



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud**  
**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**TESIS**

**“METANOL EN LICORES MACERADOS”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER: PAREDES VALENCIA, Diego Antonio**

**ASESOR: SEDANO INGA, Lisly Leoncio**

**LIMA – PERÚ**

**2016**

Quiero dedicarle este trabajo a Dios que me dio la vida y fortaleza para culminar este trabajo de investigación. A mis Padres y a mi hermana por estar ahí cuando más los necesité, y por todo el apoyo y confianza que me brindaron.

Un agradecimiento especial para mi asesor Q.F Lisly Sedano Inga y al jefe de control de calidad Q.F Miguel Vera del Laboratorio Productos Jumam por darme su apoyo, sugerencias y consejos que me sirvieron para realizar este trabajo de investigación.

## RESUMEN

Las intoxicaciones por concentraciones elevadas de metanol es un problema considerable a nivel nacional como internacional, ya que este tipo de intoxicaciones genera síntomas como vómitos, náuseas, cefaleas y complicaciones visuales que a corto plazo podría generar ceguera irreversible y muerte. A causa de ello, el objetivo principal del presente trabajo de investigación es la cuantificación de metanol por cromatografía gaseosa guiándonos de la especificación de metanol ya establecida en la NTP 211.009:2012, así mismo comparando con normas técnicas vigentes internacionales.

En la parte experimental se detalla la metodología aplicada y las condiciones de operación estipuladas en la NTP 211.035:2015 para la cuantificación de metanol en las muestras de licores macerados.

Se realizó análisis por duplicado de un total de 10 muestras dando cantidades de metanol comprendidos entre 88.68mg/100ml hasta un máximo de 231.22mg/100ml y como resultado un 90% de muestras con metanol por encima del límite máximo permisible y obteniendo solo un producto que cumple la especificación de la NTP 211.009:2012. Además los resultados sobrepasan los límites máximos permisibles de normas técnicas como la ecuatoriana, la salvadoreña y la venezolana.

Palabras clave: **metanol, licores macerados, cromatografía gaseosa y límite máximo permisible**

## **ABSTRACT**

Poisonings high concentrations of methanol is a significant problem at the national and international level, as this type of poisoning produces symptoms such as vomiting, nausea, headaches and visual short-term complications that could lead to irreversible blindness and death. Because of this, the main objective of this research is the quantification of methanol by gas chromatography guiding us methanol specification already established in the NTP 211009: 2012, also comparing with international technical standards.

For quantitation of methanol liquors macerated samples: In the experimental part the methodology and operating conditions set forth in the detailed NTP 211,035:2015.

Analysis was performed in duplicate in a total of 10 samples giving amounts of methanol included between 88.68mg / 100ml up to 231.22mg / 100ml and as a result 90% of samples with methanol above the permissible limit and obtaining only one product that meets the specification of the NTP 211 009: 2012. In addition the results exceed the maximum permissible limits of technical standards such as Ecuador, El Salvador and Venezuela.

Keywords: methanol, macerated liqueurs, gas chromatography and maximum allowable limit

## ÍNDICE

Carátula.....	I
Dedicatoria.....	II
Agradecimientos.....	III
Resumen.....	IV
Abstract.....	V
Índice.....	VI
Índice de Tablas.....	IX
Índice de figura.....	IX
Índice de Gráficos.....	IX
Índice de Anexos.....	IX
Introducción.....	X
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>11</b>
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	11
1.2 Formulación del Problema.....	12
1.3. Objetivos de la Investigación.....	12
1.3.1. Objetivo General.....	12
1.3.2. Objetivos Específicos.....	12
1.4. Hipótesis de la Investigación.....	12
1.4.1. Hipótesis General.....	12
1.4.2. Hipótesis Específicos.....	12
1.5. Justificación e Importancia de la Investigación.....	13
1.5.1. Justificación de la investigación.....	13

1.5.2. Importancia de la investigación.....	13
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
2.1 Antecedentes de la Investigación.....	14
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	14
2.1.2 Antecedentes Internacionales.....	16
2.2 Bases Teóricas.....	17
2.2.1 El alcohol.....	17
2.1.1.1 Definición.....	17
2.1.1.2 Etimología.....	18
2.1.1.3 Origen.....	18
2.1.2 Bebidas espirituosas.....	22
2.1.2.1 Definición.....	22
2.1.2.2 Clasificación.....	22
2.1.2.3 Licores.....	23
2.1.2.3.1 Definición.....	23
2.1.2.3.2 Clasificación.....	24
2.1.3 Metanol.....	24
2.1.3.1 Propiedades químicas.....	24
2.1.3.2 Propiedades físicas.....	24
2.1.3.3 Usos.....	25
2.1.3.4 Toxicocinética.....	26
2.1.3.5 Toxicodinamia.....	27
2.1.3.6 Excreción.....	27
2.1.3.7 Dosis tóxica.....	27
2.1.3.8 Fisiopatogenia.....	28
2.1.3.9 Manifestaciones clínicas.....	28
2.1.3.10 Métodos para la determinación de metanol.....	32
2.1.4 Cromatografía de gases.....	33
2.1.4.1 Antecedentes e historia.....	33
2.1.4.2 Mecanismos de la cromatografía.....	34

2.1.4.3 Nomenclatura.....	35
2.1.5 Marco legal.....	58
2.3 Definición de términos básicos.....	59
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>63</b>
3.1 Tipo de Investigación.....	63
3.1.1 Método .....	63
3.1.2 Técnica.....	63
3.1.3 Diseño .....	65
3.2 Población y Muestreo de la Investigación.....	65
3.2.1 Población.....	65
3.2.2 Muestra.....	65
3.3 Variables e Indicadores.....	65
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	66
3.4.1 Técnica.....	66
3.4.2 Instrumentos.....	66
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>67</b>
4.1 Resultados.....	67
4.2 Análisis e interpretación de Resultados.....	72
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>73</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>75</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>76</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>80</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro N° 1.</b> Normativas de límite máximo permitido de metanol.....	31
<b>Cuadro N°2.</b> Evaluación de metanol en licores macerados.....	67
<b>Cuadro N°3.</b> Datos estadísticos obtenidos de los resultados .....	70
<b>Cuadro N°4.</b> Cumplimiento del Reglamento según la NTP 211.009:2012 por cromatografía gaseosa.....	71

## ÍNDICE DE GRAFICOS

<b>Gráfico N° 1.</b> Concentración de metanol en licores macerados.....	70
<b>Gráfico N° 2.</b> Desviación estándar de los resultados.....	71
<b>Gráfico N° 3.</b> Evaluación del cumplimiento de la NTP 211.009:2012 para licores macerados.....	72

## ÍNDICE DE FIGURA

<b>Figura N°1.</b> Cromatógrafo de Gases Agilent 7890B GC.....	37
--	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 01:</b> Matriz de consistencia.....	80
<b>Anexo 02:</b> Identificación de los licores macerados.....	81
<b>Anexo 03:</b> Norma Técnica Peruana 211.009:2012 – Requisitos Fisicoquímicos(pág.10).....	86
<b>Anexo 04:</b> feria nacional de artesanía de los deseos y misterios.....	87
<b>Anexo 05:</b> Evidencia muestral – compra de licores macerados.....	88

## INTRODUCCION

La industria de las bebidas alcohólicas, es una de las que más demanda y consumo tiene a nivel mundial, aumentando diariamente los consumidores de estas bebidas. Esta industria goza del intenso consumo de la población generando buenos ingresos y ha provocado que en muchos lugares del mundo, se realicen de forma casera obteniendo bebidas con alto grado alcohólico a precio reducido. Esto crea complicaciones de salud, financieras y legales por no producirse dentro de industrias seguras con estándares de calidad establecidos, además de elaborar productos que atentan contra la salud y la vida de las personas consumidoras, por la posible cantidad de metanol ingerido debido a una contaminación de la bebida en el proceso de fermentación o a una adulteración intencionada pudiendo provocar ceguera por el alto daño a la retina o muerte por insuficiencia respiratoria.

Sabiendo los daños ocasionados por el metanol y que en el Perú sigue incrementando la tasa de adulteración de bebidas alcohólicas, es necesario realizar un control de calidad más exhaustivo para determinar la presencia y concentración de metanol como compuesto toxico.

El presente estudio se utilizó como población los licores macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios utilizando diez muestras para los análisis.

Los resultados fueron expresados en mg/100ml indicado en la NTP 211.009:2012 y el análisis estadístico se realizaron utilizando Microsoft Excel (2013).

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

En 2015, Según la empresa de investigación de mercado mundial Euromonitor, 1 de cada 4 botellas de alcohol son ilegales en América Latina; Brasil posee el mayor porcentaje en la región con 28.4%, seguido por Perú con 27.8% (El 60,7% es adulterado, el 19,8% es artesanal y el 17,1% es de contrabando. El resto proviene de la evasión fiscal) y esto es un grave problema que involucra a consumidores, industria formal y Estado.

Para el presidente del Comité de la Industria de Bebidas Alcohólicas y Destilados de la Sociedad Nacional de Industrias, Luis Benavides, esta realidad es una llamada de atención pues nuestro país no está haciendo las cosas bien y, por el contrario, está conviviendo con la informalidad del sector.

En 2014, El Diario El Comercio reporto que Las bebidas alcohólicas ilegales que circulan en el país son, en un 92% de casos, licores como el ron, el pisco, macerados y el whisky. El alcohol restante se encuentra en las bebidas fermentadas como el vino, la cachina y la chicha de jora.

La comercialización de licores, destilados en destilerías clandestinas por mercaderes poco escrupulosos, puede ser la causa del brote de la intoxicación masiva. La producción artesanal del etanol a partir de la destilación artesanal puede llegar a destilarse cantidades por encima de límites de metanol, así como la adulteración con metanol por ser más barato y eso lo hace más accesible a las personas por tener precios finales mucho más bajos que las bebidas alcohólicas legales y al consumirlos, producen riesgos en la salud.

El metanol ingerido, es rápidamente absorbido desde el tubo digestivo para ser posteriormente metabolizado en el hígado por la

enzima alcohol-deshidrogenasa a una molécula fatal: el formaldehído, quien posteriormente se transforma ácido fórmico que ataca rápidamente aquellos órganos ricos en agua como el cerebro o el riñón, y que puede derivar en alguna de sus sales (formatos) capaces de causar ceguera permanente y problemas neurológicos irreversibles.

## 1.2. Formulación del problema

¿Cuál será la concentración del congénere alcohol metílico en licores macerados, comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios de setiembre – Octubre, 2016?

## 1.3. Objetivos de la investigación

### 1.3.1. Objetivo general

Determinar la concentración de metanol en licores macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios de Agosto – Octubre, 2016.

### 1.3.2. Objetivos específicos

O.E.1.: Cuantificar la presencia de metanol en licores macerados, por Cromatografía Gaseosa.

O.E.2.: Verificar si la concentración de metanol en licores macerados se encuentra por encima del límite máximo permitido según la NTP 211.009:2012.

## 1.4. Hipótesis de la investigación

### 1.4.1. Hipótesis general

Las concentraciones de metanol en licores macerados sobrepasarían los límites máximos permitidos por la NTP 211.009:2012.

#### 1.4.2. Hipótesis específicos

H.E.1.: El método por Cromatografía de Gases permitiría cuantificar la presencia de metanol en licores macerados.

H.E.2.: Todas las muestras sobrepasarían el límite máximo permisible de metanol según la NTP 211.009:2012.

#### 1.5. Justificación e importancia de la investigación

##### 1.5.1 Justificación de la investigación

Las bebidas alcohólicas son elaboradas a partir de compuestos inocuos, donde el compuesto final es el etanol, el cual,

puede adulterarse con metanol y debido a la toxicidad que presenta, debe encontrarse dentro del límite permitido por la Norma Técnica Peruana, ya que provoca intoxicaciones que pueden ir desde ceguera permanente hasta cianosis, hipotensión, coma; y en el peor de los casos muerte por insuficiencia respiratoria.

Debido a la toxicidad del metanol en el organismo, a que el consumo de bebidas alcohólicas ha ido aumentando de año en año en lima metropolitana y que comerciantes venden bebidas alcohólicas de dudosa procedencia y éstas son generalmente elaboradas de forma artesanal, sin un estricto control de la fermentación y de la producción y contaminación intencional con metanol, es necesario realizar un análisis de estos productos para determinar la presencia y concentración de metanol como compuesto toxico.

##### 1.5.2 Importancia de la investigación

El realizar este tema de investigación, con los resultados se dará a conocer a las autoridades de sanidad, industrias nacionales y a los consumidores que tomen conciencia de lo dañino que puede resultar para la salud el consumo de estas bebidas alcohólicas, para evitar más daños ocasionados y aumentar las exigencias a este tipo de productos.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

#### 2.1.1. Antecedentes nacionales

2.1.1.1 Monasterio Muñoz I. **Estudio para la elaboración y propuesta de normas técnicas peruanas de aguardiente de uva, macerados de damascos y brandy.** [Disertación]. Perú: Consorcio ASECAL, S.L. y MERCURIO CONSULTORES, S.L.; 2007. En esta investigación se tomaron muestras de distintas viñas, parcelas, centros de innovación tecnológica, centros de producción, bodegas y destilerías de Aguardiente de uva, Macerado de damasco y Brandy, se manifestó a los propietarios, representantes y productores la importancia de que en el contenido de la propuesta de las distintas Normas Técnicas Peruanas de los productos en mención se elabore el cuadro de requisitos físicos, químicos y organolépticos. Por esta razón se les solicitó el aporte de muestras representativas de sus diversos lotes de producción y los análisis de metanol en las muestras de aguardiente de uva se hicieron por triplicado dando un valor mínimo de 39.9 mg/100ml de alcohol anhidro y un máximo de 168.4 mg/100ml de alcohol anhidro con una media muestral de 116.4 mg/100ml de alcohol anhidro. Para los macerados de damasco el mínimo valor fue de 67.0 mg/100ml de alcohol anhidro y un máximo

de 363.2 mg/100ml de alcohol anhidro con una media muestral de 132.054 mg/100ml de alcohol anhidro.

