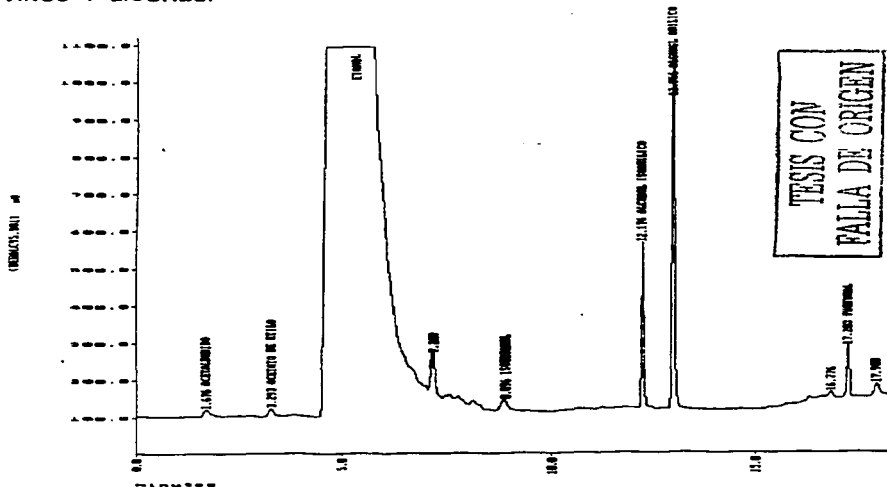
NOTA: El rectángulo punteado indica los valores de % de etanol establecidos por la NMX-V-002-NORMEX-1999. Ron especificaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.2.2 CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE RON

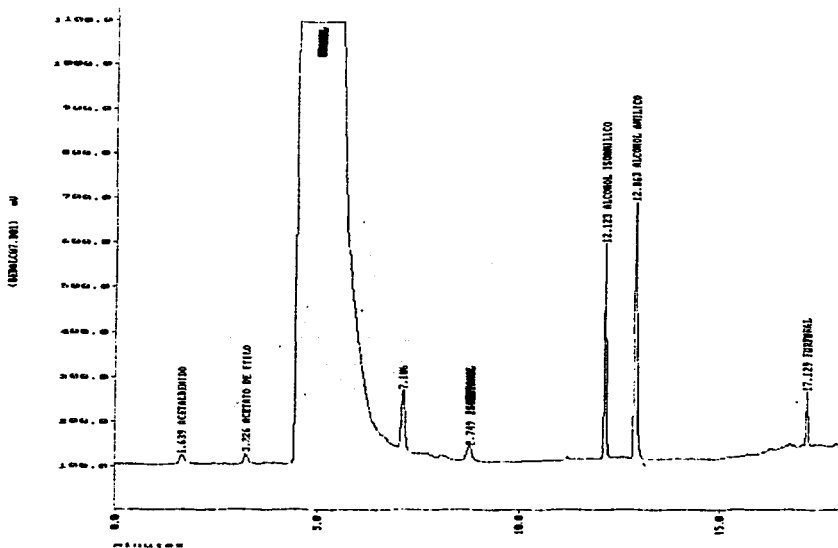
A continuación se presentan tres cromatogramas representativos de muestras de ron obtenidas en diferentes establecimientos

CROMATOGRAMA 4. MUESTRA DE RON OBTENIDA DE UNA TIENDA DE VINOS Y LICORES.



En el cromatograma 4 se observan los componentes volátiles de una muestra de ron obtenida de una tienda de vinos y licores y son: acetaldehído, acetato de etilo, etanol alcohol isobutilico, isoamilico, amilico y furfural. El componente volátil que no se observa es metanol sin embargo la **NMX-V-002-NORMEX-1999** especifica de cero a 10 mg/100mL.

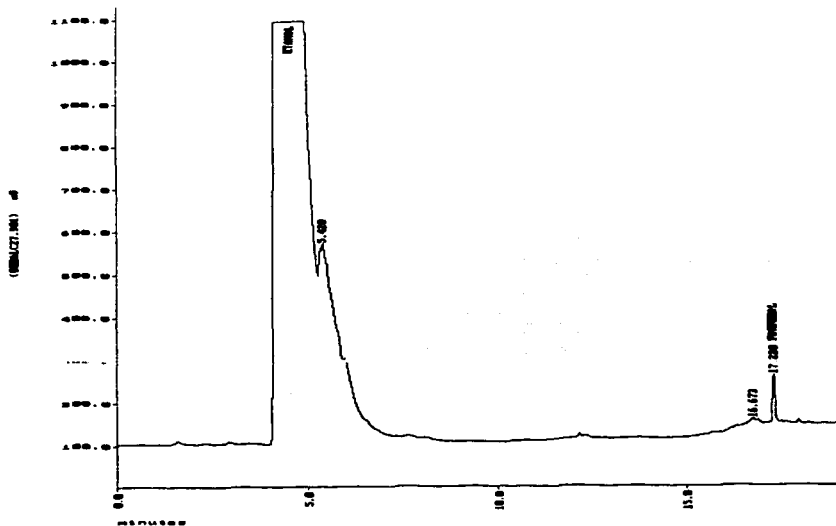
CROMATOGRAMA 5. MUESTRA DE RON OBTENIDA DE UN RESTAURANTE



El cromatograma 5 corresponde a una muestra de ron obtenida de restaurante y se observan los componentes orgánicos volátiles: acetaldehído, acetato de etilo, etanol, alcohol isobutílico, isoamillico y furfural. El componente que no se observa es el metanol el cual aparece a un tiempo de retención de 3.750 min.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CROMATOGRAMA 6. MUESTRA DE RON OBTENIDA DE UNA DISCOTECA.



Este cromatograma 6 corresponde a una muestra de ron obtenida de una discoteca se observan los componentes volátiles: etanol y furfural. Se observa también la ausencia de metanol, alcohol isobutilico, alcohol isoamilico, n-amilico lo cual indica que probablemente estén diluyendo con agua y por lo tanto esta siendo adulterada.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.2.3 RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE RON

Por otra parte se realizó un análisis estadístico para saber de manera general si hay variación en cuanto al % de etanol en ron entre los establecimientos de donde fueron colectadas las muestras.

TABLA 2.1 ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

RON					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	VARIANZA Ó CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA	F TEORICA
TIENDAS DE VINOS Y LICORES, RESTAURANTES, DISCOTECAS	2	820.2078	410.1039	4.20	4.26 μ_1 =TIENDAS DE VINOS Y LICORES μ_2 =RESTAURANTES μ_3 =DISCOTECAS
ERROR	9	878.78	97.64		
F calculada es menor que F teórica por lo que se acepta que $\mu_1=\mu_2=\mu_3$ por lo cual no hay diferencia significativa. en la concentración de etanol de las muestras de ron colectadas de diferentes establecimientos.					

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.3 Resultados de Cromatografía de Gases de muestras de Tequila

a). La tabla 3. Muestra los resultados obtenidos de las muestras de tequila obtenidas de diferentes establecimientos ubicados en diversas zonas del área metropolitana.

TABLA 3

1. TIENDAS DE VINOS Y LICORES.

TEQUILA PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES ISOBUTILICO ISOAMILICO n-AMILICO mg/ 100mL			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc.vol.	Desviación % Alc. vol
Los Reyes	8,20.	10,78	32,67	20,20	37,36	ND	0,49	32,00	-3
Iztapalapa	5,37	14,16	57,22	19,98	41,03	ND	0,85	60,86	
Nezahualcoyotl	ND	14,37	123,30	24,76	45,26	ND	0,82	37,03	
Naucalpan	6,11	16,20	67,96	21,09	39,73	ND	30,95	72,61	

2. RESTAURANTE

TEQUILA PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES ISOBUTILICO ISOAMILICO n-AMILICO mg/ 100mL			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL %Alc.Vol.	Desviación % Alc. vol
Los Reyes	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,85	31,67	-6,33
Iztapalapa	ND	16,12	27,51	36,40	49,84	ND	0,55	57,20	
Nezahualcoyotl	ND	13,30	124,18	22,50	46,59	ND	0,96	27,95	-10,05
Nezahualcoyotl	ND	11,59	92,01	22,52	36,84	ND	1,12	26,88	-11,12
Naucalpan	6,11	20,28	260,86	39,12	50,72	4,84	0,84	41,65	

3. DISCOTEGAS Y ANTROS

TEQUILA PROCEDENCIA	ACETALDEHIDO mg/ 100 mL	ACETATO DE ETILO mg/ 100 mL	METANOL mg/ 100 mL	ALCOHOLES SUPERIORES			FURFURAL mg/ 100 mL	ETANOL % Alc.vol.	Desviación % Alc. vol
				ISOBUTILICO	ISOAMILICO	n-AMILICO			
				mg/ 100mL	mg/ 100mL	mg/ 100mL			
Los Reyes	10,01	17,77	15,75	26,52	41,37	ND	1,1	26,61	-11,39
Los Reyes	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1,0	30,87	-7,13
Iztapalapa	5,61	3,22	ND	2,39	9,35	ND	0,67	23,66	-14,34
Iztapalapa	5,09	8,58	81,51	20,63	35,62	ND	0,71	34,76	-3,26
Nezahualcoyotl	19,32	7,54	79,67	26,57	45,62	ND	0,98	27,24	-10,76
Naucalpan	11,44	15,57	81,78	18,48	35,06	1,98	0,85	30,87	-7,13
Naucalpan	6,5	12,63	97,28	22,52	38,28	ND	0,94	22,22	-15,78

VALORES DE LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-1994.

