

201
98



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

APLICACION DE LA CROMATOGRAFIA DE GASES
PARA LA CARACTERIZACION DE BEBIDAS
ALCOHOLICAS



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
SALVADOR POMPA VILLASEÑOR

MEXICO, D. F.

1986



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 está 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.

CONTENIDO

	pág.
I.- Introducción.....	1
II.- Descripción de la Cromatografía de Gases y equipos empleados	8
III.- Selección de productos químicos por analizar.	24
IV.- Selección de Técnicas de muestreo y prepara- ción de muestras.....	25
V.- Parte experimental.	
A.- Determinación del grado alcohólico empleando Detector de Ionización de Flama y de Conductividad Térmica.....	27
B.- Análisis de componentes volátiles y su comparación con datos obtenidos por las Normas Oficiales Mexicanas.....	30
C.- Análisis de azúcares para la caracteriza- ción de vinos.....	32
D.- Análisis de Esteres Etilicos.....	36
E.- Análisis de Acidos Grasos.....	37
F.- Análisis de Aminoácidos.....	39
VI.- Resultados.....	41
VII.- Conclusiones.....	85
VIII.- Bibliografía.....	88

C A P I T U L O I

INTRODUCCION

ANTECEDENTES HISTORICOS

En los albores de la civilización se producían - bebidas rudimentarias obtenidas de vegetales, cereales o frutas en diversas formas y por la acción de levadu-- ras.

En opinión de los historiadores no se puede sa-- ber con certeza dónde se originó el primer vino. Sin - embargo, es lógico pensar que el hombre primitivo tuvo que aprender a almacenar sus alimentos para poder sub-- sistir durante los difíciles períodos de invierno. Si entre estos alimentos, parte eran frutos silvestres, al dejarlos ahí de seguro fermentarían y este caldo que se formó se convirtió en vino. (1,2)

Se tienen referencias de que en tumbas egipcias se encontraron murales que ilustran el cultivo de la - uva y el procedimiento de extracción del vino; estas - tumbas datan de hace 4000 años antes de cristo. (3)

Se tienen referencias de que algunas formas de - cerveza ya se bebían hace por lo menos 6000 años, esta- bleciéndose su uso en las antiguas civilizaciones Meso- potámica, China y Egiptia. Se considera que la cerveza

y el vino fueron las más antiguas bebidas preparadas por el hombre. (3)

Los griegos practicaban la adición de hierbas a los vinos, característica que los distinguía de los -- otros.

De los romanos se sabe que también elaboraban vino y llegaron a utilizar las prácticas de conservación - que los griegos establecieron. Los romanos se caracterizaron por ser grandes conquistadores de ahí que conforme se extendía el Imperio Romano, también lo hacía la viticultura; y por consiguiente se les reconoce el mérito de la existencia de las viñas europeas.

Es importante también tomar en cuenta la influencia de la Iglesia en la subsistencia de la viticultura. En la Edad Media una gran cantidad de viñedos eran de su propiedad.

Muchas son las referencias que acerca del vino - se encuentran en la Biblia, como aquella que dice de Noé quien "plantó la vid, bebió el vino y se embriagó". (4)

Durante mucho tiempo, y desde los primeros ini--cios, la producción del vino y de la cerveza se desarro--llaron como un arte y sin explicación científica del proceso. Con el conocimiento de las levaduras, de la técnica de la destilación y de nuevos implementos para el procesado de la vid el arte se convirtió en técnica y en - proceso. Aunque aún hoy en día algunos productos del -

proceso de fermentación son consumidos más o menos como tales, mientras que otros son destilados para obtener - el producto que se va a consumir. (2)

En forma sencilla, podemos decir ahora que el - azúcar que contiene el jugo de uva se transforma en alcohol y bióxido de carbono; pero las investigaciones de este proceso se iniciaron en el Siglo XVII.

Entre los científicos que contribuyeron a la investigación del proceso de elaboración del vino se encuentran: Leeuwenhoek, Lavoisier, el barón Carlos Cagniard-Latour, Gay Lussac, Louis Pasteur, etc.

Louis Pasteur verifica la presencia de las levaduras y es considerado el padre de la enología moderna.
(5)

Para llegar a lo que actualmente conocemos, sobre el mecanismo de la fermentación, fue necesario que pasara mucho tiempo y la dedicación de otros investigadores.

El proceso de la destilación se origina en Europa, extendiéndose rápidamente su uso. Países como España, Francia e Italia, aplicaron esta técnica a la uva y granos. Ya para el Siglo XVI el proceso de la destilación era un importante negocio comercial; y se empezaron a elaborar diversos tipos de licores.

El interés primario que causaron estos licores -

fermentados, desde los inicios de su producción, fue el de su efecto intoxicante. Como consecuencia de lo anterior, se generó el deseo de conocer qué compuesto o compuestos eran responsables de este efecto, y así que la determinación de etanol en bebidas alcohólicas ha sido la más importante determinación analítica.

Como resultado de las primeras investigaciones realizadas sobre el proceso de la fermentación se encontró que a parte del etanol y del bióxido de carbono se hallaban otros componentes en menores proporciones como acetaldehído, glicerol, ácido pirúvico y otros. Todos estos compuestos prevalecen en el producto aun después de destilaciones sucesivas y es indudable que su presencia se debe, entre otras, a las causas siguientes: materia prima fermentada, fermento usado, temperatura y -- tiempo de fermentación, tipo de filtro y medio filtrante para el fermentador, tipo de destilador, eficiencia y condiciones de destilación, características de las barricas de añejamiento, tiempo de añejamiento, etc. (6)

Es común el caso de empresas que teniendo muchos años de elaborar un mismo producto, desconocen su composición casi totalmente, limitándose a un conocimiento superficial de las características organolépticas y a determinaciones genéricas de contenidos globales de compuestos orgánicos.

Así tenemos el caso de la industria tequilera -- que apenas hace algunos años tuvo conocimiento de la --

existencia de metanol en sus tequilas, en niveles que superan los 3000 mg/l.

Todo lo anterior queda de manifiesto en las determinaciones que piden las Normas Oficiales sobre la caracterización de una bebida alcohólica.

A continuación se resumen las determinaciones que piden las Normas Oficiales y que se aplican a diferentes tipos de bebidas alcohólicas:

Grado alcohólico.

Aldehídos (como acetaldehído)

Esteres (como acetato de etilo)

Metanol.

Alcoholes superiores (como alcohol amílico)

Azúcares totales (como glucosa, previa inversión)

Acidez total (como ácido acético)

Acidez fija y volátil (como ácido tartárico)

Extracto seco.

Furfural.

Dióxido de azufre, libre y combinado.

Sulfatos

Taninos.

Es bien sabido, y ya se mencionó en párrafos anteriores, que los aguardientes, y demás bebidas obtenidas por fermentación y destilación de azúcares y productos vegetales contienen en su presentación final, - -

características diferentes de color, sabor, aroma y -- efectos posteriores a su consumo; y que estas diferen-- cias se deben primordialmente a su contenido de compo-- nentes menores como son los aldehídos de peso molecular alto, los ésteres etílicos de ácidos grasos, los ácidos grasos libres, los aminoácidos, los azúcares, los áci-- dos orgánicos del tipo del cítrico, tartárico y ascórbico, así como de los taninos, ligninas, sales inorgáni-- cas y otros compuestos inorgánicos.

OBJETIVO

Este trabajo tiene la finalidad de motivar a los fabricantes de bebidas alcohólicas, tanto a los que ya comenzaron a emplear la Cromatografía de Gases en su control de producción como a los que siguen empleando técnicas tradicionales y oficiales; estableciendo el análisis de aquellos componentes que se encuentran en pequeñas cantidades y que dan el sabor y aroma característico de una bebida alcohólica, de la cual nos puede proporcionar interesante información respecto a la autenticidad de los productos, a la influencia de los componentes en el sabor, el aroma y materias primas empleadas en la fermentación, proceso industrial y añejamiento.

Recientemente se aprobó la Norma Oficial que establece el empleo de la Cromatografía de Gases para la cuantificación de metanol, alcoholes superiores y ésteres volátiles de bebidas alcohólicas.

Se espera en el futuro desarrollar una técnica efectiva y práctica para la caracterización del origen de los azúcares que fueron fermentados para llegar al producto terminado. Actualmente la única que se acepta pero que aún no está normalizada (por Espectrometría de Masas, Resonancia Magnética Nuclear) es cara y no se puede aún popularizar.

C A P I T U L O I I

DESCRIPCION DE LA CROMATOGRAFIA
DE GASES Y EQUIPOS EMPLEADOS

La Cromatografía de gases es una técnica analítica que se utiliza para separar, identificar y cuantificar los componentes de una muestra.

La separación de una mezcla que contenga muchos componentes volátiles, se puede lograr con solo introducir a un sistema por donde fluye un gas, el cual pasa a través de una columna empacada con un material de características especiales que permitan esta separación.

La Cromatografía de gases se basa, pues, en la diferencia de velocidades de migración de los componentes de una mezcla, al ser arrastrados por un gas inerte a través de un tubo relleno de un material adecuado.

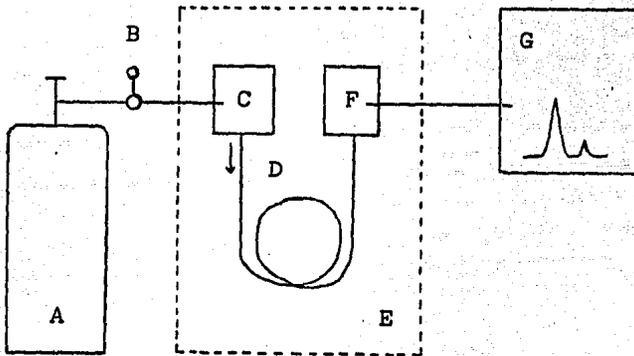
Los componentes separados son detectados y electrónicamente exhibidos en un registrador en forma de picos, generalmente de forma gaussiana.

La aparición de cada componente, referido a su tiempo de elución o retención, es característico de cada componente, y el área bajo el pico es proporcional a su cantidad o concentración. El tiempo de retención y el área, serán los datos cualitativos y cuantitativos, respectivamente.

La evaluación cualitativa dependerá, entonces, - de la medida de la posición del pico, ya sea tiempo de - retención, tiempo de elución o la variación de esos pa-- rámetros. La interpretación cuantitativa de los resultados dependerá, primeramente del tamaño, forma y separa-- ción de los picos, y también de la correcta medición del área del pico.

A continuación se presentan las partes de que - consta un Cromatógrafo de Gases.

"ESQUEMA BASICO DE UN CROMATOGRAFO DE GASES"



- A.- GAS DE ARRASTRE.
- B.- MEDIDOR Y REGULADOR DE FLUJO.
- C.- SISTEMA DE INTRODUCCION DE MUESTRAS.
- D.- COLUMNA CROMATOGRAFICA.
- E.- HORNO.
- F.- DETECTOR.
- G.- REGISTRADOR Y/O SISTEMAS DE INTEGRACION O PROCESAMIENTO DE DATOS.

A.- GAS DE ARRASTRE.

Los gases que pueden ser empleados como gas de arrastre son: Helio (He), Nitrógeno (N_2). La selección de cada uno de ellos dependerá del detector a ser usado y la aplicación a un caso particular.

Los gases mencionados cumplen con la condición de ser inertes, y así, no reaccionarán con la columna o la muestra. Es importante que también estén libres de humedad y de impurezas para prevenir el mal funcionamiento del equipo, como sería el incremento del nivel de ruido y contaminación del detector. En ocasiones es suficiente con instalar un filtro con tamiz molecular entre el cilindro del gas y el cromatógrafo, para remover el vapor de agua y algunas impurezas orgánicas residuales.

B.- MEDIDOR Y REGULADOR DE FLUJO.

Es importante proveer una presión y flujo constante de gas acarreador, por lo que será necesario regularlo.

La forma de lograr esto, es instalando una válvula reguladora a la salida del cilindro y antes de la columna se coloca otro controlador de flujo que generalmente es una válvula de aguja acoplada a un regulador diferencial.

C. SISTEMA DE INTRODUCCION DE MUESTRAS.

Este es el sitio de entrada de la muestra al cromatógrafo. Se pueden introducir muestras gaseosas, líquidas o sólidas. En condiciones adecuadas la muestra debe fácilmente vaporizarse sin descomposición o reacción química y debe depositarse en la columna con un minimo de volumen para prevenir picos anchos.

Las muestras gaseosas se introducen a la columna mediante una válvula de gases que variará en el diseño de acuerdo a un problema general o particular, o con una jeringa de gases.

Los líquidos son introducidos al sistema por inyección con una microjeringa a través de un septum.

Toda el área que ocupa el dispositivo de inyección está equipado con un sistema individual de calentamiento que alcanzará temperaturas arriba de la del horno y facilitará la vaporización de la muestra.

Las muestras sólidas son introducidas al cromatógrafo disolviéndolas previamente en un disolvente adecuado e inyectándolas en el instrumento como se hace para los líquidos.

D.- COLUMNA CROMATOGRAFICA.

Esta es la parte importante del sistema cromatográfico, ya que aquí se lleva a cabo la separación de -

los componentes de la muestra.

La columna es un tubo metálico o de vidrio generalmente de 1/8" o 1/4" de diámetro nominal, empacada con un material granular. El material puede ser un adsorbente como la alumina, silica gel, cuando es cromatografía de adsorción (CGS). El material granular puede ser también un sólido inerte como la tierra de Diatomeas con un líquido cubriéndolo, éste es el caso de la cromatografía de partición o de intercambio de fases (CGL).

Al líquido que está cubriendo al sólido inerte se le conoce como fase líquida. Esta tiene una temperatura mínima y máxima de trabajo que se tomará en cuenta cuando se haga uso de ella.

E.- HORNO.

La columna está situada en el horno. Este cuenta con un controlador de temperatura que permite tener temperaturas desde la ambiente hasta 400° C.

El horno está diseñado de tal manera que mantiene la temperatura uniforme mediante un ventilador de aspas.

F.- DETECTOR

Una vez que se efectúa la separación, por el material de la columna, los componentes entran al detector, el cual, nos indicará la presencia del componente diferente al gas de arrastre.

Los detectores más comunmente usados son: Ionización de Flama, Conductividad Térmica y Captura de Electrones.

DETECTOR DE IONIZACION DE FLAMA

Este detector responde solamente a compuestos orgánicos, es insensible al agua (H_2O) y compuestos inorgánicos.

Este detector es el más usado por su alta sensibilidad, buena estabilidad y un rango muy amplio de linealidad de respuesta. Tiene la particularidad de destruir la muestra produciendo iones, bióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O). Se usa como gas de arrastre el Nitrógeno (N_2), aunque pueden usarse otros gases inertes (He o Ar)

DETECTOR DE CONDUCTIVIDAD TERMICA

Es un detector universal, porque es sensible a los compuestos orgánicos e inorgánicos. Generalmente se usa para análisis de compuestos inorgánicos como: agua

(H₂O), bióxido de carbono (CO₂), oxígeno (O₂), nitrógeno (N₂), argón (Ar).

Este detector no destruye la muestra y es posible coleccionar las fracciones de la muestra separada por la columna. En este caso el gas de arrastre que se utiliza es el Helio (He).

DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

Este detector es selectivo para moléculas que contienen átomos electronegativos, nitrógeno, oxígeno, azufre y particularmente los halógenos. Requiere de una técnica limpia para prevenir la contaminación de la fuente de ionización radioactiva (Ni⁶³ o TRITIO).

G.- REGISTRADOR Y/O SISTEMAS DE INTEGRACION O PROCESAMIENTO DE DATOS.

Este recibe la señal eléctrica producida por el detector y la registra en una gráfica de concentración contra tiempo, que recibe el nombre de cromatograma.

Así pues, los componentes de la muestra quedan registrados en el cromatograma y servirá para obtener los datos de retención (tiempo, volumen, etc.) y área del pico; donde los datos de retención servirán para identificar cada componente y el área del pico será proporcional a la concentración de cada componente.

ANALISIS CUALITATIVO

Se basa en la comparación de los tiempos de retención de un compuesto conocido con el de otro compuesto - desconocido, obtenidos en las mismas condiciones de operación.

Para identificar miembros de una serie homóloga - que contenga una muestra, se construye una gráfica del - logaritmo del tiempo de retención contra el número de - átomos de carbono de al menos dos compuestos de la serie inyectados.

También se puede utilizar el método de adición - para identificar los componentes de una muestra. Y con-- siste en agregar a la muestra un compuesto conocido. Se corren ambos cromatogramas y por comparación se identifi-- can los componentes de la muestra.

ANALISIS CUANTITATIVO

Se fundamenta en el hecho de que la concentración de una sustancia es proporcional al área del pico obtenido en el cromatograma y se representa mediante la siguiente fórmula:

$$C \sim A \quad \dots\dots\dots(1)$$

donde

C = concentración

A = área

pasando de la proporcionalidad a la igualdad, tenemos

$$C = AF \quad \dots\dots\dots(2)$$

donde

F = Factor de proporcionalidad

El factor F, depende de la naturaleza de la sustancia y del detector empleado, ya que diferentes clases de compuestos, iguales cantidades de éstos, no producen igual respuesta y el área del pico no va a ser proporcional a la concentración.

Para el caso de dos componentes de una mezcla se pueden establecer las siguientes ecuaciones:

$$C_1 = A_1 F_1 \quad \dots\dots\dots(3)$$

$$C_2 = A_2 F_2 \quad \dots\dots\dots(4)$$

igualando (3) y (4), tenemos

$$\frac{A_1 F_1}{C_1} = \frac{A_2 F_2}{C_2} \quad \dots\dots(5)$$

y para el caso general de n componentes de los cuales conocemos sus factores se tiene la fórmula general que nos da la proporción relativa de cada componente (en -

tanto por ciento), y es,

$$C_1 \% = \frac{A_1 F_1}{\sum A_n F_n} \times 100 \dots\dots(6)$$

Al método de cálculo que utiliza esta fórmula se le conoce como Normalización de Area.

Con algunas series homólogas, la respuesta se considera igual para cada uno de ellos y la expresión a utilizar será:

$$C_1 \% = \frac{A_1}{\sum A_n} \times 100 \dots\dots (7)$$

Si el cromatograma de una muestra presenta demasiados componentes y se quiere cuantificar uno de ellos, se emplea el método de Estandarización Externa. Para lo anterior se requiere preparar soluciones de concentración conocida del componente puro e inyectarlo al cromatógrafo. Se obtienen las áreas y se construye la gráfica de área del componente contra la concentración de las soluciones patrón. A esta gráfica se le llama curva de calibración.

Si tomamos en cuenta que la concentración es proporcional al área, según la expresión $C \sim A$, al obtener el área del componente en la muestra se puede establecer lo siguiente:

$$\frac{A_m F_m}{C_m} = \frac{A_p F_p}{C_p} \dots\dots(8)$$

donde

A_m = área del componente en la muestra.

F_m = factor de respuesta del componente en la muestra.

C_m = concentración del componente en la muestra.

A_p = área del componente en la solución patrón.

F_p = factor de respuesta del componente en la solución patrón.

C_p = concentración del componente en la solución patrón.

Como los factores son iguales se eliminan convirtiéndose la expresión (8) en

$$\frac{A_m}{C_m} = \frac{A_p}{C_p} \quad \dots\dots\dots(9)$$

Despejando C_m , obtenemos la concentración del componente en la muestra. En este método de cálculo es necesario que las inyecciones tanto de las soluciones patrón como de la muestra sean repetitivas.

Otra forma de cuantificar un componente en una muestra es utilizando el método de la Estandarización Interna. Esto consiste, entonces, en adicionar a la muestra problema una cantidad conocida de una sustancia a la que se le llama patrón o estándar interno, e inyectar la mezcla al cromatógrafo. Junto con esta mezcla se prepara una solución patrón de concentración conocida que contenga el compuesto en estudio y el estándar interno. Y se inyecta al cromatógrafo. Con esta última solución -

se calcula el factor de respuesta del compuesto con respecto al estandar interno de esta manera:

como $C \sim A$ (10)

podemos establecer que

$$C_1 = A_1 F_1 \text{(11) y}$$

$$C_2 = A_2 F_2 \text{(12)}$$

donde

C_1 = Concentración del estandar interno en la solución patrón.

F_1 = Factor de respuesta del estandar interno en la solución patrón.

A_1 = Area del estandar interno en la solución patrón.

C_2 = Concentración del compuesto en la solución patrón.

F_2 = Factor de respuesta del compuesto en la solución patrón.

A_2 = Area del compuesto en la solución patrón.

igualando (11) y (12) tenemos

$$\frac{A_1 F_1}{C_1} = \frac{A_2 F_2}{C_2} \text{(13)}$$

haciendo $F_1 = 1$ y despejando F_2 obtenemos

$$F_2 = \frac{A_1 C_2}{C_1 A_2} \text{(14)}$$

siendo F_2 el factor de respuesta del compuesto - con respecto al estandar interno.