2.1.1.2 Quispe Montalvo JC. **Determinación de los niveles de metanol en los licores expendidos en los clubes nocturnos del centro de Huancayo.** Facultad de Farmacia y bioquímica UPLA.2015; 1:1-6.

En esta investigación se muestra cuantitativamente los niveles de metanol en los licores expendidos en los clubes nocturnos de Huancayo. Material y métodos: Se trata de un estudio del tipo básico, prospectivo transversal y pertenece a nivel descriptivo. En el cual se emplea el método COLORIMÉTRICO, se trabajó con una muestra de 5 bebidas alcohólicas artesanales obtenidas de distintos clubes nocturnos del centro de Huancayo la selección fue intencional o de juicio. En los resultados se da que dos de los cinco clubes nocturnos que expenden bebidas alcohólicas en concentraciones mayores de metanol equivalen a 7,31mg/100ml y 7,13 mg/100ml. Por otro lado estas medidas no superan el límite de la Norma Técnica Peruana 210.022 equivalente a 20 mg/100ml. Conclusiones: El nivel de concentración de metanol en las bebidas alcohólicas artesanales fue menor de 20mg/100ml. Por otro lado las concentraciones de bebidas alcohólicas preparadas artesanalmente en los clubes

nocturnos cumplen con la Norma Técnica Peruana NTP 210.022:2003.

## 2.1.2. Antecedentes internacionales

2.1.2.1 Leal Granadillo I, Medina J, Morán Guillén H, Jaimes Mavare L. Evaluación de la diferencia en la composición de volátiles mayoritarios entre cocuy de agave y licor fraudulento comercializado como cocuy. Laboratorio de análisis químico, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. Coro, Venezuela. 2011; 11 (4): 339-344.

En este estudio, Las muestras de cocuy tipo I y tipo II fueron obtenidas en la población de Pecaya, municipio Sucre del estado Falcón. Las destilaciones se realizaron entre mayo 2008 y enero de 2009, con el equipo diseñado y construido por Leal y colaboradores. Se utilizó un muestreo al azar simple, se tomaron 47 muestras, 8 muestras de cocuy tipo I, 20 de cocuy tipo II y 19 de la bebida adulterada. Los análisis de las muestras se realizaron por triplicado utilizando cromatografía de gases. El equipo utilizado fue un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 6890N, acoplado a un detector de ionización de llama (FID). Las cantidades de metanol estuvieron comprendidos entre 5.27 y 9.11 mg/100ml de alcohol anhidro. Las concentraciones de metanol encontradas en las muestras cumplen con la Norma venezolana COVENIN 3362.

2.1.2.2 CATOTA PINEDA MS, GUZMÁN ALFARO JA. Determinación de metanol, en tres marcas de aguardientes nacionales comercializados en los

expendios de san ramón y san roque del municipio de mejicanos, san salvador. Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.2016

En este trabajo de investigación los licores a analizar fueron: El chamaco, El muñeco, y La trenzuda comercializados en los expendios de San Ramón y San Roque del Municipio de Mejicanos, San Salvador, en los cuales se realizó un Muestreo Aleatorio Simple durante los meses de Noviembre y Diciembre del 2005. Las muestras extraídas de cada uno de los expendios se analizaron por el método de Cromatografía de Gases por Detector de Ionización de Llama (CG/FID), siendo el idóneo para el análisis de sustancias volátiles. Se reportó la presencia de metanol en licores en concentraciones desde 0.91mg/100ml hasta un máximo de 9.68mg/100ml obteniendo una media muestral de 2.86mg/100ml estando dentro del límite máximo permisible según norma salvadoreña NSO 67.16.01:01.

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. El alcohol

#### 2.2.1.1. Definición

En terminología química, los alcoholes constituyen un amplio grupo de compuestos orgánicos derivados de los hidrocarburos que contienen uno o varios grupos hidroxilo (-OH). El etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, alcohol etílico) es uno de los compuestos de este grupo y es el principal componente psicoactivo de las bebidas alcohólicas. Por extensión, el término “alcohol”

se utiliza también para referirse a las bebidas alcohólicas<sup>1</sup>

#### 2.2.1.2. Etimología

La palabra alcohol, igual que muchas otras palabras que comienzan por "al...", es de origen árabe (ال كحول). "Al-" (ال) quiere decir "el" y "kohol" (كحول) significa "sutil". Al principio esta palabra era usada para describir un cosmético de polvos de antimonio que usaban las mujeres para pintarse los ojos. El kohol era elaborado en un proceso de disolución. Esta palabra fue usada para referirse a cualquier elemento refinado hasta su esencia<sup>2</sup>

#### 2.2.1.3. Origen

La destilación del alcohol era relativamente poco conocida hasta fines del siglo XVI. Tanto griegos como romanos sólo conocían la elaboración del vino, entre los cuales había algunos que perfumaban con hierbas aromáticas. Posiblemente, entre ellos, está el precursor de lo que hoy conocemos con el nombre de Vermouth, cuya demanda en todo el mundo es sorprendente. También elaboraban cierta clase de bebidas con alta concentración de azúcar y zumo de frutas, similares a las que hoy conocemos con el nombre de jarabes. Reminiscencias históricas nos hacen saber que ya la Reina de Saba poseía el secreto de la preparación de un jarabe muy similar a la conocida Granadina. No hay, pues, en el mundo civilizado de aquel entonces, ningún indicio que permita suponer que se poseyese el arte de la elaboración de bebidas espirituosas.

Es probable que hayan sido los alquimistas árabes, en el siglo X, los verdaderos descubridores de los secretos de la destilación del alcohol. El término «alambic» o «alambique» está compuesto de dos vocablos árabes. Fue Arnaldo de Vilanova, profesor de la universidad de Montpellier, quien profundizó en su estudio y realizó vastas experiencias prácticas que lo condujeron a la obtención de destilados alcohólicos, aplicados primariamente en la medicina y más tarde en la preparación de cierto licor al cual se le atribuían propiedades y virtudes que lo convertían en panacea de todos los males. Si bien no se confirmaron esas virtudes atribuidas originariamente a tal preparado, que no pasaba de ser alcohol azucarado al que se le perfumaba con la esencia de alguna planta aromática, lo cierto es que constituyó el punto de partida de los más variados licores y bebidas creadas para satisfacer el exigente paladar humano. Los primeros destilados se conocieron con el nombre de «aguavite», o sea, aguardiente. Hasta hace aproximadamente un siglo, sólo se extraía el alcohol del vino o del orujo. Sólo en el Reino Unido se extraía de la cebada. La creciente demanda y la diversidad de usos, obligó a buscar esta sustancia en los más variados productos vegetales y hoy ocupa primerísimo lugar el alcohol de cereales y de caña o melaza de azúcar. Antiguamente, el secreto de cada productor era el sistema de destilación que le permitía lograr en su producto el sabor deseado para la bebida. Debido a esto, el

proceso de destilación tuvo muy variados tipos y funcionamientos, aunque todos se basaban en el mismo objetivo común de separar el alcohol de un fermento para llevarlo a una bebida.

Para esto, existieron diversos métodos de calentar recipientes y de coleccionar los vapores condensados en alguna superficie fría destinada a convertir nuevamente el vapor en líquido, coleccionarlo y transportarlo a otro recipiente de baja temperatura que servía como depósito del «espíritu» destilado. Hoy en día, todavía se utilizan sistemas y recipientes muy rudimentarios para elevar la temperatura del fermento, en particular para bebidas como el brandy, producido por algunas empresas de Francia, y el whisky, producido por algunas de Escocia e Irlanda. El proceso de destilación se remonta a épocas anteriores al año 800 a.C., momento en el cual se documentó a detalle el primer proceso de fermentación y destilación que se conoce. El siguiente es un cuadro con la referencia histórica del proceso de destilación a lo largo de la historia de la humanidad. Según las diferentes zonas geográficas y el paso del tiempo, el proceso de destilación fue evolucionando. Sin embargo, el gran cambio en los procesos, y aquel que permitió lograr bebidas de características equivalentes a medida que se cambiaba de año de producción, partida de material base, etc., fue en la era industrial. Con el conocimiento de la química, de los circuitos cerrados y especialmente los principios de evaporación y condensación, dos personas iniciaron cambios

que marcaron tendencia. La columna de destilación. El primer cambio significativo lo ideó H. Braunschwick en 1512 para la elaboración de un brandy estilo francés en su destilería. El circuito que propuso consistía en separar el condensador del evaporador, para así lograr una mejor separación entre vapores volátiles en un solo circuito cerrado y única operación. Este cambio fue el que inspiró al segundo, aunque con una diferencia de 330 años entre sí. Esta idea de componentes separados iluminó a Robert Stein, quien ideó en 1832 un proceso separado en dos columnas para su destilería de whisky escocés. Una de las columnas se pensó para la evaporación y la otra para la condensación y separación de vapores. La primera columna permitía ingresar el vapor del producto calentado, el cual recorría un ciclo de compartimientos en forma vertical ascendente. El que fuera vapor de agua, al tener menor punto de evaporación quedaría retenido en estos compartimientos. El vapor de alcohol continuaría el recorrido hasta la parte superior, para así encontrar ruta que lo llevara hasta la segunda columna. La segunda columna sería recorrida por el vapor en forma descendente a través de un circuito de serpentinas que irían reduciendo la temperatura del alcohol, para así asegurar la separación del vapor de agua del vapor de alcohol. Este invento de Robert Stein fue patentado por Aeneas Coffey en 1832, y fue conocido por la mayoría de los productores como propiedad del segundo. Así, la máquina es conocida hoy en día como «Coffey Still» o

Columnas Coffey. Este principio de Coffey se sigue utilizando, aunque mejorado, para la producción de la gran mayoría de las bebidas alcohólicas.<sup>3</sup>

## 2.2.2. Bebidas espirituosas

### 2.2.2.1. Definición

Las bebidas espirituosas son aquellas bebidas con contenido alcohólico proveniente de la destilación de cereales, frutas, frutos secos y otras materias primas principalmente agrícolas.

Según la legislación de la Comunidad Europea las bebidas espirituosas son bebidas alcohólicas destinadas al consumo humano con un grado de alcohol mínimo del 15% y unas características organolépticas definidas. Se obtienen mediante destilación, con aromas o no, de productos naturales fermentados o previamente macerados en sustancias vegetales, con la posibilidad de ser adicionados con aromas, azúcares, otros edulcorantes u otros productos naturales.<sup>4</sup>

### 2.2.2.2. Clasificación

#### 2.2.2.2.1. Bebidas alcohólicas espirituosas simples

Obtenida de un único tipo de destilado alcohólico simple de origen agrícola, por cortes de destilados alcohólicos simples de origen agrícola de una misma clase o de cortes de destilados alcohólicos simples de origen agrícola con alcohol etílico potable de origen agrícola, que ha sido sometida a un proceso de elaboración e hidratación final para el ajuste de la graduación alcohólica.

Entre estos tenemos al whisky, caña, grappa, brandy, piscos, vodka, entre otros.

#### 2.2.2.2.2. Bebidas alcohólicas espirituosas compuestas

Obtenida por destilación o redestilación de alcohol etílico potable de origen agrícola o destilados alcohólicos simples de origen agrícola sobre materiales vegetales aromatizantes, por infusión, o precolación de alcohol etílico potable de origen agrícola con dichos materiales,; o agregando al alcohol etílico potable agrícola o destilados simples de Origen agrícola de infusiones, maceraciones o extractos.

Entre estas tenemos a los licores, compuestas secas, aperitivos y bebidas alcohólicas mixtas o cocteles.<sup>5</sup>

#### 2.2.2.3. Licores

##### 2.2.2.3.1. Definición

Bebida alcohólica que se obtiene por destilación de bebidas fermentadas o mostos fermentados, por mezcla de alcohol etílico (rectificado, neutro o extraneutro) o bebidas alcohólicas destiladas o sus mezclas con sustancias de origen vegetal o con extractos obtenidos por infusiones, percolaciones o maceraciones de los citados productos o con sustancias aromatizantes; edulcorados o no, a la que eventualmente se le puede añadir ingredientes y aditivos alimentarios permitidos por el organismo de control correspondiente.

En su denominación, por lo general se hace referencia, a la materia prima que le otorga sus características de aroma y sabor, por ejemplo: licor de cacao, licor de menta, etc., también se puede denominar por un nombre específico.

#### 2.2.2.3.2. Clasificación

**Seco:** Es el producto que contiene como máximo 10 g/l de azúcares.

**Dulce:** Es el producto cuyo contenido de azúcares está comprendido entre 50 y 250 g/l.

**Licor crema:** Es el producto de consistencia viscosa que contiene más de 250 g/l de azúcares.<sup>6</sup>

### 2.2.3. Metanol

#### 2.2.3.1. Propiedades químicas

Al ser el metanol un alcohol este presenta reacciones que son típicas para esta clase de sustancias. Las reacciones que tienen más importancia son principalmente de deshidrogenación oxidativa sobre oxido de plata o molibdeno-hierro en la industria para la producción de 18 formaldehido. También se realiza en la industria la carbonación con ácido acético usando como principales catalizadores el cobalto o el rodio. El metanol líquido y sus vapores son sustancias muy inflamables y que al contacto con el aire pueden llegar a ser explosivas durante los procesos industriales de su obtención.

#### 2.2.3.2. Propiedades físicas

Las propiedades físicas del Metanol de mayor importancia clínica para el estudio y descripción del evento de intoxicación por el mismo se encuentran resumidas en la tabla número 1. Propiedad Valor Peso

Molecular 32 g/mol Densidad 0.79 Kg/l Punto de Fusión -97°C Punto de Ebullición 65°C De los puntos de ebullición y de fusión se puede entonces deducir que el metanol es un líquido peligroso para la exposición al ser tan volátil a temperatura y presión atmosférica. Incompatibilidades: el calor contribuye a su inestabilidad; el contacto con agentes oxidantes fuertes puede causar incendios y explosiones, lo que liberaría entonces gases y vapores tóxicos, como óxido de carbono y formaldehído.

