

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**Cuantificación de los Componentes Volátiles
en Tequilas y Mezcales por Cromatografía
en Fase de Vapor**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
Q U I M I C O
P R E S E N T A
MAGDALENA LLAMA LINDSEY

México, D. F. 1967



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.

Esta tesis fue realizada en el
INSTITUTO DE QUIMICA
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
bajo la dirección del
Dr. Armando Manjarrez Moreno.

**Este trabajo fué revisado y aceptado por el siguiente
Jurado:**

Presidente: Dr. JOSE P. HERR ARELLANO

V e c a l : Dr. FRANCISCO S CHEZ VIESCA

Secretario: Dr. ABRAHAMO MANJARREZ MORENO

1er. Suplente: MIRBYA ARTEAGA A.

2do. Suplente: JORGE ALVAREZ C.

A mis Padres:

Dr. Ricardo Llana Hickman

Sra. Eugenia L. de Llana.

Al Dr.

Armando Manjarrez M.

A la memoria de mis Abuelitos:

Segunda Llama Negra

David C. Lindsey; Alexander.

A mis Abuelitas:

Amalia H. de Llana

Leontila L. de Lindsey.

A Julio Gerardo.

A mis Hermanos:

Ricardo

Eugenia y

Claudia.

- I. - INTRODUCCION.**
- II. - PARTE TEORICA.**
- III. - PARTE EXPERIMENTAL.**
- IV. - RESULTADOS Y CONCLUSIONES.**
- V. - BIBLIOGRAFIA.**

INTRODUCCION

El tequila y el mezcal son bebidas genuinamente mexicanas que tienen un amplísimo mercado dentro y fuera del país. Su elaboración constituye la base de una industria poderosa y progresista. Ambas bebidas se obtienen de la planta llamada "metl" o maguey, cuyo nombre científico es el de "agave"

Dicha planta se conoce desde épocas precortesianas, en donde los aztecas le daban nombres individuales, los cuales seguramente correspondían a especies determinadas. Linneo le dio el nombre de "agave", el cual quiere decir "admirable".

Lista de agaves que se emplean para la elaboración de tequilas y mezcales:

Mezcal

- A. Mezcal Koch.
- A. Subtilis Trel.
- A. Palmaris Trel.
- A. Pes-mulae Trel.
- A. Karwinskii Zucc.
- A. Kirchneriana Berger.
- A. Sullivan Trel.
- A. Cupreata Trel et Berger.

Tequila

- A. Tequilana Weber.

El agave más usado para la elaboración del mezcal es el A. Mezcal debido a que da mejor cultivo que las otras especies. Sin embargo, cualquiera de las otras se puede usar con buenos resultados.

Para la elaboración del tequila es usado solamente A. Tequilana, quizá también por las condiciones de cultivo, ya que se reporta que también se puede usar A. Longisejala Tod. (1).

Estas son las especies citadas en la literatura, la posición sistemática está sujeta a cambios, ya que algunas de ellas han podido caer en sinonimia.

La obtención de ambas bebidas es similar y se efectúa por tatemación de las pencas, las cuales son trituradas o molidas en una "tahona". El producto triturado cae en vasos de madera llamados "pipas" que contienen agua tibia para extraer del maguey el mayor rendimiento del mosto y se deja ahí de 5 a 6 días para que fermenta. La fermentación se efectúa de manera espontánea a la temperatura de 24° C, acelerando su desarrollo por adición de pequeñas cantidades de sulfato de amonio y se suspende cuando el grado sacarímetro es de 1-1.5 grados Brix. La fermentación se puede efectuar con o sin bagazo. De ahí pasa al proceso de destilación, el cual se lleva a cabo en alambiques de cobre, usándose el líquido fermentado con o sin bagazo. La destilación se efectúa a fuego directo y al producto obtenido se le llama producto ordinario. Juntando todos los productos ordinarios y sometiéndolos a una nueva destilación, se obtiene el producto conocido como tequila.

La destilación para la obtención del mezcal se lleva a cabo en ollas de barro tipo cuchara, aparatos de barrilón tipo cuchara o aparatos de cobre similares a los usados para obtener tequila.

Desgraciadamente no conocemos, si existen, los métodos químicos de control de volátiles que se efectúan en las industrias dedicadas a la preparación de este tipo de bebidas. No obstante, el producto final debe satisfa-

cer los requerimientos de la Norma Oficial de la Secretaría de Industria y Comercio.

Quizás el método más empleado para controlar la calidad en ese tipo de bebidas es empleando catadores. Sin embargo, aunque se empleen catadores muy experimentados, éstos serán incapaces de dar informaciones de tipo cuantitativo en la composición de estas mezclas. Experimentos fisiológicos muestran que la aptitud para detectar sabores, es muy variada. Así tenemos que el hombre puede detectar 100 ppm. de alc. metílico, 0.1 ppm. de acetato de isoamilo y 0.005 ppm. de diacetilo (3). Esos estudios muestran la necesidad de obtener medidas absolutas en este tipo de análisis. En la literatura se encuentran varios métodos químicos para determinar los diversos componentes de las bebidas alcohólicas. Así tenemos que los ésteres se cuantean por hidrólisis, los alcoholes por preparación de derivados, como sus ésteres 3,5-dinitro benzoatos, los aldehídos por yodometría, alcoholes superiores por reacciones coloridas, etc. (4,5,6,7).

Actualmente los métodos clásicos han ido siendo desplazados por la c.f.v. Las ventajas de este método analítico, eficiencia en la separación, alta sensibilidad, exactitud en la cuantificación, etc., son en la actualidad bien conocidas y no es el propósito de este trabajo el discutir las. Solamente se recalca la conveniencia de su empleo para substituir a los métodos clásicos. En la actualidad se encuentran análisis de brandies, vinos, cervezas, whiskies, roncs, etc. Varios autores han comparado los resultados obtenidos por medio de la c.f.v. con los métodos tradicionales u oficiales conocidos y han llegado a la conclusión de que el primero es muy superior tanto en exactitud como en rapidez (8).

Existen tres procedimientos para muestrear este tipo de bebidas: el primero de ellos consiste en inyectar el aroma de la bebida, o sea el aire que se encuentra entre la parte superior del líquido y el tapón. Este análisis representa directamente los componentes más volátiles de la bebida y que son los responsables del olor de la misma (7,9,10,11,12) El segundo procedimiento consiste en la extracción o destilación previas para concentrar los componentes para que puedan ser detectados más fácilmente. Este procedimiento es más prolongado y se corre el riesgo de que el producto obtenido no represente la composición verdadera de la muestra original.

El tercer procedimiento consiste en analizar la muestra directamente; esto requiere mucho menor tiempo y permite el análisis de numerosas muestras en serie. Puesto que no lleva ningún tratamiento previo es de pensarse que por este procedimiento se obtienen resultados más representativos (8).

En vista de que el equipo usado en este trabajo posee detector de ionización de flama, que es altamente sensible a compuestos orgánicos e insensible al agua, escogimos la inyección directa sin menoscabo de la sensibilidad de nuestros análisis.

Hace algún tiempo en los laboratorios de este Instituto se analizaron diferentes roncs producidos en el país y los resultados fueron halagadores (13). El objeto de este trabajo, prosiguiendo con la investigación antes mencionada, consiste en el análisis, bajo condiciones ampliadas y mejoradas con respecto al trabajo anterior, de los componentes volátiles de tequilas y mezcales producidos en el país por medio de la c. f. v.

PARTE TEORICA

Desde que se empezó a aplicar la cromatografía en fase de vapor (c. f. v.), para el estudio de bebidas alcohólicas se han ensayado cerca de treinta fases líquidas. Estas fases líquidas podemos dividir las en dos grupos distintos, el primero comprende aquellos líquidos de partición empleados para separar mezclas de componentes de muy variado punto de ebullición. Son líquidos poco o medio polares que generalmente permiten ser calentados a altas temperaturas. A ese grupo pertenecen la grasa de Sili--cón (14); las grasas Aplozón M y L (15, 16, 17, 18, 19); poliésteres como el Reoplex 400 (20, 21); Succinato de Dietilen Glicol (D. E. G. S.) (18); LAC 296 (15); polietilen glicoles como los Carbowaxes (22, 23, 24), etc.

Al segundo grupo pertenecen aquellas fases estacionarias usadas para componentes volátiles. Son fases líquidas altamente polares cuya selectividad es necesaria para poder separar compuestos químicamente similares. Los más usados son varios tipos de Carbowaxes (6, 9, 22, 25), ésteres, como el ftalato de dinolilo (26), sebacato de butilo (18), Marlophen; poli--alcoholes como la glicerina (27, 28, 9, 27); 1, 2, 4, butanotriol (29), etc.

Desafortunadamente no existe la columna ideal para separar los diversos componentes presentes en estas bebidas; los compuestos más difíciles de separar son el acetal del acetato de etilo y los diferentes isómeros del alc. amílico. Ultimamente C. Scott, N. Hadden y E. Bonelli, reportan los resultados obtenidos al analizar Brandies, en una columna compuesta por Carbowaxes 600 y 1540, y Hercoflex 600, en serie y en ese orden (30).