ACETALDEHIDO mg/100mL	ACETATO DE ETILO mg/100mL	METANOL mg/100mL	ALCOHOLES SUPERIORES AMILICO ISOBUTILICO, ISOAMILICO mg/100mL	FURFURAL mg/100mL	ETANOL % Alc. vo
0-40	0-270	30-300	20-400	0-1	35-55

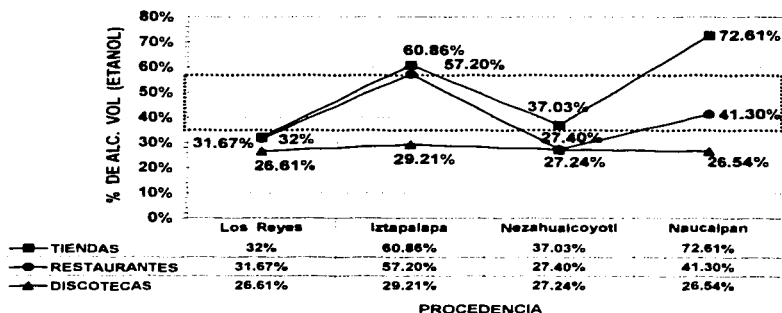
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la tabla 3 se observa que las muestras de tequila obtenidas de tiendas de vinos y licores solo una muestra presenta una concentración de etanol inferior a lo que establece la NOM-006-SCFI-1994 (35-55% etanol) en tanto las muestras de tequila procedentes de restaurantes y discotecas la mayoría de ellas presentan desviaciones en la concentración de etanol esto puede ser debido a que en dichos establecimientos sirven la bebida en vasos por lo cual no se observa si la botella tenía el sello que garantiza que no ha sido abierta anteriormente, o quizás esa botella ya tenía días de haber sido abierta, o simplemente las diluyen con agua en el momento de servirla al vaso. En tanto las muestras de tequila procedentes de tiendas de vinos y licores son los establecimientos menos frecuentes de encontrar desviaciones en el porcentaje de etanol y esto puede ser debido a que las muestras de tequila en su mayoría se obtuvieron de botellas nuevas compradas de la vinatería.

También se observó que la mayoría de las muestras de tequila obtenidas de los tres establecimientos no tienen alcohol n-amílico el cual la NOM-006-SCFI-1994 lo incluye como un componente en la mezcla de aceite de fusel (alcohol amílico, isoamílico e isobutílico) y dicha mezcla representa a los alcoholes superiores totales, y no indica en que concentración se encuentra cada uno de los componentes. La ausencia de este alcohol n-amílico probablemente se debe a que el proceso de elaboración no se realizó adecuadamente o que el mosto no tenía leucina el cual es un aminoácido que se utiliza para que la levadura lo transforme en alcohol n-amílico en el proceso de fermentación. También se observó que algunas muestras de tequila obtenidas de restaurantes así como de discotecas además de presentar concentraciones de etanol inferiores no carecían de algunos componentes volátiles por lo cual están constituidas de etanol, agua y furfural todo lo anterior indica que posiblemente fueron diluidas con agua y por consecuencia adulteradas. También se encontró que en los restaurantes hay muestras contienen los componentes volátiles acetaldehído, acetato de etilo, metanol, etanol, alcohol isobutílico, isoamílico, n-amílico y furfural pero no cumplen con el % de etanol que establece la NOM-006-SCFI-1994.

De manera notable se observa el siguiente orden en que se presentan con más frecuencia la adulteración de bebidas alcohólicas: 1° discotecas, 2° restaurantes y 3° tiendas de vinos y licores. En la gráfica 6.3.1 se observa que las muestras de tequila obtenidas de discotecas son los establecimientos más susceptibles a tener concentraciones de etanol inferiores a lo que establece la NOM-006-SCFI-1994 (35-55%). En las muestras de tequila obtenidas de tiendas de vinos y licores es menos frecuente encontrar desviaciones en la concentración de etanol.

GRÁFICA 6.3.1 % DE ETANOL EN TEQUILA



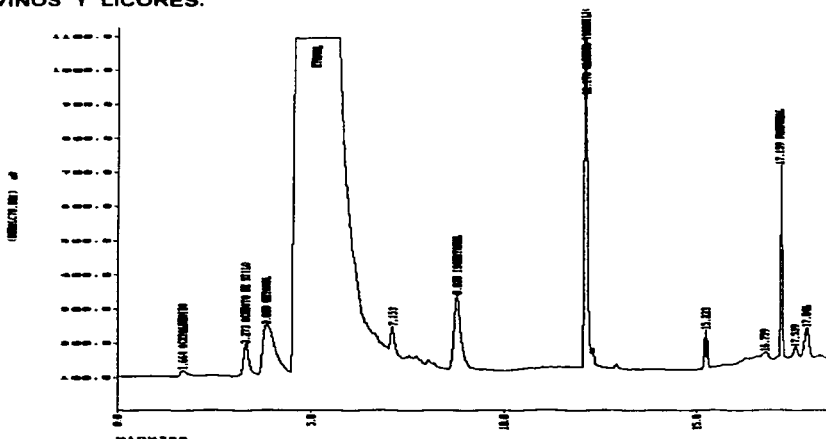
NOTA: El rectángulo punteado indica los valores de % de etanol establecidos por la NOM-006-SCFI-1994. Tequila especificaciones

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.3.2 CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE TEQUILA

A continuación se presenta un cromatograma representativo de una muestra de tequila obtenidas de diferentes establecimientos.

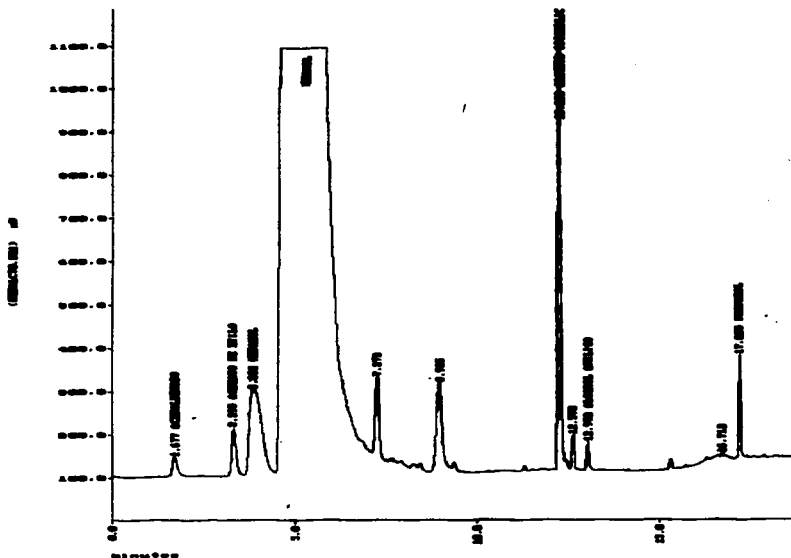
CROMATOGRAMA 7. MUESTRA DE TEQUILA OBTENIDA DE UNA TIENDA DE VINOS Y LICORES.