#### 2.2.3.3. Usos

El metanol tiene una gran variedad de aplicaciones industriales; El principal uso del metanol es en la producción de productos químicos para diferentes usos industriales, principalmente como combustibles. En la actualidad se utiliza en la producción de biodiesel y en el tratamiento de aguas residuales. Se utiliza en la manufactura de formaldehído, ácido acético y de gran variedad de productos químicos y derivados secundarios que se utilizan en industrias de tableros, enchapados, aglomerados, espumas, resinas y plásticos. Se utiliza como materia prima en la obtención de dimetil-t-butiléter (MTBE), que es un aditivo para la gasolina. El metanol es un sustituto potencial del petróleo, ya que se puede utilizar como combustible reemplazando así las mezclas de gasolina-diesel y a la gasolina misma. El metanol tiene mayor potencial de uso respecto a otros combustibles convencionales debido a que forma menos cantidad de ozono, menores emisiones de contaminantes, particularmente benceno e hidrocarburos aromáticos policíclicos y compuestos sulfurados, además de presentar bajas emisiones de vapor. El metanol también se usa en la identificación de aguas de deseco, en la aplicación de tratamiento de

aguas residuales, como sustrato en la producción de fermentación de proteína animal y como hidrato inhibidor en gas natural entre otras. En cuanto al comportamiento de metanol en el medio ambiente, la OMS cita la abundante evidencia de que el compuesto se degrada fácilmente y rápidamente en una amplia variedad de medios ambientales, y tiene baja bioconcentración y baja toxicidad.

#### 2.2.3.4. Toxicocinética

Vías de Absorción: El metanol se absorbe por vía oral, piel, mucosas intactas y por vía pulmonar y perfunde rápidamente en todos los órganos. La intoxicación por metanol ocurre frecuentemente por vía digestiva en el caso de bebidas alcohólicas adulteradas con alcohol desnaturalizado o por vía respiratoria, digestiva o a través de la piel intacta en el caso de exposición en ambientes laborales, desde donde se pueden originar intoxicaciones graves y aún mortales. Se absorbe rápidamente en estomago e intestino delgado, la ingestión con etanol tiende a disminuir su metabolismo y facilitar su eliminación. En el caso de los niños la vía de ingreso es la piel, pues las madres tienen la costumbre popular de hacer fricciones de alcohol como tratamiento de síntomas comunes, usando alcohol de cocina o industrial por desconocimiento o ignorancia.

Distribución: El metanol es absorbido y rápidamente distribuido por el agua del cuerpo. No se une a proteínas. Tiene un volumen de distribución de 0.6 l/Kg de peso. La mayor parte del metanol circula en el agua plasmática. Atraviesa la barrera hematoencefálica y es metabolizado lentamente en el hígado. La vida media oscila entre 12 a 24 horas.

Eliminación: Apenas cerca del 10% es excretado sin cambios por el riñón y a

través del pulmón. El 90% restante es metabolizado a ácido fórmico que se elimina por vía urinaria.

#### 2.2.3.5. Toxicodinamia

Una vez absorbido se dirige al hígado donde sufre procesos de oxidación. La enzima responsable de su transformación es la alcohol deshidrogenasa que lo oxida a formaldehído y éste a su vez es oxidado a ácido fórmico por la aldehído deshidrogenasa. La acidosis sistémica es causada por el ácido fórmico y por el ácido láctico que se genera por la alteración del proceso de fosforilación oxidativa; mientras que la ceguera es causada por los efectos tóxicos del ácido fórmico. Tanto el etanol como el metanol compiten por la enzima alcohol-deshidrogenasa, (AD) aunque esta enzima prefiere metabolizar el etanol (afinidad 20 veces mayor); por ello el tratamiento para la intoxicación por metanol se basa en el uso de alcohol etílico y Fomepizol, por su selectividad por la enzima AD para impedir la formación de los metabolitos tóxicos del metanol.<sup>7</sup>

#### 2.2.3.6. Excreción

Su altísima hidrosolubilidad hace que se elimine fácilmente por vía renal y respiratoria, eliminándose en forma inalterada el 20%, y siendo el 80% restante metabolizado. La hemivida plasmática es cinco veces superior a la del etanol.

#### 2.2.3.7. Dosis toxica

La dosis tóxica del metanol presenta variaciones individuales y la dosis tóxica mínima está establecida en 100 mg/Kg. y la mínima cantidad letal es de 30 ml de metanol puro (100%).

#### 2.2.3.8. Fisiopatogenia

el metanol es un depresor directo del SNC, al disolverse en las membranas neuronales las fluidifica alterando la neurotransmisión, pero su acción tóxica es más que todo debido a sus metabolitos: formaldehído y ácido fórmico; que son los mayores responsables de las severas alteraciones metabólicas que conllevan a gran morbimortalidad, en especial el ácido fórmico que precipita las proteínas y afecta los componentes estructurales de la célula ganglionares de la retina y el nervio óptico, generando ceguera, muchas veces de carácter irreversible. Los hallazgos experimentales sugieren que el daño ocular es ocasionado por la toxicidad del ácido fórmico, pero además, consume la reserva alcalina conllevando a un estado de acidosis metabólica con desviación de la disociación oxígeno - hemoglobina y 26 llevando a un estado de hipoxia hística, por lo que es posible que la acidosis conlleve a un daño ocular más rápido.

#### 2.2.3.9. Manifestaciones clínicas

Los síntomas se inician entre los 40 minutos y 72 horas postingesta, dependiendo del tiempo transcurrido en formarse los metabolitos tóxicos. En los casos más caracterizados inicialmente los síntomas son inespecíficos. Entre las manifestaciones clínicas inespecíficas más comunes están: las expresiones que se dan por el compromiso del SNC ya sea por la hipertensión endocraneana o por las afecciones ópticas, y entre ellas podemos señalar: Cefaleas (a veces tan intensa que no cede a los analgésicos comunes), Mareos, Diaforesis, Vértigos, Meningismos, Inquietud, Excitación, Confusión, Convulsiones, Coma. A nivel gastrointestinal hay: Vómitos, Epigastralgias, Dolor abdominal, e incluso manifestaciones de un

abdomen agudo. Como las manifestaciones clínicas iniciales son inespecíficas y usualmente se asocian a un periodo de latencia prolongado (de 6 a 48 horas), si no se tiene en cuenta el antecedente de la ingesta de alcohol es difícil hacer el diagnóstico. Por ello es frecuente que hagamos diagnósticos erróneos y confundirlos con el de: colitis, úlcera péptica, pancreatitis, cetoacidosis diabética, nefrolitiasis, meningitis y hemorragia subaracnoidea. Pero las manifestaciones clínicas que más orientan el diagnóstico son: en primer lugar el compromiso de la agudeza visual que se expresa con visión borrosa, nublada o empañada, fotofobia, escotomas, manchas amarillas y/o ceguera total. Los hallazgos al fondo del ojo pueden ser: pupilas dilatadas con disminución del reflejo fotomotor, y en las primeras 24 a 48 horas pueden estar hiperémicas, y más tarde con edema, llegando posteriormente a la palidez total pupilar, que es sinónimo de atrofia del nervio óptico produciendo una ceguera irreversible. En segundo lugar la hiperepnea como expresión sintomática del desequilibrio ácido - básico.

Algunos autores describen que en la intoxicación por metanol se dan el desarrollo de tres estadios progresivos. El primer estadio se presenta con una mínima disminución de la actividad del sistema nervioso central, debilidad, sensación vertiginosa y náuseas. Tras un periodo de latencia que es asintomático, aparece una segunda fase, que coincide con el desarrollo de una acidosis metabólica que se caracteriza por vómitos, dolor abdominal, desorientación y alteraciones visuales con fotofobia, visión borrosa, midriasis bilateral arreactiva a la luz y ceguera ocasional. En la tercera fase, en relación directa con el grado de acidosis metabólica alcanzada,

se produce lesión neuronal, con necrosis retiniana y de los ganglios basales del encéfalo. -Coma alcohólico (7%). Suele ser profundo sin signos de focalidad. Hipotermia, midriasis bilateral poco reactiva, hipotonía, abolición de los reflejos osteotendinosos, bradicardia, hipotensión y depresión respiratoria. 28 La evolución es habitualmente benigna y breve, acompañándose de amnesia lacunar más o menos extensa en relación con la duración y profundidad del coma. La intoxicación puede manifestarse de una forma u otra según los niveles sanguíneos. Así con 20-30 mg/dl se afecta el control motor fino, el tiempo de reacción y hay deterioro de la facultad crítica y del estado de humor. Entre 50-100 mg/dl hay deterioro leve o moderado de las funciones cognitivas, dificultad para grandes habilidades motoras. Con más de 150 mg/dl el 50% de las personas pueden estar muy intoxicadas con ataxia y disartria, grave deterioro mental y físico, euforia, combatividad. Entre 200-300 mg/dl, náuseas, vómitos, diplopía, alteraciones del estado mental y por encima de 300 mg/dl generalmente produce coma, además de hipotensión e hipotermia en personas que no beben habitualmente. El rango letal oscila entre 400 mg/dl y 900 mg/dl independientemente de que sea o no un alcohólico crónico. En casos graves, la sobredosis puede producir depresión respiratoria, estupor, convulsiones, shock, coma y muerte.<sup>8</sup>

De allí el interés por conocer si las bebidas alcohólicas que se consumen en el país contienen metanol y de ser así cuantificarlo y compararlo con las normativas vigentes, en la tabla 1 se hace referencia a dichas normas incluyendo los valores permitidos de metanol en bebidas alcohólicas.

**Cuadro N°1.** Normativas de límite máximo permitido de metanol.

Nombre	Referencia	Bebida	Metanol permitido (Mg/100ml)
Norma oficial mexicana 1995	NOM-142-SSA1	Bebidas alcohólicas	100
Norma venezolana 1997	CONVENIN 3340	Bebidas alcohólicas	25
Norma ecuatoriana 1995	NOM-142-SSA1- INEN 1 675	Licores fabricados en base de alcohol etílico rectificado extra neutro.	2
	NOM-142-SSA1- INEN 375	Licores fabricados en base de alcohol etílico rectificado	6
	NOM-142-SSA1- INEN 362	Licores fabricados en base de aguardiente de caña rectificado	10
Norma técnica colombiana	NTC 4118	alcohol etílico puro o extraneutro y alcohol rectificado neutro	5

Norma técnica colombiana	NTC 4118	AGUARDIENTE DE CAÑA, CAÑA O BRANQUIÑA	30
Norma técnica peruana 2012	NTP 211.009	Bebidas alcohólicas Licores	100
Norma técnica nicaragüense 2001	NTON 03036-01	Aguardiente	30
Norma Salvadoreña	NSO 67.16.01:01	Aguardiente	3

**Fuente:** Elaboración propia

#### 2.2.3.10. Métodos para la determinación de metanol

Los métodos usados son: el del reactivo de Schiff, del ácido cromotrópico por espectrofotometría Uv-visible, refractometría y cromatografía de gases. Para determinar la concentración de metanol contenido en las bebidas alcohólicas se usará la cromatografía, ya que ésta técnica presenta las siguientes ventajas con respecto a los otros métodos: es eficiente, permite alta resolución, requiere cantidades pequeñas de muestras ( $\mu\text{L}$ ), alta sensibilidad, alta velocidad de análisis y buena exactitud. Esta técnica, es posiblemente la que más se ha desarrollado en los últimos años en cuanto a análisis químicos, y se basa en la separación de una mezcla de dos o más compuestos diferentes (o iones) por la distribución entre dos fases, una de ellas estacionaria y la otra móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como

soporte, de gran área superficial, la función básica del soporte es la de mantener la fase estacionaria. Idealmente debería ser un material inerte que mantiene la fase estacionaria sobre su superficie como una película delgada. La fase móvil es un fluido (puede ser gas o un líquido) que se usa como portador de la mezcla. El proceso cromatográfico, aparentemente simple en la práctica, es en realidad una compleja unión de fenómenos tales como hidrodinámica, cinética, termodinámica, química de superficie y difusión.

#### 2.2.4. Cromatografía de gases

##### 2.2.4.1. Antecedentes e historia

La cromatografía es un método físico de separación en el cual los componentes a ser separados son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria mientras la otra se mueve en una dirección definida. Los componentes son separados por sus diferentes tasas de migración (IUPAC). La cromatografía puede ser clasificada por su utilidad y en base al material que se utilice como eluyente para separar los solutos. De acuerdo a su utilidad la cromatografía se clasifica en: analítica, utilizada para determinar los químicos presentes en una mezcla y en que concentración; y preparativa, utilizada para purificar grandes cantidades de químicos. La primera técnica cromatográfica fue ideada por el botánico ruso Mikhail Tswett en 1906, quien utilizó alúmina para separar los pigmentos coloreados de las hojas de las plantas. Tswett en su experimento original, metió dentro de un tubo de vidrio un fino polvo (sacarosa) para producir una columna de una altura deseada. Posteriormente, extrajo los pigmentos de hojas y los colocó en un solvente (éter de petróleo) y agregó un

poco de la solución dentro de la columna. Cuando toda la solución había pasado a través de la columna se formó una estrecha zona inicial bajo la capa inicial del adsorbente. Después agregó más solvente y aplicó presión en la parte de arriba de la columna. Mientras el solvente iba pasando a través de la columna, los pigmentos se iban separando individualmente. La clave del éxito de la columna de Tswett, fue la aplicación de la mezcla dentro de la columna en una zona inicial estrecha y la posterior aplicación del solvente fresco. En 1931, fue redescubierta por Richard Kuhn al utilizarla para el análisis de polienos. Los primeros en utilizar un gas como fase móvil fueron A. T. James y A. J. Martin en 1952, para separar ácidos grasos cortos. Posteriormente Dabrio, en 1971, la utilizó para separar metilaminas, aminas alifáticas y homólogos de piridina.