Esta columna, separa el acetal del acetato de etilo; sin embargo,

se encontró que dicha columna no separa el alc. iso-propílico del alc. etílico. Usando la columna empleada en el análisis de ronos mexicanos (Carbowaxes 600 y 1540 en serie) (13), no se separa la acetona del acetato de metilo, ni el acetal del acetato de etilo; no obstante, usando la misma técnica de hidrólisis reportada, es posible separar los dos últimos componentes mencionados. Los formatos de metilo y etilo, no encontrados en el trabajo antes mencionado, también se hidrolizan, por lo que de la misma manera que el acetal pueden ser detectados y cuanteados.

En la literatura se encuentran reportados los componentes volátiles normales en este tipo de bebidas, por lo que no se procedió a coleccionar los distintos componentes e identificarlos del modo generalmente usado, mediante espectros de resonancia magnética nuclear, espectros en el infrarrojo y de masas. Por lo tanto la identificación de los distintos componentes que aparecieron en los cromatogramas se llevó a cabo por medio de sus tiempos de retención, relativos al acetaldehído (Tabla I) y por métodos de adición (31).

En el método usado para el análisis cuantitativo de los distintos componentes de las mezclas se añadió alc. n-amílico como testigo interno (32), ya que ninguno de los tequilas y mezcales analizados contienen este componente. Con la relación de área del componente/área del alc. n-amílico a distintas concentraciones de cada componente, se trazaron gráficas de calibración para cada uno de los componentes encontrados. Para comprobar la exactitud del método se analizaron mezclas testigo y los resultados obtenidos fueron excelentes. Los valores así obtenidos para los distintos tequilas y mezcales analizados se encuentran en la Tabla II.

También se pudo cuantear directamente el alc. etílico corriendo un tercer análisis, en el cual por comodidad se aumentó enormemente la atenuación y solamente se calcularon las áreas del alc. etílico y del testigo interno. Creemos que por este método se puede detectar y cuantear, con excepción de la acetona y acetato de metilo, todos los componentes volátiles que existen en los diferentes tequilas y mezcales.

Constituyentes volátiles en tequilas y mezcales: El mayor constituyente en ambas bebidas es el alc. etílico (36-49%), el cual proviene de la fermentación del mosto.

Los otros constituyentes encontrados son aquellos conocidos como acaites de fusel que también son sustancias producidas en la fermentación. Entre ellos tenemos alcoholes, ésteres de ácidos carboxílicos, aldehidos y acetal.

1/o. - Alcoholes. De acuerdo con Ehrlich los alcoholes de fusel provienen de los amino ácidos presentes en los asientos de la fermentación (33), aunque Stevens ha demostrado recientemente la probabilidad de que los alcoholes superiores se formen por la degradación de los carbohidratos durante la fermentación (4).

La Tabla II muestra los alcoholes encontrados en ambas bebidas.

2/o - Esteres. Junto con los alcoholes, el grupo de ésteres es también abundante. Desafortunadamente, en las condiciones de análisis usadas fue imposible separar la acetona del acetato de metilo; sin embargo, cuando las bebidas fueron sometidas a hidrólisis ácida prolongada, el pico correspondiente a los componentes mencionados desaparece, lo cual da idea de la ausencia de acetona y la presencia de acetato de metilo. Los ésteres encontra-

dos se encuentran en la Tabla II. Como se puede observar en ninguna de las bebidas analizadas se observó la presencia de acetato de isoamil, componente común en bebidas espirituosas.

3/o - Compuestos carbonílicos. Entre los compuestos de esta clase solamente se encontraron acetaldehído y acetal.

PARTE EXPERIMENTAL

a). - Aparatos usados. Como quedó establecido en la parte teórica, el cromatógrafo ideal para análisis de bebidas alcohólicas será aquel que es ta equipado con detector de flama de hidrógeno. Este detector no sólo es de ta seable por su alta sensibilidad y por ser insensible al agua, sino que además es el detector en que la relación de las áreas bajo las curvas obtenidas es ta proporcional a la concentración de sustancias en un margen muy amplio. En el presente trabajo se usó un cromatógrafo modelo 600 D de la Varian-Aero--graph equipado con un programador de temperatura modelo 328 y con generador de hidrógeno modelo A-650. El registrador empleado fue el modelo H de Leeds and Northrup, acoplado a un integrador de disco modelo 207 de la Disc Instruments Inc. Las muestras se introdujeron con jeringa Hamilton modelo 701.

b). - Las columnas empleadas fueron de acero inoxidable con diámetro externo de 1/8". El empaque de la columna "a" está constituido por tres partes de Carbowax 600 al 20% y de una parte de Carbowax 1540 al 15% sobre Chromosorb W 60/80 en serie y en ese orden.

La columna "b" es de Carbowax 600 al 10%, Carbowax 1540 al 15% y Herculflex 600 al 15%, en relación 3:3:1, sobre el mismo soporte inerte.

Los empaques de ambas columnas se prepararon pesando las diferentes proporciones de los respectivos líquidos de partición y de soporte inerte; los diferentes líquidos de partición se disolvieron en cloroformo y a la solución obtenida se le añadió la cantidad correspondiente de soporte inerte. El disolvente se eliminó al vacío por medio de un rotavapor (B. SÜchi).

El tubo se lavó con una mezcla de disolventes y una vez seco, se ta

p6 uno de los extremos con lana de vidrio y conectándolo a una bomba de vacío se hizo vibrar todo el tubo por medio de un aparato vibrador (Muller). El empaque se añadió lentamente por el otro extremo del tubo, mediante un embudo de vidrio conectado a un tubo de hule, y cuando la cantidad calculada de los respectivos empaques fueron introducidos a la columna, se tapó el otro extremo de la misma con lana de vidrio y se enrolló en espiral. Una vez conectada al aparato, la columna se purgó a 100° C durante 12 hrs. haciéndose pasar nitrógeno a un flujo de 60 ml/min.

c). - Para obtener las condiciones óptimas de trabajo con la columna "a" antes mencionada, se efectuaron los siguientes experimentos:

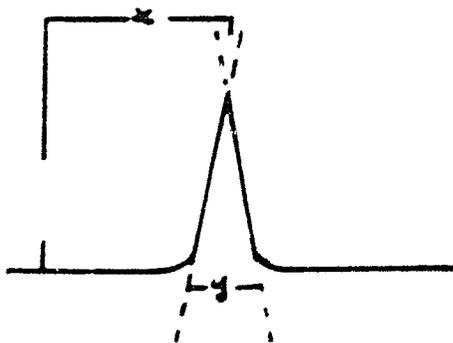
1/o. - Flujo óptimo:

Se determinó trazando una gráfica de eficiencia de la columna (HETP), contra diversos flujos. La eficiencia de la columna se calculó con la fórmula:

$HETP = \frac{L}{N}$, en donde: L = longitud de la columna y N = número de platos

teóricos. A su vez N se calculó con la siguiente fórmula: $N = 16 \left(\frac{x}{y}\right)^2$ (34)

y se determinó para los siguientes componentes:



Componentes	N
Acetaldehído	529.0
Acetato de metilo	856.10
Acetato de etilo	1413.76
Alc. metílico	1078.46
Alc. etílico	793.86
Alc. n-propílico	1907.0
Alc. isobutílico	2400.99
Alc. n-butílico	3055.84
Acetato de isoamilo	3760.12
Alc. isoamílico	2704.0
Alc. n-amílico	10404.0

La gráfica de flujo óptimo (gráfica 11) se construyó con los siguientes datos:

Flujo (ml/min)	HETP con respecto al EtOH
6.12	0.0198
18.17	0.0101
31.15	0.0077
51.7	0.00702
75.0	0.00708

Así pues, el flujo óptimo fue de 51.7 ml/min.

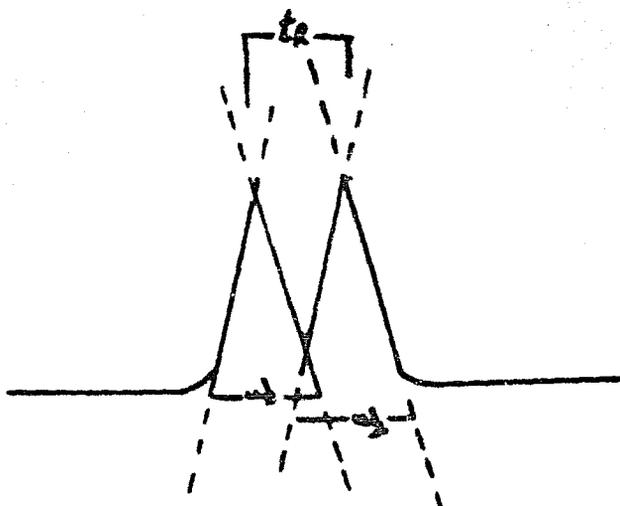
2/o - Temperatura.