En este cromatograma se observa la presencia de los componentes volátiles acetaldehído, acetato de etilo, metanol, etanol, alcohol isobutílico, isoamilico y furfural con un tiempo de retención característico para cada uno de ellos. Se observa un pico al mismo tiempo de retención (12.770 min) del alcohol n-amílico posiblemente no se detecto debido a que tiene una concentración inferior al limite de detección.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

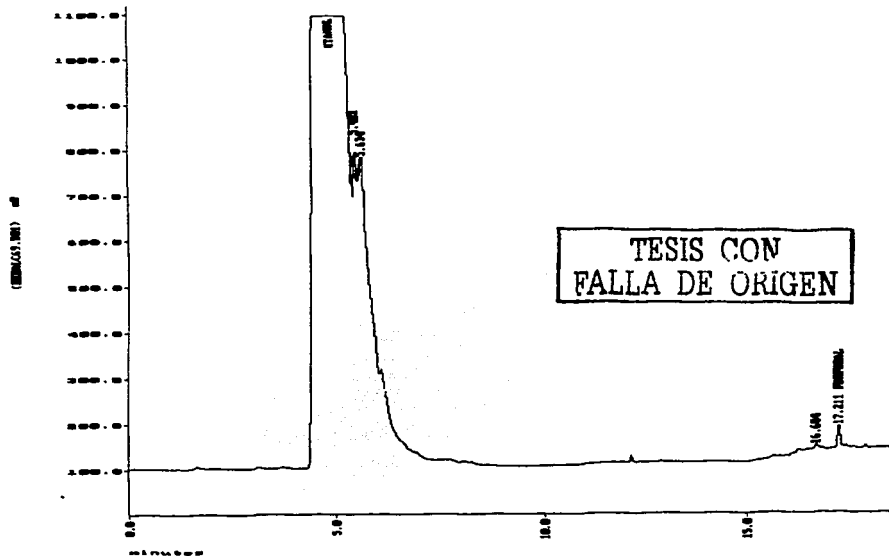
CROMATOGRAMA 8 MUESTRA DE TEQUILA OBTENIDA DE RESTAURANTE.



Este cromatograma corresponde a una muestra muestra de tequila obtenida de un restaurante los componentes volátiles que contiene son: acetaldehído, acetato de etilo, metanol, etanol, alcohol isobutilico, isoamilico, n-amilico y furfural.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CROMATOGRAMA 9. MUESTRA DE TEQUILA OBTENIDA DE DISCOTECAS



El cromatograma 9 corresponde a una muestra de tequila obtenida de una discoteca y esta constituida de etanol y furfural. Se observa que no contiene acetaldehído, acetato de etilo, metanol, alcohol isobutilico, isoamilico, n-amilico y furfural. Por lo cual probablemente fue diluida con agua y por lo tanto adulterada en sus componentes volátiles.

6.3.3 RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE TEQUILA

b). A los resultados obtenidos de concentración de etanol se les realizó un análisis de varianza en el cual se determino que los establecimientos en los que es más frecuente encontrar bebidas alcohólicas adulteradas es las discotecas y antros ubicados en diferentes zonas del área metropolitana.

TABLA 3.1 ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	VARIANZA Ó CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA	F TEORICA
TIENDAS DE VINOS Y LICORES, RESTAURANTES, DISCOTECAS	2	1301.5341	650.7670	4,502	3.81 μ_1 =TIENDAS DE VINOS Y LICORES μ_2 =RESTAURANTES μ_3 =DISCOTECAS
ERROR	13	1879.09144	144		
F calculada es mayor que F teórica por lo que se rechaza que $\mu_1=\mu_2=\mu_3$ por lo cual hay diferencia significativa en la concentración de etanol de las muestras de tequila obtenidas de diferentes establecimientos.					

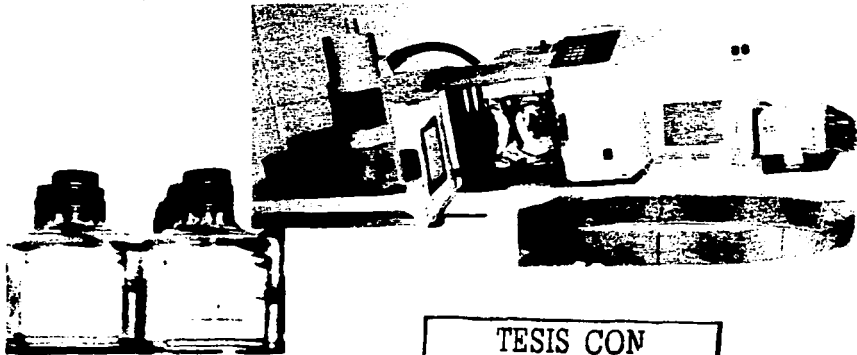
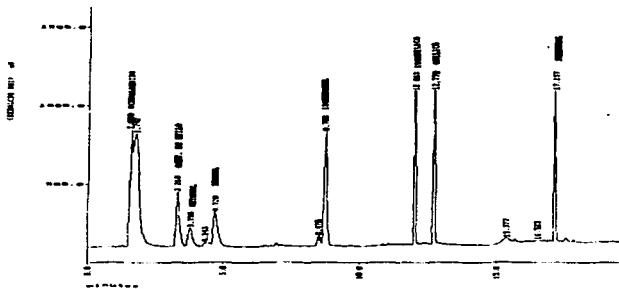
c). Después de observar que existe diferencia significativa se realizó una prueba de Tukey determinándose así el porcentaje de rangos (q) y la diferencia de medias de los tres establecimientos como lo muestra la tabla 3.2 en la cual se observar diferencia significativa en la concentración de etanol entre los tres establecimientos de donde fueron obtenidas las muestras de tequila.

TABLA 3.2 PRUEBA DE TUKEY SE EMPLEA CUANDO HAY DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN EL ANÁLISIS DE VARIANZA TEQUILA

COMPARACION B VS A	DIFERENCIA DE MEDIAS B-A	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA HONESTA (DSH)	q TABLAS	CONCLUSIÓN
1 Vs 2	13.555	6	3.735	2# 1# 3 1= TIENDAS DE VINOS Y LICORES 2=RESTAURANTES 3=DISCOTECAS, ANTROS
1 Vs 3	22.5922	5.3665	3.735	
2 Vs 3	9.0372	4.5355	3.735	

La prueba de Tukey se realizo para determinar que si existe variación en la concentración de etanol en las muestras de tequila obtenidas de los diferentes establecimientos.

CONCLUSIONES



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

7. CONCLUSIONES

La Química Legal emplea la cromatografía de gases como una herramienta fundamental para evaluar la concentración de compuestos orgánicos volátiles presentes en bebidas alcohólicas de diferente procedencia y determinar si cumple o no con las especificaciones establecidas de acuerdo con la normatividad correspondiente.

☛ De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis cromatográfico realizado a muestras de Brandy procedentes de diferentes establecimientos del área metropolitana se obtuvo:

Las muestras obtenidas de tiendas de vinos y licores todas cumplen con el % de etanol establecido por la NOM 142-SSA1-1995.

Las muestras obtenidas de restaurantes el 25% de ellas no cumple con la concentración de etanol que establece la normatividad correspondiente.

Con lo que respecta a las muestras de brandy procedentes de discotecas se observo que el 75% de ellas tienen concentraciones inferiores a lo establecido por la normatividad vigente por lo tanto se consideran adulteradas.

☛ Del perfil cromatográfico realizado a muestras de ron se obtuvo lo siguiente:

Las muestras de ron procedentes de tiendas de vinos y licores se obtuvo que todas cumplen con la concentración de etanol establecida por la NMX-V-002-NORMEX-1999, 35 a 55% de etanol, pero algunas de las muestras de ron están diluidas con agua pues es evidente la ausencia de componentes volátiles y además corrigen la concentración con etanol.

En las muestras de ron obtenidas de restaurantes sucede una situación similar a las tiendas de vinos y licores es decir todas las muestras de ron cumplen con las especificaciones establecidas en lo que respecta a concentración de etanol y algunas de ellas están constituidas principalmente de etanol, agua y furfural y no se observa la presencia de componentes volátiles por lo cual se determino que fueron diluidas con agua y la concentración de etanol corregida con etanol.

En las muestras de ron procedentes de discotecas se determino que el 50% de las muestras de ron no cumple con la concentración de etanol ya que esta fue inferior a lo establecido por la normatividad correspondiente, y algunas de ellas no contenían componentes volátiles por lo cual también se determino que fueron diluidas con agua lo que se considera una adulteración.

☞ El análisis cromatográfico realizado a muestras de tequila se concluye:

En las muestras de tequila obtenidas de tiendas de vinos y licores se encontró que el 25% de muestras de tequila presentan concentraciones de etanol inferiores a lo establecido por NOM-006-SCFI-1994 por lo tanto no cumplen con las especificaciones establecidas.

Por otra parte las muestras tequila obtenidas de restaurantes el 60% de ellas no cumple con la concentración de etanol ya que es inferior a lo establecido por la normatividad vigente y además algunas de ellas carecen de componentes volátiles por lo cual se puede considerar que fueron diluidas con agua y por tanto adulteradas.