#### 2.2.4.2. Mecanismos de la cromatografía

El movimiento de las sustancias durante la cromatografía es el resultado de dos fuerzas oponibles, la fuerza de manejo de la fase móvil y la fuerza resistente o acción de retardo del adsorbente. La fuerza de manejo mueve las sustancias del origen de la columna en dirección del flujo de la fase móvil. La acción de retardo impide el movimiento de las sustancias arrastrándolas del flujo y adhiriéndolas al adsorbente. Las moléculas se encuentran alternando entre estar pegadas al adsorbente o despegadas en el flujo, esto da como consecuencia que pese a que el flujo es constante, solo una fracción de las moléculas se están moviendo. Las sustancias que se mueven más lentamente son porque están siendo unidas más fuertemente a la fase estacionaria, mientras que aquellas que se mueven más rápidamente son porque son menos solubles o de poca afinidad. La habilidad de

tener una migración diferencial entre los componentes de la mezcla es el resultado de la selectividad del sistema cromatográfico. El flujo de la fase móvil no es selectivo en el sentido de que no afecta el movimiento de los solutos. Como parte del sistema cromatográfico, sin embargo, la fase móvil debe ser un poco selectiva para ayudar a la absorción de los solutos con la fase estacionaria. La fase estacionaria también juega un papel importante dentro del cromatograma debido a su acción resistiva como una fuerza selectiva de la velocidad de flujo de los solutos.

#### 2.2.4.3. Nomenclatura

Desde el primer cromatógrafo de Tswett hasta los cromatógrafos de ahora siguen utilizando la misma nomenclatura para sus componentes: Un tubo de metal o vidrio se llena con un sólido activo (adsorbente) para formar una columna cromatográfica. La mezcla a separar es aplicada en una zona inicial y es lavada con un solvente, líquido de lavado o revelador. La serie de resultados se denomina cromatograma, y el lavado de la zona inicial para formar el cromatograma es la formación o desarrollo del mismo. Cuando el agente a detectar se trata con un agente químico para formar un color, se dice que la cromatografía está siendo revelada. La combinación del solvente, la mezcla y el adsorbente son llamados sistema cromatográfico. Cada sistema cromatográfico está compuesto por una fase móvil (solvente) y una fase estacionaria (la columna). Si los componentes de la mezcla son analizados cuantitativamente, recibe el nombre de evaluación o cuantificación. Si el soluto es separado del adsorbente por lavado antes del análisis, entonces se le llama elución y al agente a ser analizado se le llama eluyente,

al líquido que sale de la columna se le nombra efluente. Cuando la fase móvil es líquida, la técnica suele recibir un nombre relacionado con la forma en que se dispone la fase estacionaria (columna, capa fina, papel, etc.). Existen tres formas de desarrollar este proceso: elución, análisis frontal y desplazamiento. Cuando la fase móvil es un gas, solamente se utilizan columnas y el proceso siempre se realiza por elución. La forma más usual de hacer cromatografía de gases es utilizando un líquido como fase estacionaria; recibe entonces el nombre de cromatografía gas-líquido (CGL). También se utilizan absorbentes, dando lugar a la cromatografía gas-sólido (CGS), pero en mucho menor proporción. La cromatografía de gases es una técnica analítica que puede ser utilizada para separar compuestos orgánicos basada en sus volatilidades. También provee información cualitativa y cuantitativa de los componentes presentes en una mezcla. Los componentes son separados por sus diferencias de partición entre la fase móvil gaseosa y la fase estacionaria en la columna, permitiendo que sean separados en tiempo y espacio. Un cromatógrafo de gases consiste de:

- Fase móvil.
- Puerto de inyección.
- Horno de la columna.
- Columnas
- Fase estacionaria.
- Detector.
- Sistema de registro de datos.

## Cromatografía de Gases Agilent 7890B GC

### F



**Fuente:** Foto propia

- Fase móvil

Gaseosa, líquida o fluido supercrítico (potencia disolvente de los fluidos a temperaturas y presiones superiores al punto crítico). Estas fases son generalmente gases inertes como Helio, Argón o Nitrógeno. El gas portador lleva las moléculas del analito a través de la columna, este movimiento es inhibido por la adsorción que presenta el analito tanto en las paredes de la columna cuanto en los materiales empacados en la misma. <sup>8</sup>

El gas portador cumple básicamente dos propósitos: Transportar los componentes de la muestra, y crear una matriz adecuada para el detector.

Un gas portador debe reunir ciertas condiciones:

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

-Económico

-Adecuado al detector a utilizar [13](#)

- Puerto de inyección

Es un dispositivo que permite la introducción de la muestra en la corriente del gas portador. Existe cierta variedad de diseños según el tipo de muestra que se trata de analizar. El más común es el inyector de líquidos, que puede utilizarse para sólidos (en disolución) y gases (mediante jeringas especiales). El inyector se trata de una cámara situada a la entrada de la columna y calentada independientemente de ésta (a temperatura superior del punto de ebullición del componente más volátil de la muestra, generalmente), que suele tener una membrana de caucho a través de la cual se introduce la muestra con la ayuda de una microjeringa hipodérmica. Inyección de la muestra evaporada e introducirla a la columna a través de un septo de plástico (estable a la temperatura de inyección, debe ser reemplazado periódicamente). Temperatura de inyección debe ser de 10° a 50° mayor a la temperatura de la columna. Jeringas: varios estilos disponibles. Aguja fija, removible. Varios tamaños y ángulos. Volúmenes de la muestra desde 1 µl, líquidos de 0.1-10 µl y gases 0.5-5 ml. Inyección rápida para introducirla en una sola descarga y no debe haber aire al momento del llenado. Precisión de la inyección +/- 1%. Incremento de la precisión al utilizar circuitos (gas sampling loops) y válvulas para introducir cantidades constantes. Equipo no caro y requiere temperatura constante. La técnica de inyección de muestra recomendada para líquidos en cromatografía de gases es el método de flujo del solvente. El solvente puro es introducido a la jeringa seguida de una bolsa de aire, después se coloca la solución muestra, y finalmente

otra bolsa de aire. Se lee el volumen de la muestra y posteriormente se inyecta al cromatógrafo

- Horno de la columna

En el interior se sitúa la columna, donde se debe tener una buena regulación de la temperatura. Dentro del horno la columna se conecta en un extremo al puerto de inyección, y en el otro al detector. La columna debe estar en el centro del horno sin tener contacto con las paredes. <sup>9</sup>

- Fase estacionaria

Al hablar de fase estacionaria líquida entramos en contacto con dos palabras ó términos: Polaridad y Selectividad.

Las fases líquidas podemos clasificarlas según sus polaridades cromatográficas, nos valemos de unas constantes que determinan dicha polaridad. Existen dos sistemas:

-Constante de Rohrchneider

-Constante de McReynolds

Existen muchas discusiones sobre este tema para poder definir y describir el parámetro polaridad en cromatografía, podemos decir que la polaridad de una fase estacionaria líquida se refiere a las interacciones intermoleculares que involucra dipolos permanentes. Selectividad es definida como las diferentes atracciones intermoleculares. Varias cualidades ha de reunir un líquido para servir como fase estacionaria:

-Viscosidad

-Tensión Superficial

-Tensión de Vapor

-Selectividad respecto a los componentes de la fase móvil

-Reversibilidad del Reparto

-Estabilidad Térmica

- Soporte

La función básica del soporte es la de "mantener" (sostener, retener) la fase estacionaria. Idealmente debería ser un material inerte que "mantiene" la fase estacionaria sobre su superficie como una película delgada.

La mayoría de los soportes cromatográficos está hecha de diatomita. Químicamente es casi todo sílice, con algunas impurezas. También se conoce como Tierras Diatomáceas ó Kieselguhr (palabra alemana). Domina el campo de los soportes debido a su estructura, superficie y disponibilidad.

Hay que tener en cuenta dos cosas a la hora de escoger un soporte:

La Estructura, o Características Físicas (contribuye a la eficiencia de la columna cromatográfica):

- Tamaño de partícula

- Diámetro del poro

- Densidad

- Área Superficial

- La Química de Superficie o Características Superficiales (gobierna la participación del soporte en los resultados de la separación).

- Grupos silanoles activos

- Iones metálicos

Además de las características anteriores, la selección del soporte va a depender también de:

- Naturaleza de la muestra

- Naturaleza de la Fase Líquida

El uso que se le va a dar a la columna:

- General

- Específico

Podemos resumir que un buen soporte debe reunir las siguientes características:

- Elevada Superficie por unidad de volumen
- Estabilidad Térmica
- Dureza mecánica suficiente para que pueda resistir los procedimientos de revestimientos y relleno
- Inactividad química o de adsorción
- Baja resistencia al paso de la fase móvil

La eliminación o reducción de los sitios activos de adsorción (también conocido como Desactivación de la Superficie) de un soporte cromatográfico puede efectuarse de varias maneras:

- Remoción por lavado con ácido (NAW ó AW)
- Eliminación ó Remoción por reacción del Grupo Silanol
- Saturación de la superficie con una fase líquida
- Impregnando ó recubriendo con material sólido inerte.<sup>10</sup>

#### - Columna cromatográfica

Las columnas están hechas de cobre, acero inoxidable o tubos de vidrio, dobladas o enrolladas. Excepto para las de vidrio, las columnas son empacadas mientras se están doblando. Las columnas analíticas tienen una longitud de 1-6 m. de longitud y de 2-4 mm de diámetro. Según se encuentre en ella distribuida la fase estacionaria y el valor que alcance la relación de fases se originan los diferentes tipos de columnas. La separación de la mezcla se realiza dentro de la columna, por lo tanto, es la parte más importante del cromatógrafo. La primera columna utilizada fue una de relleno, posteriormente fue introducida la columna capilar, siendo así los dos extremos en la gama de columnas utilizadas en la cromatografía de gases. El

criterio para la diferenciación de columnas es con base en dos propiedades de éstas:

- Relación de fases: volumen de fase móvil/volumen de fase estacionaria;  $V_m/V_s$
- Permeabilidad: representada por una constante dependiente de las características geométricas de la columna;  $k$  Con base en estas dos características se encuentran los siguientes tipos de columnas, en las que  $V_m/V_s$  y  $k$  aumentan en orden progresivo:
  - Clásicas de relleno
  - Capilares rellenas
  - Capilares de capa porosa
  - Capilares abiertas

La elección de las columnas es lo más crítico, existen dos diferencias fundamentales que deben ser consideradas para la elección de la columna: la cantidad de muestra que admiten (capacidad de carga) y los valores de los flujos del gas portador. La capacidad de carga se define como la cantidad de muestra que se puede inyectar sin pérdida apreciable de eficacia y está relacionado con la cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud de la columna. Las columnas empaquetadas contienen un soporte sólido inerte con una cubierta delgada de la fase líquida. El soporte sólido es frecuentemente tierra de diatomeas. La fase líquida puede tener una viscosidad baja y una alta solubilidad para la mezcla de componentes. Las columnas de capilaridad originalmente contenían una película del líquido cubriendo la pared interna de la columna de vidrio o metal. Las columnas de capilaridad ahora contienen una capa de revestimiento sólido dentro de ella con poro en el centro. Estas columnas son mejores porque se les puede aplicar una velocidad óptima de

flujo más rápida (aprox. de 2- 5 ml por min en lugar de 1 ml por min). Debido a este tipo de columnas, los análisis han podido ser más sensibles. La cantidad de muestra que admite una columna capilar sin que sufra sobrecarga es mucho menor que en una columna clásica. La sobrecarga se alcanza cuando la concentración de soluto en la fase estacionaria es tan grande que la isoterma de distribución deja de ser lineal.

#### 1.- Columnas clásicas de relleno:

Constituidas por un tubo de metal o vidrio con relleno de soporte granular con la superficie recubierta por una película de la fase estacionaria. Longitud 1-10 m Diámetro interno 2-4 mm hasta 5 cm en escala preparativa Tamaño de la partícula de relleno diez veces menor que el diámetro del tubo Capacidad de carga grande Relación de fases pequeña Permeabilidad baja A mayor tamaño de partícula del relleno mayor será su permeabilidad, cuanto más rugosa sea su superficie mayor capacidad de carga se obtendrá. Por esta razón es el único tipo de columna que se usa a escala preparativa. La suspensión del soporte en la disolución de la fase estacionaria debe agitarse mecánicamente y, si es necesario, calentar ligeramente para evaporar la mayor parte del solvente. El tubo de la columna debe estar perfectamente limpio, para rellenarlo se debe introducir un extremo de ésta en el relleno preparado con la ayuda de un embudo, mientras que por el otro extremo se hace vacío con una bomba. Como tapones es conveniente utilizar lana de vidrio o cuarzo y una malla metálica fina.

## 2.- Columnas capilares rellenas

Se distinguen de las columnas clásicas de relleno por el diámetro interno del tubo, no excede un milímetro. Además, la relación entre los diámetros del tubo y de la partícula de relleno es del orden de tres a cinco veces. Esto hace que sea un relleno más irregular y una permeabilidad del orden de diez veces superior. Longitud de 10-50 m. Diámetro interno de 1 mm. Tamaño de la partícula de relleno de 3 a 5 veces Capacidad de carga pequeña Relación de fases grande Permeabilidad mayor que las clásicas Al ser mayor la permeabilidad puede construirse columnas más largas (10-50 m). Guichon (1966) y Halasz (1967) han hecho estudios muy detallados de este tipo de columna. Este tipo de columnas no está comercializado, debido a lo difícil de introducir un soporte en un tubo capilar metálico de esa longitud. Por el contrario, es más sencillo cuando se trata de tubos de vidrio. Se rellena un tubo Pyrex con el soporte elegido antes de estirarlo, entonces al capilar resultante contiene ya el soporte en su interior. La fase estacionaria se introduce de manera similar a las columnas capilares abiertas.