La temperatura máxima a la cual se puede trabajar la columna es de 120° C y se corrieron análisis a diferentes temperaturas: 70°, 80°, 90°,

100°. obteniéndose las mejores resoluciones a 90° C. Estas resoluciones fueron obtenidas, haciendo uso de la siguiente fórmula (34):

$$R = \frac{2t_R}{w_1 + w_2} = \frac{t_R}{w_2}$$

en donde: t_R = distancia entre ambos picos; w_1 = distancia de la base del pico número 1; w_2 = distancia de la base del pico número 2.



La resolución para los picos de acetato de metilo y acetato de etilo fue: $R = 2$; y para los alcoholes n-propílico e isobutílico: $R = 1.021$.

También se experimentó con la temperatura programada; las condiciones óptimas encontradas fueron, inicialmente, temperaturas isotérmica a 50° C durante 17.72 min., y después temperatura programada hasta 100° C

a una velocidad de 4° C por min. En estas condiciones la resolución fue, para los picos de acetato de metilo-acetato de etilo: R = 3.6 y para los alcoholes n-propílico e isobutílico: R = 3.9. Aunque el tiempo de análisis es más corto y las resoluciones mejores, como se muestra en la Tabla I, se encontró que para análisis en serie es más práctico el uso de temperatura isotérmica a 90° C, puesto que al entrar el cromatógrafo y estabilizarlo a 50° C para iniciar un nuevo análisis, consume más tiempo que el economizado en el análisis a temperatura programada. Así pues, las condiciones óptimas de trabajo usadas en la elaboración de la Tabla II fueron:

Condiciones	
Parámetros	Columna: Isotérmica 90° C
	Inyector: 50°
	Detector: 200°
	Flujo: 51.7 ml/min.
Gases	Hidrógeno: 25 ml/min.
	Aire: 300 ml/min.
	Amplitud: 1-100
Sensibilidad	Atenuación: 4-16

d). - Métodos de análisis.

1/o. - Determinación cualitativa. - Se tomó una muestra de 5 µl de cada uno de los tequilas y mezcales y se inyectó al aparato en las condiciones anotadas, identificándose cada uno de los componentes por comparación de sus tiempos de retención con respecto al acetaldehído. La muestra tipo se preparó simulando la concentración en que se encuentran los componentes

en tequilas y mezcales

2/o - Gráficas de calibración.

Se prepararon distintas concentraciones de cada uno de los componentes encontrados en las bebidas analizadas (100, 200, 300, 400 ppm), con excepción de las de formiato de metilo que fueron de 50, 100, 200, 300 ppm, y las del alc. etílico que van de 100000, 200000, 300000 y 400000, ppm.

De estas soluciones se tomaron 10 ml de cada una de ellas y después de agregarles 2 ml de solución testigo (alc. n-amílico al 0.1%) se inyectaron 5 μ l de cada una de ellas en las condiciones anotadas anteriormente.

Una vez obtenido el cromatograma se midieron las unidades de área de cada uno de los picos. El integrador traza automáticamente en la base de los picos del cromatograma una serie de líneas que tienen un valor máximo de 100 unidades de área (u^2). De esta manera el área bajo cada curva será obtenida contando las graduaciones impresas por la pluma del integrador. Por supuesto, si el pico del cromatograma fue atenuado, las unidades de área computadas deberán ser multiplicadas por la atenuación correspondiente. Debido a su diseño, este integrador deja de trabajar en el momento en que la curva del cromatograma se sale del papel del registrador.

En el caso de los análisis efectuados en nuestro trabajo, la concentración de los diversos componentes encontrados con relación al alc. etílico fue demasiado pequeño, por lo que se necesita una gran atenuación para poder integrar correctamente el pico debido al alc. etílico. Esto se logra cuando ya se tiene una idea precisa del tiempo en que aparecerá cada componente. De otra manera es preferible correr dos análisis, uno con baja atenuación en el cual se cuantean todos los componentes, con excepción del alc. etílico, y el otro con alta

atenuación para cuantear el alc. etílico. Con la relación de las unidades de área de cada uno de los componentes entre las unidades de área del testigo, y las distintas concentraciones de las muestras, se trazaron las diferentes gráficas de calibración (Fig. 1-10) de cada uno de los componentes que pueden encontrarse en tequilas y mezcales.

3/o. - Hidrólisis.

Se prepararon soluciones acuosas al 3% de acetal, formiato de metilo y formiato de etilo y después de agregarles a cada uno 0.5 ml de una solución de ácido clorhídrico al 1% se refluxaron durante 10 minutos. Después de enfriarlas se inyectaron al cromatógrafo 5 μ l de cada solución, observándose en el cromatograma la desaparición de los picos correspondientes al acetal, formiato de metilo y formiato de etilo. En su lugar aparecen los picos correspondientes a los productos de hidrólisis, acetaldehído, alcohol metílico, alc. etílico y ácido fórmico. A continuación se hicieron mezclas testigo de acetaldehído, formiato de metilo, acetal, acetato de etilo, formiato de etilo y alc. n-amílico, y se cuantearon antes y después de la hidrólisis. Los resultados obtenidos fueron congruentes.

4/o. - Determinación cuantitativa.

Para efectuar la determinación cuantitativa de los componentes presentes en los diferentes tequilas y mezcales se tomaron 10 ml de cada una de las muestras por analizar y después de agregarles 2 ml de la solución testigo se inyectaron, en las condiciones ya establecidas, 5 μ l de muestra. Con excepción del pico del alc. etílico que se sale del papel todos los picos son perfectamente claros y automáticamente integrados. Determinando la relación de áreas de cada componente/área del testigo y llevando los valores a sus correspondientes

gráficas de calibración se obtienen directamente las ppm de cada uno de los componentes con excepción del acetato de etilo, acetal, acetaldehído y formiato de metilo.

Tomando otros 5 μ l de la solución preparada anteriormente y cambiando la atenuación del cromatógrafo, de tal manera que el pico del alc. etílico no se saiga del papel, y procediendo de la misma manera que en el caso anterior, se obtienen las cantidades de alc. etílico presente en cada una de las muestras.

Para cuantear las cantidades de acetaldehído-formiato de metilo y acetal-acetato de etilo se procede de la siguiente manera:

Se toman 10 ml de la muestra por analizar y se procede a hidrolizarla en la forma antes mencionada, se enfría y se le agregan 2 ml de solución testigo (alc. n-amílico); inmediatamente se inyectan 5 μ l de esta solución hidrolizada, observándose en el cromatograma disminución o desaparición de los picos correspondiente al acetal y o acetato de etilo y al acetaldehído y o formiato de metilo. Si dichos picos desaparecen es que sólo había acetal y formiato de metilo y las relaciones de unidades de área correspondientes se llevan a las gráficas del acetal y formiato de metilo, obteniéndose así las ppm correspondientes a dichos componentes. Si la relación de área del pico acetato de etilo-acetal y acetaldehído-formiato de metilo disminuyen con respecto al análisis original nos indica que existe en la mezcla acetato de etilo-acetal, acetaldehído-formiato de metilo. La diferencia en relaciones de área se lleva a la gráfica del acetal y formiato de metilo obteniéndose las ppm correspondientes; la restante relación de unidades de área corresponden al acetato de etilo y acetaldehído y se cuantearon en la gráfica correspondiente. En último caso si las

relaciones de áreas (componente/testigo), de los picos acetato de etilo-acetal y acetaldehído - formiato de metilo del análisis original no varían es indicio de que en la mezcla sólo tenemos acetato de etilo y acetaldehído. Llevando estas relaciones a las correspondientes gráficas de calibración se obtienen las ppm presentes de dichos componentes.

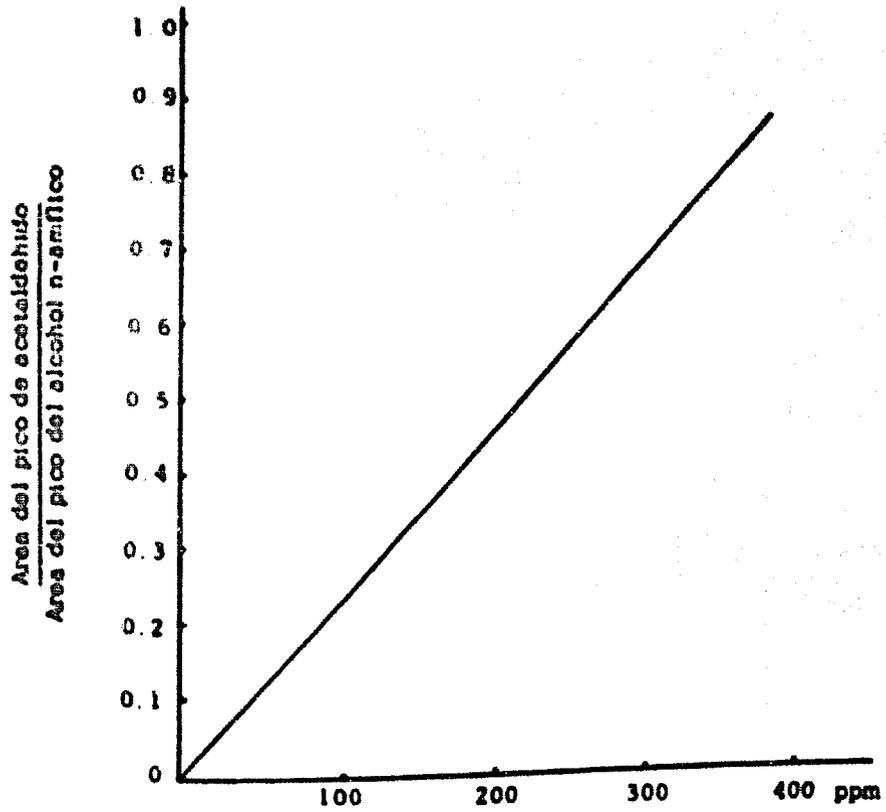
Como en el caso de análisis de ron (13), esta hidrólisis no afecta a los demás componentes encontrados en tequilas y mezcales.