A continuación se calcula la concentración del compuesto en la muestra con las áreas del cromatograma de la muestra, la concentración del estándar y el factor de respuesta calculado.

Utilizando la expresión (13)

$$\frac{F_1 A_1}{C_1} = \frac{F_2 A_2}{C_2}$$

donde

C_1 = Concentración del estándar interno en la solución patrón.

F_1 = Factor de respuesta del estándar interno en la solución patrón

A_1 = Área del estándar interno en la solución patrón.

C_2 = Concentración del compuesto en la muestra problema.

F_2 = Factor de respuesta calculado.

A_2 = Área del compuesto en la muestra.

y despejando C_2 tenemos

$$C_2 = \frac{F_2 A_2 C_1}{A_1 F_1}$$

donde C_2 es la concentración del compuesto en la muestra problema.

La ventaja de este método de cálculo es que no se necesitan inyecciones repetitivas, sino que se conserva la relación de áreas.

La dificultad de este método está en buscar un estandard interno adecuado que no interfiera con el componente en la muestra. Los requisitos que debe cumplir un estandard interno son:

- 1.- Que no se encuentre en la muestra problema.
- 2.- Que eluya cerca del compuesto que interesa.
- 3.- Que esté en la concentración cercana al compuesto en estudio.
- 4.- Que tenga estructura semejante al compuesto en estudio.

EQUIPOS EMPLEADOS

Cromatógrafo de Gases modelo 900B Perkin Elmer -
equipado con los Detectores de Ionización de Flama y de
Conductividad Térmica, Registrador modelo 56 de la misma
marca.

Cromatógrafo de Gases modelo SIGMA 300 equipado -
con los Detectores de Ionización de Flama y de Conducti-
vidad Térmica, Integrador Electrónico modelo LCI 100 am-
bos de la marca Perkin Elmer.

Cromatógrafo de Gases modelo 3700 Varian equipado
con los Detectores de Ionización de Flama y de Conducti-
vidad Térmica, Registrador e Integrador Electrónico CDS
111.

Cromatógrafo de Gases modelo SIGMA 2 B equipado -
con los Detectores de Ionización de Flama y de Conducti-
vidad Térmica, Estación de datos SIGMA 10 B, ambos de -
Perkin Elmer.

C A P I T U L O I I I

SELECCION DE PRODUCTOS QUIMICOS POR ANALIZAR

Del grupo de componentes menores que caracterizan una bebida alcohólica, se escogieron, para su análisis, los siguientes:

Esteres Etílicos

Acidos grasos.

Aminoácidos.

Azúcares en vinos.

Se complementa este trabajo con el análisis de volátiles y la determinación del grado alcohólico empleando los detectores de Ionización de Flama y de Conductividad Térmica.

C A P I T U L O I V

SELECCION DE TECNICAS DE MUESTREO
Y PREPARACION DE MUESTRAS

Tomando de la literatura algunas técnicas cromatográficas para el análisis de ésteres etílicos, ácidos grasos, azúcares y aminoácidos, se adaptaron o modificaron las más convenientes, con la finalidad de lograr el análisis de estos productos en las bebidas alcohólicas (Rones, Aguardientes y Vinos).

Se estudiaron las técnicas de extracción, concentración y formación de derivados. Se prepararon las columnas, se establecieron condiciones de operación y se analizaron algunas bebidas comerciales de México y Centroamérica.

Para el análisis de los ésteres etílicos, se inyectaron los extractos directos de las muestras.

Se obtuvieron los ésteres metílicos de los correspondientes ácidos grasos, tratándolos con trifluoruro de boro en metanol.

Para la determinación de los azúcares fue necesario la sililación con TRIZIL "Z" o HMDS-TMCS (Hexametildisilazano Trimetilclorosilano) de los residuos no volátiles obtenidos por la evaporación del vino previamente neutralizado.

Los aminoácidos se analizaron a partir de la sililación de los extractos purificados en columnas intercambiadoras de iones con "BSTFA" (N, O-bis silil tri--fluoro acetamida) en medio de acetonitrilo.

C A P I T U L O V

PARTE EXPERIMENTAL

A.- DETERMINACION DEL GRADO ALCOHOLICO EMPLEANDO DETECTOR DE IONIZACION DE FLAMA Y DE CONDUCTIVIDAD TERMICA.

Una de las determinaciones que principalmente interesan al pequeño productor y al comerciante es el grado alcohólico. En situaciones de compra-venta de bebidas alcohólicas, es costumbre basarse en su grado alcohólico.

Es conveniente señalar que el valor intrínseco de una bebida alcohólica no depende únicamente del contenido de alcohol, sino que es importante también el contenido de componentes menores que determinan sus caracteres organolépticos, su bouquet, sus propiedades tóxicas, su carácter diferencial de marca y sus características nutritivas.

Existen diferentes métodos para determinar el contenido de alcohol en una bebida alcohólica; el más conocido es mediante el uso del alcoholómetro o alcoholímetro. Esta forma de determinar el grado alcohólico de una bebida espirituosa, y que actualmente es utilizado como Método Oficial por la Dirección General de Normas, implica un proceso de destilación a que es sometida la bebida. Una vez obtenido el destilado se determina en éste el grado alcohólico. (13)

La Cromatografía de Gases se puede utilizar para determinar el contenido de alcohol en una bebida alcohólica. Lo anterior se puede lograr de dos formas, una de ellas es empleando el Detector de Ionización de Flama y la otra con el Detector de Conductividad Térmica.

METODO 1.- GRADO ALCOHOLICO POR IONIZACION DE FLAMA.

a) Se prepararon soluciones de etanol-agua con las siguientes concentraciones: 40, 45 y 50% en volumen (o de la concentración cercana al rango esperado de la bebida alcohólica por analizar).

b) Se inyectaron por separado estas soluciones al Cromatógrafo de Gases hasta obtener cromatogramas repetitivos. Las condiciones cromatográficas fueron:

TEM. INY. : 160°C.

TEMP. DET. FID. : 160°C.

FLUJO A, B, : N₂, 45 ml/min.

TEMP. HORNO INIC. : 140°C.

ATENUACION. : 128

RANGO : x100

CANT. MUESTRA : 2 μ l.

VEL. CARTA : 10 mm/min.

COLUMNA: PORAPAK Q, 60/80 # s.s. 2 m. 1/8"

c) Se calcularon las áreas del etanol de las soluciones patrón, elaborándose a continuación la gráfica concentración del etanol contra área del etanol.

d) En las mismas condiciones de operación se --

inyectaron las muestras.

e) Se interpolaron las áreas del etanol de las - muestras en la gráfica del inciso "c" y se obtuvo la concentración del etanol en la muestra.

METODO 2.- GRADO ALCOHOLICO POR CONDUCTIVIDAD TERMICA.

a) Se prepararon soluciones de etanol-agua con - las siguientes concentraciones: 20, 30, 40 y 50% en volumen (o de concentración cercana al rango esperado de la bebida alcohólica por analizar).

b) Se inyectaron por separado estas soluciones al Cromatógrafo de Gases hasta obtener cromatogramas en los cuales la relación de áreas etanol-agua se conserve.

Las condiciones cromatográficas fueron:

TEMP. INY. : 160° C.

TEMP. DET. TCD. : 100° C., CORR. MED.

FLUJO A, B, : He, 45 ml/min.

TEMP. HORNO INICIAL. : 140° C.

ATENUACION. : 16

RANGO : x 1

CANT. MUESTRA : 2 μ l .

VEL. CARTA : 10 mm/min.

COLUMNA : PORAPAK Q, 60/80 # s.s. 2 m. 1/8"

c) Se calcularon las áreas del etanol y del agua de las soluciones patrón, elaborándose a continuación - la gráfica relación de áreas etanol-agua contra concentración del etanol.

d) En las mismas condiciones de operación se inyectaron las muestras.

e) Se calcularon las relaciones de áreas etanol-agua de las muestras y se interpolaron en la gráfica - del inciso "c" para conocer la concentración del etanol en las muestras.

B.- ANALISIS DE COMPONENTES VOLATILES Y SU COMPARACION CON DATOS OBTENIDOS POR LAS NORMAS OFICIALES MEXICANAS.

Anteriormente a la Cromatografía de Gases, el - análisis de sabores y aromas volátiles, era una operación difícil y el analista tenía que conformarse con la concentración total de una clasificación orgánica, por ejemplo, aceite fusel, ésteres totales, aldehídos totales, etc. Sin embargo, la Cromatografía de Gases ha permitido grandes avances en el campo del análisis de volátiles.

La identificación de los componentes volátiles - de las bebidas alcohólicas se realizó por medio de sus tiempos de retención y por el método de adición. No fue necesario realizar análisis más sofisticados para identificarlos ya que la literatura existente los menciona. (6,7,8,18,20,22).

METODO.

1.- Las muestras se inyectaron directamente al -

Cromatógrafo de Gases en las condiciones siguientes:

TEMP. INY. : 75°C.

TEMP. DET. FID. : 140°C.

FLUJO A., B. : N₂, 50 ml/min.

TEMP. HORNO INICIAL. : 50°C.

TIEMPO INICIAL. : 4 min.

VEL. INICIAL : 4°C/min.

TEMP. FINAL. : 120°C.

TIEMPO FINAL. : 25 min.

ATENUACION : x40 xK

CANT. MUESTRA. : 5 µl

VEL. CARTA. : 5 mm/min.

COLUMNA : Carbowax 1540, 15% Chrom.W AW HMDS
80/100 # s.s. 5 m. 1/8".

Aun cuando se estaba utilizando la Cromatografía de Gases para determinar una clase global de compuestos orgánicos (metanol, ésteres totales, alcoholes superiores), esta técnica no contaba con la validez oficial. Como esta técnica resultaba ser rápida, sencilla y que permitía comparar resultados con los obtenidos según las normas actuales, que son laboriosas, fue necesario realizar un estudio con la colaboración de Compañías Vinícolas y Laboratorios Particulares para establecer la Norma Oficial Mexicana.

El método cromatográfico consiste en adicionar a la muestra una cantidad conocida de un estándar o patrón interno, obtener el cromatograma y mediante un

cálculo sencillo se obtiene la concentración del produc
to químico.

METODO.

Para ilustrar este método se utilizó una muestra de tequila, en la cual se determinó el contenido de metanol.

1.- Se preparó una solución conteniendo 40 mg de butanol (patrón interno) en 100 ml de muestra (tequila)

NOTA.- La concentración y el patrón interno puede variar según el producto químico a determinar. No olvidar que la concentración del patrón interno debe ser semejante al producto químico.

2.- Se inyectó la muestra así preparada al Cromatógrafo de Gases en condiciones semejantes al análisis de volátiles.

3.- Se calcularon las áreas del patrón interno y del producto químico.

4.- Haciendo uso de la ecuación 13 de la pág. 20 se obtiene la concentración del producto químico.

C.- ANALISIS DE AZUCARES PARA LA CARACTERIZACION DE VINOS.

De acuerdo a la materia prima de la que deriva - el alcohol de una bebida alcohólica, será su clasifica-

ción o denominación, sus normas y especificaciones.

Por fermentación de cualquier materia que contenga azúcar, se obtiene alcohol etílico industrial. Para la producción de espíritus destilados para bebidas alcohólicas, los cereales son las principales materias primas.

Cuando se utiliza el destilado del jugo fermentado de una fruta, el licor obtenido lleva el nombre de la fruta respectiva. De la calidad de la fruta dependen mucho el sabor y aroma característicos de la bebida. El vino, a diferencia de lo mencionado en párrafos anteriores, no es un producto destilado. El vino es el zumo fermentado de las uvas; si no se especifica otra cosa, el término vino se aplica únicamente al vino de uvas.

Las grandes compañías vinícolas además de su propia producción de vino, compran a pequeños vinicultores, vinos de uva que frecuentemente son adulterados por la adición de sacarosa. Para resolver este problema y que las compañías puedan cuantificarlo, se planeó el objetivo de determinar la autenticidad de la materia prima empleada, que debe ser 100% de uva, pero que en la práctica se admite 80% uva-20% sacarosa; aunque esta costumbre está siendo suprimida o controlada por las autoridades.

METODO.

1.- Se prepararon muestras de vino con 100% uva, 100% sacarosa y con mezclas 75/25, 50/50 y 25/75 azúcares de uva-sacarosa.

2.- Las muestras fueron diluídas hasta 4° G.L., - después se neutralizaron con hidróxido de potasio (KOH) hasta pH=7 y evaporadas casi a sequedad para eliminar - materia volátil y poder extraer la materia grasa con - pentano o cloruro de metileno; ocasionalmente fue necesario además extraer con pentano o cloruro de metileno antes de neutralizar, repitiendo las extracciones después de diluir con agua el residuo de la muestra neutra, finalmente se volvió a evaporar a sequedad.

3.- Se obtuvieron los derivados sililados de los azúcares empleando TRIZIL "Z" que según la literatura - permite la formación de sililderivados en medio acuoso, pero de los cromatogramas obtenidos se pudo apreciar - que dan dos tipos de derivados haciendo difícil la in-- terpretación, por lo cual fue necesario emplear HMDS - (Hexametildisilazano) y TMCS (Trimetilclorosilano) combinados sobre la muestra anhidra y en solución piridíni ca.

NOTA.- Actualmente se está suprimiendo la piridí na por su carácter carcinogénico y se sustituye por - - otros solventes como el acetonitrilo y el tolueno; en - este caso puede suprimirse sin que se afecten los resul tados.

4.- Se inyectaron las muestras así preparadas al Cromatógrafo de Gases, hasta obtener cromatogramas triplicados y se consideraron aceptables aquellos en los que se obtuvieron diferencias menores de 1% en las alturas de los picos. Las condiciones de operación fueron:

TEMP. INY. : 300° C.

TEMP. DET. FID. : 300° C.

FLUJO A. B. : N₂, 45 ml/min.

TEMP. HORNO INICIAL. : 140°C.

TIEMPO INICIAL. : 2 min.

VEL. INICIAL. : 10°C/min.

TEMP. FINAL. : 250°C.

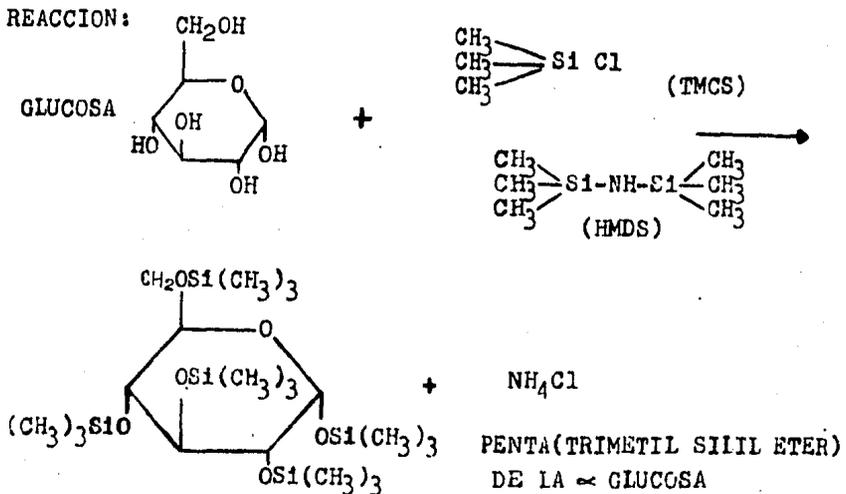
ATENUACION : x2

RANGO. : x1000

VEL. CARTA. : 5 mm/min.

CANT. MUESTRA. : 2 µl

COLUMNA: OV 17, 10% Chrom. W HP. 3m. 1/8"
80/100 # vidrio.



D.- ANALISIS DE ESTERES ETILICOS

La esterificación es uno de los cambios que se suceden durante el añejamiento de los vinos. El éster se forma en el vino por la reacción de un ácido con un alcohol, según la ecuación siguiente:



Cabe señalar que cada variedad de uva o de cualquier otra materia que contenga azúcar que se utilice para producir una bebida alcohólica, va a impartir sus características al producto final.

Aparte de los ésteres predominantes en la bebida se encuentran otros en pequeñas cantidades que también contribuyen al aroma y bouquet, y que permiten en un momento dado su caracterización.

METODO.

1.- Los ésteres etílicos se extrajeron con mezcla de pentano-cloruro de metileno de las muestras diluidas con agua a un grado alcohólico menor a 10°G.L. y previamente neutralizados con solución normal de hidróxido de potasio en etanol.

2.- Los extractos se concentraron y se obtuvieron los cromatogramas de las muestras y de las mezclas conocidas de ésteres etílicos. Las condiciones de ope-

ración fueron:

TEMP. INY. : 230° C.
 TEMP. DET. FID. : 230° C
 FLUJO A, B. : N₂, 50 ml/min.
 TEMP. HORNO INICIAL. : 150° C.
 TIEMPO INIC. : 2 min.
 VEL. INIC. : 6° C/min.
 TEMP. FINAL. : 210° C.
 ATENUACION : x4, x1
 RANGO. : x100, xK
 VEL. CARTA. : 10 mm/min.
 CANT. MUESTRA. : 2 μ l
 COLUMNA. : DEGS, 20%. Chrom. W AW HMDS
 80/100 # s.s. 3 m. 1/8".

3.- Los patrones inyectados fueron los ésteres etílicos de los ácidos normales saturados de 4 a 20 - átomos de carbono y los no saturados con una y dos dobles ligaduras de 14, 16 y 18 átomos de carbono. Se - comprobaron los tiempos de retención por adición inter na de los patrones y por sobreposición de cromatogra-- mas obtenidos en las mismas condiciones; además se ob- tuvieron cromatogramas de patrones individuales.

E.- ANALISIS DE ACIDOS GRASOS.

De acuerdo a las condiciones generales que pre- valezcan durante la fermentación será la formación de productos secundarios que determinarán los caracteres y calidad del producto final. Así, aparte de formarse

aldehídos, ésteres y alcoholes superiores, entre otros, también se producen ácidos grasos. Estos, se conocen - también con el nombre de ácidos volátiles ya que son - arrastrados por los vapores de agua y alcohol durante - la destilación del vino.

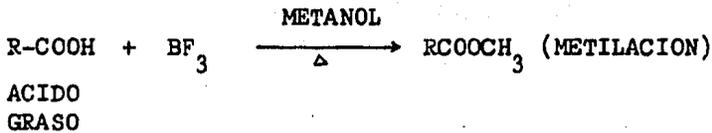
Entonces, aparte de los ácidos que predominan en las bebidas (acético, propiónico, butírico) en cantidades abundantes, existen otros en pequeñas cantidades y que corresponden a ácidos de cadenas cortas y largas -- (C_6 , C_{10} , C_{12} , C_{16} , C_{18}) y contribuyen a las características de sabor y aroma de las bebidas.

METODO.

1.- La preparación de las muestras consistió en neutralizar con hidróxido de potasio, bajar el grado alcohólico con agua hasta menos de 10° G.L., extraer con cloruro de metileno y a la capa acuosa hidrolizarla con H_2SO_4 dil (1N) y después extraer con pentano, éste se evaporó y el residuo se trató con solución metanólica - de trifluoruro de boro al 10% para la obtención de los respectivos ésteres metílicos. Estos fueron extraídos - con pentano y analizados en condiciones semejantes a -- los ésteres etílicos.

2.- Se identificaron los picos de los cromatogramas por comparación con el cromatograma de la mezcla de composición conocida.

REACCION:



F.- ANALISIS DE AMINOACIDOS.

Otros compuestos organolépticamente importantes en una bebida alcohólica y que han estado sujetos a estudios intensivos para conocer su origen metabólico son los aminoácidos. Estos son atacados por la levadura para elaborar los llamados alcoholes superiores, grupo importante de compuestos presentes en bebidas y espíritus.

La presencia de compuestos nitrogenados en el zumo de uva permiten a la levadura utilizarlos para su desarrollo.

METODO

1.- Fueron determinados a partir de los concentrados de las muestras obtenidas en columnas intercambiadoras de iones débilmente ácidas y eluidos con soluciones acuosas-amoniacales; siendo finalmente sililados con reactivo de "BSTFA" N,O-bis-trimetilsilil-trifluoroacetamida adicionado de 1% de TMCS (Trimetilclorosilano), empleando acetonitrilo como solvente.

2.- La identificación se llevó a cabo por tiempos de retención relativos al ácido decanóico que fue usado como estándar interno. En esta forma se identificaron 17 aminoácidos. Las condiciones de operación -

C A P I T U L O VI

RESULTADOS

GRADO ALCOHOLICO POR IONIZACION DE FLAMA.