Las muestras de tequila obtenidas de discotecas se observa que el 100% de ellas presenta concentraciones de etanol inferiores, por lo tanto no cumple con las especificaciones establecidas además algunas de ellas no contienen componentes volátiles por lo tanto están siendo adulteradas en el contenido de componentes orgánicos volátiles.

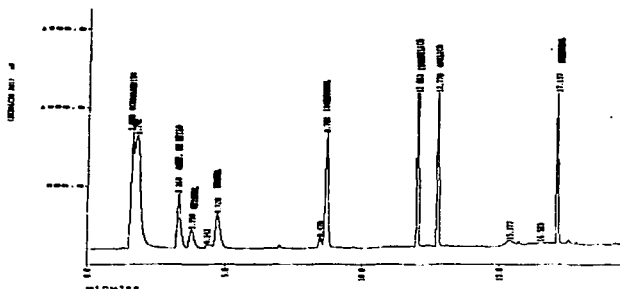
De los resultados obtenidos del perfil cromatográfico realizado a las bebidas alcohólicas se establece que esta técnica analítica proporciona datos confiables y por tanto reproducibles que pueden ser comparados con las especificaciones establecidas por la normatividad vigente para determinar si esta adulterada o no una bebida alcohólica.

SUGERENCIAS

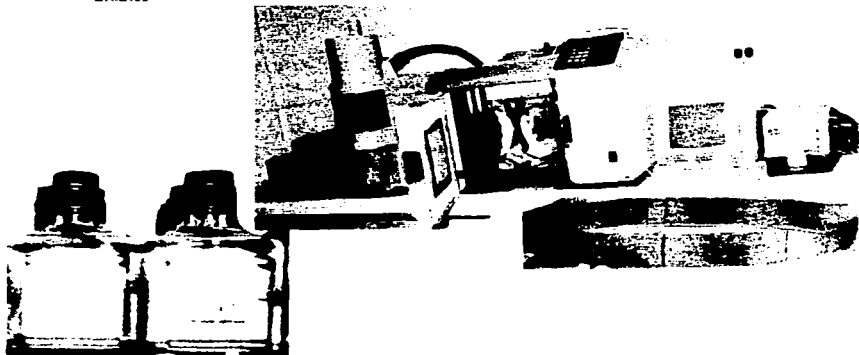
Para la realización de este trabajo se sugiere manejar como mínimo 15 muestras para cada tipo de bebida alcohólica pues entre mayor sea el número más confiable y reproducible es el análisis cromatográfico y el análisis estadístico.

Si la inyección de la muestra al cromatografo de gases va a ser manual se recomienda que sea lo más reproducible posible para evitar que se modifiquen los tiempos de retención de los componentes volátiles y por tanto no los detecte el instrumento.

ANEXO



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Norma Oficial Mexicana NOM-142-SSA1-1995. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial.

Disposiciones sanitarias

Los productos objeto de esta norma, además de cumplir con lo establecido en la Ley y el Reglamento, deben ajustarse a las siguientes disposiciones:

El agua empleada en la elaboración de bebidas alcohólicas debe ser potable y cumplir con lo señalado en el Reglamento y en la norma correspondiente. De ser necesario podrá utilizarse agua destilada o desmineralizada.

En la elaboración de bebidas alcohólicas se deben seguir las Buenas Prácticas de Fabricación.

Aditivos para alimentos

En la elaboración de los productos objeto de esta norma se permite el empleo de los aditivos para alimentos.

En la elaboración de los productos objeto de esta norma se permite el empleo de los saborizantes naturales que contempla el Reglamento, de acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación, además de los establecidos en el Acuerdo 139. Sustancias que pueden utilizarse en saboreadores o aromatizantes sintético artificiales.

En la elaboración de los productos objeto de esta norma se pueden emplear las enzimas listadas en el Reglamento, derivadas de las fuentes que ahí se establecen y conforme a las Buenas Prácticas de Fabricación.

Ingredientes opcionales

En la elaboración de los productos objeto de esta norma se permite el empleo de ingredientes opcionales, tales como: laminilla de oro, variedades de chile, gusanos de agave, frutas, arbolito escarchado, hierbas, miel, sal, CO₂, fructosa, entre otros; siempre y cuando no representen un riesgo a la salud.

Muestreo

El procedimiento de muestreo para los productos objeto de esta norma se sujeta a lo que establece la Ley.

Métodos de prueba

Para la verificación oficial de las especificaciones sanitarias que se establecen en esta norma, deben aplicarse los métodos de prueba que se señalan en el apartado de referencias y en el apéndice B Normativo.

Etiquetado

Los productos objeto de esta norma, además de cumplir con lo establecido en el Reglamento, deben sujetarse al menos a lo siguiente:

Disposiciones generales

La información contenida en las etiquetas de las bebidas alcohólicas preenvasadas debe presentarse y describirse en forma clara, evitando que sea falsa, equivoca o que induzca a error al consumidor con respecto a la naturaleza y características del producto. Las bebidas alcohólicas preenvasadas deben presentarse con una etiqueta en la que se describa o empleen palabras, ilustraciones u otras representaciones gráficas que se refieren al producto, permitiéndose la descripción gráfica de la sugerencia de uso, empleo, preparación, a condición de que aparezca una leyenda alusiva al respecto.

Requisito de información

En las etiquetas de las bebidas alcohólicas deberán figurar los siguientes requisitos: Nombre o marca comercial del producto, nombre o denominación genérica del producto. Para el caso del Brandy, se incluirá la palabra "Brandy" en forma ostensible y la leyenda "100% de uva", la que deberá ser comprobable. Indicación de la cantidad conforme a la Norma Oficial Mexicana-030-SCFI-1993. Información comercial-declaración de cantidad en la etiqueta-especificaciones. Nombre, denominación o razón social y domicilio fiscal del productor o responsable de la fabricación para productos nacionales. En caso de productos importados, esta información deberá ser proporcionada a la secretaría de Comercio y Fomento Industrial por el importador a solicitud de ésta.

La secretara proporcionará esta información a los consumidores que así lo soliciten cuando existan quejas sobre los productos.

Leyenda que identifique el país de origen del producto o gentilicio, por ejemplo: "producto de _____", "Hecho en _____", "Manufacturado en _____", u otros análogos, sujeto a lo dispuesto en los tratados internacionales de los cuales México sea parte. Tratándose de productos importados: nombre, denominación o razón social y domicilio fiscal del importador. Esta información puede incorporarse al producto en territorio nacional, antes de la comercialización del producto.

Tratándose de la cerveza y de las bebidas alcohólicas refrescantes a base de una mezcla de limonada y cerveza o vino, o de una mezcla de cerveza y vino importadas: el nombre y el domicilio del importador o registro federal de contribuyentes y la leyenda precautoria que menciona el artículo 218 de la Ley, deben estar impresos en la etiqueta de la botella, o grabados en el envase mismo cuando se trate de presentación en lata, antes de su ingreso al país.

Contenido de alcohol

Indicar el por ciento de alcohol en volumen a 20 °C, debiendo usarse para ello la siguiente abreviatura % Alc. Vol.

Lote

Cada envase debe llevar grabada o marcada la identificación del lote al que pertenece con una indicación en clave. La identificación del lote, que incorpore el fabricante, no debe ser alterado u oculto de forma alguna.

Leyendas precautorias

Toda bebida alcohólica debe ostentar en el envase o etiqueta la leyenda precautoria establecida en el artículo 218 de la Ley.

Las bebidas alcohólicas con aspartame deben ostentar en el envase o etiqueta la leyenda: "Fenilcetonúricos: Contiene fenilalanina".

Aquellas bebidas alcohólicas en cuyo consumo diario se ingieran 50g o más de sorbitol, deben ostentar en el envase o etiqueta la leyenda: "Contiene sorbitol: El abuso de este edulcorante puede causar efectos laxantes".

No está permitido emplear términos descriptivos relacionados con modificaciones en su contenido energético, distintos a los definidos en esta Norma Oficial Mexicana.

Lista de ingredientes

Únicamente en la etiqueta de las bebidas alcohólicas preparadas y cócteles debe figurar la lista de ingredientes.

La lista de ingredientes debe ir encabezada por el término "ingredientes".

Los ingredientes deben enumerarse por orden cuantitativo decreciente.

Cuando se declare el uso de los aditivos para alimentos permitidos en la elaboración de bebidas alcohólicas; debe emplearse el nombre específico del aditivo sin menoscabo de que también se puedan utilizar las denominaciones genéricas.

Información opcional

Instrucciones de uso

La etiqueta puede contener las instrucciones sobre el modo de empleo o preparaciones (recetas) con bebidas alcohólicas.