5/o. - Determinación de acidez total expresada en ácido acético (35).

En un matraz de 500 ml se pusieron 500 ml de agua destilada recientemente hervida y fría y se añadieron unas gotas de fenolftaléina al 1% y se tituló con una solución de sosa al 0.1 N. En seguida se añadieron 25 ml del tequila o del mescal y se volvió a titular. La fórmula para obtener los miligramos encontrados en los tequilas y en los mezcales de ácido acético es la siguiente:

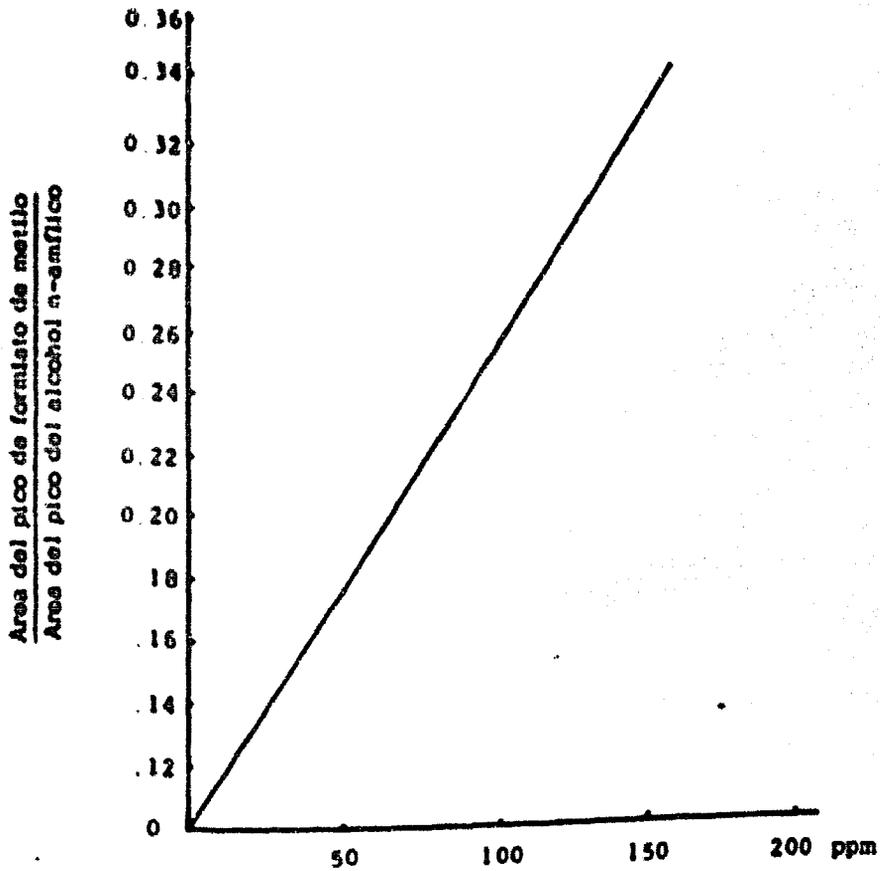
$$\text{mg} = \frac{\text{ml gastados de NaOH al } 0.1 \text{ N} \times \text{N NaOH} \times 100 \times 50}{\text{ml. de muestra}}$$

Gráfica de calibración para
acetaldehído



Gráfica No. 1

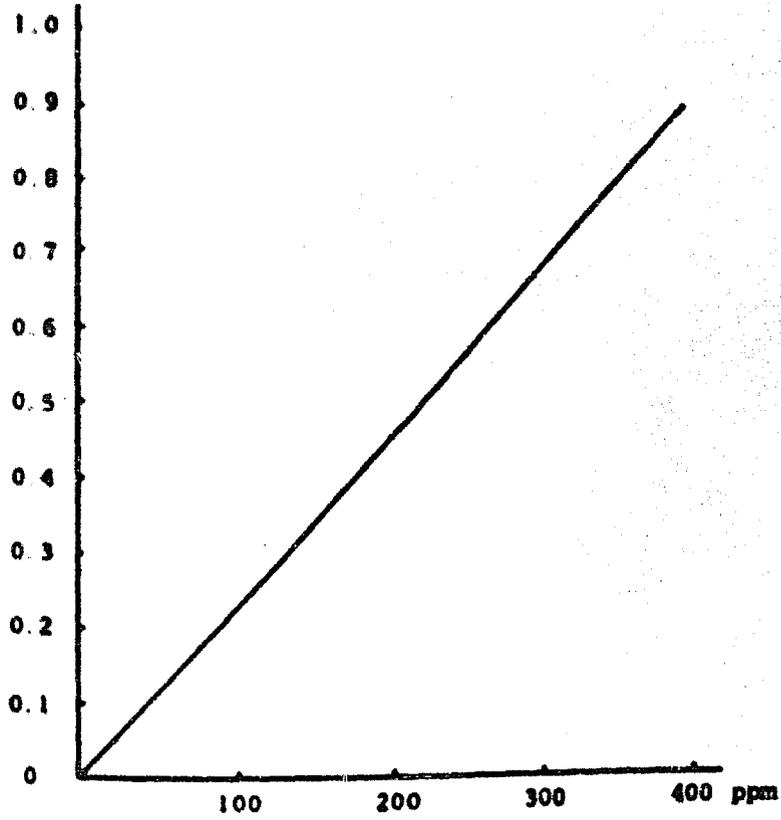
Gráfica de calibración para
formiato de metilo



Gráfica No. 2

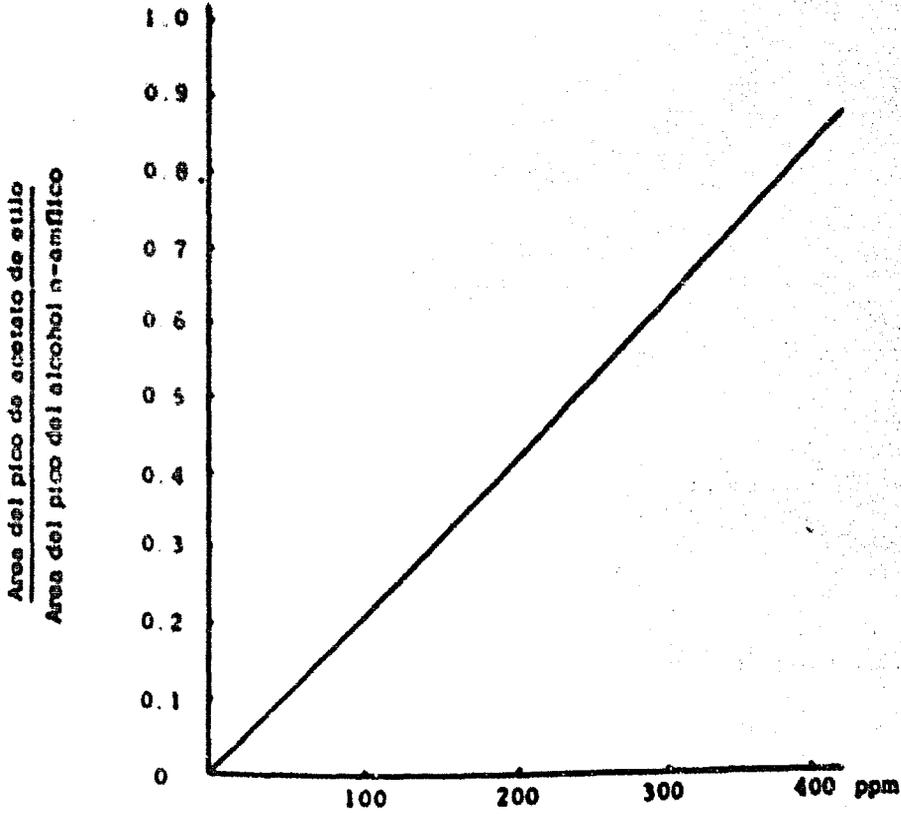
Gráfica de calibración para
acetato de metilo

$\frac{\text{Area del pico de acetato de metilo}}{\text{Area del pico del alcohol n-amílico}}$