Para ilustrar esta determinación se seleccionaron dos muestras de bebidas alcohólicas. Los datos obtenidos fueron:

		AREA
		(unidades de área)
Soluciones patrón	{ 40-----	328
	{ 45-----	368
	{ 50-----	406
Etanol-Agua (%, v/v)		
Muestras	{ Ron-----	339
	{ Tequila-----	357

De acuerdo a la curva patrón se obtuvo:

		Concentración del etanol (%. v/v)
Muestras	{ Ron-----	41.0
	{ Tequila-----	43.7

La figura 1 representa el cromatograma de la solución - patrón

La figura 2 representa el cromatograma de la muestra.

La gráfica 1 representa la curva patrón: concentración del etanol contra área del etanol.

GRADO ALCOHOLICO POR CONDUCTIVIDAD TERMICA.

Para ilustrar esta determinación se seleccionaron dos bebidas alcohólicas. Los datos obtenidos fueron:

		Relación de áreas Etanol-agua
Soluciones patrón Etanol-agua (%, v/v)	20-----	0.11
	30-----	0.26
	40-----	0.38
	50-----	0.57
Muestras	Ron-----	0.40
	Tequila-----	0.40

De la curva patrón se obtuvo lo siguiente:

		Concentración del etanol (%, v/v)
Muestras	Ron-----	40.62
	Tequila-----	40.62

La figura 3 representa el cromatograma de la solución patrón.

La figura 4 representa el cromatograma de la muestra.

La gráfica 2 representa la curva patrón: relación de áreas Etanol-Agua contra concentración de etanol.

ANALISIS DE COMPONENTES VOLATILES Y SU COMPARACION CON DATOS OBTENIDOS POR LAS NORMAS OFICIALES MEXICANAS.

La figura 5 representa el cromatograma de los componentes volátiles de una bebida alcohólica inyectada directamente al Cromatógrafo de Gases. En el mismo se observa el cálculo del cromatograma obtenido mediante un integrador electrónico. Estos valores representan la composición en por ciento de los componentes volátiles en la bebida alcohólica obtenido por Normalización de Area utilizando las sensibilidades reportadas en la literatura. (ver este método de cálculo pág.17)

Las figuras 6, 7, 8, 9 y 10, representan los cromatogramas de los componentes volátiles de diferentes bebidas alcohólicas.

La figura 10-A representa el cromatograma de la muestra de tequila adicionada del patrón interno (butanol). De este cromatograma se obtuvieron los siguientes datos:

Area del metanol ————— 570745
Area del patrón
interno (butanol) ————— 1762346

La concentración del metanol se obtuvo de la siguiente forma:

Utilizando la ecuación 13, tenemos

$$\frac{A_1 F_1}{C_1} = \frac{A_2 F_2}{C_2}$$

ó

$$\frac{A_m F_m}{C_m} = \frac{A_p F_p}{C_p}$$

donde

A_m = área del metanol

F_m = factor del metanol

C_m = concentración del metanol

A_p = área del patrón interno

F_p = factor del patrón interno

C_p = concentración del patrón interno

Despejando C_m tenemos

$$C_m = \frac{A_m F_m}{A_p F_p} \times C_p$$

y como

$$F_m = 1.48$$

$$F_p = 4.35$$

al sustituir tenemos

$$C_m = \frac{570745 \times 1.48}{1762346 \times 4.35} \times 40 =$$

$$C_m = 38.07 \text{ mg/ } 100 \text{ ml de muestra}$$

ANALISIS DE AZUCARES PARA LA CARACTERIZACION DE VINOS.

La identificación de los picos obtenidos en los cromatogramas se enfocó básicamente a la fructosa, glucosa y sacarosa, mediante sus tiempos de retención y adición de aquellos a las muestras.

En la tabla 1 se presentan las áreas relativas de los azúcares que se encontraron en las muestras de vino preparadas con mezclas de azúcares de uva-sacarosa. Las figuras 11, 12 y 13 representan los cromatogramas de las muestras con azúcares de uva 100%, azúcares de uva 50%-sacarosa 50% y 100% sacarosa respectivamente.

Para comprobar el método se analizaron 5 muestras de procedencia conocida con los siguientes resultados presentados en la tabla 2.

Se determinaron azúcares en algunas bebidas con fines de identificación obteniendo los siguientes resultados cualitativos expresados en la tabla 3. La figura 14 representa el cromatograma de una mezcla patrón de azúcares. Las figuras 15, 16, 17 y 18 representan los -

cromatogramas de los azúcares de diferentes bebidas.

ANALISIS DE ESTERES ETILICOS

Las figuras 19 y 20 representan los cromatogramas de las mezclas patrón de los ésteres etílicos.

Las figuras 21, 22, 23, 24 y 25 representan los cromatogramas de rones de diferentes tipos de los cuales podemos apreciar lo siguiente:

RON B.A.- Presenta todos los ésteres en muy pequeña cantidad excepto el undecanoato de etilo que aparece en cantidad mayor a la suma de todos los demás.

RON BCO.- Presenta todos los ésteres etílicos en cantidades exageradas con relación a los demás rones - analizados (aproximadamente de 8 a 40 veces mayor), esta muestra presenta además la particularidad de contener al éster con una doble ligadura.

RON AÑEJO B.- Solamente presenta ésteres saturados en pequeñas cantidades, excepto el palmitato de etilo aumentado casi tres veces con relación a los demás y el valerato de etilo aumentado casi 15 veces.

RON BLANCO SECO (B) Y RON EXTRA SECO.- Presentan un pico bien definido de valerato de etilo y trazas de los demás.

ANALISIS DE ACIDOS GRASOS.

La figura 26, representa el cromatograma de la mezcla patrón de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

Las figuras 27, 28, 29, 30 y 31, representan los cromatogramas de diferentes bebidas, de las cuales se puede apreciar lo siguiente:

RON B BLANCO.- Presenta todos los ésteres saturados en gran cantidad.

RON B AÑEJO II.- Presenta todos los ésteres metílicos en cantidades menores, excepto caprílico y palmítico.

VINO S.T.- Presenta todos los ésteres en cantidades mayores sobresaliendo el palmitato de metilo.

AGUARDIENTE DE OLLA.- Presenta todos los ésteres en cantidades mayores en relación a las demás muestras analizadas.

BRANDY.- Presenta ésteres ligeros (C_6 , C_8 , C_{10}) en grandes cantidades.

ANALISIS DE AMINOACIDOS.

La figura 32, representa el cromatograma de la mezcla patrón de aminoácidos adicionado del ácido deca-

nóico.

La figura 33, representa el cromatograma de una bebida en el cual se aprecia que contiene todos los aminoácidos, siendo la glicina la que se encuentra en ma--yor cantidad.

INST 1 METH 1 FILE 38

RUN 30 1

SENSITIVITIES 50 4



FIGURA 1

INST 1 METH 1 FILE 42

RUN 34 1

SENSITIVITIES 50 4

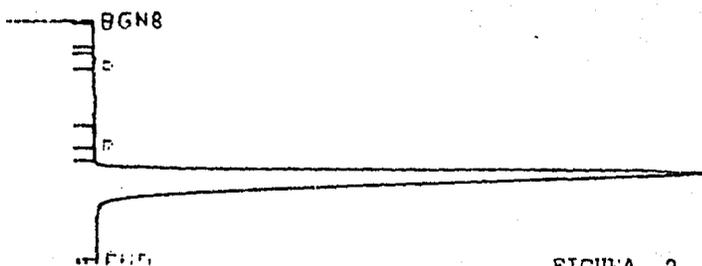
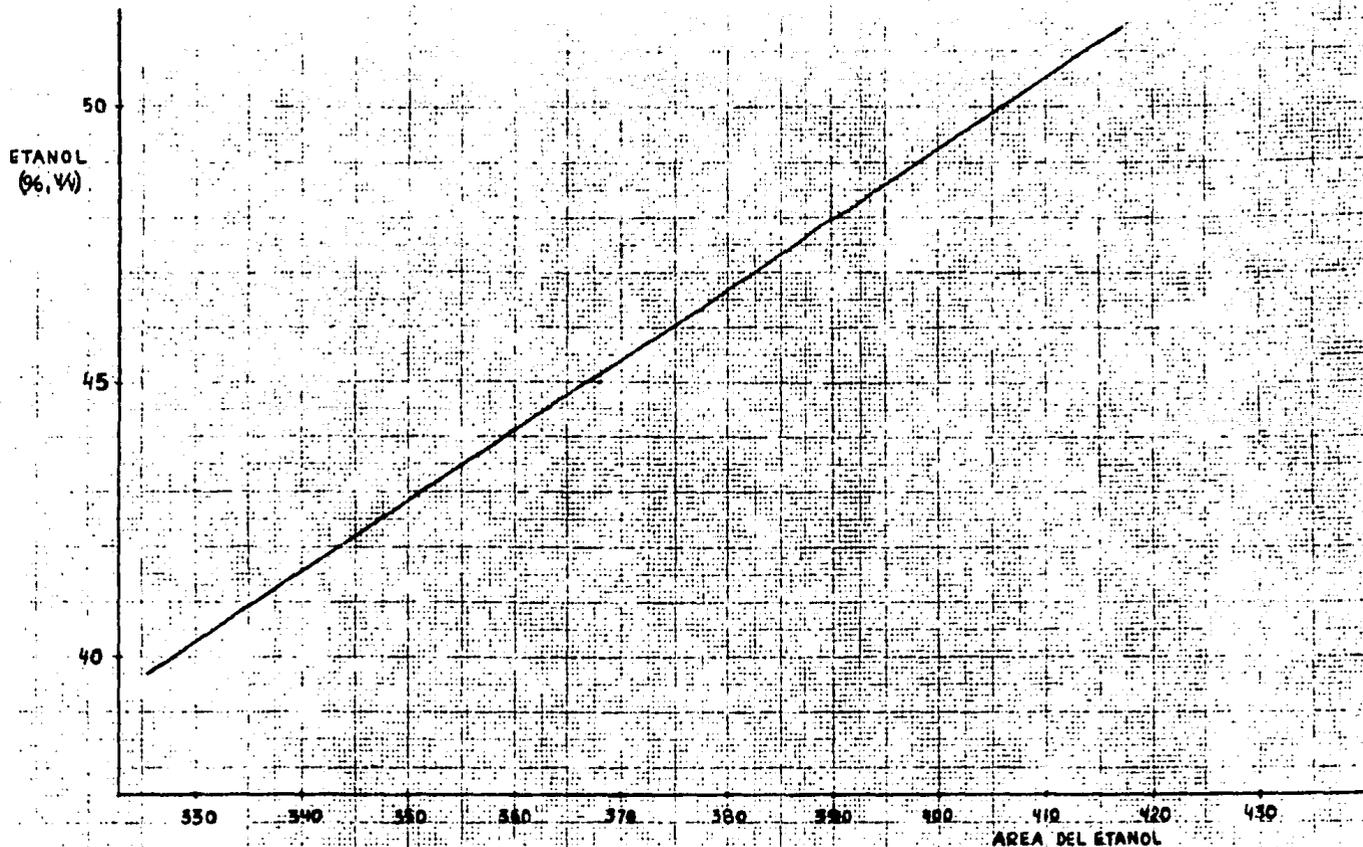


FIGURA 2



GRAFICA 1 : CONCENTRACION DEL ETANOL (% v/v) VS AREA DEL ETANOL (UNIDADES DE AREA)

INST 1 METH 1 FILE 28

RUN 20 1

SENSITIVITIES 50 4

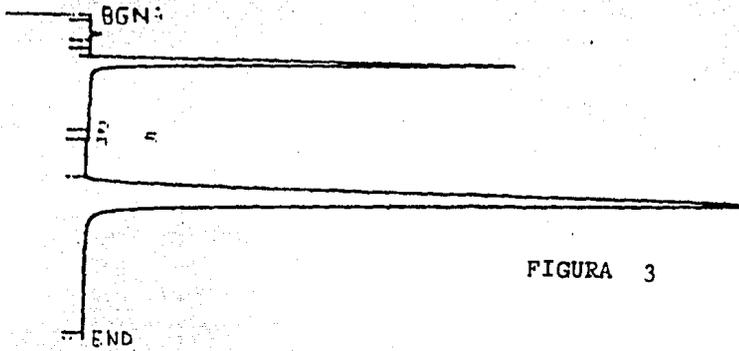


FIGURA 3

INST 1 METH 1 FILE 36

RUN 28 1

SENSITIVITIES 50 4

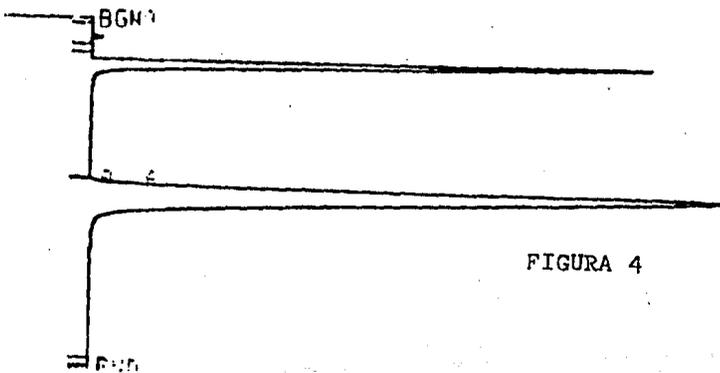


FIGURA 4

$\frac{\text{AREA ETANOL}}{\text{AREA AGUA}}$

0.6

0.5

0.4

0.3

0.2

0.1

20

30

40

50

GRAFICA 2: $\frac{\text{AREA ETANOL}}{\text{AREA AGUA}}$

VS

CONCENTRACION
DEL ETANOL
(% v/v)

CONCENTRACION ETANOL
(% v/v)

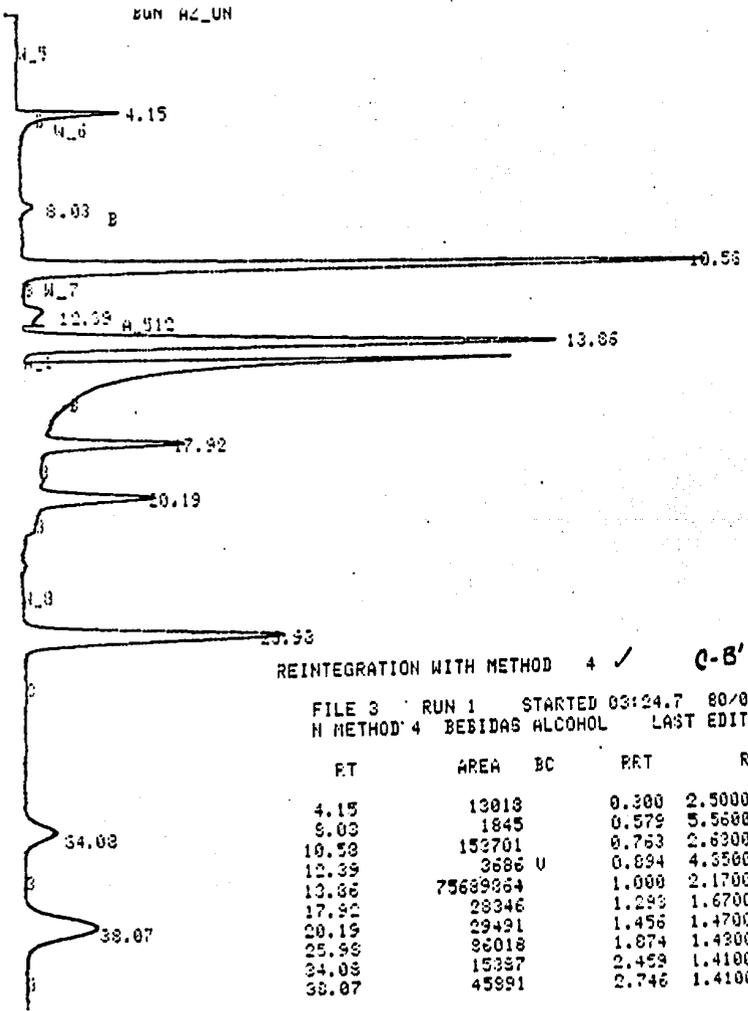


FIGURA 5 VINO

REINTEGRATION WITH METHOD 4 ✓ C-B'; PROBLEMA LOS ANGELES

FILE 3 RUN 1 STARTED 03:24.7 80/01/01
 M METHOD 4 BEBIDAS ALCOHOL LAST EDITED 05:14.1 80/01/01 ✓

RT	AREA	BC	RRT	RF	AREA PERCENT	NAME
4.15	13018		0.300	2.500000e+00	0.0137	ACETALDEHIDO
8.03	1845		0.579	5.568000e+00	0.0062	FORMIATO METILO
10.58	152701		0.753	2.630000e+00	0.2450	ACETATO ETILO
12.39	3686	U	0.694	4.356000e+00	0.0097	METANOL
13.85	75689864		1.000	2.170000e+00	99.5375	ETANOL
17.92	29346		1.298	1.670000e+00	0.0267	PROPANOL
20.19	29491		1.456	1.470000e+00	0.0263	ISOBUTANOL
25.98	96018		1.674	1.430000e+00	0.0745	ISOMILICO
34.08	15387		2.459	1.410000e+00	0.0131	ANILICO
38.07	45891		2.746	1.410000e+00	0.0392	NO IDENTIFICADO

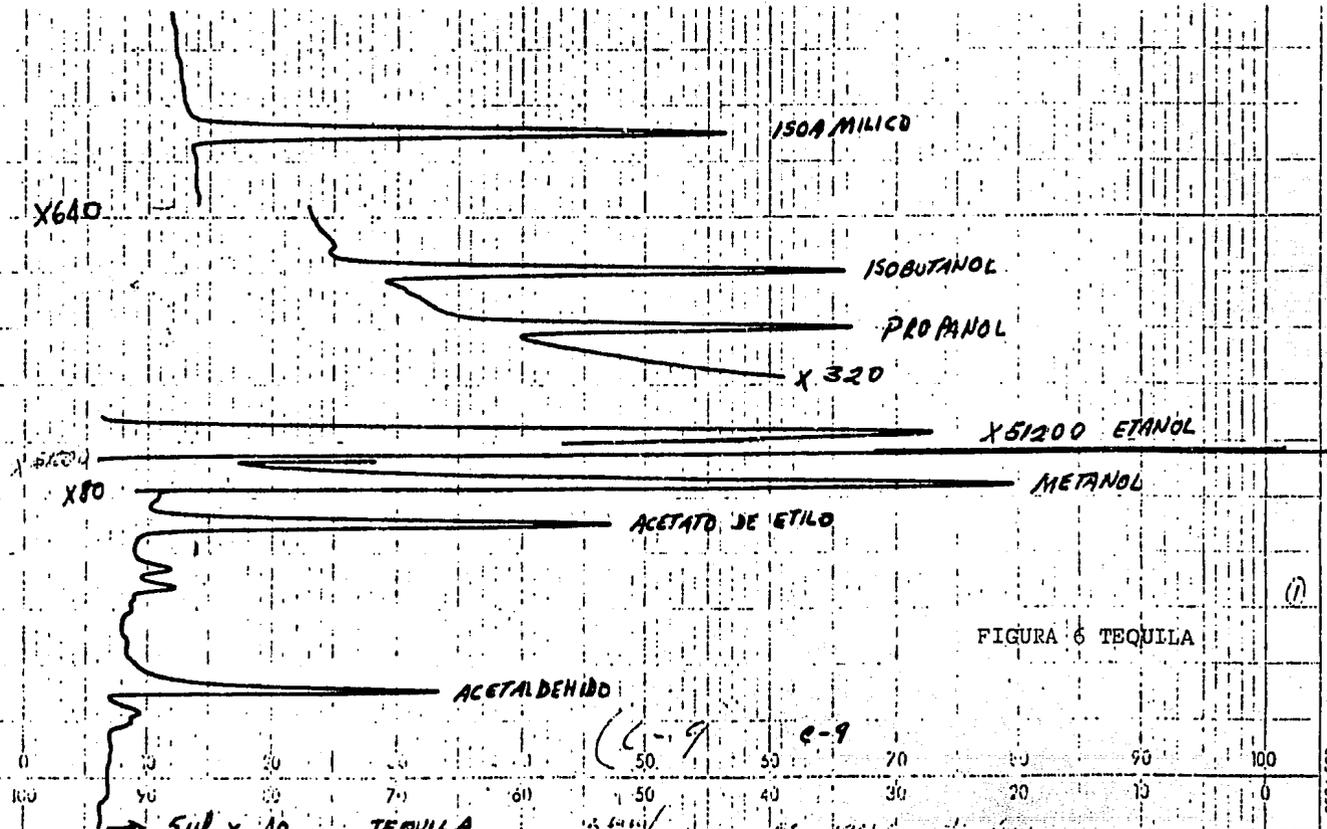


FIGURA 6 TEQUILA

(1)