Información adicional

En la etiqueta puede presentarse cualquier información o representación gráfica, así como material escrito, impreso o gráfico, siempre que esté de acuerdo con los requisitos obligatorios de la presente norma.

Presentación de la información

Las bebidas alcohólicas preenvasadas deben ostentar, la información de la etiqueta en idioma español, sin perjuicio de que se presente en otros idiomas. Cuando sea este el caso, debe aparecer cuando menos con el mismo tamaño y proporcionalidad tipográfica y de manera igualmente ostensible.

Deben aparecer en la superficie principal de exhibición, cuando menos, la marca y la denominación de la bebida alcohólica, así como la indicación de la cantidad. El resto de la información a que se refiere esta Norma Oficial Mexicana puede incorporarse en cualquier otra parte de la etiqueta o envase.

Envase y embalaje

Los productos objeto de esta norma se deben envasar en recipientes de tipo sanitario, elaborados con materiales inocuos y resistentes a distintas etapas del proceso, de tal manera que no reaccionen con el producto o alteren sus características físicas, químicas y sensoriales.

Únicamente será permitida la reutilización de envases, cuando el tratamiento que se le dé, garantice la inocuidad del mismo.

Los productos objeto de esta norma, únicamente podrán envasarse en botellas de vidrio o polietilén tereftalato, envases de aluminio, cartón laminado y barriles de acero inoxidable, conforme a lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios

Embalaje

Se debe usar material resistente que ofrezca la protección adecuada a los envases para impedir su deterioro exterior, a la vez que faciliten su manipulación, almacenamiento y distribución.

Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-1994 Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones. Dependiente de la Secretaría de salud.

TEQUILA

RELATIVO A LA AUTENTICIDAD DEL TEQUILA

El agave que se utilice como materia prima para la elaboración de tequila debe cumplir con los requisitos mencionados a continuación:

El agave que se utilice como materia prima para la elaboración de tequila debe ser maduro de la especie.

TIPOS

De acuerdo a las características adquiridas en procesos posteriores a la destilación y rectificación, el tequila se clasifica en 4 tipos:

1. Tequila blanco : Producto cuya graduación alcohólica comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución.
2. Tequila joven u oro: Producto susceptible de ser abocado, cuya graduación alcohólica comercial debe en su caso ajustarse con agua de dilución. El resultado de las mezclas de tequila blanco con tequilas reposados y/o añejos se considera como tequila joven u oro.
3. Tequila reposado : Producto susceptible de ser abocado, que se deja por lo menos dos meses, en recipientes de madera de roble o encino, cuya graduación alcohólica comercial debe, en su caso ajustarse con agua de dilución. En mezclas de diferentes tequilas reposados, la edad para el tequila resultante es el promedio ponderado de las edades y volúmenes de sus componentes.

4. Tequila añejo : Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos un año en recipientes de madera o roble o encino, cuya capacidad máxima sea de 600 litros, y con una graduación alcohólica comercial que debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución. En mezclas de diferentes tequilas añejos, la edad para el tequila resultante es el promedio ponderado de las edades y volúmenes de sus componentes

REGLAS PARA ELABORACIÓN DEL TEQUILA

El productor de tequila debe demostrar en todo momento que el producto no ha sido adulterado en las operaciones unitarias durante la elaboración, particularmente a partir de la formulación de los mostos. La prueba admisible para tales efectos consiste en un balance de materias primas y materiales que determine la participación mayoritaria o total de los azúcares procedentes del agave, así como en el calculo de eficiencias de cada operación unitaria y del total de las etapas del proceso de elaboración. Por tal motivo el productor del tequila debe llevar un registro actualizado de por lo menos los documentos siguientes:

1. Facturas de materia prima y de venta de producto terminado

Fichas de entradas y salidas de materia prima y producto terminado

2. Inventarios, fichas de entradas y salidas de producto sometido a un proceso de maduración. En ningún momento el productor de tequila puede elaborar simultáneamente cualquier otro producto en las instalaciones del productor autorizado por la dependencia competente, a menos de que cuente con líneas de producción claramente diferenciadas a juicio del organismo de certificación acreditado y se notifique a éste dicha circunstancia con la debida anticipación a la fecha de inicio de la producción simultánea de cualquier otro producto distinto al tequila.

La comprobación de lo establecido en esta Norma Oficial Mexicana se realiza a través de inspección permanente por parte del organismo de certificación de producto acreditado, independientemente que puede ser corroborado por cualquier autoridad federal competente o por una unidad de verificación acreditada.

Este requisito se cumple a través del uso ininterrumpido de sistemas aleatorios de inspección previamente aprobados por la DGN, los cuales, en su caso, deben por lo menos incluir una huella cromatográfica que permita identificar el tequila de cada productor y garantice la integridad del producto.

Envasado. El envasador de tequila debe demostrar, en todo momento, que el producto no ha sido adulterado desde su entrega a granel hasta el envasado final del mismo. Para tales efectos, la actividad de envasado se sujeta a los lineamientos siguientes:

El fabricante, no pueden mezclar tequila de diferentes tipos o procedencias.

El envasador no puede utilizar más de un proveedor de tequila por marca o por tipo de tequila de esa marca.

El producto que ostente la leyenda "Tequila 100% de agave" debe ser embotellado en la planta de envasado del propio fabricante dentro de la zona de denominación de origen.

En caso de que la planta no esté ubicada en las instalaciones de la fábrica, el traslado a granel del producto debe ser supervisado por el organismo de certificación de producto acreditado, o en su caso, por una unidad de verificación acreditada, a través de los mecanismos que previamente apruebe la DGN. Se considera que la planta de envasado es del propio fabricante cuando éste mantiene el control total del proceso de envasado. El traslado a granel del tequila debe ser supervisado por una unidad de verificación acreditada, de conformidad con los mecanismos que previamente apruebe la DGN. El proceso de envasado está sujeto a la inspección por lote de esa unidad de verificación. El envasador que no es productor de tequila no debe cambiar en forma alguna las características organolépticas del producto que recibe, salvo diluirlo con agua para obtener la graduación alcohólica comercial del tequila dentro de los parámetros permitidos en esta Norma Oficial Mexicana.

El envasador no debe envasar simultáneamente producto distinto del tequila en sus instalaciones a menos de que cuenten con líneas de producción claramente diferenciadas a juicio de la unidad de verificación acreditada que se contrate para supervisar dicho proceso y se notifique dicha circunstancia a esa unidad de verificación con la debida anticipación a la fecha de inicio del proceso de envasado simultáneo de cualquier producto distinto del tequila.

El envasador que no es productor de tequila debe llevar un registro actualizado de, por lo menos, los documentos siguientes:

1. Notas de remisión, facturas de compra/venta de tequila y de materiales de envase, incluyendo etiquetas.
2. Cuadros comparativos de análisis de especificaciones físico-químicas previos a la comercialización, con los parámetros permitidos en el siguiente cuadro establecido por la Norma Oficial Mexicana-006-SCFI-1994. Bebidas alcohólicas-Tequila-especificaciones sanitarias.
3. Copia de los certificados de cumplimiento de NOM que amparen cada lote que haya sido recibido.

Para demostrar que el tequila no ha sufrido adulteraciones durante el proceso de envasado debe coincidir las comparaciones de áreas y posición de picos cromatográficos de muestreo realizados en la planta de envase con los obtenidos en la fabrica proveedora de tequila.

El tequila se debe envasar en recipientes nuevos aceptados por las autoridades sanitarias, que garanticen su conservación y no alteren su calidad. La capacidad de cada envase no debe ser mayor de 5 litros y en ningún caso se deben usar envases con marcas que pertenezcan a otro diferente fabricante.

La comprobación de lo establecido en envasado y en general cualquier aspecto relacionado a la Norma Oficial Mexicana -006-SCFI-1994 que se le aplique a la actividad de envasado, se realiza a través de la inspección por lote que para tales efectos lleva a cabo la unidad de verificación acreditada que se contrate para supervisar dicho proceso, independientemente que puede ser corroborado por cualquier dependencia.

El incumplimiento de cualquier tramite necesario para obtener las autorizaciones para producir envasar y/o comercializar tequila, que haya sido aprobados por la Dirección general de normas o el Instituto Mexicano de la propiedad industrial, en el ámbito de sus competencias se considera violatorio de las disposiciones de la NOM-006-SCFI-1994. Bebidas alcohólicas-Tequila-especificaciones.

PROCESO DE FABRICACIÓN

Maduración en recipientes de roble o encino:

Constatación de la existencia de recipientes y documentos de ingresos y extracciones de producto de esos recipientes (bitácora foliada).