## 3.- Columnas capilares de capa porosa:

En este caso el soporte es depositado en la pared interior del tubo, después es recubierto por la fase estacionaria y la parte central del capilar permanece vacía. Longitud de 25-200 m Diámetro interno de 0.1-0.5 mm Tamaño de la partícula de relleno varía entre el de un soporte clásico y las partículas de carbono producidas por la pirólisis de una sustancia orgánica. Permeabilidad valores máximos (al igual que las capilares abiertas) El procedimiento dependerá de la naturaleza de la columna y del soporte. Columna metálica: se prepara una suspensión del soporte, se llena la columna con la suspensión, se cierra un

extremo y se evapora el agente dispersante quedando así adheridos a la pared del capilar. Columna de vidrio: similar al de columnas capilares rellenas. La diferencia consiste en introducir una varilla de acero inoxidable un el tubo de vidrio y situar el soporte entre ambos. Después se procede al estirado manteniendo fija la varilla.

#### 4.- Columnas capilares abiertas:

También conocidas como columnas Golay, quien fue el primero en utilizarla (Golay, 1958). La fase estacionaria va depositada en la pared interior del tubo que actúa como soporte. 13 Longitud hasta 200 m, los más utilizados varían entre 50-100 m Diámetro interno 0.1-0.5 mm Capacidad de carga muy pequeña Relación de fases es la más alta Debido a la pequeña cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud de la columna tiene una capacidad de carga muy pequeña. Necesita detectores más sensibles. La naturaleza del tubo y el procedimiento seguido para su limpieza son de gran importancia en este tipo de columnas, ya que la pared del mismo sirve como soporte y su capacidad de retención del solvente influirá notablemente en la uniformidad de la película formada. Uno de los métodos consiste en llenar el tubo con una disolución diluida de la fase estacionaria en un disolvente volátil, cerrar un extremo e introducirla en una estufa con una temperatura superior al punto de ebullición del solvente, la fase quedará depositada sobre la pared del capilar. Temperatura programada. Entre homólogos el tiempo de retención aumenta exponencialmente con el número de carbonos. Conforme aumenta el tiempo de retención, el ancho aumenta y la altura disminuye haciendo imposible la detección después de que algunos picos han eluído. Como la solubilidad de un

gas en un líquido disminuye conforme la temperatura se eleva, se puede reducir la retención de un material aumentando la temperatura de la columna. Se debe considerar la solubilidad, cambios en la volatilidad y estabilidad de los solutos, cambios en el flujo y estabilidad de la fase estacionaria. La temperatura debe de estar dentro de  $T_{min}/T_{max}$  de la columna. Algunos GC permiten programación más compleja que el simple incremento gradual de la temperatura. Determinar la temperatura inicial y el tiempo basado en la mejor separación posible de los primeros picos. Repetir uno para los últimos picos para encontrar la mejor temperatura y tiempo. Experimentar con varias rampas para el resto de los componentes. Los flujos del gas portador que se utilizan en columnas capilares suelen ser del orden de 0.5-3 ml/min, mientras que en una columna clásica ascienden a un orden de 30-100 ml/min. Para poder utilizar la columna capilar con éxito será necesario introducir entre el inyector y la columna un dispositivo denominado divisor de flujo, cuya finalidad es permitir la entrada en la columna de una pequeña fracción solamente del flujo que pasa por el sistema de inyección. La relación de división (flujo al exterior/flujo que pasa por la columna) suele oscilar entre 50 y 120. Esto permite disminuir la cantidad de muestra que pasa por la columna (que queda reducida a la fracción que indica la relación de división) y aumentar la velocidad lineal del gas portador en el sistema de inyección en la cantidad indicada por la relación de la división (la difusión molecular en esta parte del instrumento se hace muy pequeña).

Entre los factores que disminuyen la eficacia de una columna se encuentran:

Longitud de la columna. Limita en cuanto a las velocidades lineales del gas portador, originando

tiempos de análisis muy largos y sin mejorar la resolución.

Diámetro de la columna. Más importante en columnas capilares abiertas, por la resistencia que opone la fase móvil a la transferencia de masas.

Tamaño de la partícula de relleno.

Naturaleza de las fases. Fase estacionaria: no afecta.

Gas portador: viscosidad y valores del coeficiente de difusión en la fase móvil.

Cantidad de fase estacionaria. A menor cantidad mayor eficacia.

Temperatura de la columna. Al aumentar esta disminuye la eficacia al afectar directamente en el coeficiente de reparto.

Velocidad del gas portador. Una velocidad elevada es la óptima.

Cantidad de muestra inyectada.

#### - Detectores

Los detectores son dispositivos que indican y miden los solutos en la corriente del gas acarreador, convirtiendo una señal no medible directamente en una señal elaborable de una propiedad física. Esta señal es elaborada por una comparación entre el gas acarreador puro (blanco) y el mismo gas llevando cada uno de los componentes previamente separados en la columna, esto es traducido en una señal eléctrica que es amplificada y registrada al momento de salir de la columna. Un buen detector es altamente sensible (sensibilidad), tiene una respuesta lineal (linealidad) sobre un amplio rango de concentración y es relativamente insensible a variaciones de flujo y temperatura (rango dinámico lineal).<sup>9</sup>

- Características de los detectores

Sensibilidad: Medida de la efectividad de un detector para convertir la muestra en una señal eléctrica medible.

Linealidad: Rango de masa o concentración de muestra sobre el cual el detector mantiene una sensibilidad constante sin una desviación arbitraria. El significado práctico de la linealidad del detector es el que le indica al analista la concentración para la cual el detector es confiable. Hay dos límites en la curva de linealidad:

El límite de concentración inferior, que es dado por el límite de detección y,

El límite Superior, definido por un porcentaje de desviación arbitrario de la curva de linealidad, normalmente se toma un 5% de desviación.

Rango Dinámico Lineal: Rango sobre el cual la sensibilidad del detector es constante.

Ruido: Es cuantificado por el promedio de la amplitud pico-pico de la señal. El significado de conocer el nivel de ruido de un detector es un factor determinante en la determinación de la cantidad mínima detectable y el límite inferior del rango lineal.

Límite de Detección: Está definido como la mínima cantidad de sustancia que puede producir una señal que sea el doble del nivel de ruido.

Corriente de Fondo: Señal constante de salida generada por el proceso en el que un detector está operativo sin que alguna sustancia pasa a través de él. Esta señal es muy importante, ya que permite diagnosticar el buen o mal funcionamiento del detector.

- Pueden ser clasificados por:

Grado de selectividad: universales que responden a la mayoría de los solutos; específicos-selectivos con respuesta a un grupo particular de sustancias.

Recuperación de la muestra: en referencia a si la muestra es destruida o no.

Modo de respuesta: dependientes de flujo de masa (cantidad de soluto independientemente de la cantidad de gas portador); dependientes de concentración (cantidad de soluto por unidad de volumen de gas portador).

Proceso de detección: ionización; óptico-espectroscópico; electroquímico.

Los detectores más ampliamente utilizados son el detector de conductividad térmica (TCD) y el detector de ionización de flama (FID). [10](#)

#### I. Detector de conductividad térmica:

Consiste de dos celdas metálicas idénticas, cada una conteniendo un filamento de alambre de tungsteno o de tungsteno con lámina de oro. El efluente fluye a través de una celda y el gas portador (He o H<sub>2</sub>) fluye a través de la otra. En un lado de la muestra el gas fluye por el filamento mientras que en el lado de referencia el gas puede pasar sobre el alambre del filamento y difundir a través de él. Los filamentos son calentados por una corriente eléctrica. La temperatura del elemento censor depende de la conductividad térmica del gas que fluye alrededor. Cambios en conductividad térmica, como cuando las moléculas orgánicas desplazan un poco al gas portador, provocan un incremento en la temperatura del elemento el cual está siendo monitoreado como un cambio en la resistencia. Dos pares del TCD son utilizados en cromatógrafos de gases, un par localizado en la salida de la columna

para detectar los componentes separados mientras van saliendo, el otro par localizados antes del inyector o en una columna de referencia separando las resistencias de los dos pares y están acomodados en un circuito de puente. Para un máximo de sensibilidad, la temperatura del filamento es incrementada, la temperatura y la velocidad del flujo son disminuidas y se escoge un gas con mayor conductividad térmica (la mayoría de los gases orgánicos tienen calores de conductividad bajos). Este es un método no destructivo dependiente de concentración, con selectividad universal, con un límite de detección de ~400 pg/ml de gas portador. Su modo de detección es debido al cambio de resistencia del cable basado en la termoconductividad del gas cuando fluye a través de la columna

## II. Detector de ionización de flama

El FID consiste de una flama hidrógeno/aire y una placa colectora. Las muestras que salen de la columna pasan a través de la flama, la cual rompe las moléculas orgánicas y produce iones. Los iones son colectados en un electrodo parcial y produce una señal eléctrica. Es extremadamente sensible en un amplio rango dinámico. La única desventaja es que destruye la muestra. La muestra debe ser un combustible, esta entra en la base del detector, se mezcla con el hidrógeno y entra a la flama. Hay compuestos con poca o sin respuesta al FID, compuesto como el NH<sub>3</sub>, CS<sub>2</sub>, Nox, CO, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>, compuestos perhalogenados, etc. La respuesta está basada en el número de carbonos y otros elementos tales como halógenos y el oxígeno presentes que reducen la combustión.

Este es un método destructivo dependiente de flujo de masa, con selectividad para compuestos orgánicos,

con un límite de detección de ~ 100pg/seg. Su modo de detección es debido a la producción de iones en una flama resultando en una corriente que puede ser medida.

### III. Detector fotométrico de flama

Es uno de los más usados en los métodos selectivos de cromatografía de gases. El FPD consiste de una flama reductora que produce especies quimioluminiscentes. Estas especies emiten una luz característica que es óptimamente filtrada por la longitud de onda deseada, la cual determina que componentes son los detectados. La luz filtrada es medida por un fotomultiplicador (PMT) y transducida a una señal. Se puede agregar un segundo fotomultiplicador, el cual permite una detección simultánea de una segunda señal. Los filtros para FPD pueden ser seleccionados para diferentes componentes, pero los más comunes son para la detección de sulfurados y fosforados en mezclas complejas. La selectividad de FPD clásicos (como una porción por peso del carbono) es 105 para sulfurados y 106 para fosforados. La cromatografía de gases con FPD puede ser usada para detectar componentes sulfurados en extractos crudos de aceite y en contaminantes de gas natural. También puede ser utilizado para detectar pesticidas y herbicidas organofosforados, así como de componentes sulfurados volátiles en el análisis de alimentos. Este es un método destructivo dependiente de flujo de masa, con selectividad para S, P, Sn, B, As, Ge, Se, Cr; con un límite de detección de ~ 100pg/seg. Su modo de detección es debido a la producción longitudes de onda particulares resultando en una corriente que puede ser medida.

#### IV. Detector de captura de electrones

Es altamente sensible a compuestos halogenados y por lo tanto muy útil en la detección de pesticidas. Da un poco de respuesta a hidrocarburos y otros carbonilos conjugados. Para este tipo de cromatografía la muestra debe contener una fase gaseosa electrófora. Este es un sistema donde se detectan partículas  $\beta$  por absorción de especies que contienen halógenos, nitrilos, nitratos, organometales y dobles enlaces conjugados. Las partículas  $\beta$  son emitidas por una fuente de  $^{63}\text{Ni}$ , los electróforos las absorben reduciendo la corriente, siendo esta la base de la respuesta

#### V. Detector de fotoionización

Este tipo de detector es muy selectivo para los compuestos con hidrocarburos aromáticos o con heteroátomos, los cuales tienen potenciales de ionización. Utiliza luz ultravioleta para ionizar un analito, la longitud de onda oscila entre 106-150 nm. Los iones producidos son colectados por electrodos siendo la corriente generada una medida de la concentración del analito. Este es un método no destructivo dependiente de concentración, con selectividad para compuestos alifáticos, aromáticos, heterocíclicos, organosulfurados y algunos organometálicos, cetonas, ésteres, aldehídos y aminas; con un límite de detección de  $\sim 2\text{pg/seg}$ . Su modo de detección es debido a los potenciales de ionización de los compuestos analizados. [9](#)

#### - Cromatograma y su interpretación

Como ya se ha mencionado, la cromatografía es básicamente un método de separación, tal vez el más potente de que se puede disponer en un laboratorio,

aunque debe tenerse siempre en cuenta que la cromatografía, a efectos analíticos, es una ciencia ciega. Los métodos cromatográficos, por si mismos pueden informar, en el mejor de los casos, del número de compuestos químicos que están presentes en una mezcla pero nunca de proporcionar información sobre su naturaleza.<sup>12</sup>

Los siguientes términos son los utilizados en un cromatograma típico y recomendados por la IUPAC:

Line Base

Pico Cromatográfico

Base del Pico

Área del Pico

Altura del Pico

Ancho del Pico

Ancho del Pico a la mitad de la Altura

Medida de la Altura o Área de Pico

Altura del Pico: Medida que se efectúa, para cada pico de interés, desde la línea base hasta el máximo del pico.

Los errores de malas mediciones se pueden atribuir a:

Insuficiente Resolución

Variaciones en la línea base

Picos extremadamente pequeños

Las desviaciones en la línea base se pueden compensar por interpolación de ésta entre el principio y el final del pico.

Área del Pico.

Existen varias técnicas para la determinación del Área de un Pico Cromatográfico:

- Integración Manual
- Métodos Geométricos
- Triangulación: En esta técnica se trazan líneas tangentes a cada lado del pico. La altura se mide

desde la línea base hasta la intersección de las dos tangentes. El ancho se mide tomando la intersección de las dos líneas tangentes con la línea base. Luego se utiliza la fórmula  $A=1/2*Altura\ del\ Pico* Base\ del\ Pico$ . Las limitaciones de esta técnica están en el trazado de las líneas tangentes, un pequeño error al trazar las tangentes puede afectar la medida de la altura.

Altura por ancho a la mitad de la Altura:

- Métodos Mecánicos

- Planimétricos

Corte y Pesada: Esta técnica requiere recortar el pico del cromatograma, luego pesarlo en una balanza analítica. El recorte y pesada depende mucho de la habilidad del operador. Pueden introducirse errores por cambios en la humedad del papel, la grasa de las manos del operador, homogeneidad del papel. Generalmente se recomienda utilizar una fotocopia del cromatograma para no destruir el original.

Integración Automática

Electromecánica

Electrónica [10](#)

- Análisis cualitativo

Los cromatogramas se utilizan a menudo como criterio de pureza de compuestos orgánicos. Los contaminantes, si están presentes, se manifiestan por la aparición de picos adicionales; las áreas de estos picos proporcionan una estimación aproximada del grado de contaminación. La técnica también es útil para evaluar la efectividad de los procedimientos de purificación.

En teoría, los tiempos de retención deberían servir para la identificación de los componentes de una mezcla. Sin embargo, la aplicabilidad de tales datos está

limitada por el número de variables que han de controlarse para obtener resultados reproducibles. No obstante, la cromatografía de gases es un medio excelente para confirmar la presencia o ausencia de un supuesto componente en una mezcla, siempre que se disponga de un patrón. Tras la adición del compuesto conocido a la muestra, el cromatograma no debe presentar ningún pico nuevo, y debe observarse el aumento de alguno de los picos existentes. La prueba es particularmente convincente si el resultado se repite con columnas diferentes y a distintas temperaturas.

- Factores de selectividad

El factor de selectividad de una columna, como su nombre lo indica, es un término que define que tan selectiva es una columna para separar dos picos. Es de hacer notar, que la columna puede ser selectiva a una separación, que se identifica por un valor alto de este factor, pero si no se considera la mejora de los parámetros que pueden afectar el ancho de un pico, aun así no se lograría la separación de los mismos.

- Índice de retención

El índice de retención  $I$  fue propuesto por primera vez por Kovats en 1958 como un parámetro para identificar solutos a partir de los cromatogramas. El índice de retención para un soluto dado puede deducirse del cromatograma de una mezcla del soluto y de al menos dos alcanos normales (de cadena lineal) que tengan unos tiempos de retención tales, que el del soluto considerado quede entre los mismos. Esto es, los alcanos normales son los patrones en los que se basa la escala de índices de retención. Por definición, el índice de retención para un alcano normal es igual a 100 veces el número de carbonos del compuesto sin

considerar el relleno de la columna, la temperatura u otras condiciones cromatográficas. El índice de retención para todos aquellos compuestos que no sean alcanos normales varía, a menudo varios cientos de unidades de índice de retención, con las variables de la columna.

Es bien conocido que en una serie homóloga al representar el logaritmo del tiempo de retención ajustado frente al número de átomos de carbono se obtiene una gráfica lineal. Los índices de retención de un compuesto se deducen por interpolación a partir de un cromatograma de una mezcla del soluto de interés y dos o más alcanos.

Es importante subrayar que el índice de retención para un alcano normal es independiente de la temperatura y del relleno de la columna. Así, I para el heptano, por definición, siempre es 700. Por el contrario, los índices de retención de los demás solutos con frecuencia pueden variar considerablemente de una columna a otra. Por ejemplo, el índice de retención del acenafteno en una fase estacionaria de polidimetilsiloxano polimerizado, a 140 °C es 1460. Con 5% fenilpolidimetilsiloxano como fase estacionaria, a la misma temperatura resulta ser 1500, mientras que con polietilenglicol como fase estacionaria, el índice de retención es 2084.

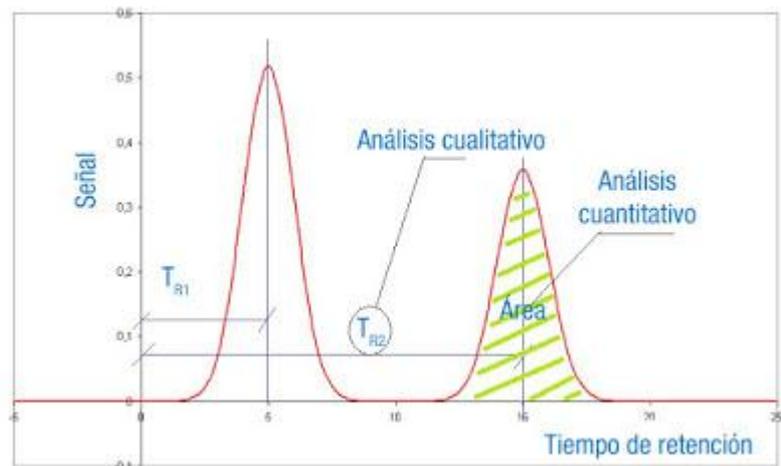
El sistema de índices de retención tiene la ventaja de basarse en materiales de referencia disponibles fácilmente que cubre un amplio intervalo de puntos de ebullición. Además, la dependencia de los índices de retención con la temperatura es relativamente pequeña.

[13](#)

- Análisis cuantitativo

El uso de la cromatografía se ha extendido en todo el mundo, en las últimas cuatro décadas, no solo por su capacidad de separar compuestos sino porque se puede realizar un análisis cuantitativo de las especies proporcionadas. En la cromatografía en columna, el análisis cuantitativo se basa en la comparación de la altura, o del área, del pico del analito con la de uno o más patrones inyectados bajo las mismas condiciones cromatográficas. El uso de una u otro termino dependerá de las características de la banda obtenida, aunque en la actualidad con el uso de sistemas de integración de área computarizados, la precisión es muy alta para el cálculo de área, sin embargo siempre es importante conocer las otras herramientas a utilizar para calcular el área de una banda y en qué momento es mejor usar altura en vez de área por si llega a faltar el sistema computarizado. <sup>14</sup>

**Figura N°4.** Análisis cualitativo y cuantitativo



Urbina vinos.2016

#### 2.2.5. Marco legal

Según la ley 29632 **Ley para erradicar la elaboración y comercialización de bebidas alcohólicas informales, adulteradas o no aptas para el consumo humano**, en el artículo 4 se indica que El Ministerio de la Producción y las direcciones regionales de producción implementan mecanismos de control y fiscalización de las actividades que tienen como insumo el alcohol etílico. Asimismo, se indica que estas imponen las sanciones administrativas respectivas, de acuerdo a su competencia.

El Ministerio de Salud, a través de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), interviene otorgando los registros sanitarios y supervisando el cumplimiento de las condiciones sanitarias de las bebidas alcohólicas y los demás productos destinados al consumo humano. Así mismo En el artículo 6 confiere que corresponde a las municipalidades provinciales normar y regular las medidas destinadas a la erradicación de la elaboración y comercialización de bebidas alcohólicas informales, adulteradas o no aptas para el consumo humano. Las municipalidades distritales ejercen la potestad sancionadora dentro de sus respectivas jurisdicciones.

En el artículo 8 hace referencia a cerca de las prohibiciones de:

- La fabricación, elaboración, manipuleo, mezcla, transformación, preparación, acondicionamiento, envasado, reenvasado, almacenamiento, transporte, comercialización, distribución, expendio, suministro, importación y exportación de bebidas alcohólicas informales, adulteradas o no aptas para el consumo humano.
- El comercio informal de bebidas alcohólicas.
- La fabricación, elaboración, manipuleo, mezcla, transformación, preparación, acondicionamiento, envase, reenvase, almacenamiento, transporte, comercialización, distribución, expendio y suministro de bebidas alcohólicas en establecimientos que, a pesar de no realizar actividad informal, no cumplen con las condiciones y requisitos sanitarios que

garanticen la salubridad e inocuidad del producto o que los titulares de tales actividades no cuenten con los permisos o autorizaciones necesarias para realizarlas. Finalmente en el artículo 9 detalla que en el ámbito de su jurisdicción y a través de sus órganos competentes, las municipalidades son las encargadas de la supervisión y control del cumplimiento de las disposiciones previstas en esta Ley, a través de inspecciones a los establecimientos que fabrican, distribuyen o comercializan bebidas alcohólicas. Estas inspecciones pueden ser de oficio o a instancia de parte. Las inspecciones solicitadas a instancia de parte son programadas por la autoridad municipal en caso de que reciba una denuncia sobre el incumplimiento de alguna de las prohibiciones previstas en el artículo 8°. El órgano de la municipalidad que efectúe la inspección realiza, cuando sea necesario, los análisis físico-químico y microbiológico de las bebidas alcohólicas muestreadas para su respectivo control. <sup>15</sup>

### 2.3. Definición de términos básicos

- Alcohol etílico.- Es aquel producto obtenido a partir de mostos de materias primas de origen agrícola, sometidos al proceso de fermentación alcohólica y posterior destilación. En caso de que se requiera, se denomina de acuerdo a la materia prima de la cual proviene. Su fórmula es  $C_2H_5OH$ . <sup>15</sup>
- Alcohol etílico industrial o de segunda.- Es aquel obtenido como subproducto del alcohol etílico y que posee un alto contenido de aldehídos y ésteres. <sup>15</sup>
- Bebida alcohólica.- Es aquel producto obtenido por procesos de fermentación principalmente alcohólica de la materia prima agrícola que sirve como base utilizando levaduras del género *Saccharomyces*, sometida o no a destilación, rectificación, redestilación, infusión, maceración o cocción en presencia de productos naturales, susceptible de ser añejada, que puede presentarse en mezclas de bebidas alcohólicas y puede estar

adicionada de ingredientes y aditivos permitidos por el organismo de control correspondiente, y con una graduación alcohólica de 0,5% Alc. Vol. a 55% Alc. Vol. Se clasifica de la forma siguiente: bebidas alcohólicas fermentadas, bebidas alcohólicas destiladas, bebidas alcohólicas preparadas y licores.

[15](#)

- Bebida alcohólica artesanal.- Es aquel producto obtenido por procesos de fermentación principalmente alcohólica de la materia prima agrícola sometida o no a destilación, rectificación, redestilación, infusión, maceración o cocción en presencia de productos naturales, susceptible de ser añejada, el cual se elabora con métodos caseros para uso y consumo exclusivo de su fabricante, sin fines comerciales.

[15](#)

- Bebida alcohólica informal.- Comprende todas las bebidas alcohólicas cuya procedencia es desconocida, así como aquellas industrializadas que no cuentan con registro sanitario otorgado por la autoridad de salud de nivel nacional.  
(15)

- Bebida alcohólica adulterada.- Es aquella que ha sido privada, parcial o totalmente, de sus elementos útiles o característicos, reemplazándolos o no por otros inertes o extraños de cualquier naturaleza para disimular u ocultar alteraciones, deficiente calidad de materias primas, defectos de elaboración, o para modificar la medida del producto.

[15](#)

- Bebida no apta para el consumo humano.- Es aquella que pone en riesgo la salud o integridad de los consumidores debido a que se encuentra contaminada, putrefacta, deteriorada o descompuesta.

[15](#)

- Comercio informal.- Constituye la comercialización, venta, suministro o expendio realizado por comerciantes en establecimientos que no cuentan con autorización municipal o, de forma ambulatoria, en la vía pública, o en campos feriales o

mercados sin autorización municipal. También es aquel que teniendo licencia de funcionamiento, vende, suministra, expende o comercializa alcohol etílico con fines de consumo humano, bebidas alcohólicas informales, adulteradas o no aptas para el consumo humano. <sup>15</sup>

- Alcohol puro o extra neutro: El que ha sido sometido a un proceso de rectificación de manera que su contenido total de impurezas sea inferior o igual a 35 mg por decímetro cúbico de alcohol anhidro y cuya destilación se ha efectuado a no menos de 96° alcoholimétricos. <sup>6</sup>
- Alcohol rectificado neutro: El sometido a un proceso de rectificación que tiene un contenido total de impurezas inferior o igual a 80 mg por decímetro cúbico de alcohol anhidro, y cuya destilación se ha efectuado a no menos de 95° alcoholimétricos. <sup>6</sup>
- Alcohol rectificado corriente: Aquel que, aun cuando se haya sometido a un proceso de rectificación tiene un contenido de impurezas entre 80 y 500 mg por decímetro cúbico de alcohol anhidro, cuya destilación se ha efectuado a no menos de 90° alcoholimétricos. <sup>6</sup>
- Adsorción: Fenómeno por el cual un sólido o un líquido atrae y retiene en su superficie gases, vapores, líquidos o cuerpos disueltos.
- Cromatograma: es el resultado gráfico de la cromatografía. conjunto de picos y línea base registrados
- Volatilidad: tendencia de una sustancia a pasar a fase vapor y se encuentra directamente relacionada con la presión de vapor de la misma.
- Polaridad: capacidad de una molécula para ejercer interacciones intermoleculares de naturaleza electrostática, debidas a una distribución asimétrica de las cargas eléctricas entre sus átomos.
- Permeabilidad: es la capacidad de un material para que un fluido lo atraviese sin alterar su estructura interna.
- Capilaridad: La capilaridad es una propiedad de los líquidos que depende de su tensión superficial (la cual, a su vez, depende de la

cohesión o fuerza intermolecular del líquido), que le confiere la capacidad de subir o bajar por un tubo capilar.

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.1. Tipo de investigación

#### 3.1.1 Método

##### **Científico-Inductivo-Descriptivo-Correlacional**

El método empleado es **Científico**, porque se demostró que hay metanol en los macerados y que se encontró por encima del límite permitido mediante un estudio sistemático. **Inductivo**, porque se estudia el metanol que es una parte de los análisis fisicoquímicos realizados a las bebidas alcohólicas. **Descriptivo**, porque registro lo que hay de metanol en los macerados, tal y cual como esta en mi realidad objetiva y utilice estadística de los datos a obtener. **Correlacional**, ya que la concentración de metanol depende de la preparación de los licores macerados y los resultados se compararon con la Norma Técnica Peruana.

#### 3.1.2 Técnica

La técnica utilizada para determinar metanol en macerados fue por cromatografía gaseosa según la NTP 211.035:2015. Las determinaciones de metanol se realizaron en el cromatógrafo de gases del Laboratorio Certilab A.P., el cual posee un detector FID y un sistema de inyección manual. El horno estaba equipado con una columna capilar de Una columna de CP-WAX 57 CB1 de 50 m x 0,32 mm d.i., con una película de 0,2  $\mu\text{m}$  de espesor (polietilenglicol estabilizado) seguida por una columna de Carbowax 4001 de 50 m x 0,32 mm d.i. con una película de 0,2  $\mu\text{m}$  de espesor. (Las columnas se conectan mediante piezas de presión). la fase móvil utilizada fue helio.

La técnica consiste en la inyección de una pequeña cantidad de muestra en el inyector de un cromatógrafo de gases, en el que los componentes de la muestra son vaporizados y transportados por un gas inerte a través de una columna capilar con un líquido de partición que presenta solubilidad

selectiva con los componentes de la muestra, ocasionando su separación. Los componentes que eluyen de la columna pasan por el detector, el cual genera una señal eléctrica proporcional a su concentración, la que es transformada en una gráfica llamada cromatograma, en donde idealmente, cada componente va a estar representado por una banda o pico de forma gaussiana; esta serie de picos sirven como base para los análisis cualitativo y cuantitativo.

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

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

#### - CONDICIONES DE OPERACIÓN

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

- Temperatura del inyector 150°C
- Temperatura del detector 250°C
- Cantidad de muestra inyectada 1µL
- Flujo del gas portador 10 mL/min.
- Temperatura de la columna, en este caso se procede a programarla de la siguiente forma: comenzamos con una temperatura inicial de 60°C manteniéndola en este valor por 2 minutos, proseguimos con un aumento lineal de 10°C por minuto hasta llegar a una temperatura final de 150°C.

### 3.1.3 Diseño

#### **No experimental – transversal**

El diseño empleado es **No experimental**, porque solo se evaluaron los macerados mediante análisis y no tuve control sobre mis variables. **Transversal**, porque el trabajo de investigación se realizó del mes de julio a octubre del 2016.

### 3.2. Población y muestreo de la investigación

#### 3.2.1. Población

Macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios.

#### 3.2.2. Muestra

Se trabajó con 1 muestra de los siguientes licores macerados:

Eucalipto, maracuyá, damasco, fresa, mandarina, muña, maca, jengibre, mora y r.c

### 3.3. Variable e indicadores

<b>Variable Independiente (X)</b>	<b>Indicadores</b>
Macerados comercializados en la avenida Aviación.	Adulterado
	Buena calidad
<b>Variable dependiente (Y)</b>	<b>Indicador</b>
Concentración de metanol	$\leq 100\text{mg}/100\text{ml}$ (*)

(\*)Límite máximo permitido según NTP 211.009:2012.

### 3.4. Técnica e instrumento de recolección de datos

#### 3.4.1. Técnica

La técnica aplicada fue por muestreo aleatorio no probabilístico y se recolectaron en los diferentes establecimientos que las comercializaban en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios.

Se trabajó con los siguientes licores macerados: Eucalipto, maracuyá, damasco, fresa, mandarina, muña, maca, jengibre, mora y r.c. Se hizo análisis por duplicado de cada muestra, siendo un total de 20 análisis.

#### 3.4.2. Instrumentos

- Instrumento Cromatógrafo de Gases.
- NTP 211.009 2012. BEBIDAS ALCOHÓLICAS. Licores. Requisitos.
- NTP 211.035:2015 BEBIDAS ALCOHÓLICAS. Determinación de metanol y de congéneres en bebidas alcohólicas y en alcohol etílico empleado en su elaboración, mediante cromatografía de gases.

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

#### 4.1 Resultados

Para calcular la concentración promedio de metanol en una muestra de bebida alcohólica se procede de la siguiente manera: se inyecta la muestra de macerado en el cromatógrafo de gases donde obtendremos datos de tiempo de retención y áreas correspondientes a cada macerado representados como picos en el cromatograma.

A continuación se presentan los cuadros estadísticos, gráficos acerca de los resultados obtenidos de metanol en las muestras de licores macerados.

En el cuadro N°2 se presenta los resultados de la determinación de metanol realizado en el Laboratorio Certilab A.P. en muestras de licores macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios indicando el área de cada muestra por duplicado, el área del patrón estándar interno (3-pentanol) y las concentraciones de metanol correspondientes de cada macerado.

**Cuadro N°2.** Evaluación de metanol en licores macerados

MUESTRA	BEBIDA	ÁREA MUESTRA	ÁREA PATRON	[ ] metanol %	[ ] metanol mg/100ml
Muestra1	Macerado R.C	8.93145	5.55993	0.14	141.67
Muestra1	Macerado R.C	8.99328	5.55993	0.15	150.38
Muestra1	macerado R.C	-	Promedio	-	146.03
Muestra2	Macerado eucalipto	10.2514	5.55993	0.21	211.6

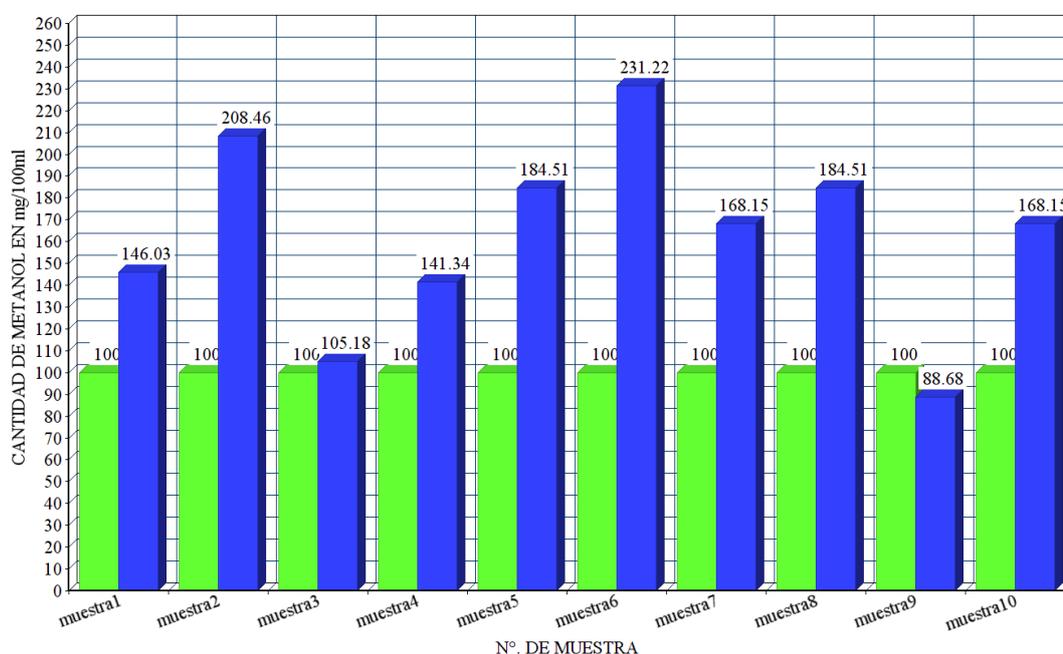
Muestra2	Macerado eucalipto	10.2001	5.55993	0.21	205.31
Muestra2	Macerado eucalipto	-	Promedio	-	208.46
Muestra3	Macerado fresa	7.16163	5.55993	0.10	101.74
Muestra3	Macerado fresa	7.19325	5.55993	0.11	108.61
Muestra3	Macerado fresa	-	Promedio	-	105.18
Muestra4	Macerado maracuyá	8.94582	5.55993	0.14	143.6
Muestra4	Macerado maracuyá	8.8863	5.55993	0.14	139.07
Muestra4	macerado maracuyá	-	Promedio	-	141.34
Muestra5	Macerado jengibre	9.5321	5.55993	0.19	187.68
Muestra5	Macerado jengibre	9.49427	5.55993	0.18	181.33
Muestra5	Macerado jengibre	-	Promedio	-	184.51
Muestra6	Macerado muña-muña	10.8996	5.55993	0.23	233.41
Muestra6	Macerado muña-muña	10.8514	5.55993	0.23	229.02
Muestra6	Macerado muña-muña	-	Promedio	-	231.22
Muestra7	Macerado mora	9.0693	5.55993	0.17	165.38
Muestra7	Macerado	9.1215	5.55993	0.17	170.91

	mora				
Muestra7	macerado mora	-	Promedio	-	168.15
Muestra8	Macerado maca y guarnapo	9.01117	5.55993	0.15	153.62
Muestra8	Macerado maca y guarnapo	9.03127	5.55993	0.16	156.74
Muestra8	Macerado maca y guarnapo	-	Promedio	-	184.51
Muestra9	Macerado damasco	6.92258	5.55993	0.091	91.61
Muestra9	Macerado damasco	6.88132	5.55993	0.85	85.74
Muestra9	Macerado damasco	-	Promedio	-	88.68
Muestra10	Macerado naranja y mandarina	9.0693	5.55993	0.17	165.38
Muestra10	Macerado naranja y mandarina	9.1215	5.55993	0.17	170.91
Muestra10	macerado naranja y mandarina	-	Promedio	-	168.15

**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico N°1 indica la concentración de metanol de cada licor macerado con respecto al límite máximo permitido (100mg/100ml) según la NTP 211.009:2012.

**Gráfico N°1. Concentración de metanol en licores macerados**



**Fuente:** Elaboración propia

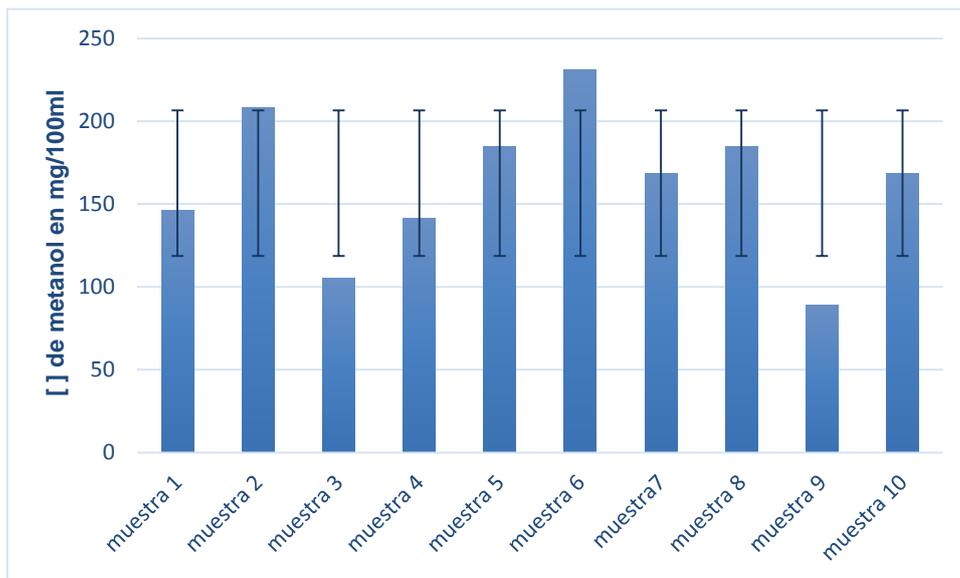
**Cuadro N°3** Datos estadísticos obtenido de los resultados

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
<b>Media aritmética</b>	162.623
<b>Mediana</b>	168.150
<b>Modas</b>	168.15 , 184.51
<b>Menor valor</b>	88.68
<b>Mayor valor</b>	231.22
<b>Varianza</b>	1732.13
<b>Desviación estándar</b>	41.61

**Límite máximo permisible de metanol**

**Fuente:** Elaboración propia

**Grafico N°2.** Desviación estándar de los resultados



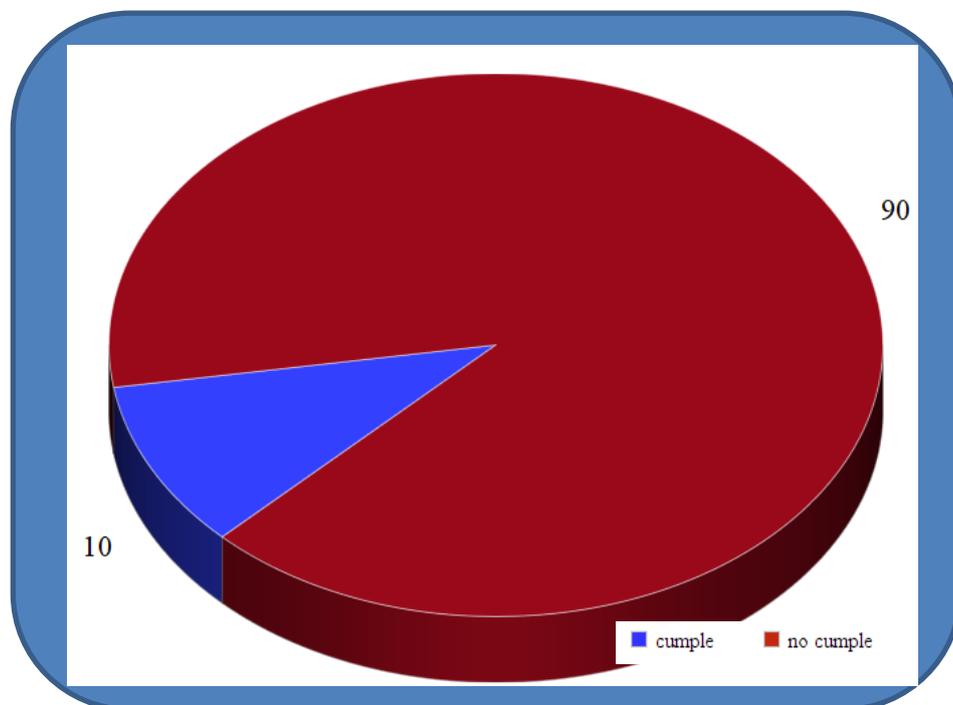
**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro N°4.** Cumplimiento del Reglamento según la NTP 211.009:2012 por cromatografía gaseosa.

MUESTRA	NORMA
1	NO CUMPLE
2	NO CUMPLE
3	NO CUMPLE
4	NO CUMPLE
5	NO CUMPLE
6	NO CUMPLE
7	NO CUMPLE
8	NO CUMPLE
9	CUMPLE
10	NO CUMPLE

**Fuente:** Elaboración propia

**Gráfico N°3** Evaluación del cumplimiento de la NTP 211.009:2012 para licores macerados



**Fuente:** Elaboración propia

#### 4.2 Análisis e interpretación de resultados

Según los resultados, el 90% de los macerados analizados salió por encima del límite permitido de metanol por una posible destilación sin un estricto control por parte de DIGESA, municipalidades provinciales y distritales y la policía fiscal, ya que la mayoría de productores en el Perú obtienen el alcohol de manera artesanal o se obtiene de contrabando con una consecuente transformación a productos macerados con un alcohol adulterado, lo que conllevaría a un producto con una elevada cantidad de metanol que sobrepasa los límites permitidos, según los requisitos establecidos por la NTP 211.009:2012.

## DISCUSIÓN

La investigación fue realizada analizando 10 muestras y la concentración de metanol hallada en todas las muestras fue variable desde 88.68mg/100ml hasta un máximo de 231.22mg/100ml y según la desviación estándar, los datos se dispersan en 43.870 de acuerdo a la media muestral de 162.623, sobrepasa en 62.623 al límite máximo permisible de 100mg/100ml según Norma Peruana. En el trabajo de Quispe Montalvo, los resultados de la cuantificación de metanol en licores expendidos en clubes nocturnos del centro de Huancayo estuvieron dentro del límite permisible de metanol y a comparación del presente trabajo, se cuantifico con el método colorimétrico. A pesar de no haber un estricto control por parte de las autoridades, estos licores cumplen con el límite permisible de metanol especificado en la norma vigente.

A nivel internacional y con las mismas condiciones de trabajo (muestreo aleatorio y cuantificación de metanol por cromatografía gaseosa); en el trabajo de Leal Granadillo, Iván y Medina, Juan reportaron cantidades de metanol comprendidos entre 5.27 y 9.11 mg/100ml y se encuentra dentro del límite permitido por la Norma Venezolana; en otro trabajo de investigación Catota Pineda, Mario Stanley y Guzman Alfaro, Javier Antonio reportaron la presencia de metanol en licores en concentraciones desde 0.91mg/100ml hasta un máximo de 9.68mg/100ml obteniendo una media muestral de 2.86mg/100ml estando dentro del límite máximo permisible según Norma Salvadoreña. Los resultados de concentración de metanol obtenidos en el presente trabajo de investigación están muy por encima de la Norma Salvadoreña (3mg/100ml) y la Norma Venezolana (25mg/100ml) inclusive de la misma Norma Técnica Peruana (100mg/100ml), que en el límite máximo permisible hay una diferencia abismal y esto hace pensar que el alcohol utilizado para los licores, probablemente sea más barato o que han utilizado alcohol industrial no apto para el consumo humano y no cumplen los estándares de calidad establecidos y por consecuente, genera serios problemas en la salud.

La comparación de los resultados se hace con las siguientes normas internacionales, ya que hay diferencias significativas: el límite máximo

permisible en la norma técnica peruana es de 100mg/100ml, mientras la venezolana es de 25mg/100ml y la salvadoreña es de 3mg/100ml. De esto se deduce que en estos países tienen mucho más cuidado y conciencia de los daños que podrían causar al llegar a la dosis tóxica mínima de metanol en el organismo humano que es a partir de 100mg/kg.

En el año 2007 en el Perú, Monasterio Muñoz I. realizó un estudio para la elaboración y propuesta de normas técnicas peruanas de aguardiente de uva, macerados de damascos y brandy con el fin de elaborar nuevas normas técnicas para que haya un mejor control por parte de las autoridades y que los productores sepan de los daños ocasionados por el metanol y así se puedan guiar de una norma con requisitos establecidos; pero aun con estos niveles de metanol establecidos por las consecuentes normas (NTP 212.043:2010, NTP212.045:2010 y NTP211.009:2012), se llegaría fácilmente a la dosis tóxica mínima de metanol establecida (100mg/kg).

## CONCLUSIONES

- La concentración de metanol obtenida en las muestras fue variable, desde 88.68mg/100ml hasta un máximo de 231.22mg/100ml.
- El 90% de los licores macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios de Agosto – Octubre del presente año, no cumplen con la Norma Técnica Peruana 211.009:2012 que establece un límite máximo permisible de 100mg/ml de metanol.
- La NTP 211.009:2012 no es muy estricta con los niveles permitidos de metanol en licores a comparación de las normas técnicas de los países de la región.

## RECOMENDACIONES

- Las municipalidades provinciales y distritales conjuntamente con la policía deberían realizar operativos fiscalizadores con mayor frecuencia en lugares sospechosos, previo estudio; donde vendan bebidas alcohólicas adulteradas o de contrabando.
- El organismo regulador debería reconsiderar disminuir el límite máximo de metanol comparado con las distintas normas de los países de la región. Continuar con estudios de este tipo que tomen en cuenta mayor número de muestras, en otros lugares de lima o del interior del país en donde se sospeche el expendio de bebidas alcohólicas artesanales clandestinas o se vendan de contrabando, ya que es un problema muy común en nuestro medio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Glosario de términos de alcohol y drogas. 1994. [Sitio en internet]. Disponible en:  
[http://www.who.int/substance\\_abuse/terminology/lexicon\\_alcohol\\_d\\_rugs\\_spanish.pdf](http://www.who.int/substance_abuse/terminology/lexicon_alcohol_d_rugs_spanish.pdf)
2. Romero Lozano CA. Elaboración de macerados y mistelas con especies vegetales disponibles en la provincia del Azuay. [Tesis para Licenciatura]. Cuenca: Carrera de Gastronomía, Facultad de Ciencias de la Hospitalidad, Universidad de Cuenca; 2013.
3. Muños Orozco J. Las bebidas alcohólicas en la historia de la humanidad. 2010. [Sitio en internet]. Disponible en:  
<http://www.medigraphic.com/pdfs/aapaunam/pa-2010/pae101i.pdf>
4. Internelia Network S.L. Bebidas espirituosas. 2016. [Sitio en internet]. Disponible en: <http://www.bebidasespirituosas.net/>
5. Ancap. Clasificación de bebidas alcohólicas destiladas. 2008. [Sitio en internet]. Disponible en:  
[http://www.ancap.com.uy/docs\\_concursos/ARCHIVOS/2%20LLAMADOS%20FINALIZADOS/2013/REF%2029\\_2013%20%20%20INSPECTOR%20COMBUSTIBLES%20Y%20ALCOHOLES%20JUNIOR/MATERIAL%20DE%20ESTUDIO/LOS%20CONTROLES/CLASIFICACION%20DE%20BEBIDAS%20ALCOHOLICAS%20DESTILADAS.PDF](http://www.ancap.com.uy/docs_concursos/ARCHIVOS/2%20LLAMADOS%20FINALIZADOS/2013/REF%2029_2013%20%20%20INSPECTOR%20COMBUSTIBLES%20Y%20ALCOHOLES%20JUNIOR/MATERIAL%20DE%20ESTUDIO/LOS%20CONTROLES/CLASIFICACION%20DE%20BEBIDAS%20ALCOHOLICAS%20DESTILADAS.PDF)
6. Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias – INDECOPI. BEBIDAS ALCOHÓLICAS. Licores. Requisitos. 2012. [Sitio en internet]. Disponible en:  
<https://www.dropbox.com/s/xghwtzi7s9zkndo/211009%20Licores.pdf?dl=0>

7. Niño Narciso DF, Velandia Ortiz JN. Estudio descriptivo de las intoxicaciones por metanol reportadas en Sivigila 2010-2011 en Colombia. [Tesis Titulación]. Bogotá D.C.: Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2014.
8. Guerrero Salcedo A. Intoxicación masiva con bebidas alcohólicas adulteradas con metanol. [Sitio en internet]. Disponible en: [alcoholinformate.org.mx/pdfdocument.cfm?articleid=453&catID=9](http://alcoholinformate.org.mx/pdfdocument.cfm?articleid=453&catID=9)
9. Olgúin Pérez LP, Rodríguez Magadan HM. Cromatografía de Gases. 2004. [Sitio en internet]. Disponible en: [http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia\\_de\\_gases.pdf](http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf)
10. Cromatografía de gases. [Sitio en internet]. Disponible en: <http://www.relaq.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/Gas.htm>
11. Jimenez Muñoz C. Análisis instrumental Cromatografía. 2015. [Sitio en internet]. Disponible en: <http://documents.mx/documents/investigacion-de-cromatografia.html>
12. Principios de cromatografía. [Sitio en internet]. Disponible en: [http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/principios\\_de\\_cromatografia.pdf](http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/principios_de_cromatografia.pdf)
13. Gomis Yagües V. Cromatografía de gases. 2008. [Sitio en internet]. Disponible en: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8247/3/T3gascromat.doc>
14. Guía de cromatografía. 2008. [Sitio en internet]. Disponible en: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia%20para%20cromatografia.pdf>
15. Perú. Ministerio de producción. Decreto Supremo 005 de 2013 Ley N° 29632, Ley para erradicar la elaboración y comercialización de

bebidas alcoholicas informales, adulteradas o no aptas para el consumo humano. Lima: El Ministerio; 2013.

## ANEXOS

### Anexo 01: Matriz de consistencia

#### TITULO: METANOL EN LICORES MACERADOS

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS	VARIABLE	MÉTODO DE DISEÑO DE INVESTIGACION	Y DE
¿Cuál será la concentración del congénere alcohol metílico en licores macerados, comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios de Julio – Octubre, 2016?	<b>O.G.:</b> Determinar la concentración de metanol en licores macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios de julio – octubre, 2016.	<b>H.G.:</b> Las concentraciones de metanol en licores macerados sobrepasarían los límites máximos permitidos por la NTP 211.009:2012.	<b>Variable independiente (X)</b> Macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios. <b>Variable dependiente (Y)</b> Concentración de metanol  <b>Indicadores:</b> X1: Adulterados X2: Buena calidad <b>Indicadores:</b> Y: >100mg/100ml	<b>Método de investigación:</b> -Científico -Inductivo -Descriptivo -Correlacional  <b>Diseño de investigación:</b> -No experimental -Transversal	<b>Población:</b> Macerados comercializados en la feria nacional de artesanía de los deseos y misterios.  <b>Muestra:</b> Se trabajó con 1 muestra de los siguientes licores macerados: Eucalipto, maracuyá, damasco, fresa, mandarina, muña, maca, jengibre, mora y r.c
	<b>Objetivos específicos</b>	<b>Hipótesis específicas</b>			
	<b>O.E.1:</b> Cuantificar la presencia de metanol en licores macerados, por Cromatografía Gaseosa. <b>O.E.2:</b> Verificar si la concentración de metanol en licores macerados se encuentra por encima del límite máximo permitido según la NTP 211.009:2012.	<b>H.E.1.:</b> El método por Cromatografía Gaseosa permitiría cuantificar la presencia de metanol en licores macerados. <b>H.E.2.:</b> Se verificará los resultados a obtener con la NTP 211.009:2012.			

**Anexo 02: Identificación de los licores macerados**

<b>Nombre</b>	<b>Imagen</b>
<p data-bbox="284 622 724 656"><b>Licor macerado de eucalipto</b></p>	
<p data-bbox="284 1350 730 1384"><b>Licor macerado de maracuyá</b></p>	

**Licor macerado de damasco**



**Licor macerado de fresa**



**Licor macerado de R.C**



**Licor macerado de naranja y mandarina**



**Licor macerado de muña muña**



**Licor macerado de maca y guarnapo**



**Licor macerado de jengibre**



**Licor macerado de mora**



**Anexo 03:** Norma Técnica Peruana 211.009:2012 – Requisitos Físicoquímicos  
(pág. 10)

**7.2 Requisitos físicoquímicos**

<b>Requisitos</b>	<b>Valores Límite</b>	<b>Métodos de ensayo</b>
Grado alcohólico a 20 °C , % Alc.Vol. <sup>1</sup>	Mín. 15 Máx. 45	NTP 211.004 o NTP 210.003
Metanol como metanol, (*)	Máx. 100	NTP 210.022 o NTP 211.035
Furfural como furfural, (*)	Máx. 10	NTP 210.025 o NTP 211.035
Azúcares totales como azúcares reductores, g/L - Licor Seco - Licor Dulce - Licor Crema	Máx. 50 Mín. 50, Máx. 250 Mín. 250	NTP 211.045
Aldehidos como acetaldehidos (*)	Máx 50	NTP 210.025 o NTP 211.051
Suma de componentes volátiles diferentes al alcohol etílico, <sup>2</sup> (*)	Máx. 500	NTP 211.040, NTP 211.051, NTP 210.022, NTP 211.003, NTP 210.021, NTP 210.025 ó NTP 211.035
(*) : Expresado en mg/100 mL AA		
<sup>1</sup> En cuanto al grado alcohólico indicado en el rotulado, se permitirá una tolerancia de $\pm 1$ % Alc. Vol.		
<sup>2</sup> La determinación de componentes volátiles se realiza con la suma de los resultados de: aldehídos, ésteres, metanol, alcoholes superiores, acidez volátil y furfural.		

**Anexo 04:** Evidencia muestral - feria nacional de artesanía de los deseos y misterios.



**Anexo 05: Evidencia muestral – compra de licores macerados.**