055-7300

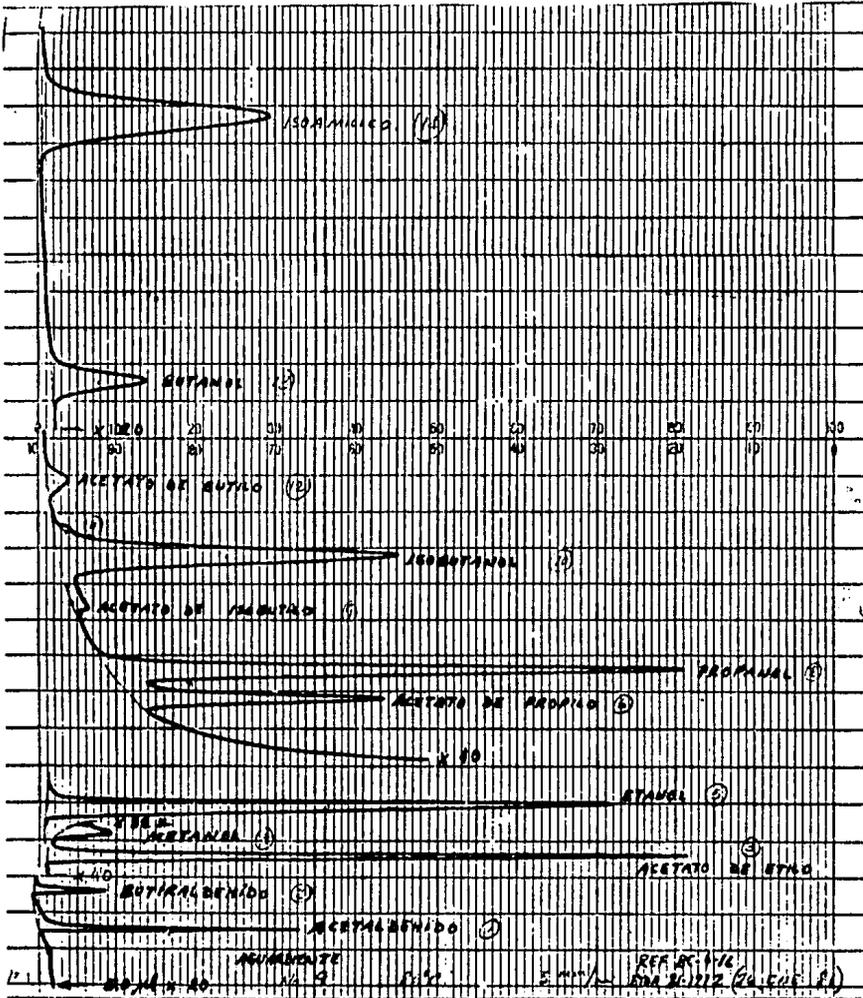
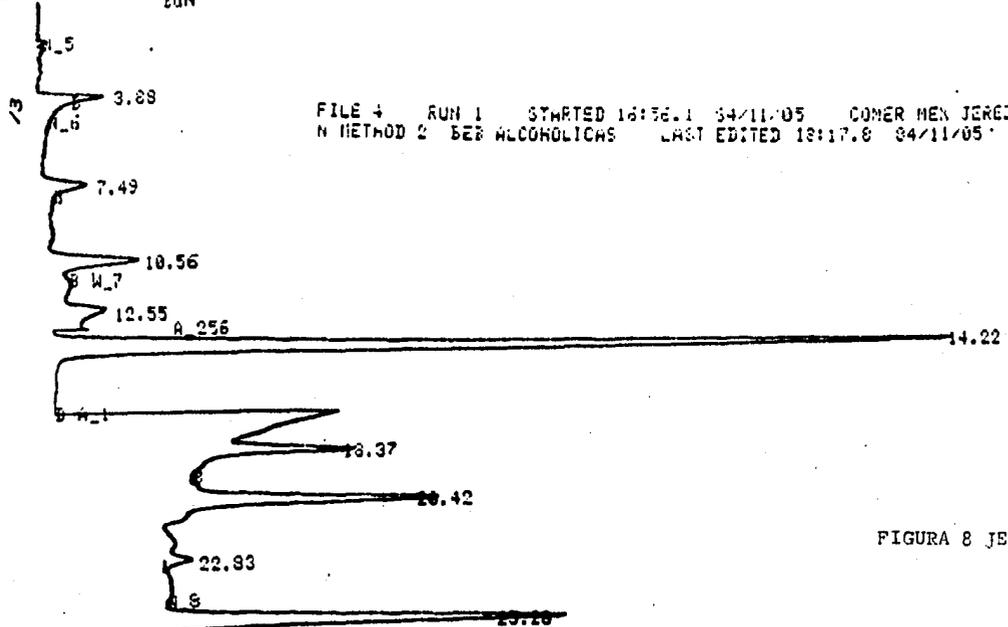


FIGURA 7 AGUARDIENTE

W_4 W_1 C_4 0.5 BGN



FILE 4 RUN 1 STARTED 16:56.1 04/11/05 COMER MEN JEREZ
 N METHOD 2 BEB ALCOHOLICAS LAST EDITED 18:17.8 04/11/05

FIGURA 8 JEREZ

RT	AREA	EC	RRT	PF	AREA PERCENT	NAME
3.88	6382		0.273	2.500000e+00	0.0130	ACETALDEHIDO
7.49	9032		0.527	5.000000e+00	0.0368	ACETATO METILO
10.56	20833		0.743	2.631600e+00	0.0447	ACETATO ETILO
12.55	8889	U	0.882	4.347000e+00	0.0315	METANOL
14.22	56220552		1.000	2.173000e+00	99.5816	ETANOL
18.37	22163		1.292	1.666000e+00	0.0301	PROPANOL
20.42	68456	U	1.436	1.470000e+00	0.0820	ISOBUTANOL
22.83	4307	U	1.605	1.515000e+00	0.0053	BUTANOL
25.28	99869		1.777	1.428000e+00	0.1162	ISOAMILICO
29.02	10778		2.040	1.408000e+00	0.0124	ANILICO
34.93	37014		2.455	1.538000e+00	0.0464	ISOBUTANOL (PRO)

50

W_4 A_1 C_5 0_5 BGN AZ_ON

FILE 4 RUN 1 STARTED 13:57.9 1/10/19 RON AURRERA
METHOD 2 BEB. ALCOHOLICS LAST EDITED 14:45.3 64/10/19

14

14.5

acetaldelido 0.0038%

14.6

FIGURA 9 RON

W_7

10.82 acetato de etilo 0.0179%

metanol 0.00037%

14.78

etanol 99.6734%

18.64

propenal 0.0325%

20.65 isobutanol 0.0564%

23.06

butanol 0.0027%

23.57

isomilico 0.2087%

35.60

isobutanol 0.0039%

RT	AREA	AREA PERCENT
10.82	25096	0.0148
14.78	168291824	99.5328
18.64	71499	0.0423
20.65	140806	0.0833
23.06	6682	0.0040
23.57	536479	0.3173
35.60	9434	0.0056

4.5

4.6

acetato de etilo 0.00302%

FILE 5 RUN 2 STARTED 13:00.2 34/10/10
N METHOD 3 BRANDY MARCA FRE LAST EDITED 18:59.1 84/10/18

10.20 *acetato de etilo 0.0227%*
11.19 *metanol 0.0776%*

11.98 *etanol 99.603%*

13.55 *acetato de propilo 0.0354%*
13.95 *propanol 0.0577%*
15.10 *isobutanol 0.048%*

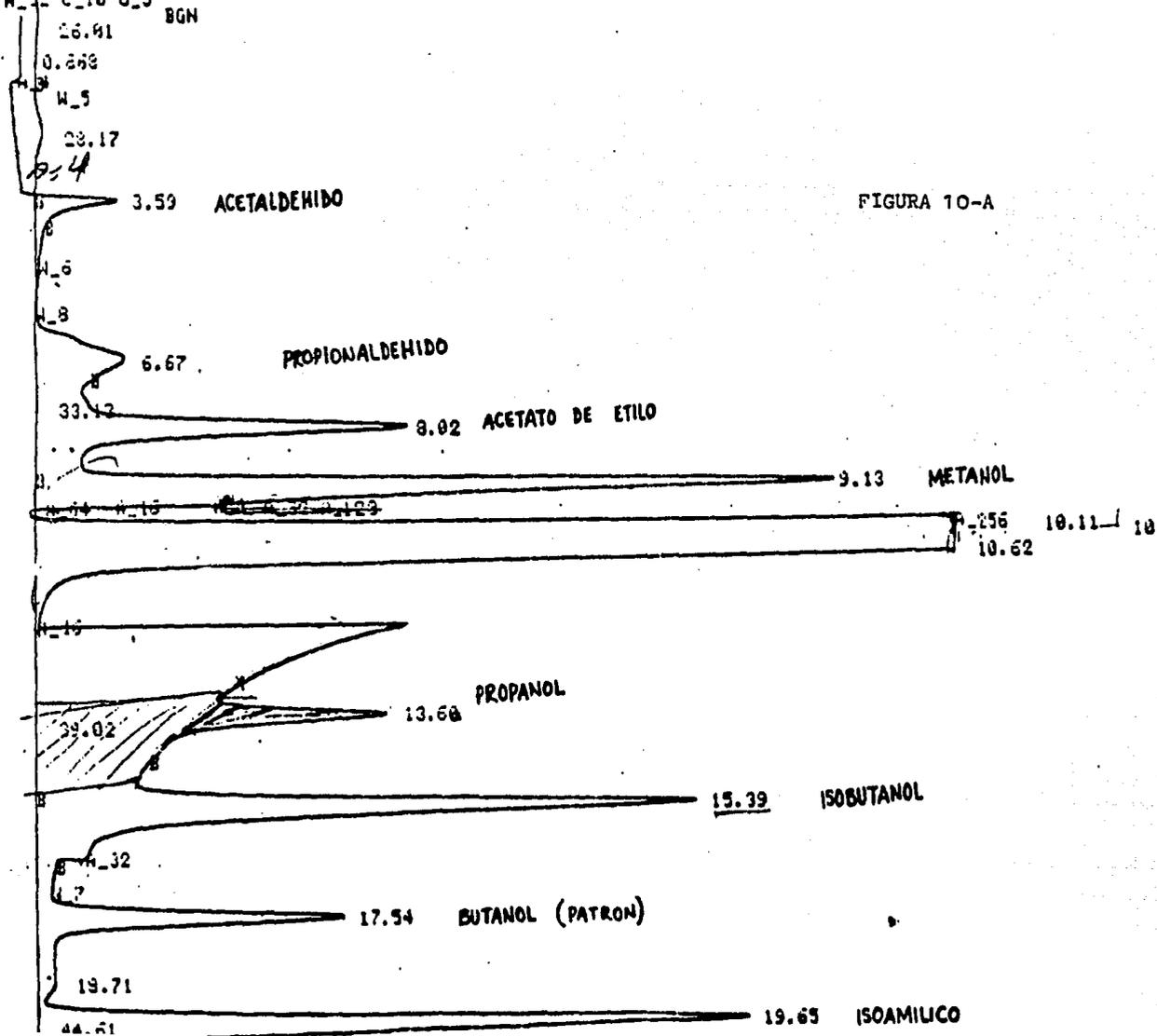
FIGURA 10 BRANDY

0.0000% *acetato de butilo*
17.14 *butanol 0.0014%*
18.22 *0.0000%*

19.55 *isomilico 0.1458%*

RT	AREA	BC	RT	RF	AREA PERCENT	NAME
10.20	26587		0.851	2.630000e+00	0.0227	ACETATO DE ETILO
11.19	54959	T	0.934	4.347000e+00	0.0776	METANOL
11.98	141150560	T	1.000	2.174000e+00	99.6170	ETANOL
13.55	54542	T	1.131	2.000000e+00	0.0354	AC. PROPILO
13.95	106207		1.164	1.667000e+00	0.0575	PROPANOL
15.10	78206	U	1.260	1.470000e+00	0.0373	ISOBUTANOL
17.14	2845	U	1.430	1.515000e+00	0.0014	BUTANOL
18.22	2564	U	1.521	1.000000e+00	0.0000	
19.55	316485		1.631	1.428000e+00	0.1467	ISOMILICO
29.39	8190		2.452	1.350000e+00	0.0036	HEXANOL

isobutanol 0.004%



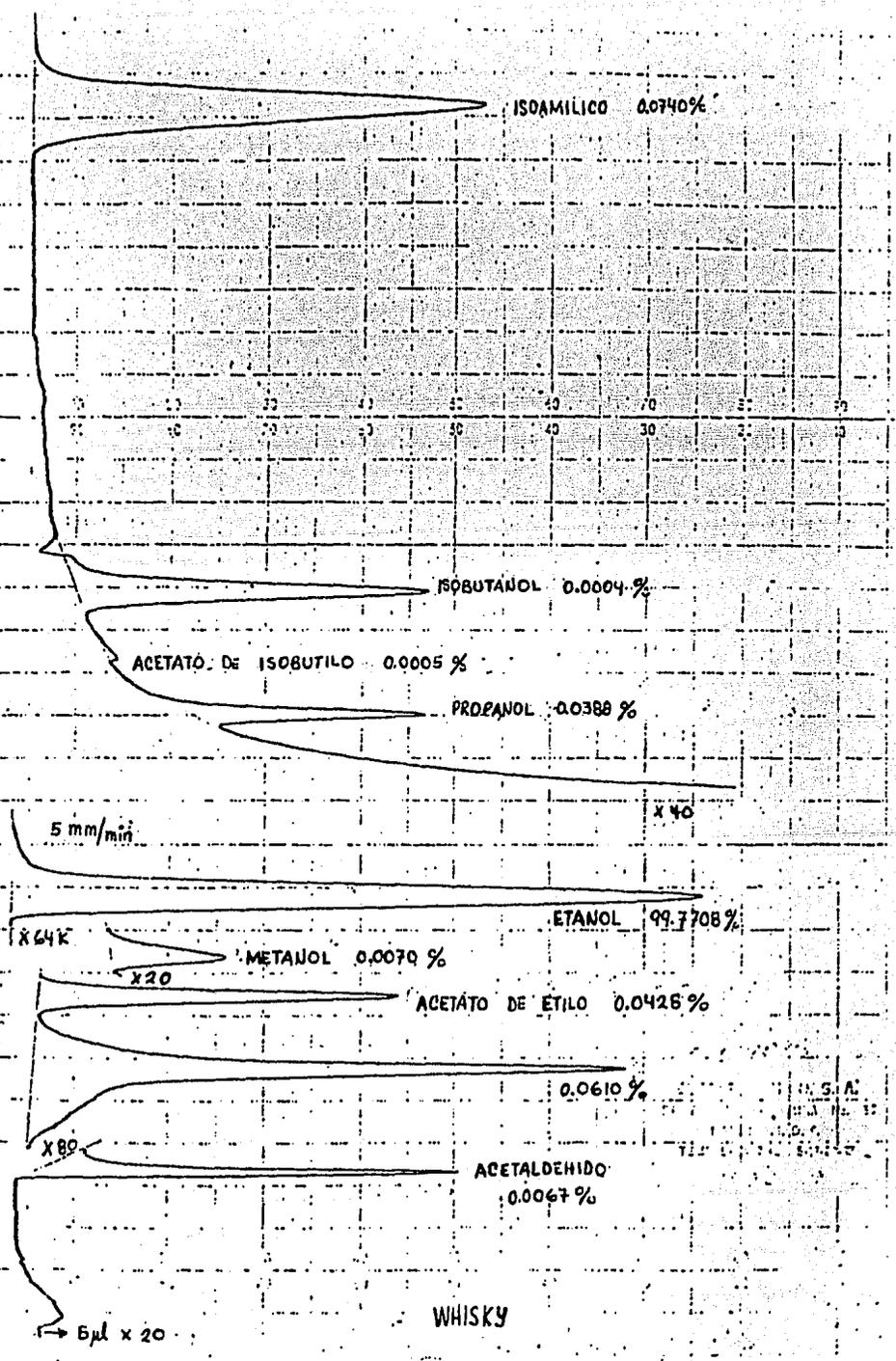
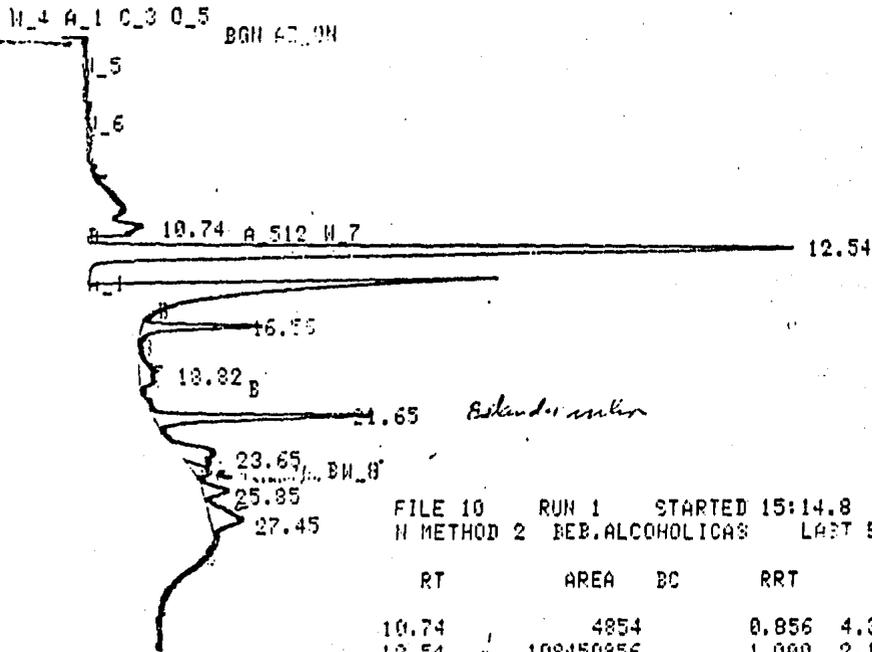


FIGURA 10-B WHISKY

FILE 10 RUN 1 STARTED 15:14.8 85/05/15 VODKA LM
 N METHOD 2 BEB.ALCOHOLICAS LAST EDITED 11:21.1 85/05/15



FILE 10 RUN 1 STARTED 15:14.8 85/05/15 VODKA LM
 N METHOD 2 BEB.ALCOHOLICAS LAST EDITED 11:21.1 85/05/15

RT	AREA	BC	RRT	RF	AREA PERCENT	NAME
10.74	4854		0.856	4.347800e+00	0.0089	METANOL
12.54	108450856		1.000	2.173900e+00	99.9484	ETANOL
15.56	18673		1.320	1.666700e+00	0.0132	PROPANOL
18.82	6638		1.500	1.470600e+00	0.0041	ISOBUTANOL
21.65	39445 U		1.726	1.515100e+00	0.0253	BUTANOL
	12715		1.948	1.428600e+00		ISOAMILICO
	455		2.138	1.408400e+00		AMILICO

5 MATCHED COMPONENTS 99.96% OF TOTAL AREA
 3 UNKNOWN PEAKS > UNRET PK 0.04% OF TOTAL AREA
 8 PEAKS > AREA REJECT 100561032 TOTAL AREA

FIGURA 10-C VODKA

501B

TABLA # 1

PRUEBA #	% SACAROSA	% UVA	AREA RELATIVA		
			FRUCTOSA	GLUCOSA	SACAROSA
1	0	100	100	-	-
2	25	75	87.5	11.6	1
3	50	50	75	23	2
4	75	25	45	34.5	3.5
5	100	0	15	46	5

TABLA # 2

	% SACAROSA REAL	% SACAROSA OBTENIDO	% UVA REAL	% UVA OBTENIDO
1	40	42.4	60	57.6
2	20	19.6	80	80.4
3	20	20.2	80	79.8
4	10	10.1	90	89.9
5	0	0	100	100