Los recipientes en que se realiza deben estar sellados durante todo el tiempo del proceso. Los sellos son impuestos y levantados por el organismo de certificación del producto acreditado.

Agua destilada o desmineralizada: Debe constatarse la existencia del equipo de destilación o desmineralización en condiciones de operación y la bitácora de uso del equipo y destino del agua destilada o desmineralizada. en su caso debe verificarse la existencia de las facturas o comprobantes de compra o entrega de los volúmenes utilizados de agua destilada o desmineralizada.

CONTROL DE CALIDAD

Los productores y envasadores de tequila deben mantener sistemas de control de calidad compatibles con las normas aplicables y las buenas prácticas de fabricación. Asimismo también deben verificar sistemáticamente las especificaciones contenidas en la NOM-006-SCFI-1994.

Bebidas alcohólicas-Tequila-especificaciones, utilizando el equipo suficiente y adecuado de laboratorio así como los métodos de prueba apropiados, llevado un control estadístico de la producción que objetivamente demuestre el cumplimiento de dichas especificaciones.

COMERCIALIZACIÓN

El productor y envasador no pueden comercializar tequila alguno que no cuente con un certificado expedido por el organismo de certificación acreditado.

Se prohíbe la reventa a granel de tequila tanto en el mercado nacional como en el internacional. Asimismo se prohíbe la exportación de tequila a cualquier país y/o comprador distinto del expresado en el certificado de exportación que expida para esos efectos el organismo de certificación del producto acreditado.

La compra y venta de producto a granel entre productores de tequila se considera como una operación de materia prima, y por consiguiente, permitida en la NOM-006-SCFI-1994., siempre y cuando se realice bajo las condiciones siguientes:

El traslado del producto a granel y la subsecuente recepción debe ser supervisada por un organismo de certificación de producto acreditado, el cual lo hace constar en un registro especial que se toma en cuenta en el balance de materias de la fabrica receptora.

El número de contraseña oficial que debe ostentar en la etiqueta el tequila es el correspondiente de la fabrica receptora. El productor y envasador de tequila debe reportar el número de litros producidos o envasados mensualmente al organismo de certificación de producto acreditado, o en su caso, a la unidad de verificación acreditada especificando el nombre de los compradores directos a granel en el mercado nacional e internacional y bajo que marcas se ésta comercializando el producto. Estas entidades acreditadas deben elaborar un informe bimestral en donde se haga constar el producto certificado por marca que legítimamente puede ser comercializado, mismo que debe ser enviado a la Dirección General de Normas al Instituto Mexicano de la propiedad Industria y a la PROFECO.

El productor autorizado a utilizar la denominación de origen tequila, debe satisfacer los lineamientos establecidos en esta Norma Oficial Mexicana y en la ley de propiedad industrial, particularmente los siguientes:

Estar al corriente en los trámites ante dependencias en lo que se refiere al cumplimiento de cualquier tramite necesario para obtener las autorizaciones para producir envasar y/o comercializar tequila, que haya sido aprobados por la Dirección general de normas o el Instituto Mexicano de la propiedad industrial, en el ámbito de sus competencias. El incumplimiento de lo anterior se considera violatorio de las disposiciones de la Norma Oficial Mexicana-006-SCFI-1994. Bebidas alcohólicas-Tequila-especificaciones.

Contar en todo momento con un certificado de cumplimiento con esta NOM, expedido por un organismo de certificación de producto acreditado. En caso de que se pretenda utilizar una marca para el tequila distinta a la del producto o el tequila sea envasado por una persona diferente al fabricante, se debe presentar para su inscripción ante el Instituto Mexicano de la propiedad Industrial (IMPI) un convenio de corresponsabilidad que incluya las declaraciones y cláusulas que

para tales efectos publique el IMPI en el diario oficial de la federación, de conformidad con la NOM-006-SCFI-1994.

Adjunto a ese convenio se debe anexar los proyectos de etiqueta que se adhieran al envase en el cual se comercialice, en el país o en el extranjero, dicho producto. En ningún momento las etiquetas deben dañar o menoscabar la imagen del tequila como producto nacional.

INFORMACIÓN COMERCIAL

El envasador debe cumplir cabalmente con los requisitos de etiquetado contenidos en la NOM-006-SCFI-1994 Bebidas alcohólicas-Tequila-especificaciones ; y son los siguientes:

- a) La palabra "Tequila"
- b) Categoría y tipo a la que pertenece antes ya mencionadas
- c) Contenido neto expresado en litros o mililitros conforme a la norma oficial mexicana NOM-030SCFI.
- d) Por ciento de alcohol en volumen a 20°C, que podrá abreviarse "% Alc. Vol"
- e) Nombre o razón social del productor de tequila o de la fabrica autorizada y en su caso, del envasador que haya obtenido un dictamen de la unidad de verificación acreditada distinto al certificado del productor del tequila;
- f) Domicilio del productor de tequila o de la fabrica autorizada, y en su caso; del envasador que haya obtenido un dictamen de la unidad de verificación acreditada distinto al certificado del productor del tequila.
- g) Marca registrada:

h) La leyenda "HECHO EN MÉXICO".

i) Contraseña oficial, conforme a la NOM correspondiente.

Lote: cada envase debe llevar grabada o marcada la identificación del lote a que pertenece con una indicación en clave. la identificación del lote que incorpore el fabricante no debe ser alterado u oculto de forma alguna; y,

Otra información sanitaria o comercial exigida por otras disposiciones legales aplicables a la bebidas alcohólicas.

Norma Mexicana NMX-V-002-NORMEX-1999. Bebidas alcohólicas destiladas Ron-especificaciones sanitarias. Dependiente de la Secretaría de salud.

RON

El proceso de maduración lenta que le permite adquirir al producto las características organolépticas deseadas, por procesos fisicoquímicos que en forma natural tienen lugar durante su permanencia en recipientes de madera. La maduración se debe realizar utilizando barricas de roble blanco o encino con capacidad no mayor a 300 litros.

El producto objeto de esta norma se clasifica en:

- I. Ron
- II. Ron añejo
- III. Ron con sabor

ESPECIFICACIONES

El ron es un producto el cual está establecido en la NMX-V-002-NORMEX-1999. y debe cumplir con las siguientes especificaciones:

Sensoriales:

- ❖ Color : Podrá ser desde incoloro hasta color ámbar
- ❖ Olor : Característico
- ❖ Sabor : Característico

Las materias primas empleadas habitualmente en la elaboración del ron son el azúcar de caña, los jarabes (el almibar) y las melazas. El zumo de caña se obtiene prensando el azúcar de caña finamente molido. El zumo de caña se fermenta directamente. Alternativamente, se puede obtener un jarabe mediante la concentración al vacío del zumo de caña. Las melazas se emplean en la elaboración de ron con gran aroma. Las melazas son el líquido madre que

queda tras la separación del azúcar de caña mediante cristalizaciones repetidas. Las melazas pueden representar un contenido en azúcar del 50-60%. las melazas contienen varios compuestos que contribuyen al sabor y aroma del ron y también pueden contener sustancias inhibitoras para las levaduras. Entre estas sustancias inhibitoras se incluyen los ácidos grasos, así como el hidroximetilfurfural en el caso de las melazas sobrecaentadas.

Es preciso someter las melazas a un tratamiento antes de la fermentación. Consiste en una clarificación inicial necesaria para evitar el bloqueo del equipo de destilación. la primera etapa de clarificación consiste en una precipitación con alúmina y fosfato cálcico, o la adición de ácido sulfúrico. Sin embargo, un pretratamiento con ácido sulfúrico puede disminuir el contenido en azúcar. Las impurezas finales se eliminan mediante centrifugación. Frecuentemente las melazas llevan asociada una alta carga microbiana por lo que es habitual someterlas a un tratamiento térmico equivalente a una pasterización. Las melazas se diluyen con agua para reducir su viscosidad y normalizar su contenido en azúcar hasta 10-12g /100mL, el pH se ajusta a 5,5 y se les añade sulfato amónico o urea como nutriente para la levadura.

Las levaduras para la fermentación del ron tienen que ser capaces de conseguir un elevado contenido en etanol y un contenido correcto en compuestos del aroma. Se utilizan cultivos puros de levadura. Para los rones se prefieren las cepas de fermentación rápida de *Sacch cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*.

Las melazas son la mejor fuente de levaduras y pueden contener una amplia variedad de géneros, entre los que se encuentran *Candida*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* y *Torulopsis*. Los cultivos puros de levaduras se propagan en melazas y se inoculan en un porcentaje alto del 4-10%. El tiempo de fermentación y la temperatura varían considerablemente.