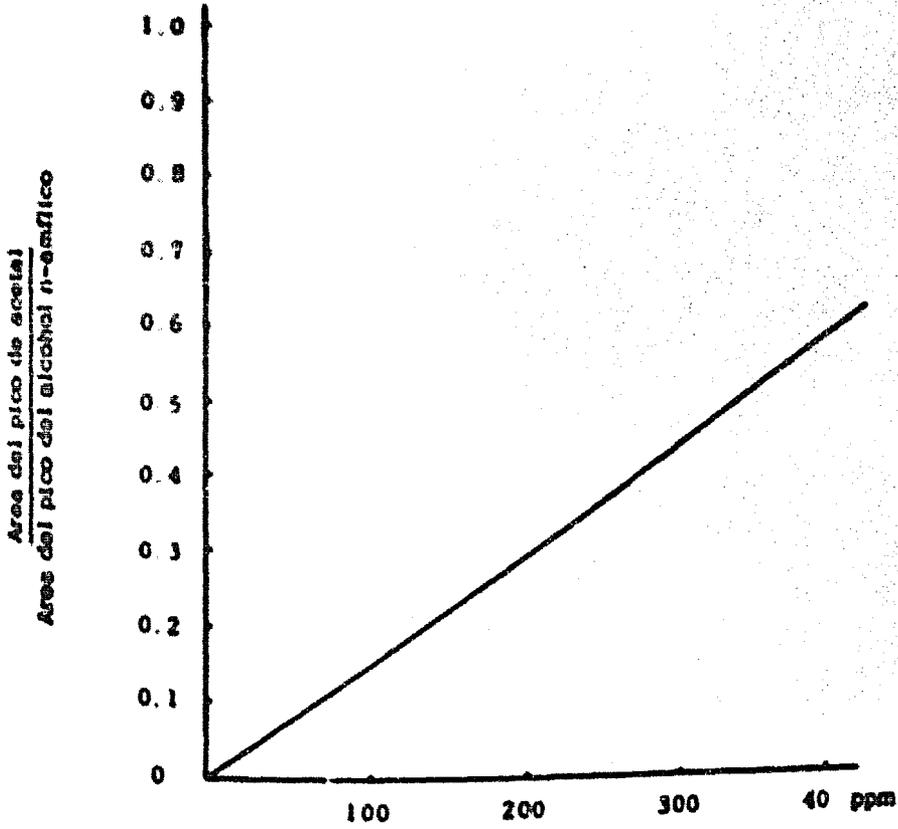
Gráfica No. 3

Gráfica de calibración para
acetato de etilo



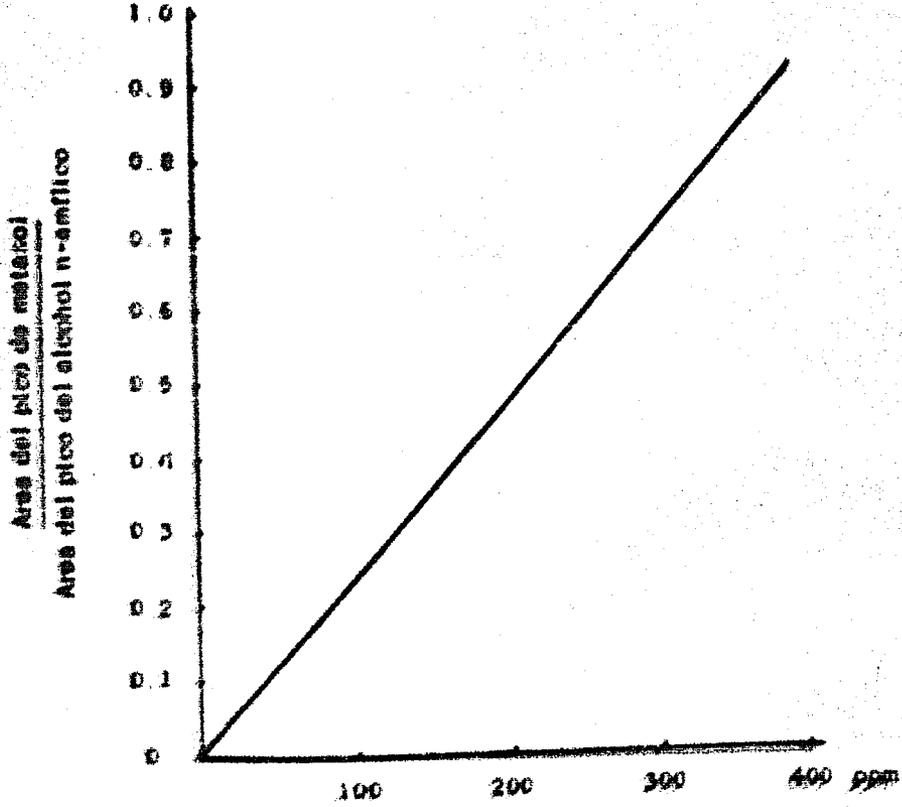
Gráfica No. 4

Gráfica de calibración para
acetato



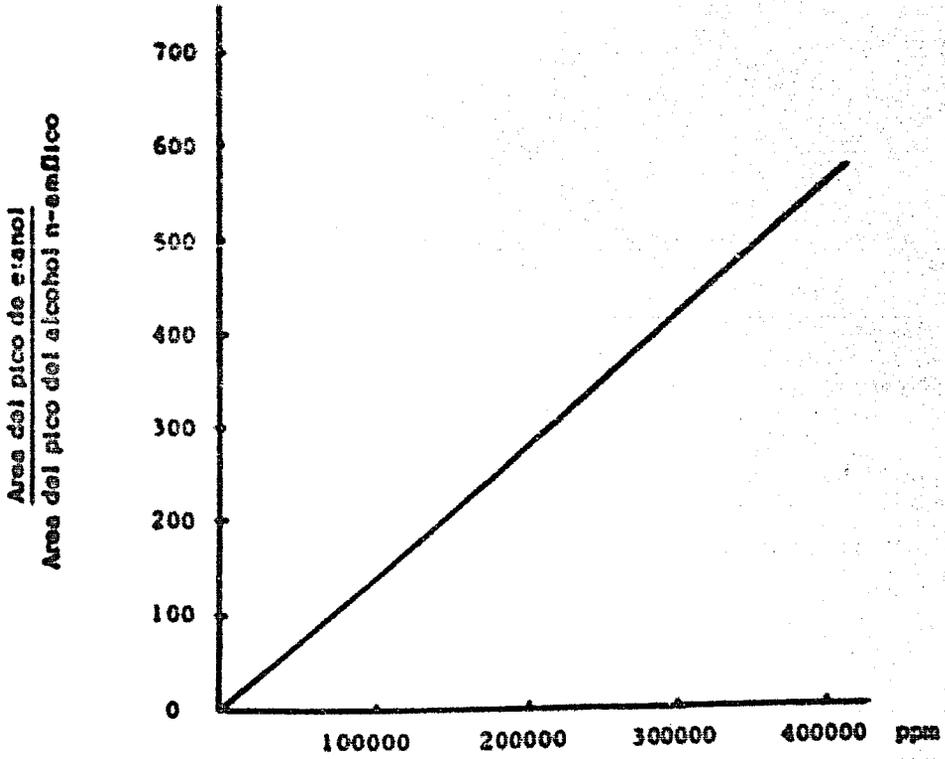
Gráfica No. 5

Gráfica de calibración para metanol



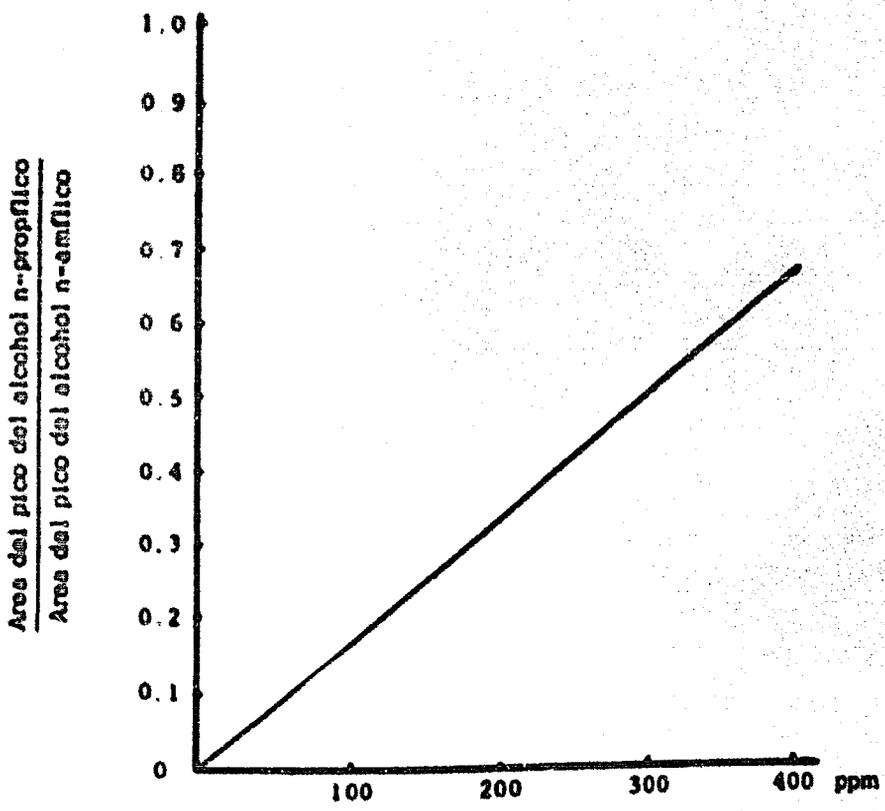
Gráfica No. 6

Gráfica de calibración para
etanol



Gráfica No. 7

Gráfica de calibración para
n-propílico



Gráfica No. 8

Gráfico de calibración para
iso-butílico

$\frac{\text{Area del pico del alcohol iso-butílico}}{\text{Area del pico del alcohol n-amílico}}$

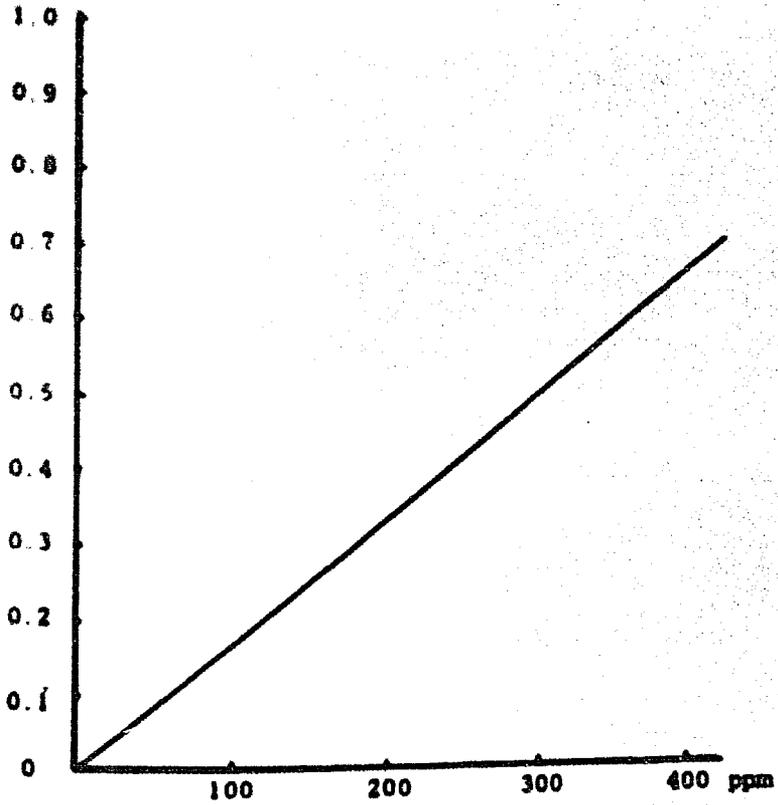
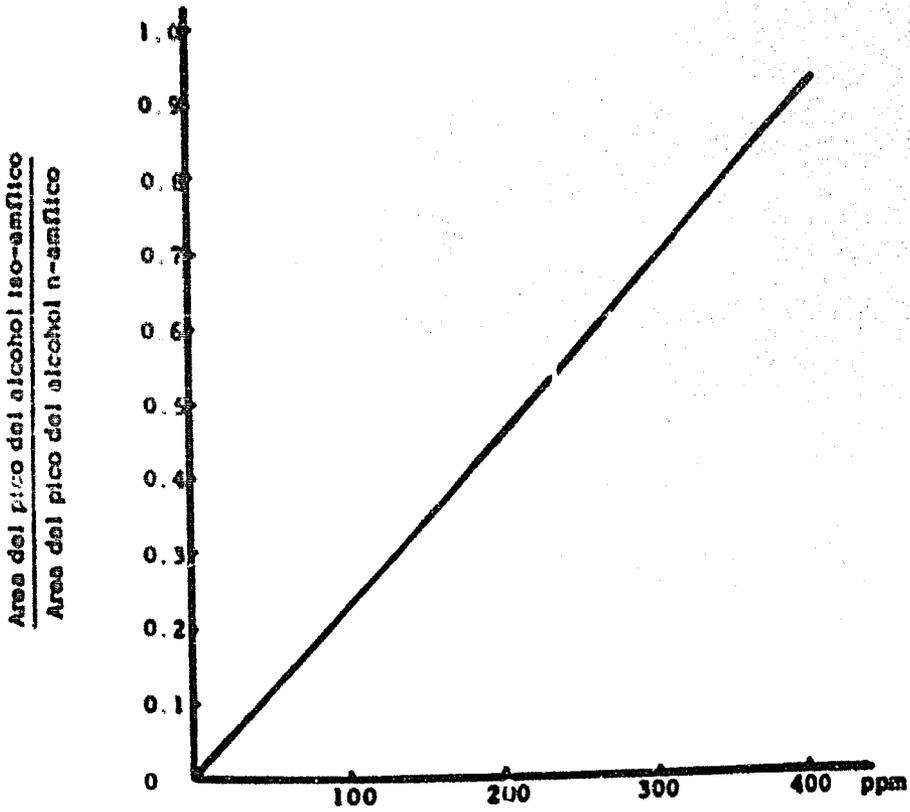


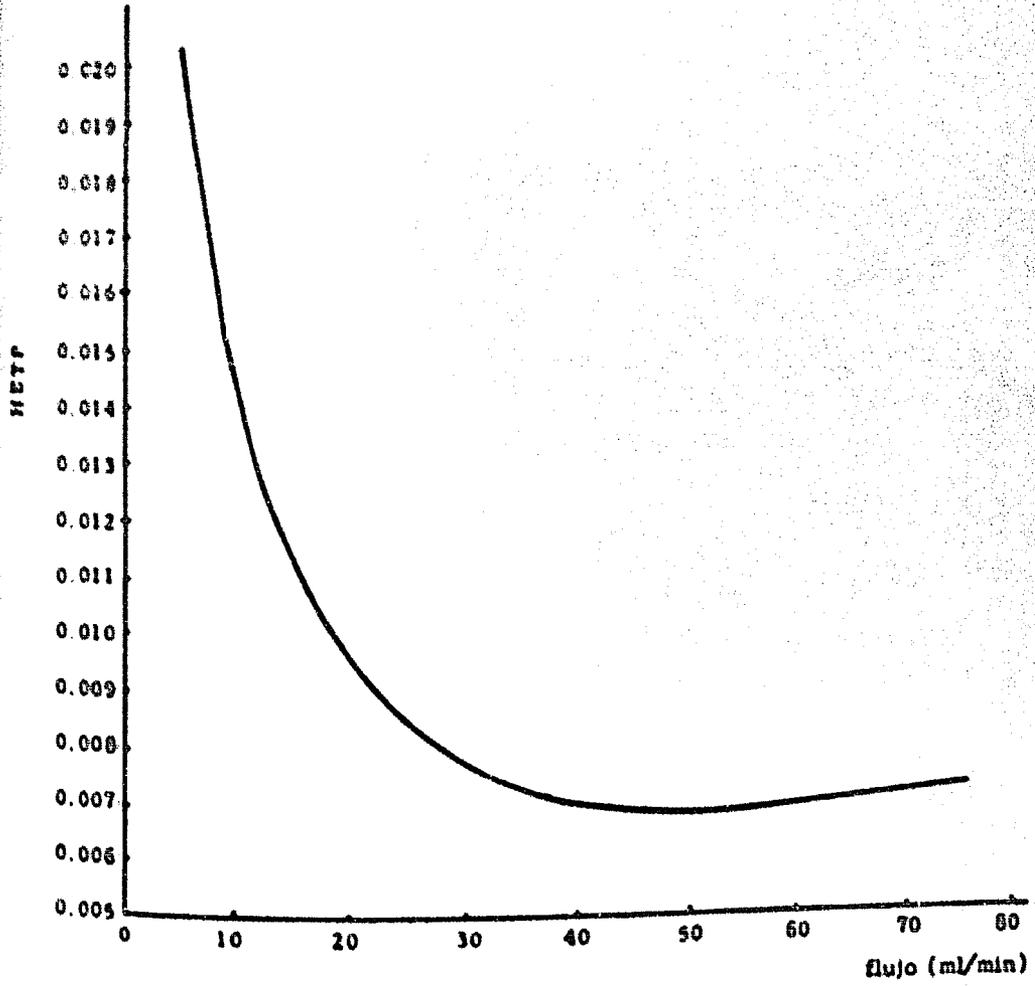
Gráfico No. 9

Gráfica de calibración para iso-amflico

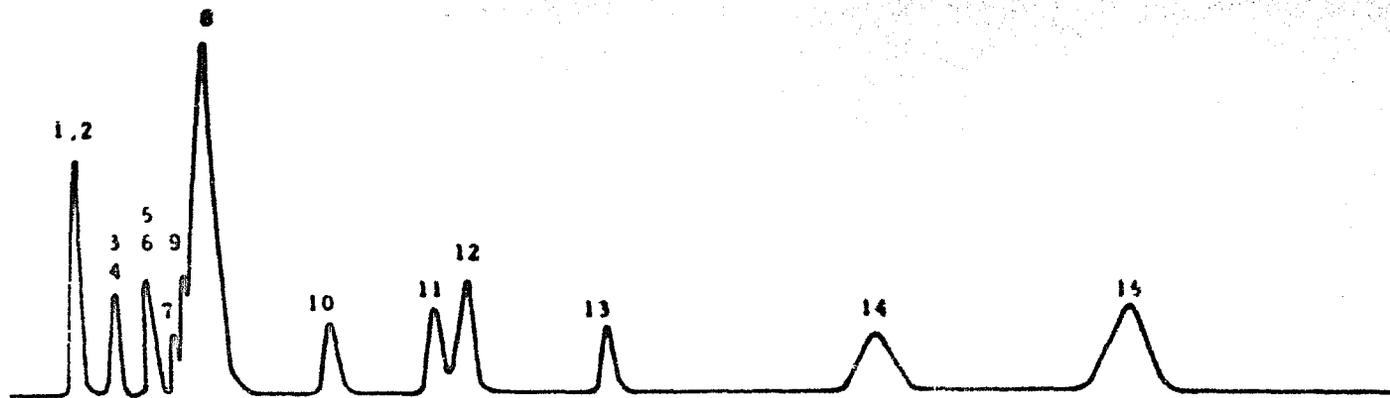


Gráfica No. 10

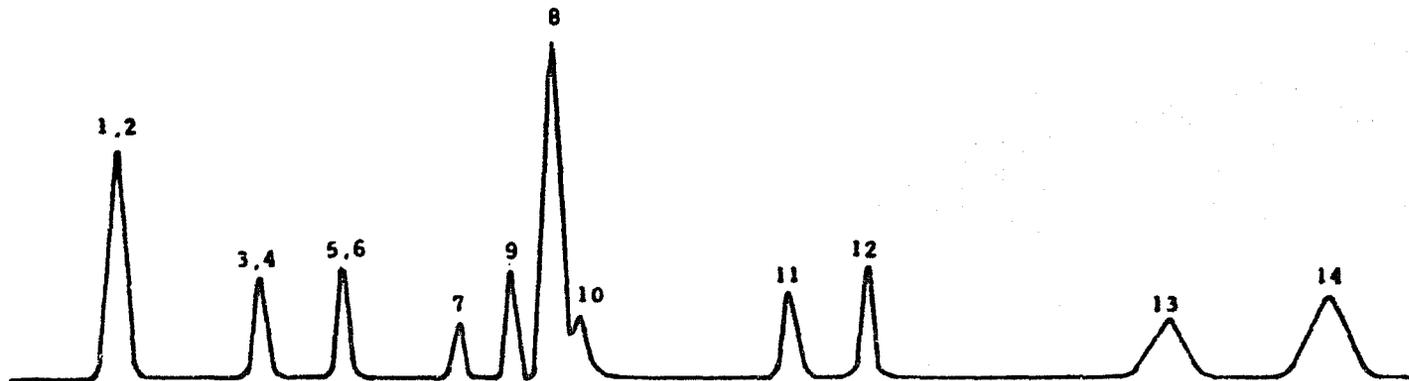
Gráfica para calcular el
flujo óptimo



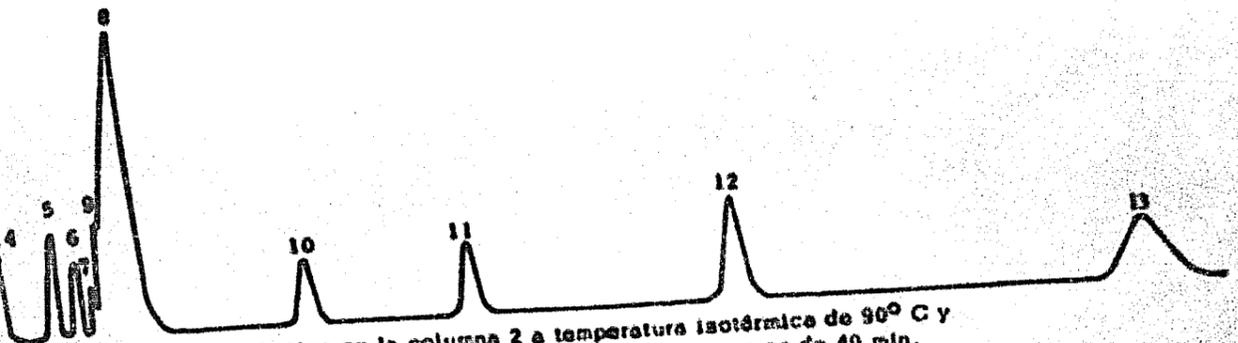
Gráfica No. 11.



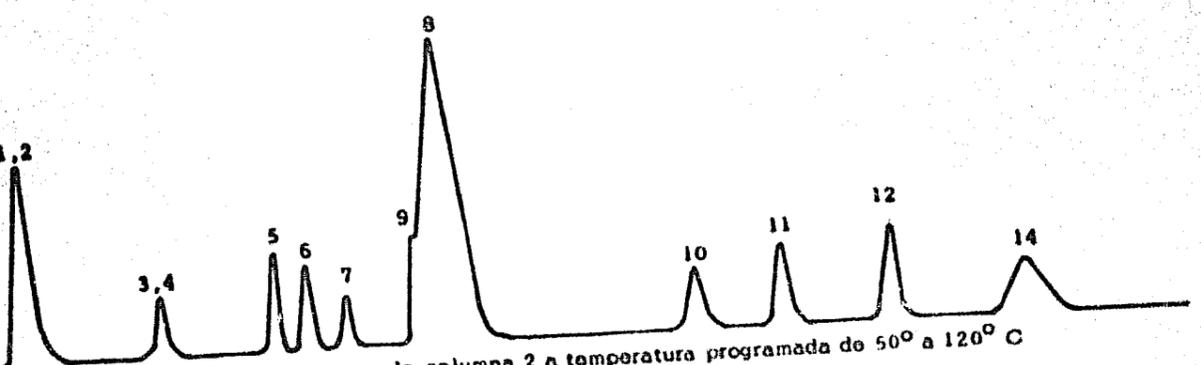
Análisis de la mezcla tipo en columna 1 a temperatura isotérmica de 90° C y flujo de 51.7 ml/min (gas helio); tiempo del cromatograma es de 30 min



Análisis de la mezcla tipo en columna 1 a temperatura programada de 50° a 100° C y un flujo de 51.7 ml/min (gas helio); tiempo del cromatograma es de 35.6 min.

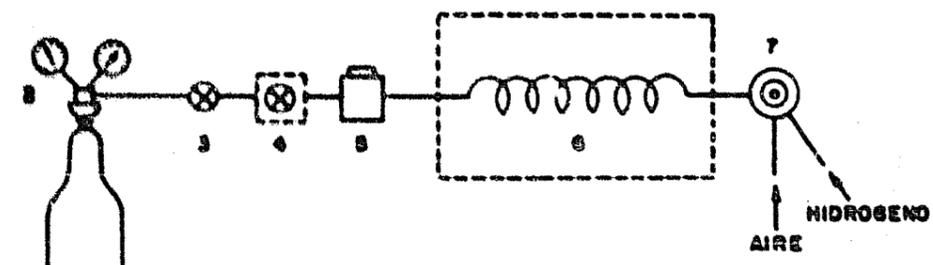


Análisis de la mezcla tipo en la columna 2 a temperatura isotérmica de 90° C y flujo de 51.7 ml/min (gas helio); tiempo del cromatograma es de 40 min.



Análisis de la mezcla tipo en la columna 2 a temperatura programada de 50° a 120° C y flujo de 51.7 ml/min (gas helio); tiempo del cromatograma es de 37 min.

FIG-1



- 1- Tanque del gas ocarrier
- 2- Regulador de presión
- 3- Valvula de paso
- 4- Inyector de muestra gaseosa
- 5- Inyector de muestra liquido o solido en solución
- 6- Columna
- 7- Detector de Hidrógeno

ESQUEMA DE FLUJO DE UN CROMATOGRFO CON DETECTOR DE NIDROGENO

T A B L A I

Tiempos de retención relativos*

Columnas

	Carbowax 600 y (1)	Carbowax 1540 Programada	Carbowax 600, Carbowax 1540 y (2) Herculflex 600	Programada
Acetaldehído	1.0	1.0	1.0	1.0
Acetato de metilo	1.17	-	-	-
Acetato de etilo	1.6	2.075	1.50	2.02
Acetato de n-butilo	1.6	2.075	1.50	2.02
Acetato de octilo	2.04	2.975	2.12	2.99
Acetato de dodecilo	2.04	2.975	2.36	-
Alcohol metílico	2.5	4.012	2.2	3.35
Alcohol etílico	2.9	4.875	2.53	4.15
Alcohol iso-propílico	3.65	4.7	2.40	-
Alcohol n-propílico	4.86	5.087	4.4	5.8
Alcohol iso-butílico	6.39	6.937	5.8	6.45
Alcohol n-butílico	7.0	7.637	8.2	7.2
Acetato de iso-amilo	8.91	-	-	-
Alcohol iso-amílico	12.91	10.25	12.02	8.2
Alcohol amílico normal	16.78	-	-	-

* Tiempo de retención del acetaldehído = a 1.

(1) Carbowax 600 al 20% y Carbowax 1540 al 15% ... Tiempo 90° C, flujo 51.7 ml/min.
(gas helio)

(2) PEG 600 al 10%, PEG 1540 al 15% - Herculflex 600 al 15% ... Tiempo 90° C.

T A B L A N o. 11
Composicion en tequilas

	Formateo de estilo ppm	Acetal- Gubido ppm	Acetato de acetato ppm	Acetato de cido ppm	Acetal ppm	Melancia ppm	Etanol ppm	Alcohol n-Propilico ppm	Alcohol iso-Butilico ppm	Alcohol iso-Amilico ppm	Alcohol metilico ppm
	0.03	26.0	34.0	33.0	1.4	139.0	302122.2	224.0	224.0	640.0	54.72
400000	10.03	0.1	100.0	33.0	22.0	612.0	472144.4	102.0	204.0	1210.0	10.90
2000		10.0	516.0	34.0	23.0	312.0	691027.72	220.0	220.0	624.0	60.50
		0.0	792	110.0	20.0	1236.0	416320.67	450.0	120.0	2007.0	
11.0	0.0	310.30	02.0	02.0	220.0	145100.9	102.0	227.0	620.0		20.220
	10.0	701.0	24.0	31.0	1215.0	67221.6	200.0	503.0	1010.0		10.60
	10.0	66.0	24.0	42.0	602.0	472271.0	310.0	204.0	714.0		22.320
	10.0	23.0	49.0	210.0	414.0	641107.27	440.0	540.0	640.0		26.200
	37.0	105.0	45.0	413.0	191.0	402405.0	160.0	370.0	1050.0		20.000
	04.0	242.0	25.0	252.0	167.0	422409.6	302.0	310.0	610.0		40.072
	30.0	30.0	65.0	43.0	250.0	422409.6	210.0	114.0	600.0		34.72
	00.0	20.0	64.0	12.0	110.0	451476.0	170.0	220.0	1304.0		30.736
rativo	46.0	56.0	53.0	51.0	500.0	309410.9	200.0	350.0	747.0		41.76
orto Extra	32.0	06.0	96.0	10.0	660.0	427566.2	220.0	400.0	600.0		26.200
ene Negra	30.0	572.0	134.0	220.0	270.0	411302.4	262.0	400.0	600.0		52.216

T A B L A No. II
Componentes en mezclas

	Acetal- dehidro ppm	Acetato de metilo ppm	Acetato de etilo ppm	Acetol ppm	Alcohol ppm	Alcohol ppm	Alcohol n-Propílico ppm	Alcohol iso-Propílico ppm	Alcohol iso-Amílico ppm	Alcohol total como gr. cc. ml.
	76.0	68.0	57.0	122.0	1156.0	121308.1	616.0	160.0	165.0	121.63
	116.0	116.0	72.0	174.0	1232.0	421142.42	424.0	24.0	125.0	50.75
Alcohol de	20.0	163.0	157.0	158.0	919.0	421393.74	110.0	130.0	702.0	70.400
	54.2	61.0	174.0	135.0	2110.0	472271.16	743.0	270.0	749.0	63.53
Alcohol de	10.0	20.0	75.0	62.0	114.0	421510.0	254.0	212.0	164.0	162.53
	38.0	35.0	61.0	160.0	120.0	161653.4	623.0	72.0	70.0	60.48
Alcohol de	60.1	34.0	70.0	64.0	603.0	421641.09	432.0	264.0	400.0	36.05
	54.0	62.0	67.0	162.0	904.0	390193.3	238.0	124.0	125.0	62.416

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos al analizar por el método propuesto, la composición y el contenido en alcohol, en la Tabla II, en la cual los diferentes componentes encontrados se reportan en ppm (mg/l).

En el caso del alcohol, para obtener el "grado alcohólico" o sea los valores obtenidos en la escala de densidades Guy Lussac (G. L.), los ppm se deberían dividir entre 10.000 veces la densidad del alcohol (0.78 g/l).

En la Tabla I están reportados los tiempos de retención relativos de los distintos componentes con respecto al acetaldéhidoo en dos diferentes columnas y en dos condiciones diferentes: inactiva a 20°C y programada hasta 200°C.

Como se ve el análisis de los componentes volátiles es muy completo, sin embargo, varios componentes presentes en estas bebidas como son ácidos, taninos, etc. por el método que nosotros utilizamos no fueron detectados. Es de nuestra opinión que este método de análisis deberá ser de gran utilidad para el control de producción, control de precios y control sanitario pero de ninguna manera puede fijar las propiedades organolépticas de las bebidas. Así mismo no se encuentran en este análisis criterios suficientes para asignar calidades a las diferentes muestras analizadas.

BIBLIOGRAFIA

1. - Comunicación personal del Instituto de Biología.
2. - Secretaría de Industria y Comercio. Diario Oficial de los Estados Unidos Mexicanos. pág. 19. Jueves 12 de marzo de 1964
3. - G. F. A. Harrison. Proc. European Brewing Convention, Brusel, 247 (1963).
4. - R. Stevens. J. Inst. Brew. 67, 453 (1960)
5. - T. Ayrupss, J. Holmberg, G. Sellmannperson. J. Inst. Brew. 67, 303 (1961).
6. - B. Ahrenst-Larsen, H. L. Hansen. Brauwissenschaft 16, 393 (1963).
7. - R. Bassette, R. Ozeris, C. H. Whitnah. Anal. Chem. 34, 540 (1962).
8. - D. D. Singer and J. W. Stiles. Analyst 90, 290 (1965).
9. - V. S. Bavisotto, L. A. Roch. A. S. B. C. Proc. 101 (1960).
10. - R. E. Kopner, J. Strating, C. Weuman. J. Inst. Brew. 69, 399 (1963).
11. - S. Ozeris, R. Bassette. Anal. Chem. 35, 1091 (1963).
12. - J. Strating. Intern. Tijdschr. Brouw. Mont. 22, 119 (1963).
13. - Bol. Inst. Quím. Univ. Nac. Autón. Méx. 10, 27 (1966).
14. - A. P. Van Der Kloot, F. A. Wilcox. A. S. B. C. Proc. 24, (1961).
15. - B. J. Clarke, F. V. Harold, R. P. Hildebrand, A. S. Morteson. J. Inst. Brew. 68, 179 (1962).
16. - F. V. Harold, R. P. Hildebrand, A. S. Morteson, P. J. Murray. J. Inst. Brew. 66, 395 (1960).
17. - F. V. Harold, R. P. Hildebrand, A. S. Morteson, P. J. Murray. J. Inst. Brew. 67, 161 (1961).
18. - E. Sihto, V. Arkimo, J. Inst. Brew. 69, 20 (1963).
19. - R. Stevens. J. Inst. Brew. 67, 329 (1961).
20. - J. B. Roberts. J. Inst. Brew. 68, 197 (1962).

21. - J. Strating, J. Venema. J. Inst. Brew. 37, 525 (1961).
22. - L. S. Ettre, R. D. Condon, F. J. Kabot, E. W. Cieplinski. Gas Chromatography Applications, No. GC-AP-003. The Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, Conn.
23. - U. J. Jahnson. J. Inst. Brew. 69, 460 (1963).
24. - A. P. Van Der Kloot, F. A. Wilcox. A. S. B. C. Proc. 93 (1963)
25. - A. V. Sotvinoyt, J. Plesnik. Brauwissenschaft. 16, 204 (1963).
26. - J. R. Hudson, R. Stevens. J. Inst. Brew. 66, 471 (1960)
27. - V. S. Bovisotto, L. A. Roch. A. S. B. C. Proc. 63 (1959).
28. - V. S. Bovisotto, L. A. Roch. A. S. B. C. Proc. 101 (1960).
29. - B. Drews, H. S. Pecht, G. Offer. Z. Analyt. Chem. 189, 325 (1962).
30. - C. Scott, N. Haddon, E. J. Bonelli. Previews and Reviews. Aerograph Technical Bulletin, No. 8 (1966).
31. - R. C. Crippen and C. E. Smith. J. of G. Chrom. 3, 37 (1965).
32. - P. C. Barbato and G. R. Umbreit. Facts and Methods Technical Bulletin, No. 7, 12 (1966).
33. - G. Kommer and B. Kolb. Angewandte Gas Chromatographie. 7, (1966).
34. - H. M. McNaair and E. J. Bonelli. Basic Gas Chromatography. Vartan Aerograph.
35. - Norma Oficial de calidad para ron. D.G.N. F 24 - 1951. Secretaria de Economia, Direccion General de Normas.