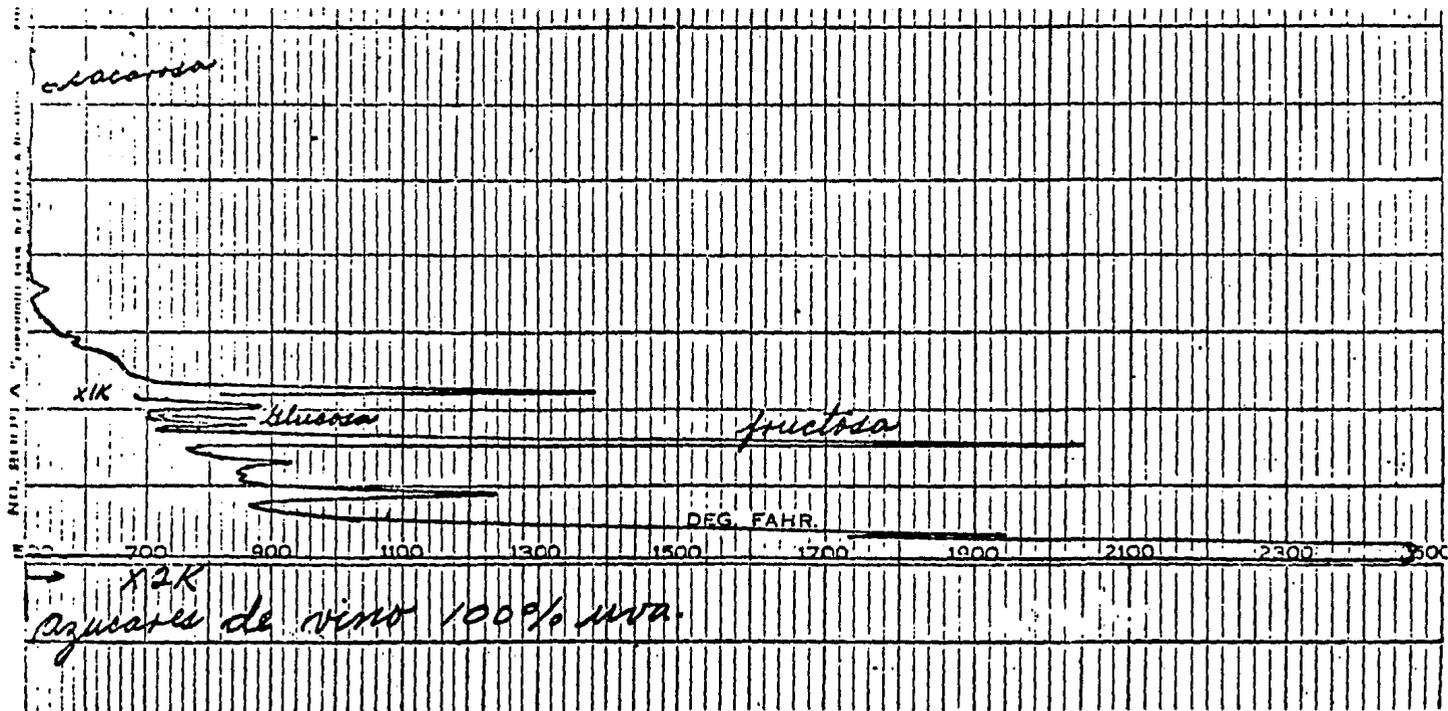


FIGURA 11

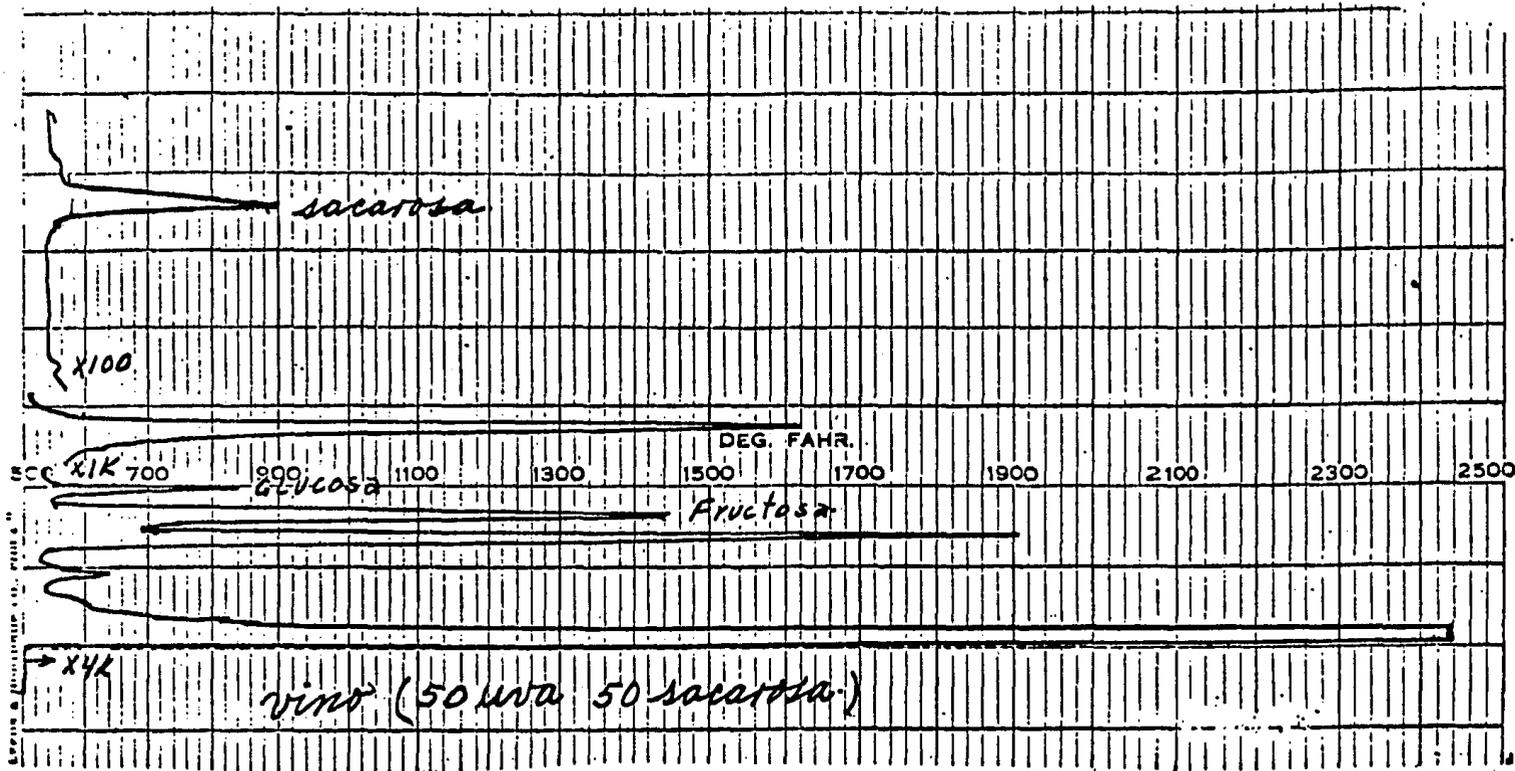


FIGURA 12

NO. 20015-A

50

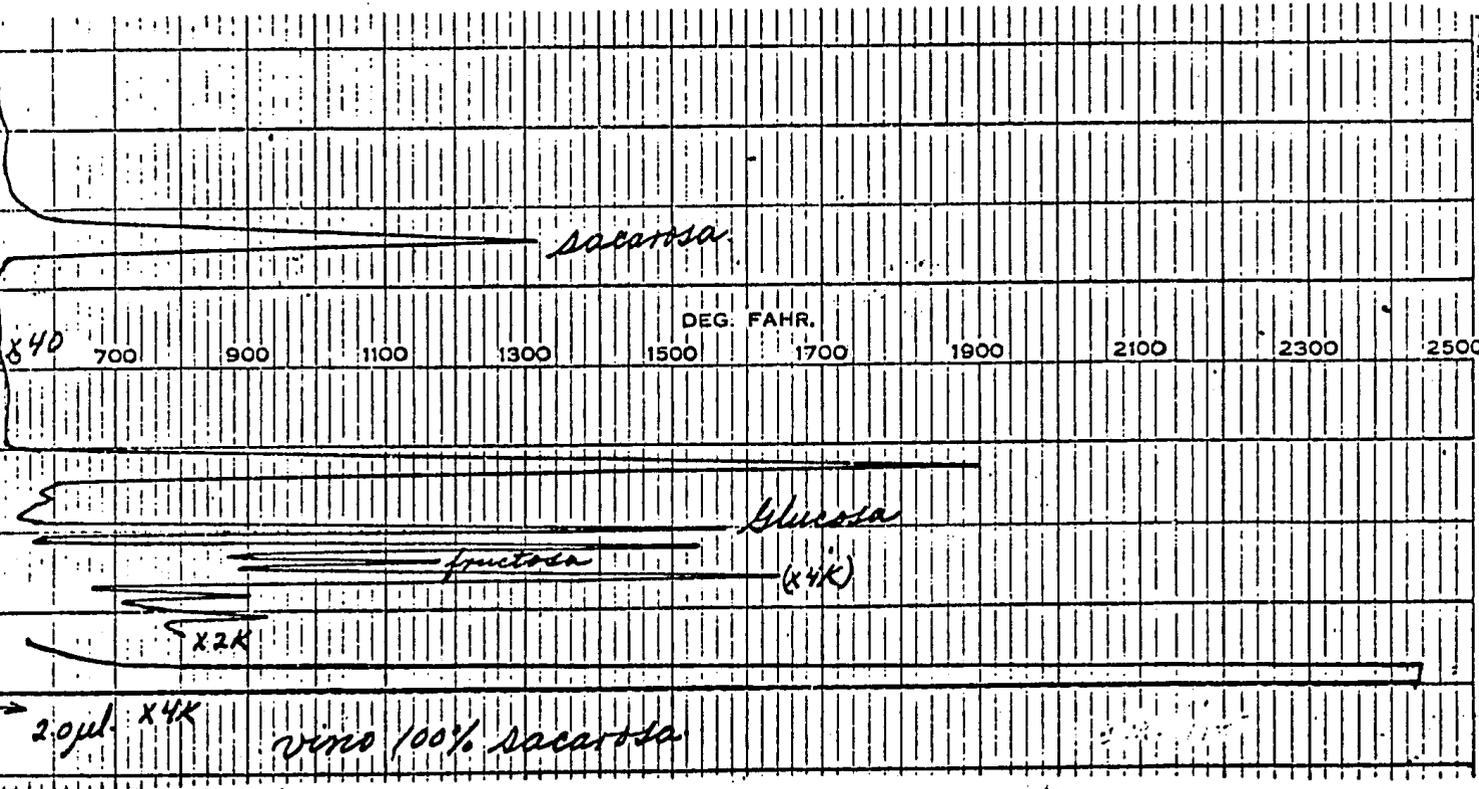


FIGURA 13

TABLA # 3

	Xilosa	Glucosa	Fructosa	Sacarosa	Arabinosa	Ramnosa
Ron Añejo 1	-	+	+	trazas	-	-
Licor de Naranja	-	+	+	+	-	-
Vino S. T.	+	+	+	trazas	-	-
Ron C. O.	-	+	+	trazas	-	-
Ron D. Q.	-	+	+	trazas	trazas	trazas
Ron V. Z	+	+	+	+	-	-
Ron M.	-	+	+	-	-	-
Brandy-1	+	+	+	-	+	+
Brandy-2	+	+	+	-	+	+

NOTA: La presencia de arabinosa y ramnosa en los brandies, puede ser indicativo del tipo de barrica usada en su añejamiento.

FIGURA 14

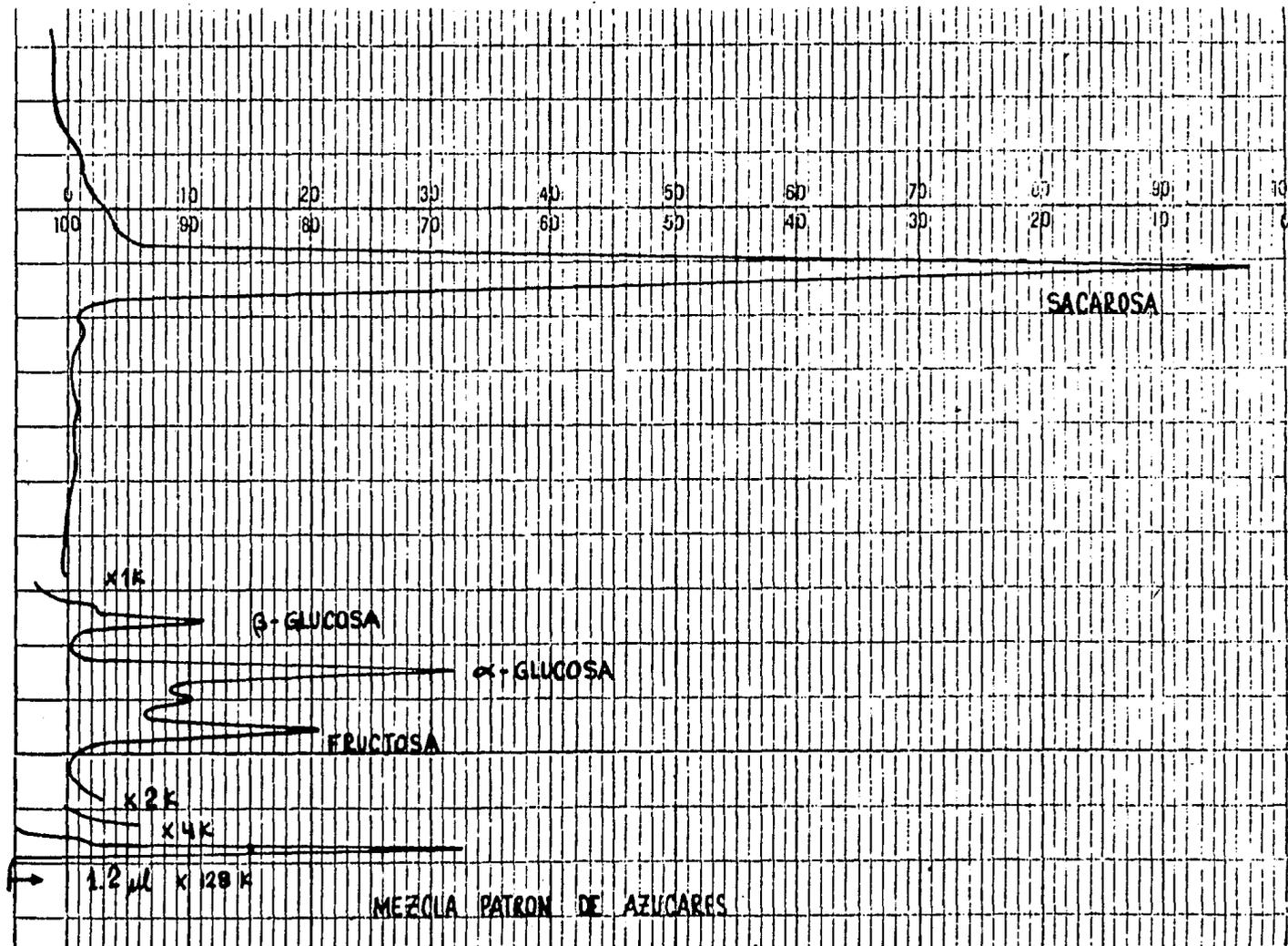
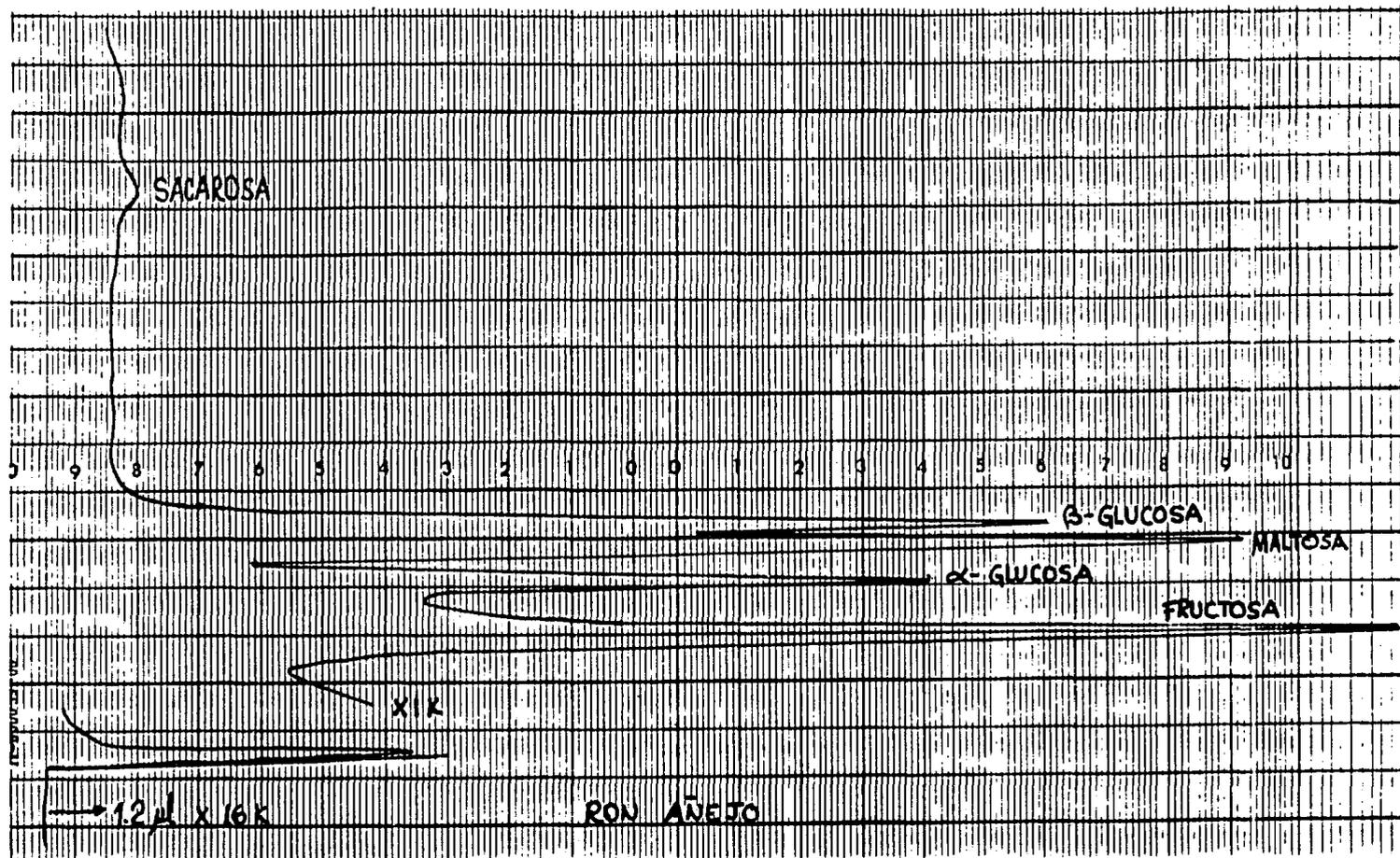


FIGURA 15



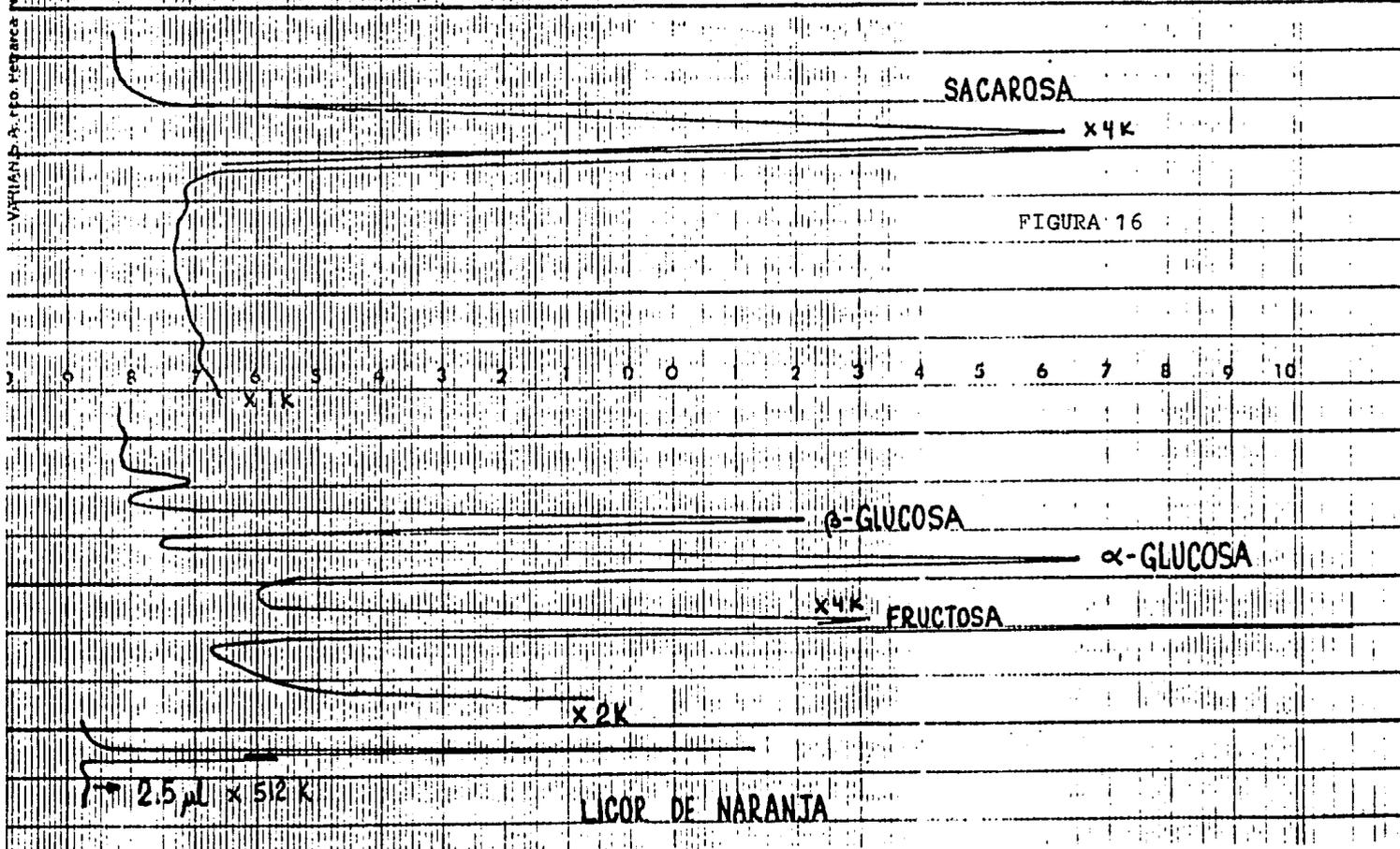


FIGURA 16

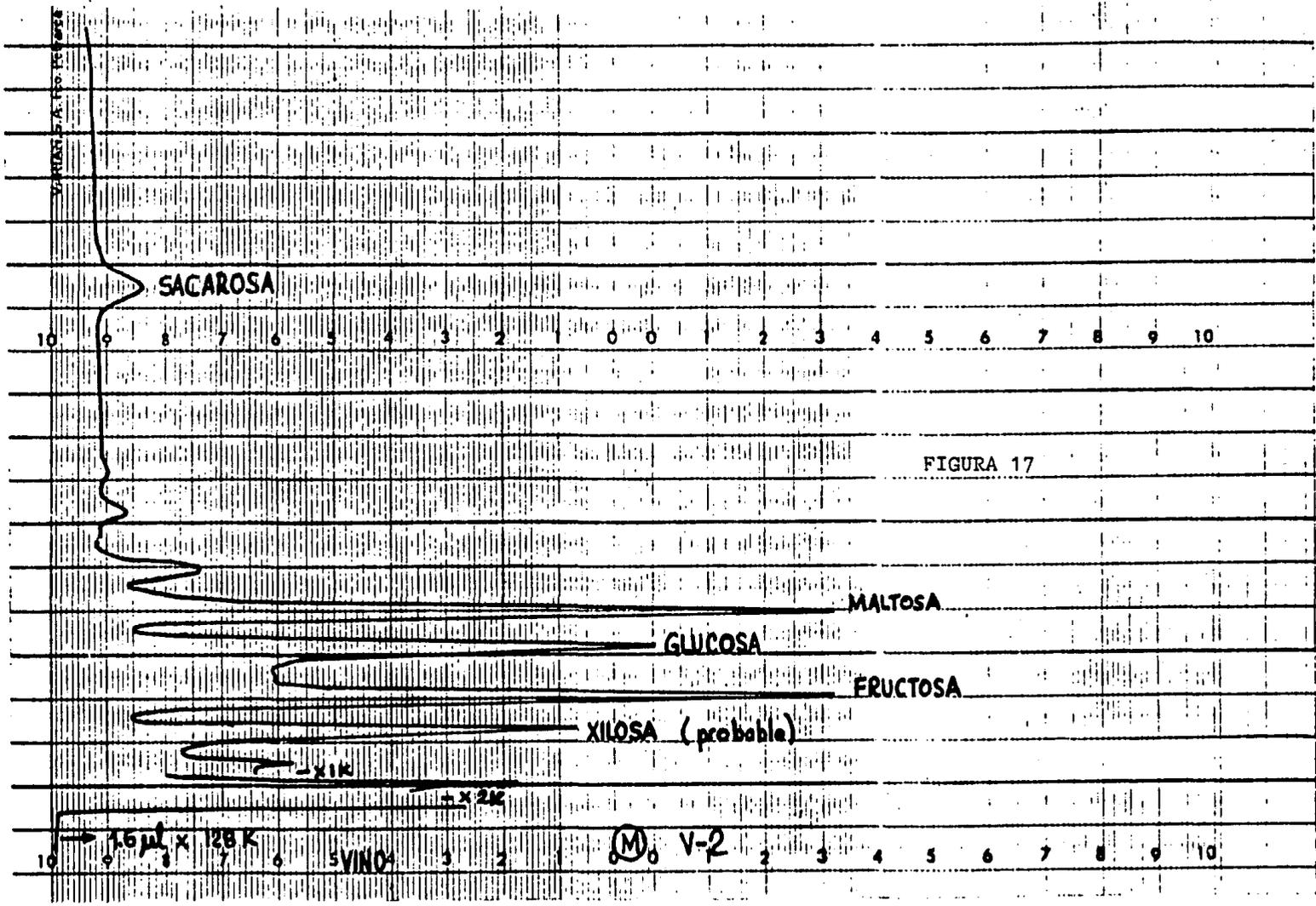


FIGURA 17

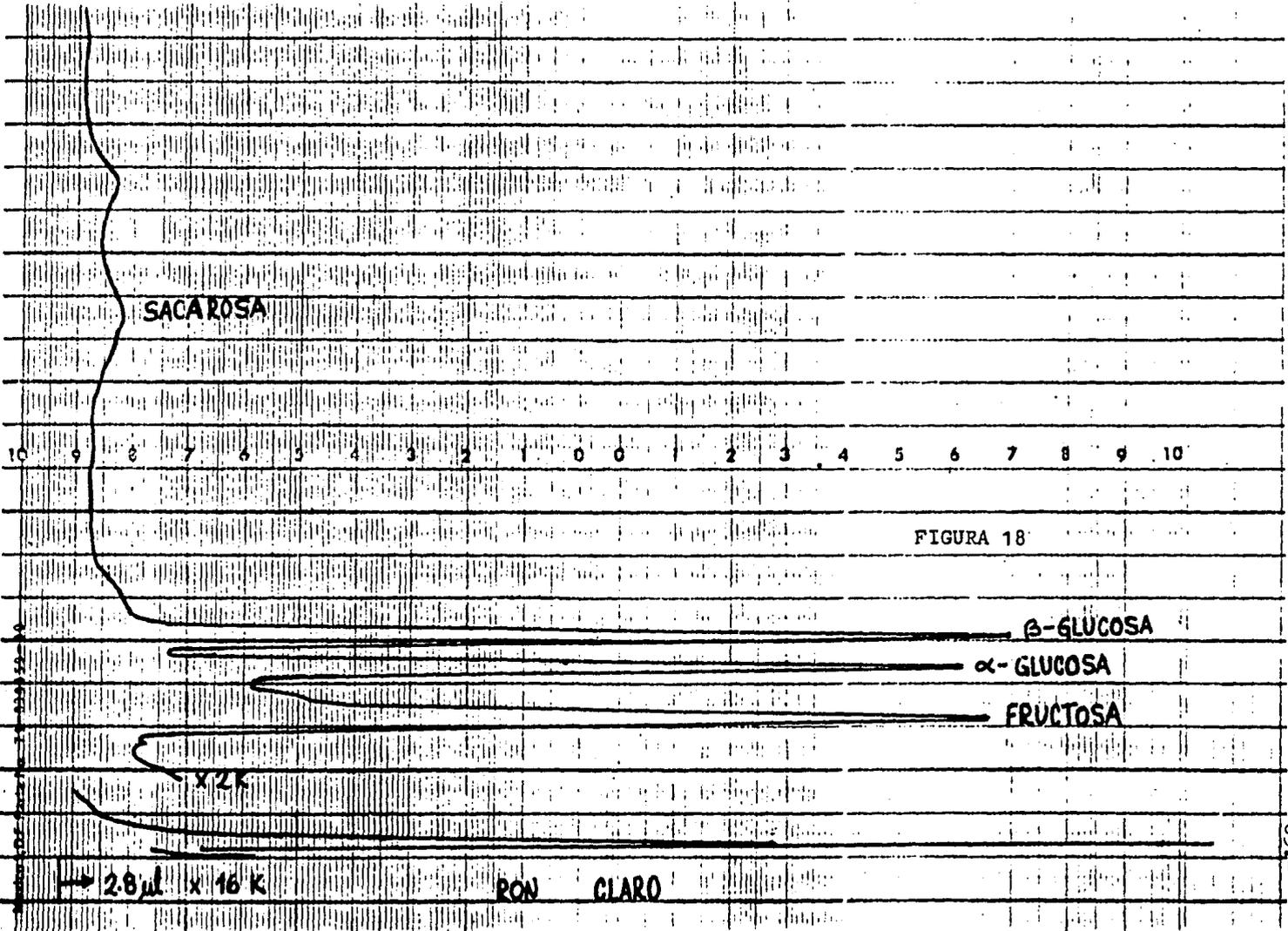


FIGURA 18

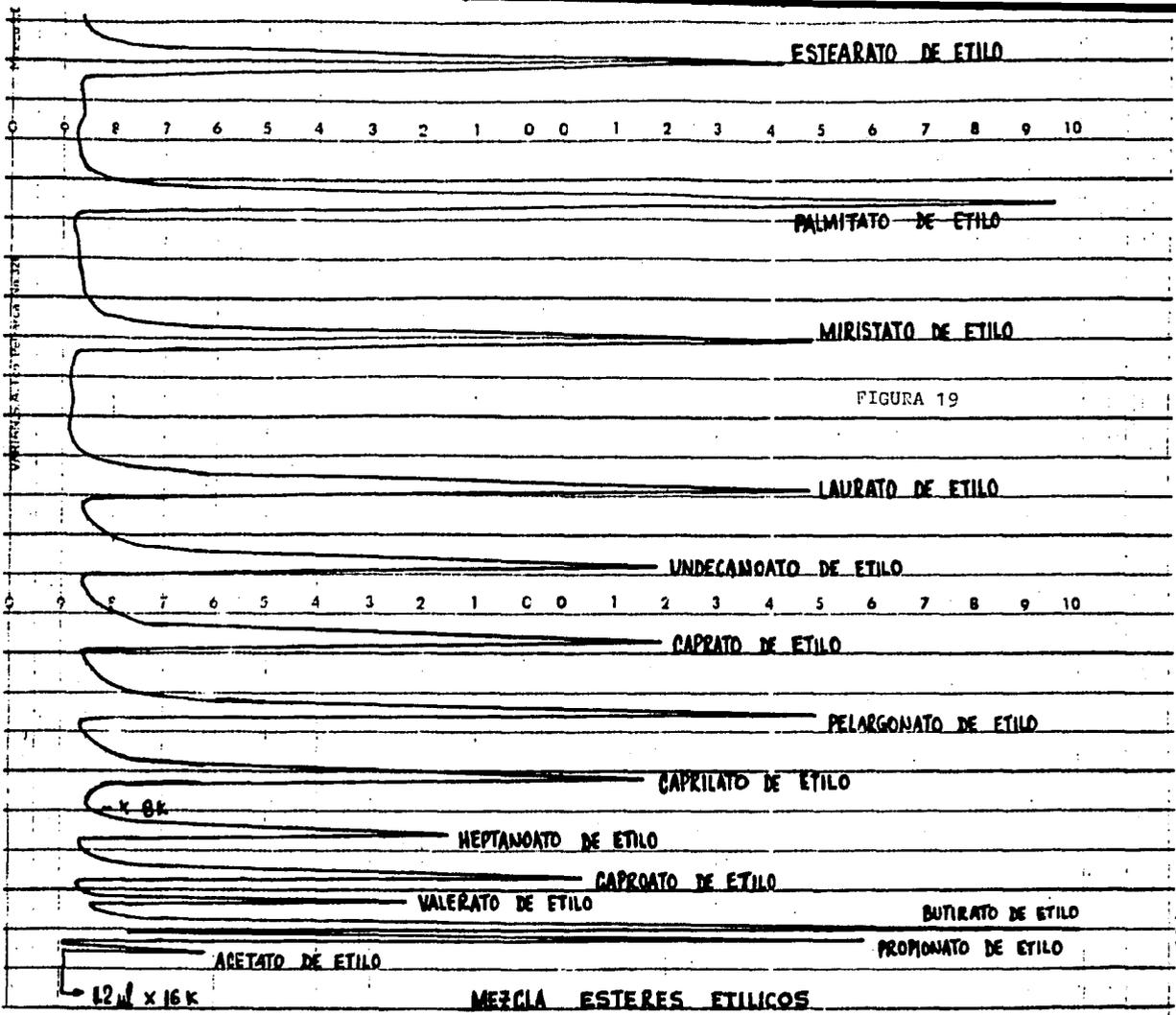
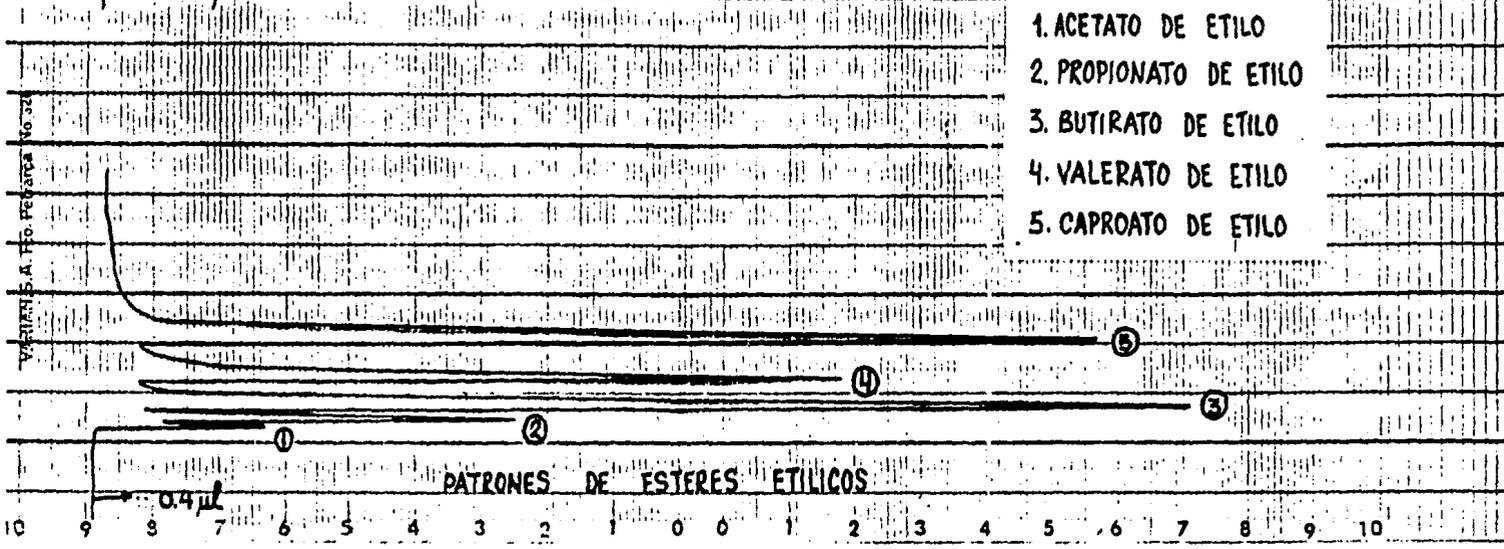
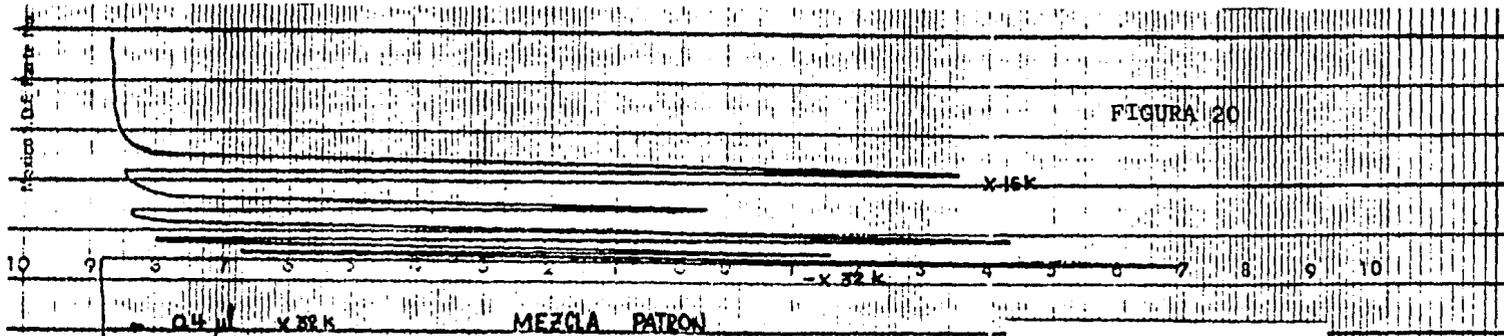


FIGURA 20



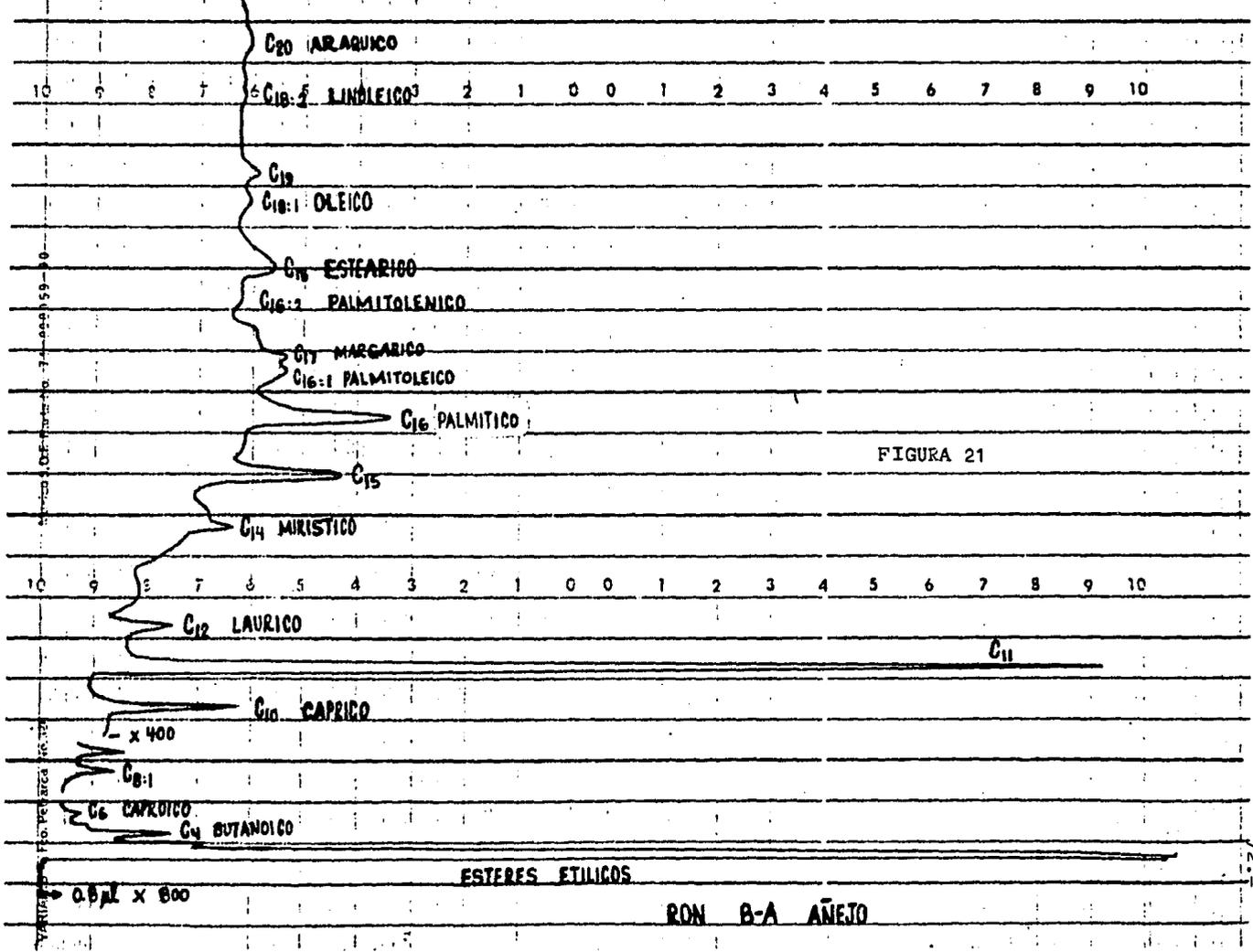


FIGURA 21

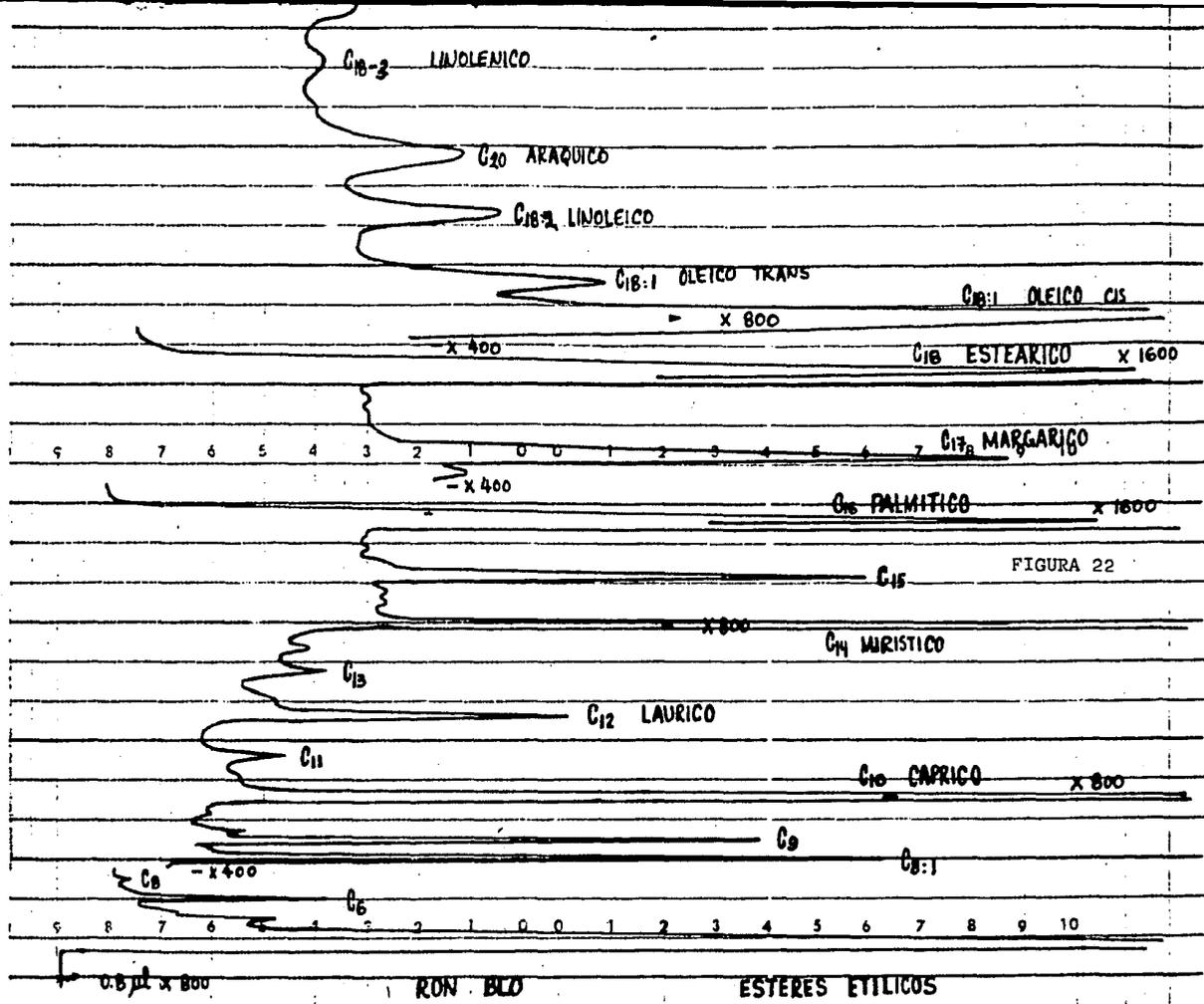


FIGURA 22

131

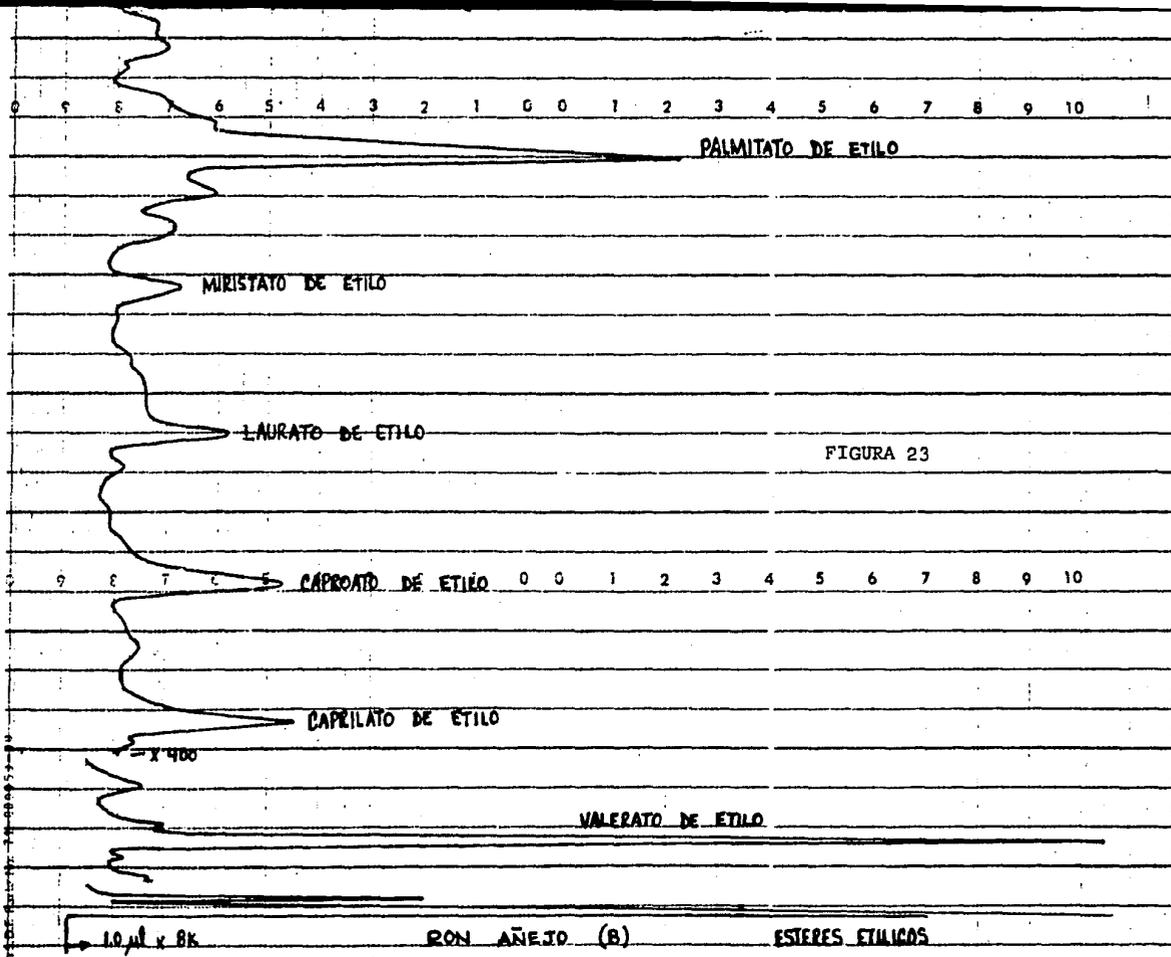


FIGURA 23

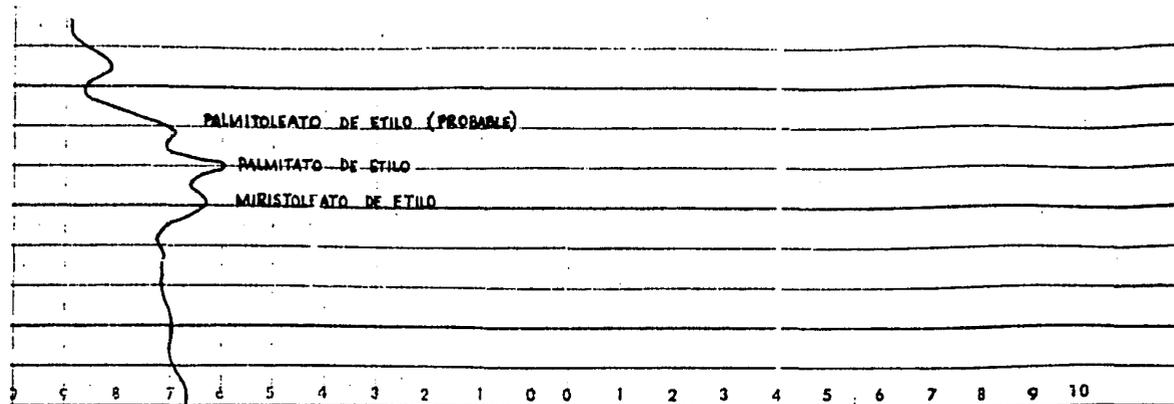
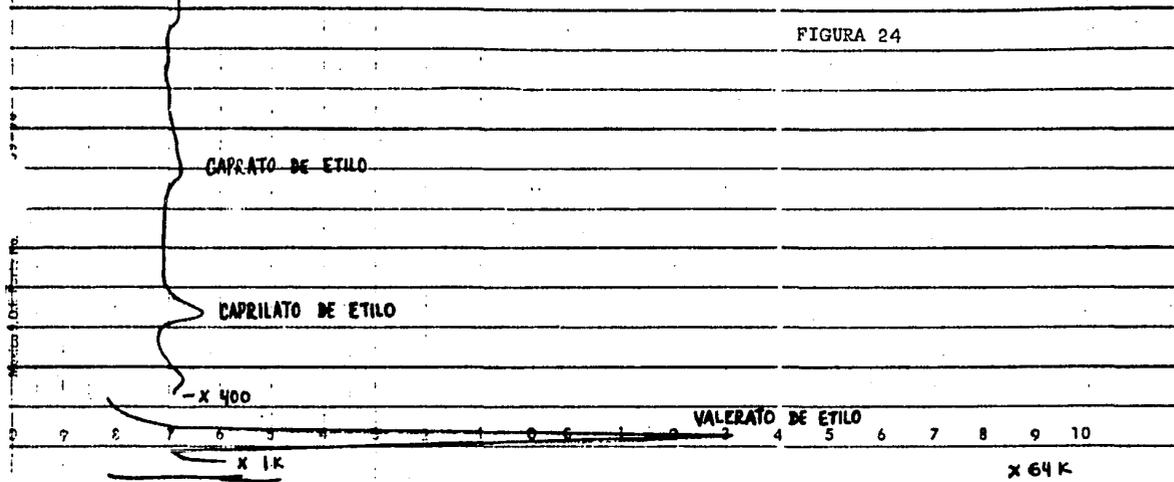


FIGURA 24



2.2 μ l x 8K
 RON SECO (B)
 EXTRACTO POR PENTANO

ESTERES ETILICOS

75-

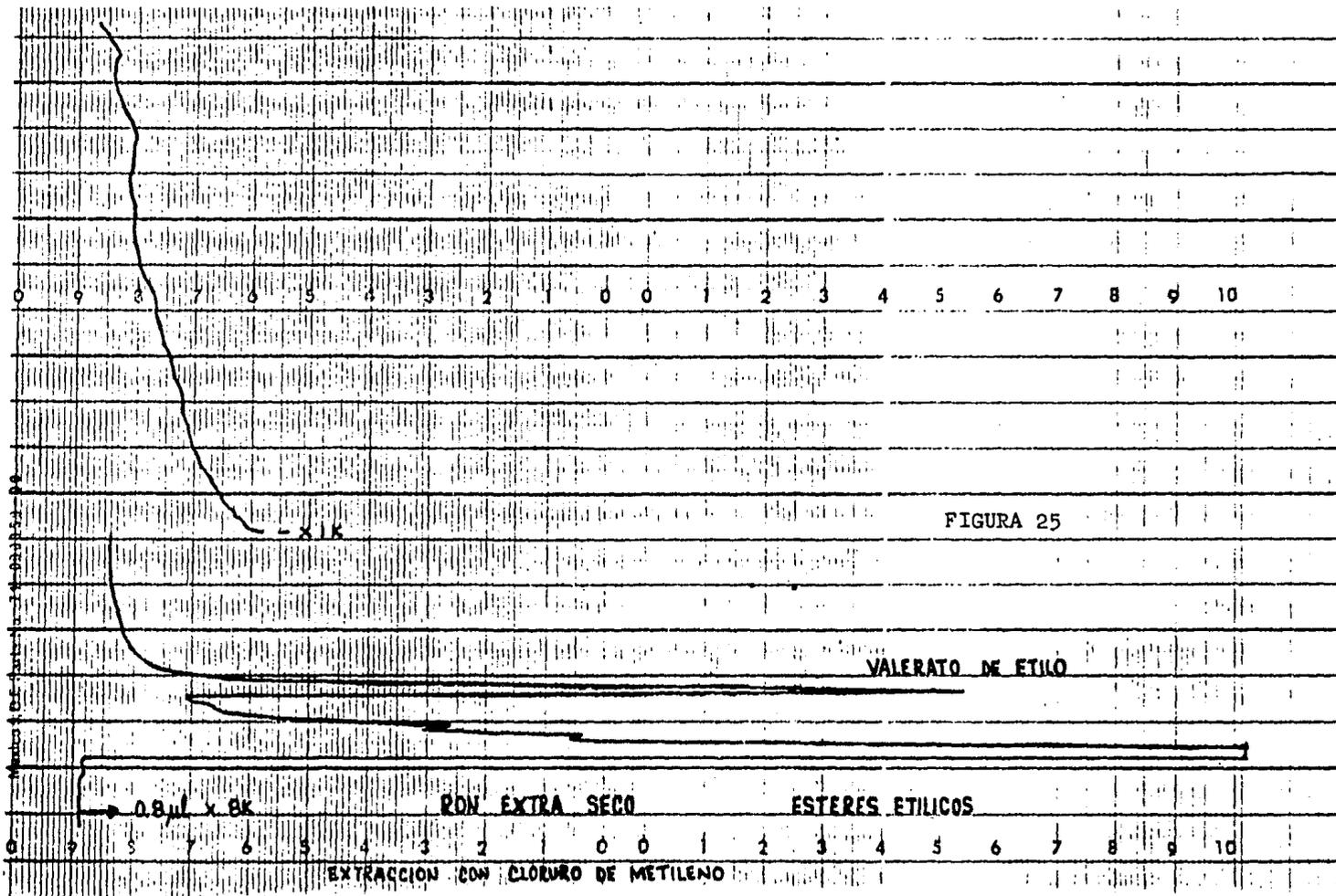


FIGURA 25

FIGURA 26

LINOLEICO

C_{18:2}

ESTEARICO

C₁₈

OLEICO

C_{18:1}

PALMITICO

C₁₆

MIRISTICO

C₁₄

LAURICO

C₁₂

CAPRICO

C₁₀

CAPRILICO

C₈

ESTERES METILICOS DE ACIDOS GRASOS.

REFERENCIA.

CONTIENESE DE GRACIA

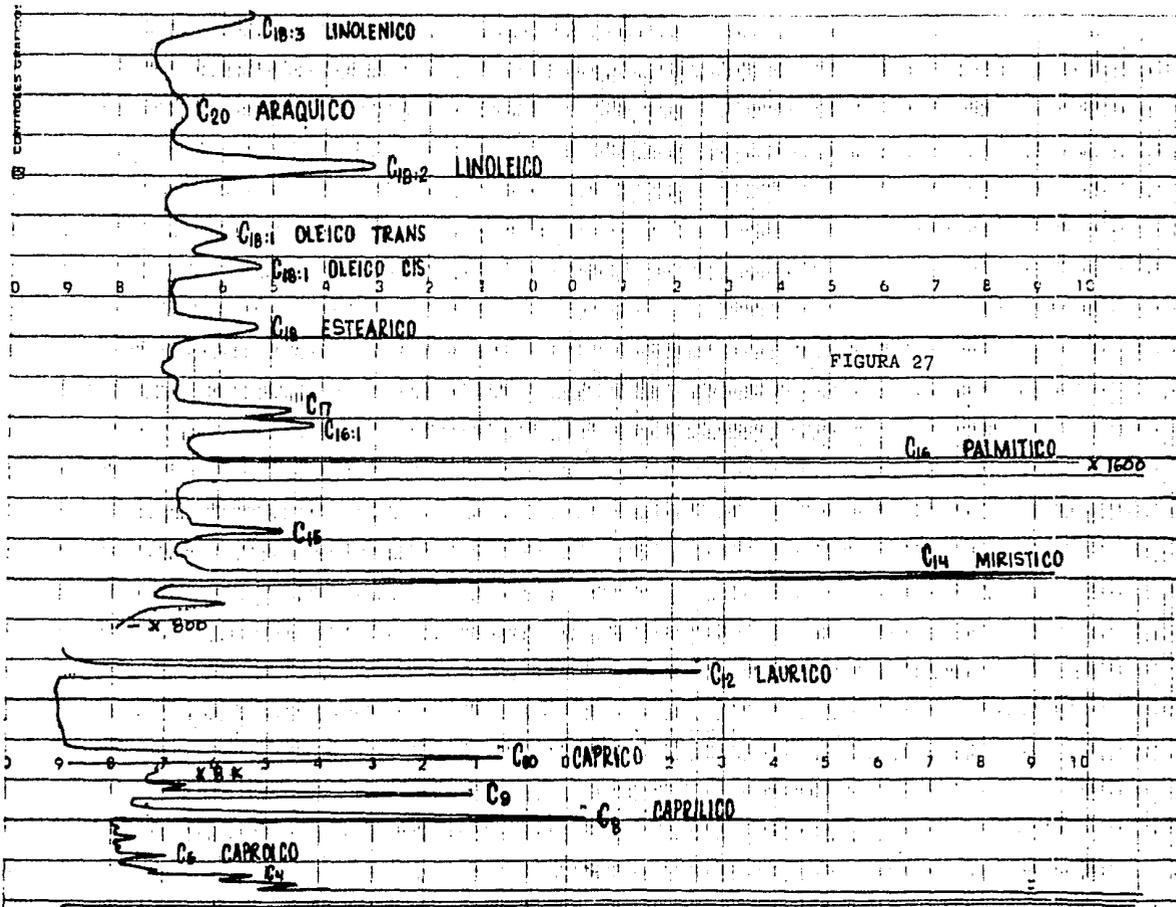


FIGURA 27

0.5 μl x 400

RON B BLANCO

ESTERES METILICOS

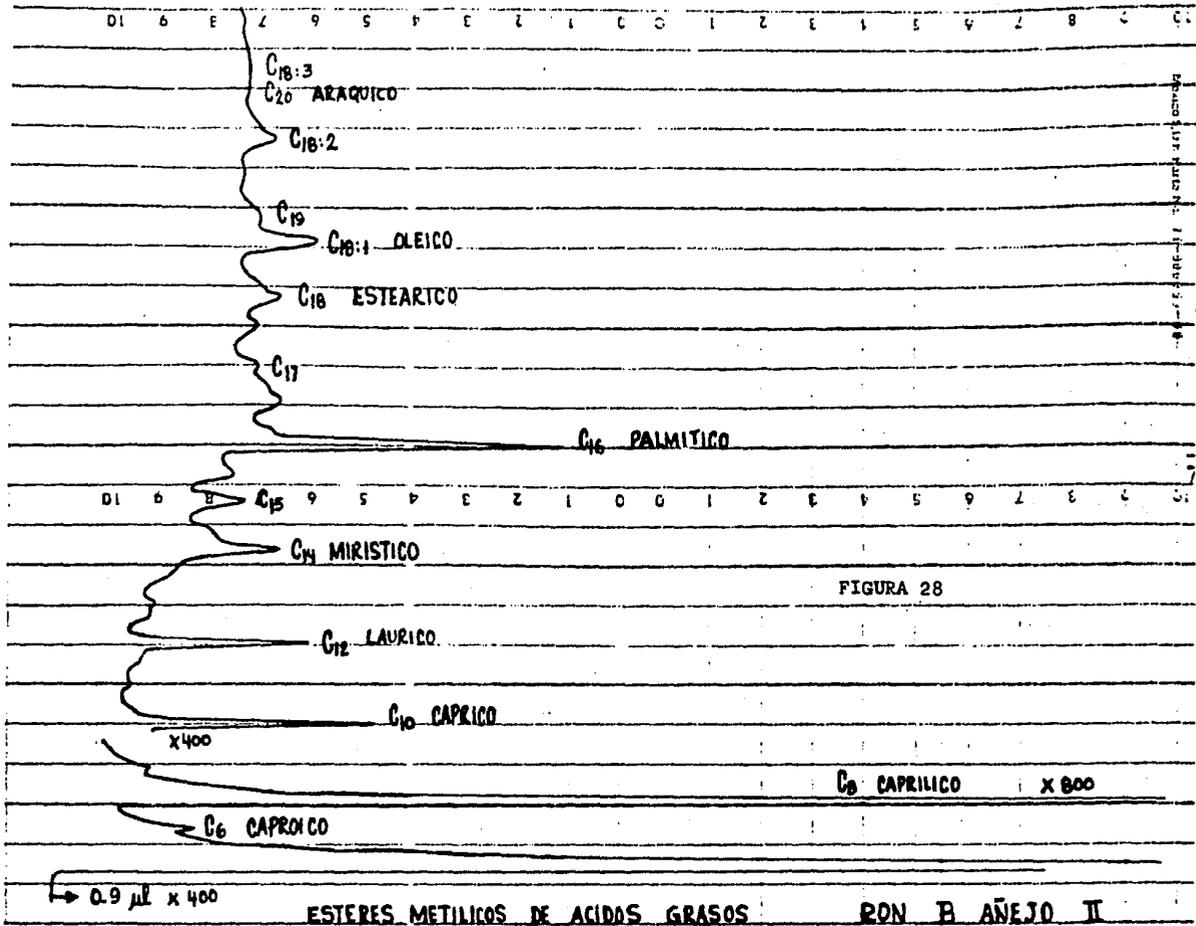


FIGURA 28

ESTERES METILICOS DE ACIDOS GRASOS RON B AÑEJO II

114
 113
 112
 111
 110
 109
 108
 107
 106
 105
 104
 103
 102
 101
 100
 99
 98
 97
 96
 95
 94
 93
 92
 91
 90
 89
 88
 87
 86
 85
 84
 83
 82
 81
 80
 79
 78
 77
 76
 75
 74
 73
 72
 71
 70
 69
 68
 67
 66
 65
 64
 63
 62
 61
 60
 59
 58
 57
 56
 55
 54
 53
 52
 51
 50
 49
 48
 47
 46
 45
 44
 43
 42
 41
 40
 39
 38
 37
 36
 35
 34
 33
 32
 31
 30
 29
 28
 27
 26
 25
 24
 23
 22
 21
 20
 19
 18
 17
 16
 15
 14
 13
 12
 11
 10
 9
 8
 7
 6
 5
 4
 3
 2
 1
 0
 1
 2
 3
 4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28
 29
 30
 31
 32
 33
 34
 35
 36
 37
 38
 39
 40
 41
 42
 43
 44
 45
 46
 47
 48
 49
 50
 51
 52
 53
 54
 55
 56
 57
 58
 59
 60
 61
 62
 63
 64
 65
 66
 67
 68
 69
 70
 71
 72
 73
 74
 75
 76
 77
 78
 79
 80
 81
 82
 83
 84
 85
 86
 87
 88
 89
 90
 91
 92
 93
 94
 95
 96
 97
 98
 99
 100