La fermentación del ron suave con *Sacch cerevisiae* se suele llevar a cabo a 28-33°C durante 28-36 h, y la del ron fuerte utilizando *Schizosaccharomyces pombe*. se realiza a 30-33°C, aunque se pueden aplicar temperaturas tan altas como 37°C.

En el caso de que las bacterias jueguen un papel importante en la fermentación nunca deben superarse los 30°C.

Las fermentaciones con *Schizosaccharomyces pombe*, tienden a ser relativamente lentas, por lo que los tiempos pueden ser de 72h y superiores. Se han descrito fermentaciones que llegan a durar 12 días cuando el sustrato contiene un alto contenido en glucosa. El papel de otras bacterias en la fermentación del ron sigue siendo oscuro.

Las bacterias ácido lácticas están presentes y pueden producir problemas al bajar el pH del extracto por debajo del pH óptimo de 5,5-5,8. Las especies de *Leuconostoc* suelen ser las bacterias ácido lácticas predominantes y pueden ocasionar problemas debido a la formación de limos. Las bacterias ácido acéticas también están presentes, principalmente *Acetobacter*. Estas bacterias son normalmente una de las causas del deterioro de las bebidas alcohólicas, pero pueden ser beneficiosas en el ron suave, en el que el ácido acético participa en la producción del gusto y del aroma finales. Sin embargo, la producción de ácido acético conlleva una reducción en el rendimiento en etanol.

Al final de la fermentación las células de levadura se separan y el ron se clarifica mediante centrifugación.

El ron se madura en toneles de roble, los cuales normalmente son de madera quemada. Los periodos de maduración de 10-12 años son comunes y pueden llegar a ser de 15 años. Antes del embotellamiento se normaliza el contenido alcohólico y se ajusta al color con caramelo. En pocos años se añaden especias, y más raramente zumos de fruta. El ron suave se madura en toneles de roble sin quemar. Normalmente no se producen muchos cambios en la maduración por lo que los periodos suelen ser cortos. Dependiendo del color deseado se puede añadir caramelo. En el caso del ron incoloro (blanco), se realiza una filtración en carbón activo para eliminar cualquier pigmento y para <<afinar>> el aroma. Los productos de esta naturaleza constituyen en un puente entre los destilados congénéricos y los no congénéricos como el vodka.

La levadura empleada en la fermentación también tiene su repercusión sobre los niveles de alcoholes de fusel, y por ejemplo, *Schizosacchi. pombe*, que se utiliza en la fermentación del ron fuerte, produce cantidades relativamente pequeñas. También se ha señalado que la producción de alcohol de fusel se suprime durante la fermentación por los altos niveles de nitrógeno que se añaden a las melazas.

La composición de los alcoholes superiores en el ron es básicamente la misma que en otras bebidas destiladas, aunque algunos pueden derivar de las melazas más que de la fermentación. El alto nivel de 2-butanol se atribuye al metabolismo bacteriano, posiblemente de las bacterias ácido lácticas. El ron también contiene cantidades importantes de 1-propanol.

El contenido en aldehídos totales del ron varía entre 50 y 90 mg/L. Al igual que en otras bebidas alcohólicas, el acetaldehído es el compuesto carbonílico más importante, pero los aldehídos alifáticos de cadena más larga, como el propionaldehído, isobutiraldehído, 2-metilbutiraldehído e isovaleraldehído, tienen una importancia considerable en el aroma.

Las cetonas, que son compuestos muy activos en el aroma, están presentes en unos niveles significativamente mayores a los del whisky o a los del brandy. Los más comunes son acetona, 2-butanona, las cuales se han encontrado en concentraciones de 0,4-4,4 mg/L.

Los acetales se forman en la destilación por reacción entre un aldehído y un alcohol. En la primera etapa, una molécula de aldehído se une a una molécula de alcohol para formar un hemiacetal lábil. Es éste el caso que se combina con otra molécula de alcohol para formar un acetal estable.

El nivel de acetales en el ron blanco es semejante al de otras bebidas alcohólicas. Existe, también, una mayor diversidad de acetales, posiblemente por el mayor contenido en alcohol en la maduración del ron. El acetal dietílico del acetaldehído es el que se presenta en la mayor concentración, pero su contribución al aroma es limitada.

Al igual que en otras bebidas alcohólicas, el ácido acético es el más importante cuantitativamente. El ácido acético tiene un significado en el ron suave y parte deriva de la acetificación del etanol por acción de las bacterias ácido acéticas. Los ésteres etílicos de los ácidos grasos tienen una importancia considerable en el ron, aunque su concentración es muy variable. El acetato de etilo es el único éster que está presente en una alta concentración en el ron y es, en general, el éster volátil más abundante en todos los tipos de ron. La proporción relativa de ésteres en los distintos rones también varía mucho.

La concentración de los ésteres etílicos de los ácidos de 6 o más átomos de carbono varía entre 0,1 y 0,5 mg/L.

Los componentes del complejo aroma del ron se pueden clasificar en tres fracciones dependiendo de su punto de ebullición. La fracción ligera del aroma incluye a los ésteres etílicos, isoamílicos e isobutílicos, y entre ellos al 3-fenil propanoato de etilo, lactato de isoamilo y octanoato de isobutilo. Estos ésteres tienen aromas frutales y son muy importantes en los rones negros fuertes. Los ésteres en la fracción media del aroma van desde el hexanoato de etilo hasta el laurato de etilo. Estos ésteres también son importantes en el aroma del ron.

Los principales componentes de la fracción pesada del aroma son los ésteres de los ácidos carboxílicos de cadena larga, tales como el palmitato de etilo. Las cantidades son pequeñas y su importancia limitada.

Aditivos:

Los permitidos por la secretaria de salud, conforme a lo establecido en la norma NOM-142-SSA1.

MUESTREO

Cuando se requiera el muestreo del producto, éste debe ser establecido de común acuerdo entre el productor y el comprador.

La aplicación del plan de muestreo obliga a los fabricantes y envasadores a llevar un control de calidad permanente a través de su propia infraestructura o por medio de la contratación de los servicios de organismos de evaluación de la conformidad acreditados, tales como organismos de certificación, laboratorios de prueba y/o unidades de verificación.

MARCADO, ETIQUETADO Y ENVASE

Cada envase del producto debe llevar una etiqueta o impresión de acuerdo con las disposiciones establecidas en la NOM-142-SSA1.

En caso de que el producto se embarque a granel, los datos que deben aparecer en los documentos de transacción comercial son: el nombre o marca comercial, nombre o denominación genérica del producto, el nombre o razón social del productor, domicilio del productor, lugar de destino del producto, % Alc. Vol., contenido y RFC.

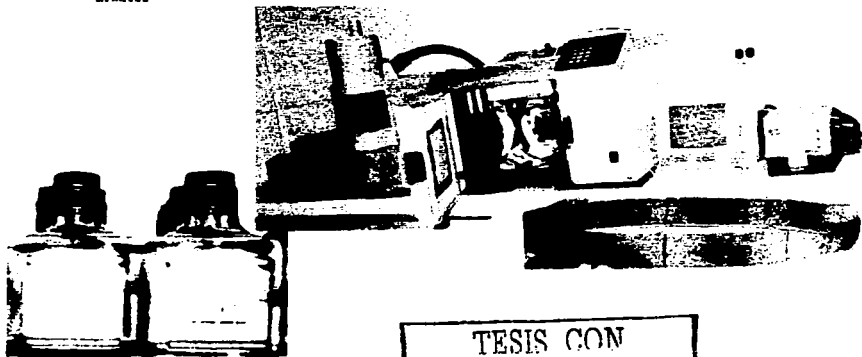
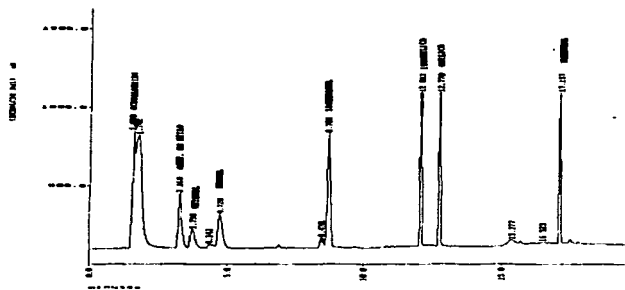
ENVASE:

El producto objeto de esta norma se debe envasar en recipientes de tipo sanitario, elaborados con materiales inocuos y resistentes a distintas etapas del proceso de tal manera que no reaccionen con el producto o alteren sus características físicas, químicas y sensoriales.