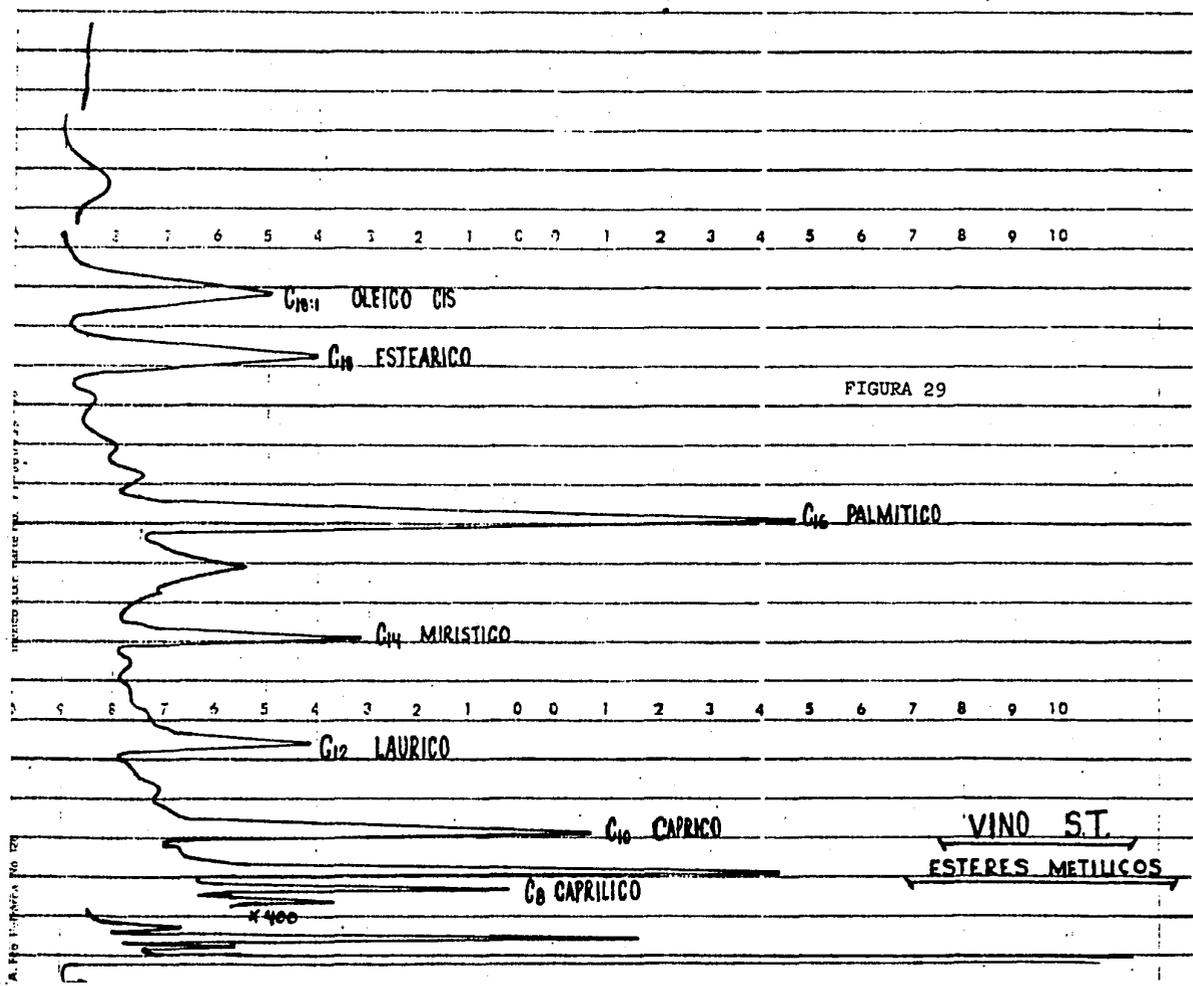


FIGURA 29

A. 820 P. PAVIA No 127

-08

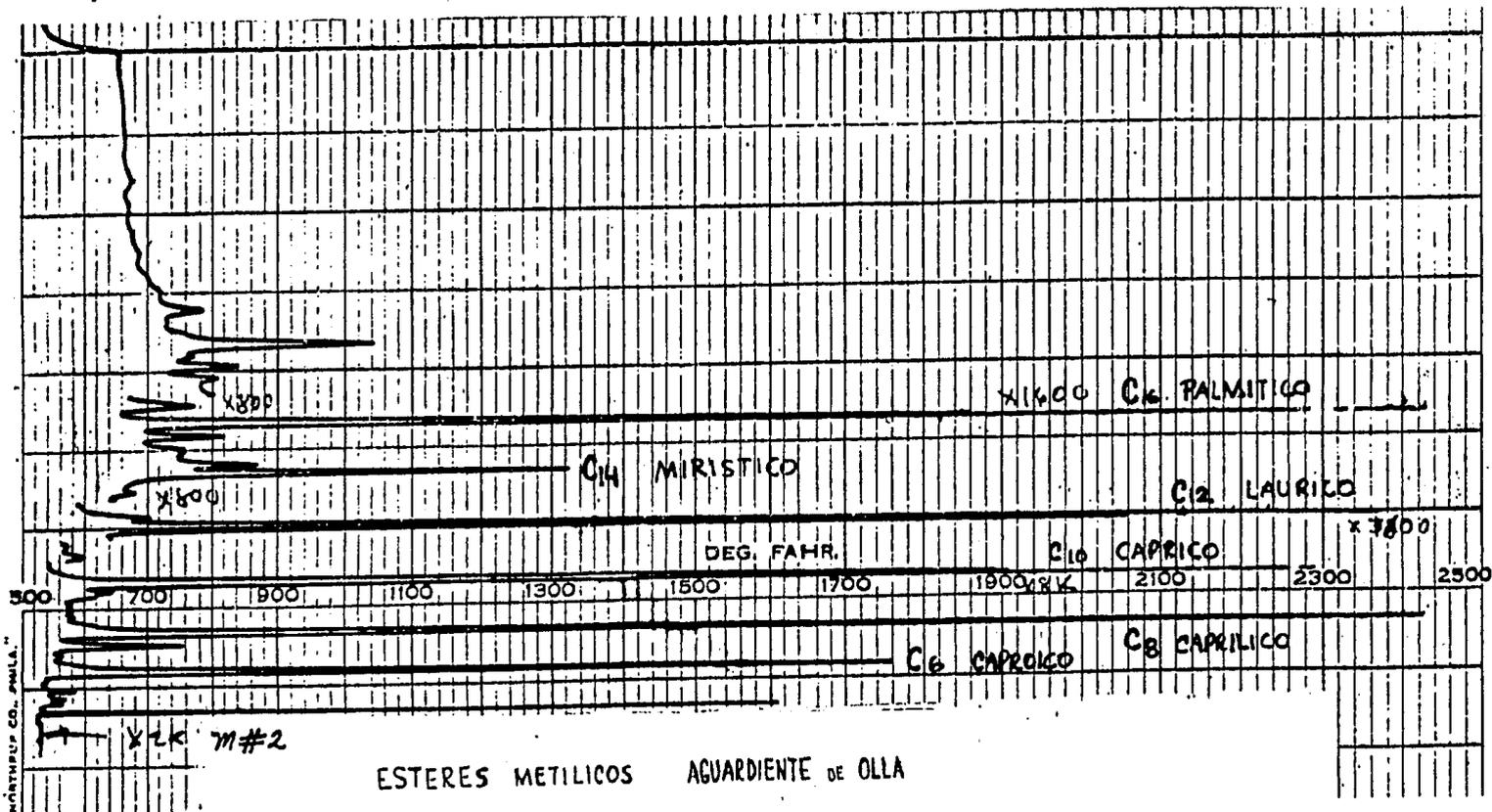
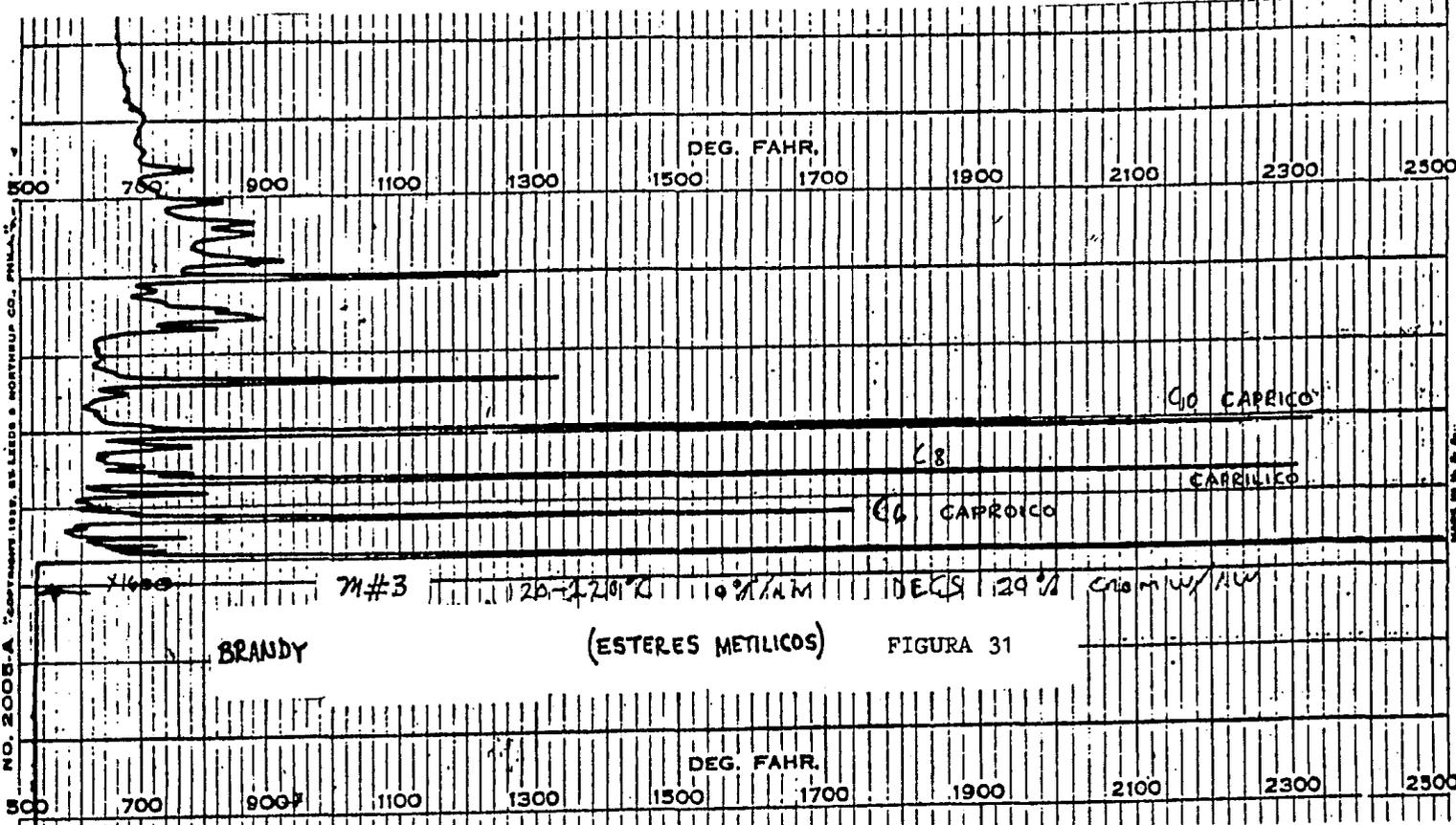


FIGURA 30

NO. 2008-A LABORATORY 1037, ST. LEON & MORTENSON CO., PHILA., PA.



BRANDY

(ESTERES METILICOS)

FIGURA 31

C10 CAPRICO

C16 CAPROICO

CARRILICO

DEG. FAHR.

C A P I T U L O V I I

CONCLUSIONES

DETERMINACION DEL GRADO ALCOHOLICO.

Ambos métodos resultan ser sencillos y rápidos - para controlar la producción de bebidas alcohólicas. - Prácticamente, la determinación del grado alcohólico - por Conductividad Térmica tendría ligera ventaja en el sentido de que las inyecciones no deben ser repetitivas sino solamente que la relación se conserve.

ANALISIS DE COMPONENTES VOLATILES Y SU COMPARACION CON DATOS OBTENIDOS POR LAS NORMAS OFICIALES MEXICANAS.

Un análisis de los volátiles puede ser una ayuda para la uniformidad del producto en caso de mezclado, - así como también es de gran utilidad para identificar - cada uno de los componentes de las diferentes bebidas - alcohólicas. La cuantificación del cromatograma de los volátiles nos da idea, en unos cuantos minutos, de cómo va el proceso de elaboración.

Viendo la necesidad de aplicar una técnica moderna para el análisis de bebidas alcohólicas (y que sea - reconocida oficialmente) con el fin de simplificar las actuales, la Cromatografía de Gases resulta ser la más adecuada.

ANALISIS DE AZUCARES PARA LA CARACTERIZACION DE VINOS.

En la tabla 1 se puede apreciar la utilidad de esta técnica ya que en muestras desconocidas se pueden interpolar los resultados y que el tipo de azúcares obtenidos en cada bebida (tabla 3) dan fe de su origen, - así por ejemplo, la presencia de ramnosa nos indica el añejamiento de los brandies en barricas de encino y la de xilosa indica lo mismo en rones aunque también se - presenta en brandies.

ANALISIS DE ESTERES ETILICOS Y ACIDOS GRASOS.

Ambos análisis permiten la caracterización de be bidas alcohólicas por marcas, ya que la misma marca pre senta siempre los mismos componentes dando la impresión de que pudieron ser agregados con un fin determinado; - ya que no encontramos explicación lógica al fenómeno de las grandes diferencias entre una marca y otra, y las - grandes semejanzas entre lotes diferentes de una misma marca.

ANALISIS DE AMINOACIDOS.

En este aspecto consideramos que el conocimiento de la composición relativa en aminoácidos de diferentes bebidas nos da información interesante que debe ser estudiada con mayor intensidad y que debe ser tema de - -

otro trabajo de investigar el estudio de un universo ma
yor de muestras para obtener conclusiones y datos más -
indicativos.

Haciendo uso de las técnicas aquí descritas se -
puede obtener interesante información respecto al ori--
gen del producto, autenticidad, influencia de los compo
nentes en el sabor, aroma, materia prima empleada en la
fermentación, proceso industrial y añejamiento.

C A P I T U L O V I I I

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Artículos Especiales. "El tequila: su Historia y - su futuro". Almanaque Mundial 1982. Diccionario - Geográfico. Enciclopedia de datos útiles y conoci- mientos prácticos.
- 2.- Rose, A.H. Alcoholic Beverages. Economic Microbio- logy. Vol. 1. Academic Press, N.Y. 1977.
- 3.- Frazier, W. C. Food Microbiology. Mc. Graw-Hill - Book Company. Second Edition 1967.
- 4.- El Vino. Revista de Geografía Universal. 3A Editores, S.A. México.
- 5.- Braverman, J.B.S. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos 3a. Ed. Ediciones Omega S.A. Barcelo- na 1980.
- 6.- E.E. Arciniega, G. Espinosa, F. Pérez P. Caracteri- zación de Bebidas Alcohólicas por Cromatografía de Gases; Determinación de aminoácidos, azúcares, áci- dos orgánicos, ácidos grasos, ésteres etílicos y - compuestos volátiles ligeros. Revista de la Socie- dad química de México. Vol. 20 No. 3 Mayo-Junio - 1976.

- 7.- A. Manjarrez y M. Llama. Cuantificación de los Compuestos Volátiles en Tequilas y Mezclas por Cromatografía en Fase de Vapor. Contribución No. 261 del Instituto de Química de la UNAM. Química Analítica. Enero, 1969.
- 8.- A. Manjarrez y M. García. Análisis de Compuestos Volátiles de Ronas Mexicanos. Contribución No. 222 del Instituto de Química de la UNAM. Boletín Instituto de Química, UNAM. México. 18, 27-33. (1966).
- 9.- Walter G. Jenning and Mehrzal Tilsoof. Comparison of Sample Preparation Techniques for Gas Chromatographic Analysis. J. Agric. Food Chem., Vol. 25 No. 3, 1977.
- 10.- AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Inc. 1980. Official Methods of Analysis (1975). 12th ed., AOAC. Washington, D.C. sec. 11.036-11.039.
- 11.- McNair and Bonelli, Basic Gas Chromatographic. E.J. Varian Aerograph, 5a. Edition, Berkster, - - Calif., 1969.
- 12.- Enciclopedia de Tecnología Química Kirk-Othmer. - México. UTEHA.
- 13.- Normas Bebidas Alcohólicas. Dirección General de Normas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. México.

- 14.- Análisis Económico de la Producción de Vino en -- 1980. Análisis 80. La Economía Mexicana. Editado - por Fondo de Equipamiento Industrial (FONEI). Pu-- blicaciones Ejecutivas de México, S.A. 1981.
- 15.- Manufactura y evaluación de calidad de vinos de - uva. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Ser- vicio de Información Técnica.
- 16.- De caña, de agave, de uva y de grano. Informe Espe- cial. Expansión. Mayo 29, 1974.
- 17.- Industria Vitivinícola. Escenarios Económicos de - México. Perspectivas de Desarrollo para Ramas Se-- leccionadas, 1981-1985. SPP. Subsecretaría de Pro- gramación. Dirección de Análisis de Ramas Económi- cas. México, D.F. Nov. 1981.
- 18.- Peter Schreier, Friedrich Drawert y Friedrich Win- kler. Composition of Neutral Volatile Constituents in Grape Brandies. J. Agric. Food Chem., Vol. 27,- No. 2, 1979. pág. 365.
- 19.- W. O. Kwan and B.R. Kowalski. Classification of - wines by applying pattern recognition to chemical composition data. Journal of Food Science. Vol. 43 (1978).
- 20.- Reproducibility of Headspace Analysis of Wines. J. Agric. Food Chem. Vol. 27. No. 2, 1979.

- 21.- R.C. Crippen and C.E. Smith. Procedures for the Systematics Identification of Peaks in Gas-Liquid Chromatographic Analysis. Chemical Research Department. Analytical Section Atlas. Chemical Industries, Inc. Wilmington, Delaware 3:2 (1965). J. of G. C. February, 1965.
- 22.- Ozeris, S.R. Basette. Quantitative Study of Gas Chromatographic Analysis of Headspace Gas of Dilute Aqueous Solutions. Analytical Chemistry. 35, -- 1091 (1963)
- 23.- Amerine M. A., Ough C. S. Análisis de Vinos y Mostos. Editorial ACRIBIA. España, 1976.