Únicamente será permitida la reutilización de envases cuando el tratamiento que se le dé, garantice la inocuidad del mismo. El ron únicamente podrá envasarse en botellas de vidrio o polietilén tereftalato, envases de aluminio, cartón laminado y barriles de acero inoxidable, conforme a lo establecido en el reglamento del control sanitario de la ley general de salud.

TRIS CON
FALLA DE ORIGEN

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 Campa C. Roberto. Programa nacional de verificación y vigilancia de bebidas alcohólicas. Revista del consumidor. PROFECO Méx. 1999; Núm 264: 27-36
- 2 Kjrk Ronald. Composición y análisis de alimentos. 9ª e d. México: Editorial Continental. 1996: 483-487.
- 3 Alan H. Varnam. Bebidas tecnología química y microbiología. España: Editorial Acribia. 1994: 417-453.
- 4 Pozuelo. Tratamiento de las intoxicaciones agudas por drogas de abuso. 2ª. e d. Barcelona: Editorial Salvat. 1993:52-86
- 5 Goldfrank Jr Cjyne. Toxicologic emergencies. Norwalk : Editorial Appleton and Lange. 1994: 1556-1588
- 6 Hababrt H. Willard. Métodos instrumentales de análisis. México: Editorial Iberoamericana. 1991: 531-540.
- 7 Alva. Alcocer Medicina legal. México: Editorial Limusa. 1993 : 226-23
- 8 Puslika Greenway. Rapid measurement of blood ethanol concentrations using the alcohol oxidase membrane technique. Journal Physiology pharmacology. 1988; 66: 307-311.
- 9 Blume Philip. A gas Chromatographic analysis of ethanol with identify confirmation. Analytical biochemistry. 1973; 54: 429-433.
- 10 Magnúsdóttir Kristin. Ethanol in blood after ingestion of light alcoholic beverages. Pharmacology & Toxicology. 2000 ; 87: 297-298
- 11 Trace Winek, the effect of storage at various temperatures an blood alcohol concentration. Forensic Science International. 1996; 78: 179-185.

- 12 Tagliaro F. and Lubbi G.. Chromatographic methods for blood alcohol determination. *Journal of chromatography*. 1992 ; 58 : 161-190
- 13 Geoffrey Davies. *Criminalistics. Analytical Chemistry*. 1965 ; 47 : 318-330
- 14 Ruiz Pino . Los mostos de uva. *Revista alimentaria*. 1986; 100: 53-55
- 15 Bravo Abad. Fermentación maloláctica en mostos y bebidas fermentadas. *Revista alimentaria*. 1992; 123: 33-37.
- 16 González Cartagena. Influencia de variedad del mosto y los agentes fermentativos en la formación de compuestos volátiles mayoritarios en vinos. *Revista alimentaria*. 1989: 55-60
- 17 Decreto supremo N° 78 reglamenta ley N° 18.455 que fija normas sobre producción, elaboración, y comercialización de alcoholes etílicos, bebidas alcohólicas. (publicado en el diario oficial de fecha 23 de Octubre de 1986)
- 18 Álvarez Javier L. Carmen del Rjo. Alcohol use among fatally injured drivers in spain. *Forensic Science International*. 1994 ; 104: 117-125
19. Vogt Jakob. El vino. España: Editorial Acribia. 1996: 193-203.
- 20 Madrid Antonio. Tecnología del vino y bebidas derivadas. España: Editorial Mundi Prensa. 1994: 13, 63-68.
- 21 Benavent Alexandre. La cultura del vino cata y degustación.. España. Editorial Repproval, S.L.: 1997351-357.
- 22 Suarez Antonio. Microbiología enológica. España: Editorial Mundi-prensa. 1990: 190-231, 318-409.
- 23 Benavent Alexandre. Vinos y bebidas alcohólicas. España. Editorial Repprov17.al, S.L.: 1999: 75-87.
- 24 Souza Mario. Alcohólistimo. 7ª e d. México: Editorial El manual Moderno. 1996: 56-62.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 25 Hoggli Anthony. *Biotecnología de la cerveza y la malta*. España: Editorial Acribia. 1990: 133-145.
- 26 Dreisbach Robert. *Toxicología clínica*. 6ª Edición. México: Editorial El Manual Moderno. 1996: 155-173.
- 27 Peynaudó Emile. *Enología práctica*. 3ª Edición. España: Editorial Mundi-Prensa. 1989: 111-183.
- 28 Calaburg Gisbert. *Medicina legal y toxicología*. 4ª Edición Barcelona: Editorial Salvat. 1991: 636-66.
- 29 Jones Martin. *Measuring ethanol in saliva with the QED enzymatic test Device: Comparison of results with Blood-and breath-alcohol concentrations*. *Journal of Analytical Toxicology*. 1995; 19: 169-174.
- 30 Saeed Jortani. *Evaluation of the REA Assay for Determination of Ethanol in serum and urine*. *Journal of analytical Toxicology*. 1993; 17: 307-309.
- 31 Yale Caplan. *Analysis of ethanol in serum Blood and urine: A comparison of the Tdx REA ethanol Assay with Gas Chromatography*. *Journal of analytical Toxicology*. 1986; 10: 49-52.
- 32 Pelczar. *Microbiología*. 4ª Edición. México: Editorial Mc Wraw Hill. 1982 : 285-287.
- 33 Frederick Sidell. *Ethyl alcohol: Blood levels and performance decrements after oral administration to man*. *Psychopharmacologia*. 1981; 19: 246-261.
- 34 Brettel Williams. *Drugs and poison*. *Analytical chemistry*. 1993; 65 293-310.
- 35 Toshifumi Takuchi. *Gas-phase biosensor for ethanol*. *Analytical chemistry*. 1994; 66: 3297-3302.
- 36 Lindner Ernest. *Toxicología de alimentos*. 2ª e d. España: Editorial Acribia, S.A. 1995: 125-148.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 37 Macchia Teodora. Ethanol in biological fluids: Headspace GC measurement. *Journal of analytical toxicology*. 1995; 19: 241-246.
- 38 Brettel Williams. *Drugs and poison. Analytical chemistry*. 1995; 67: 273-294.
- 39 Brettel Williams. *Drugs and poison. Analytical chemistry*. 1997; 69: 123-143.
- 40 Helander Anders. Laboratory testing for recent alcohol consumption: Comparison of ethanol, methanol, and 5-hidroxitriptofol. *Clinical Chemistry*. 1996; 42 : 618-624.
- 41 Ross Aylott. Quality of foods on beverages. *Analytical*. 1994;119: 1741-1746.
- 42 Norma Mexicana NMX-V-002-NORMEX-1999. Bebidas alcohólicas destiladas. Ron-especificaciones.
- 43 Norma Oficial Mexicana NOM -142-SSA1-1995. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial.
- 44 Norma Oficial Mexicana NOM -006-SCFI-1994 Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones.
- 45 Sakshaug Johan. Screening for drug use among norwegian drivers suspected of driving under influence of alcohol or drugs. *Forensic Science International*. 1990; 45: 5-14.
- 46 Sharkawi Mahmoud. In vivo inhibition of liver alcohol dehydrogenase by ethanol administration. *Life Science*. 1984; 35: 2353-2357.
- 47 Bratzke Rguhl . Death caused by a chain saw - homicide, or accident? a case report with a literature review . *Forensic Science International*. 1999 ; 105 : 45-59
- 48 Giles Renaud. New instrument using gas sensor for the quantitative analysis of ethanol in biological liquids. *Clinical and experimental research*. 1986;10: 521-525.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 49 *Guang-Chou Tu. Characteristic of a new urine serum, and saliva alcohol reagent strip. Clinical and experimental research. 1992; 16: 222-227.*
- 50 *Zeldan Penton. Headspace measurement of ethanol in blood by gas chromatography whith a modified autosampler. Clinical chemistry. 1985; 31: 439-441.*
- 51 *N.W Desroiser. Elementos de tecnologia de alimentos. 4ª e d. México : Editorial Continental. 1996 : 23-67*
- 52 *Vargas Eduardo. Medicina legal. México : Editorial Trillas. 1996 : 60-68*
53. *Ley General de Salud Decreto publicado en el Diario Oficial de la Federación del 14 Junio de 1991. Título decimo segundo. Control Sanitario de Productos y servicios y de su importación y Exportación. Capitulo I. y Capitulo III Bebidas Alcohólicas.*
54. *La Jornada. Directora general: Carmen Lira Saade. México D.F. Martes 26 Febrero 2002.*
55. *La Jornada. Directora general: Carmen Lira Saade. México D.F. Sabado 28 Octubre 2000.*
56. *La Jornada. Directora general: Carmen Lira Saade. México D.F. Miércoles 21 de Junio 2000.*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN