

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS



DETERMINACIÓN DE CONGÉNERES (ESTERES Y ALDEHÍDOS) EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS DESTILADAS EMPLEANDO UNA TÉCNICA VOLUMÉTRICA

POR: FANIA HUMEREZ HUARACHI

TUTOR: DR. RÓMULO GEMIO SIÑANI

CO-TUTORA: DRA. YOLANDA MACHICAO

TRIBUNAL: DR. RIGOBERTO CHOQUE ASPIAZU

LA PAZ BOLIVIA

2018

DEDICATORIA

A mis padres y hermano, que son lo más importante en mi vida.

AGRADECIMIENTO

A mis padres, Félix y Victoria que han sabido guiarme, estar a mi lado e incentivarme a ser perseverante ya mi querido hermanito Milton Ariel ellos han sido mi apoyo en todas las etapas de mi vida profesional, les agradezco infinitamente.

También agradezco a mis amigos y demás familiares que siempre han estado ahí con sus comentarios positivos.

A mi Tutor de proyecto de grado el Doctor Rómulo Gemio Siñani, quien ha tenido la paciencia y la voluntad de guiarme en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Además agradezco a los docentes de la Carrera de Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés, que han impartido sus conocimientos y han creado en mí un gran amor y compromiso por mi carrera profesional.

A mis compañeros de la carrera, con quienes compartí muchas experiencias, logros, llantos, risas y ocurrencias, que han hecho de esta etapa una de las más importantes en mi vida.

Finalmente quiero agradecer a la Doctora Yolanda Machicao del laboratorio de toxicología y química IITCUP de la Academia de Policía Boliviana quien me colaboro de la mejor manera y gracias a ella he podido llevar a cabo mi trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS GENERALES

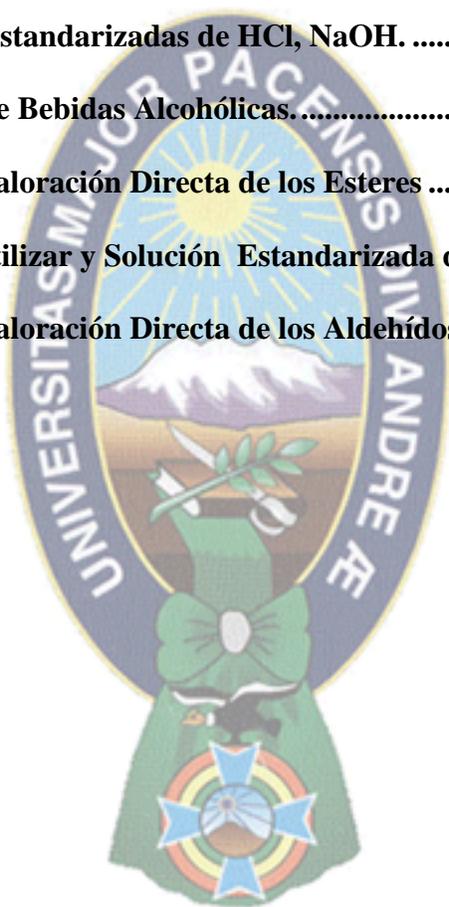
CAPITULO I	1
ANTECEDENTE	1
1.1. INTRODUCCIÓN	2
1.2. ANTECEDENTES	4
1.3. JUSTIFICACIÓN	7
1.4. OBJETIVOS	8
1.4.1. OBJETIVO GENERAL.....	8
1.4.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS.....	8
CAPITULO II	9
MARCO TEÓRICO	9
2.1. BEBIDAS ALCOHÓLICAS	10
2.1.1. CLASIFICACIÓN DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS.....	11
2.1.2 PRODUCTOS CONGÉNERES EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS	13
2.1.3. FORMACIÓN DE ÉSTERES EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS	13
2.1.4. FORMACIÓN DE ALDEHÍDOS EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS	15
CAPITULO III	17
METODOLOGÍA	17
3.2. TOMA DE MUESTRA	18
3.3 ANÁLISIS QUÍMICOS	19
3.3.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	20
3.3.2. DETERMINACIÓN DE ESTERES (ACETATO DE ETILO)	22
3.3.2 DETERMINACIÓN DE ALDEHÍDOS (ACETALDEHÍDO)	26
CAPITULO IV	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1. DETERMINACIÓN DE ACETATO DE ETILO	30
4.2. DETERMINACIÓN DE ACETALDEHÍDO	32
CAPITULO V	34

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
5.1. CONCLUSIONES.....	35
5.2 RECOMENDACIONES.....	35
CAPITULO VI.....	36
BIBLIOGRAFÍA.....	36
CAPITULO VII.....	40
ANEXOS	40
7.1. NORMAS Y LEYES.....	41
7.1.1. NORMA INTERNACIONAL-NORMA OFICIAL MEXICANA	41
7.1.2. NORMA NACIONAL IBNORCA.....	43



ÍNDICE DE IMAGEN

IMAGEN 1: Toma de muestra de bebidas alcohólicas más consumidas	18
IMAGEN 2: Análisis Químico en Lab. De Físicoquímica Orgánica	19
IMAGEN 3: Análisis Químico en Lab. De Toxicología	19
IMAGEN 4: Muestras de Bebidas Alcohólicas en el Laboratorio	20
IMAGEN 5: Soluciones Estandarizadas de HCl, NaOH.	23
IMAGEN 6: Destilación de Bebidas Alcohólicas.	24
IMAGEN 7: Método de Valoración Directa de los Esteres	25
IMAGEN 8: Solución a Utilizar y Solución Estandarizada de $S_2O_3^{2-}$	27
IMAGEN 9: Método de Valoración Directa de los Aldehídos.....	28



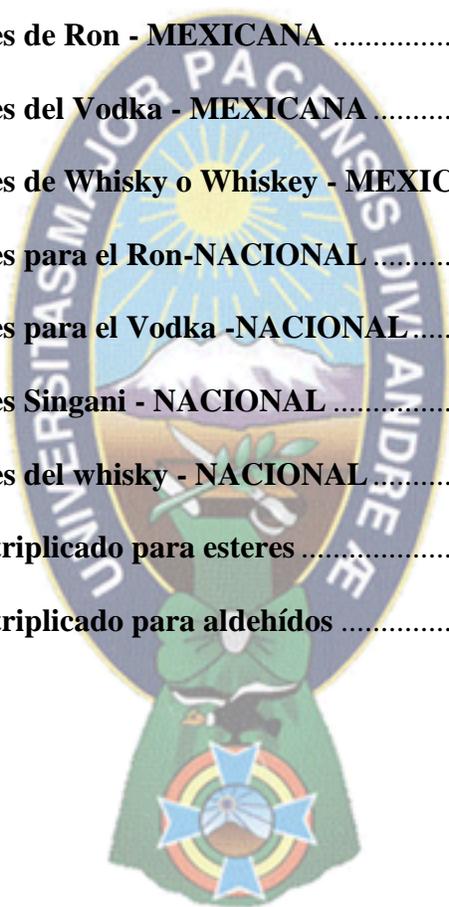
ÍNDICE DE CUADRO

CUADRO 1 : Métodos para determinación de congéneres en alcohol.....	6
CUADRO 2: Materia prima de bebidas fermentadas.....	11
CUADRO 3: Materia prima de bebidas destiladas.....	12
CUADRO 4: Descripción de las Muestras a Analizar.....	21



ÍNDICE DE TABLA

TABLA 1: Comparación de rango de concentración de acetato de etilo con las normas nacional e internacional.	30
TABLA 2: Comparación de rango de concentración para aldehídos con las normas nacional e internacional.	33
TABLA 3: Especificaciones de Ron - MEXICANA	41
TABLA 4: Especificaciones del Vodka - MEXICANA	42
TABLA 5: Especificaciones de Whisky o Whiskey - MEXICANA	42
TABLA 6: Especificaciones para el Ron-NACIONAL	43
TABLA 7: Especificaciones para el Vodka -NACIONAL	44
TABLA 8: Especificaciones Singani - NACIONAL	44
TABLA 9: Especificaciones del whisky - NACIONAL	45
TABLA 10: Cálculos por triplicado para esteres	46
TABLA 11: Cálculos por triplicado para aldehídos	47



ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: NORMA MEXICANA REQUISITOS	41
ANEXO 2: NORMA NACIONAL REQUISITOS.....	43
ANEXO 3: CÁLCULOS POR TRIPLICADO PARA IDENTIFICACIÓN DE ÉSTER	46
ANEXO 4: CÁLCULOS POR TRIPLICADO PARA IDENTIFICACIÓN DE ALDEHÍDO	47



RESUMEN

Las bebidas alcohólicas son una mezcla de diferentes compuestos orgánicos, como: alcoholes, aldehídos, ésteres, cetonas y en mayor cantidad está el etanol. El compuesto que da a la bebida alcohólica características organolépticas en sabor y olor es el acetato de etilo; el acetaldehído, subproducto de la fermentación y destilación, es el que ha sido utilizado como saborizante de las bebidas alcohólicas.

El objetivo de la investigación es encontrar un método sencillo, barato y económicamente viable, como la valoración redox por yodométrica empleando bisulfito de sodio para la determinación de aldehídos con base en la norma mexicana NMX-V-005-1980 y la valoración ácido base realizando la saponificación con hidróxido de sodio para la determinación de ésteres con base en la norma boliviana NB-206 (IBNORCA), para la identificación en las bebidas alcohólicas.

El contenido de ésteres en las bebidas alcohólicas se encuentran en un rango de (218,54 - 9260,58) mg/L. y el contenido de aldehídos se encuentra en un rango de (72,22 - 115,56) mg/L.

Existen muchas bebidas alcohólicas sin marca que están dentro de las normas permitidas de la nacional y mexicana, pero también existen bebidas que superan estos límites. Las muestras de las bebidas alcohólicas analizadas "M-1", "M-2" y "M-12", son las que estarían dentro las permitidas por la norma. Y las muestras de las otras bebidas analizadas como "M-3", "M-4", "M-5", "M-6", "M-7", "M-8", "M-9" y "M-10", no están dentro las permitidas para su consumo.

PALABRAS CLAVE: ACETATO DE ETILO, ALDEHÍDOS, CONGÉNERES, BEBIDAS ALCOHÓLICAS DESTILADAS.

SUMMARY

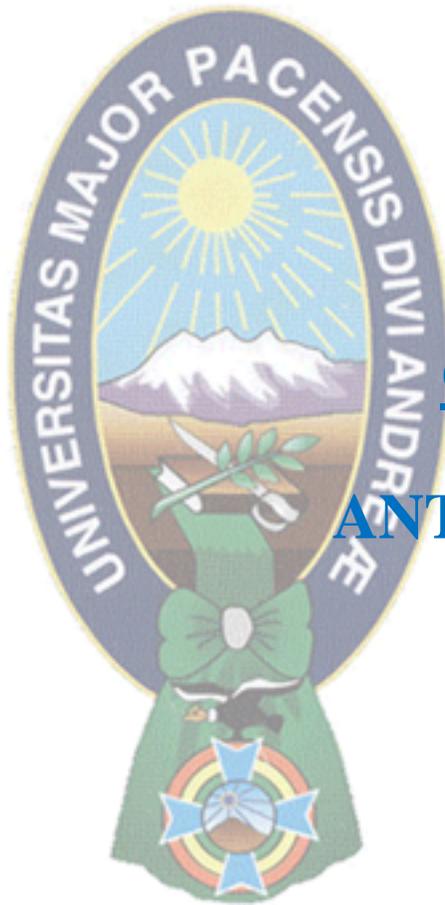
Alcoholic beverages are a mixture of different organic compounds, such as: alcohols, aldehydes, esters, ketones and in greater quantity is the ethanol. The compound that gives to the alcoholic beverage organoleptic characteristics in flavor and odor is the acetate of ethyl, the Acetaldehyde, by-product of the fermentation and distillation, is the one that has been used like flavoring of the alcoholic drinks.

The objective of the research is to find a simple, cheap and economically viable method, such as iodometric redox titration using sodium bisulfite for the determination of aldehydes based on the Mexican standard NMX-V-005-1980 and the base acid titration. Saponification with sodium hydroxide for the determination of esters based on Bolivian standard NB-206 (IBNORCA), for identification in alcoholic beverages.

The content of esters in alcoholic beverages are in a range of (218,54 -9260,58) mg / L. and the content of aldehydes is in a range of (72,22 – 115,56) mg / L.

There are many unbranded alcoholic beverages that are within the allowed standards of the National and Mexican, but there are also drinks that exceed these limits. The samples of the alcoholic beverages analyzed "M-1", "M-2" and "M-12" are those that would be within those allowed by the standard. And samples of the other beverages analyzed as "M-3", "M-4", "M-5", "M-6", "M-7", "M-8", "M-9" and "M-10", those allowed for consumption are not included.

KEYWORDS: ETHYL ACETATE, ALDEHYDES, CONGENERES, DISTILLED ALCOHOLIC BEVERAGES.



CAPITULO I
ANTECEDENTE

1.1. INTRODUCCIÓN

La cultura del siglo XX y XXI ha añadido caracteres de universalización del consumo de bebidas alcohólicas y los problemas derivados.

Se trata pues de una nueva ola de alcoholización regional y nacional, promovida por intereses comerciales. Esto se ve favorecida por los movimientos migratorios inherentes al desarrollo económico, por el efecto de largo alcance de los medios de comunicación y de expresión artística contemporánea.

Los congéneres son moléculas que se encuentran en las bebidas alcohólicas y a estos se deben sus olores, colores y sabores particulares. El nombre de congéneres se debe a que son sustancias residuales formadas en pequeñas cantidades durante el proceso de obtención del alcohol. También vienen de las plantas que se usan para producir el alcohol, pueden ser subproductos de la fermentación o añadidas para generar un sabor particular; otras veces pueden venir incluso de las vasijas donde se añejan los productos. Se ha establecido una regla general que afirma, entre más congéneres tiene una bebida, más oscuro es su color.

Los congéneres son además en parte responsables de esos estados de ánimo particulares para cada tipo de alcohol. Se sabe por ejemplo que los congéneres que salen de las vasijas de encino (*Quercus sp*, arboles de 14 a 20 m) donde se añeja el whisky inhiben la acción de la proteína encargada de metabolizar el alcohol en la sangre (la alcohol-deshidrogenasa), lo que significa que un whisky de 20 años se quedará en el cuerpo más tiempo.

Los congéneres también modifican la absorción del alcohol en el estómago e intestino: mientras mayor sea la proporción de éstos en la bebida, más lenta será la absorción del alcohol. Tal es el caso de la cerveza y el vino. Por el contrario, el gas carbónico en la bebida aumenta la absorción. Esto ocurre con las mezclas con agua mineral, quina, etc., o en el caso del champán. En los procesos de las bebidas alcohólicas se disminuye la concentración de estas sustancias (como en el caso del vodka); pero existen bebidas en las que se interesa potenciar sus caracteres organolépticos, como el brandy o el whisky, por lo que la

concentración de metanol, acetaldehído, acetato de etilo y otros, se encuentra en concentraciones superiores

El consumo de alcohol junto con sus consecuencias negativas para la salud ha recibido la atención internacional como un asunto que requiere de acción inmediata. Este problema se agrava por el consumo de bebidas alcohólicas nocivas y adulteradas, en particular por los jóvenes. Este consumo produce daños irreparables y efectos perjudiciales en el cuerpo humano, incluyendo una muerte instantánea. Gran parte de los niveles de toxicidad, se debe a los metabolitos producidos, con frecuencia, existe un retraso de más de 30 horas antes que se manifiesten los trastornos visuales y otros signos.

Si bien el etanol, es el principal responsable de los síntomas de la resaca, el papel que juegan los congéneres es interesante debido a la potencial toxicidad de muchos de ellos, a pesar de estar presentes en pequeñas cantidades.

Los ésteres y aldehídos actúan como depresores del SNC (sistema nervioso central). Sus efectos son una consecuencia directa de su acción sobre las membranas celulares y sobre los neurotransmisores.

Los ésteres forman el grupo más interesante y numéricamente mayor de compuestos aromáticos de las bebidas destiladas y aunque algunos pueden provenir de las materias primas, éste origen no se considera el más importante. Su cantidad y proporción entre los diferentes tipos, son de gran importancia para el aroma de una bebida. Al determinar el contenido de ésteres como acetato de etilo, si este se encuentra fuera del límite permisible genera daños en la salud

Los aldehídos también forman un grupo más interesante y numéricamente mayor en las bebidas destiladas, el cual al determinar el contenido de aldehídos como acetaldehído si se encuentra fuera del límite superior permisible es dañino para la salud y puede llegar a causar enfermedades graves.

El presente trabajo de investigación pretende abordar la determinación de la presencia de esteres y aldehídos en bebidas alcohólicas de mayor consumo, proponiendo un método de análisis confiable y económicamente viable.

1.2. ANTECEDENTES

Según un estudio reciente, avalado por el Ministerio de Salud Boliviano y el Viceministerio de Seguridad Ciudadana, se informó que **siete de cada 10 bolivianos a partir de los 19 años consumen bebidas alcohólicas**, estos índices ubican a nuestro país dentro de los de mayor consumo de bebidas alcohólicas entre legales e ilegales. (DIARIO, 2018)

En los últimos meses, según reportes del Gobierno ,**se han realizado operativos en centros ilícitos que expenden bebidas alcohólicas**, además de continuar con la intervención en zonas de riesgo en las principales capitales del País, en donde se venden este tipo de bebidas por un bajo precio y son las que llegan a ser más consumidas por la población joven.

Según los datos revelados, **los jóvenes tienden a consumir bebidas de mala calidad porque el precio es accesible**, y no toman en cuenta los efectos que pueden producir en la salud. Es necesario resaltar, que según un estudio realizado en 2015 por parte de la OMS (Organización Mundial de la Salud), Bolivia es el país que consume menos alcohol puro, tales como él (whisky, ron, vodka) en la región. (BOLIVIA.COM, 2018)

Según el periódico la Patria del **14** de agosto de 2017 de la ciudad de Oruro bebidas alcohólicas adulteradas, carentes de registro sanitario y de dudosa procedencia, fueron decomisadas por la unidad de Defensa al Consumidor del Gobierno Autónomo Municipal de Oruro (GAMO). Este operativo se inició en horas de la noche, evidenciando que tanto puestos de comercio, tiendas de barrio, licorerías y centros nocturnos continúan infringiendo la ley 259 de control al consumo y expendio de bebidas alcohólicas. "Hay bebidas ilegales, que no tienen registro sanitario, hay bebidas de contrabando en las licorerías y en las tiendas. (PATRIA, 2017)

Javier Suarez director Nacional del SENASAG, dependiente del Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras, en septiembre de 2017, dio a conocer que el Área Nacional de Inocuidad Alimentaria de esta institución, intensificó las inspecciones de rutina y la vigilancia en el país, a través de la toma de muestras de los productos que no cuentan con el registro sanitario. “Se han realizado inspecciones a 70 fábricas de bebidas alcohólicas, y tomado como muestra 108 productos y han sido evaluados en cuanto a contenido de metanol por intermedio de los laboratorios ubicados en los departamentos de Cochabamba, Chuquisaca, La Paz, Potosí, Santa Cruz y Tarija, (LIDIVET y LIDIVECO)” detalló Suarez. (SENASAG, 2017)

El 3 de agosto de 2017, la Cámara Nacional de Bebidas (Canabe) denunció la venta ilegal de bebidas alcohólicas con alto nivel de alcohol metílico que puede provocar la ceguera porque su ingesta afecta directamente el nervio óptico. La entidad junto a las intendencias de La Paz y El Alto anunciaron una campaña de control y decomiso de las bebidas adulteradas. Los productos hallados sin registro Senasag y con metanol son: Duo Cherrymels y Tropical MIX, pertenecientes a Pallaoro Industrias SRL; Calicon Ron Cola de Embotelladora América SRL; Mix Mojito Limón & Menta de la Empresa S.V.E Don Quijote; Barba Negra Menta de Industria Málaga y Casa Real Singani- S.A.I.V. Ltda. (Usan la botella de la marca original, la rellenan y la venden a Bs 15, dice Canabe). La querrela firmada por Herbas acompaña como prueba, un informe pericial de la División de Toxicología de Instituto de Investigaciones Técnico Científicas de la Universidad Policial (IITCUP) que detectó la presencia de metanol. (ALTEÑO, 2017)

Las cantidades de metanol mayores a los límites permisibles no se aprecian en el consumo sino a través de análisis de laboratorios. Se ha identificado bebidas adulteradas no sólo por los insumos con los que han sido elaboradas (alcohol, agua y otros), sino también en el etiquetado con la copia de distintivos de marcas reconocidas. Algunos estudios se han enfocado al análisis puntual de algunos de los congéneres, como el acetato de etilo, acetaldehído y etilenglicol, debido a sus propiedades cancerígenas y de intoxicación para los seres humanos, respectivamente. Se han desarrollado métodos cuantitativos, para la

determinación de algunos congéneres provenientes de bebidas alcohólicas (MEXICANA, JUNIO 2015):

CUADRO 1 : Métodos para determinación de congéneres en alcohol

Sustancia	Método	Fundamento
Aldehídos	Volumetría Redox	Yodométrica empleando bisulfito de sodio
Ésteres	Volumetría Ácido-base	Saponificación con hidróxido de sodio
Alcoholes Superiores	Técnica Espectrofotométrica	Tratamiento con dimetilamino-benzaldehído en medio sulfúrico (538-543 nm)
Furfural	Técnica Espectrofotométrica	Tratamiento con anilina incolora en medio ácido 15°C

FUENTE: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria

Los resultados de análisis realizados en el Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario de Cochabamba (Lividece) en bebidas decomisadas el año 2012 evidenciaron el contenido de metanol hasta 30 veces más de lo permitido por la norma boliviana.

Un ejemplo de un análisis de laboratorio realizado a un singani adulterado arrojaba un valor de 14.931 miligramos (mg) de metanol por litro (L) cuando la Norma Boliviana NB - 324001 establece entre 0 y 500 mg por litro de metanol en singanis. Otro análisis de un whisky adulterado, que ingresó vía contrabando, dio como resultado que contenía 862 (mg/L) de metanol. Según la normativa número 324014 referida a los whiskys el límite máximo de metanol permitido por litro es de 250 mg. Un vodka adulterado, de una marca reconocida, dio niveles de metanol fuera de norma. En este tipo de bebidas se permite un máximo de 300 mg de metanol por litro pero la muestra dio como resultado 810 mg de metanol por litro. (OPINION.COM.BO, 2012)

El 18 de septiembre del 2015, las bebidas alcohólicas destilada, producto de la fermentación alcohólica donde en este proceso se origina alcohol etílico a partir del azúcar, gracias a la acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En la destilación de la bebida, según el proceso de elaboración de cada bebida, se siguen una serie de pasos para conseguir un número de destilaciones determinado y la graduación deseada. Cuantas más destilaciones, menos sustancias acompañarán el alcohol y, por tanto, menos aromas tendrá la bebidas, existen centenares de estas sustancias que aportan las características organolépticas. Estas sustancias son **los llamados congéneres, algunos de los cuales intervienen en la resaca.** Empezaremos con los ésteres, unas sustancias que, según grupos orgánicos tienen aroma a diversas frutas. Los ésteres que se producen en el envejecimiento aparecen por condensación de los ácidos y los alcoholes. También en esta etapa, el oxígeno que difunde por las paredes de la barrica oxida los alcoholes en aldehídos (dan aromas como almendra y caramelo), formando gran cantidad de sustancias. (MUNDO, 2015)

1.3. JUSTIFICACIÓN

En estos últimos tiempos ha comenzado a emerger una demanda por la calidad de las bebidas alcohólicas y adquiere una relevancia en la exigencia de productos controlados por las autoridades respectivas, es en este sentido el laboratorio de toxicología y química, IITCUP de la Universidad de Policía Boliviana viene desarrollando métodos de análisis de bebidas alcohólicas, y este trabajo, pretende contribuir a este fin desarrollando un método volumétrico sencillo y asequible de identificación y cuantificación de congéneres en bebidas alcohólicas de consumo local.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Plantear un método volumétrico de cuantificación de congéneres en bebidas alcohólicas destiladas de consumo local.

1.4.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Establecer un método volumétrico de análisis, para la determinación de esteres y aldehídos en bebidas alcohólicas.
- Determinar el contenido de esteres y aldehídos presentes en las bebidas alcohólicas destiladas de mayor consumo.
- Comparar los valores cuantificados que estén dentro de los límites permisibles por la FAO y/o OMS e IBNORCA.





CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1. BEBIDAS ALCOHÓLICAS

Las bebidas alcohólicas se obtienen generalmente por fermentación o destilación, según se trate de un procedimiento u otro así, por ejemplo, vinos, cervezas o champaña se obtienen a partir de la fermentación de frutas o granos, mientras que con la destilación se obtienen ginebra, whisky, ron, brandy y vodka entre otros.

Las sustancias responsables del olor y el sabor de las bebidas alcohólicas destiladas y sin añejar, son compuestos volátiles, las reacciones químicas y bioquímicas son responsables para que se produzcan estos compuestos, muchos son el resultado de las reacciones enzimáticas de los polisacáridos durante las fermentaciones, en este proceso las levaduras sintetizan compuestos responsables del aroma, siendo los más importantes alcoholes superiores, ácidos grasos y ésteres de los ácidos producidos. La levadura empleada y las condiciones de operación influyen sobre la formación de los compuestos aromáticos teniendo también un profundo efecto en la formación de otros compuestos como fenoles y derivados azufrados.

La composición de sustancias químicas de las bebidas alcohólicas destiladas es muy compleja. Determinadas investigaciones han mostrado que contienen un número de alcoholes, ésteres, aldehídos, compuestos carboxílicos, compuestos azufrados, nitrogenados, compuestos fenólicos, terpenos y compuestos heterocíclicos oxigenados. (VASQUEZ, ENERO 2014)

2.1.1. CLASIFICACIÓN DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS

a) BEBIDAS FERMENTADAS

Se obtienen por un proceso biológico natural de fermentación alcohólica de frutos como la uva, manzana o cebada, que dan lugar a un alcohol, el etanol, componente principal de las bebidas alcohólicas.

Un proceso relativamente simple, la fermentación, que tiene lugar en ausencia total del gas oxígeno O_2 (g), y que es producida por la actividad de algunos microorganismos (levadura), que procesan azúcares (hidratos de carbono) de las frutas como: glucosa, fructosa, sacarosa, almidón.

Fruto de esta reacción química se obtienen moléculas de trifosfato de adenosina, ATP, un nucleótido esencial en la obtención de energía celular, y que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

CUADRO 2: Materia prima de bebidas fermentadas.

PRODUCTO	ORIGEN
Vino	Uva
Cerveza	Cereales
Chicha	Maíz
Sidra	Manzana

En el proceso de fermentación se forman también alcohol etílico, CH_3-CH_2-OH y dióxido de carbono CO_2 .

Cuando se indica actividad de microorganismo, se entiende que hongos o levaduras se alimentan de frutas y cereales, en busca de un aporte energético que les permita vivir. De modo que la formación del alcohol para el microorganismo, no es más que un producto secundario, un subproducto metabólico que él no necesita ni busca. Quien sí lo busca es el

hombre, que lo emplea en la elaboración de bebidas alcohólicas como vino, cerveza, sake, sidra, cava y otros.

En lo que respecta a la graduación, las bebidas fermentadas están entre el 5% y el 15%.

b) BEBIDAS DESTILADAS

Se obtienen sometiendo las fermentadas al artificial proceso de destilación, que es un proceso de concentración, consistente en evaporar por calentamiento y posterior condensación por enfriamiento, de las sustancias más volátiles, entre ellas el alcohol y forma que parte del agua y otras sustancias de la bebida quedan como residuo descartable.

Es así como puede aumentarse la concentración de alcohol en una disolución alcohólica, base de bebidas como: vodka, whisky, ron, brandy, ginebra, licores y aguardientes. En este caso, las graduaciones obtenidas en las destiladas se encuentran entre 15% a 45%, muy superior al de las fermentadas. (MEDINA, 1994)

CUADRO 3: Materia prima de bebidas destiladas

PRODUCTO	ORIGEN
Singani	Uva
Ron	Caña de Azúcar
Tequila	Maguey
Whisky Escoses	Cebada
Vodka	Papa
Whisky Americano	Maíz

2.1.2 PRODUCTOS CONGÉNERES EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS

Son los elementos volátiles diferentes al alcohol etílico, producidos en la fermentación y destilación de mostos de origen vegetal. También se denomina “impurezas o sustancias volátiles”. Su presencia se debe a la formación durante los procesos de fermentación, y maduración (añejamiento), y en menor escala durante la destilación por interacción química entre algunos ácidos orgánicos con el alcohol etílico para formar ésteres, los cuales contribuyen en la bebida alcohólica las características de sabor y aroma propios de la materia prima con la cual se elabora. Se entiende por compuestos congenéricos, a la suma de (SEVEROS, 2017):

- Aldehídos (expresados en acetaldehído)
- Ésteres (expresados en acetato de etilo)

2.1.3. FORMACIÓN DE ÉSTERES EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS

Los ésteres son compuestos que resultan de la combinación de los ácidos orgánicos y los alcoholes, mediante una reacción lenta y limitada, produciéndose además agua, han sido estudiados por Berthelot y Péan de Saint-Gilles en 1862.



La formación de estas sustancias en las bebidas alcohólicas puede tener dos orígenes distintos: *la esterificación química* que se produce lentamente durante la conservación o envejecimiento de las bebidas alcohólicas, produciéndose sobre todo ésteres ácidos, y la *esterificación biológica* producida casi instantáneamente por levaduras y bacterias, resultando casi siempre ésteres neutros.

El contenido de ésteres depende de la edad de las bebidas alcohólicas, existe un rápido aumento durante los primeros años, para disminuir progresivamente en el tiempo. Si la concentración aumenta drásticamente, puede causar importantes alteraciones en la calidad. (TOGORES, 2011)

ACETATO DE ETILO

El acetato de etilo es un líquido incoloro con olor a frutas, inflamable, menos denso que el agua y ligeramente miscible con ella. Sus vapores son más densos que el aire. Se obtiene por destilación lenta de una mezcla de ácido acético, alcohol etílico y ácido sulfúrico; o bien, a partir de acetaldehído anhidro en presencia de epóxido de aluminio. (ROJAS, 2012).

FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS

Un éster es capaz de hidrolizarse en sus constituyentes ácido y alcohol

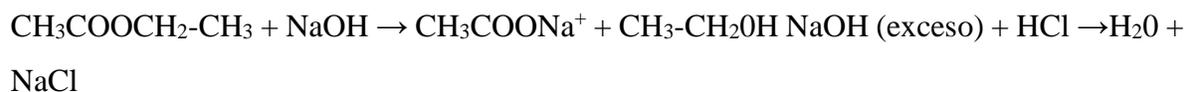
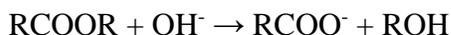


La anterior reacción no es satisfactoria por estar descrita en esa forma, porque tal vez el equilibrio no esté lo suficientemente desplazado hacia la derecha, o porque es demasiada lenta la hidrólisis en agua pura. Catalizan la reacción los ácidos y las bases, lo cual permite superar la limitación cinética. Además en solución alcalina, el ácido producido se convierte en su base conjugada y esta reacción secundaria desplaza completamente el equilibrio hacia la derecha. Por estas razones, la hidrólisis de un éster, como medio de análisis, se efectúa siempre en medio alcalino fuerte. La reacción se escribe como proceso de saponificación.

El método analítico supone la adición de un exceso conocido de una base estandarizada al éster, calentándola si es necesario, la valoración se hace la realiza por el método de retroceso del exceso de la base con un ácido estandarizado, utilizando fenolftaleína como indicador.

Cada molécula de un éster consume un hidroxilo, este hecho permite calcular directamente el número de moléculas de éster que hay en la muestra. (NMX-V-005-S-, 1980)

REACCIÓN DEL METODO PARA ESTER



2.1.4. FORMACIÓN DE ALDEHÍDOS EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS

Una gran cantidad de aldehídos están presentes en bebidas alcohólicas, siendo el acetaldehído el principal componente ya que constituye más del 90 % del contenido total de los mismos; por ello es que se plantea como el aldehído de mayor importancia desde el punto de vista de su influencia en el aroma.

Durante la fermentación puede alcanzar niveles de producción alrededor de 12 µL.100mL⁻¹ de medio al suministrar los azúcares a una concentración del 20 %; resultando durante la rectificación el constituyente principal de las cabezas extraídas en las columnas de destilación.

Es bueno señalar que la oxidación no enzimática del alcohol puede contribuir al incremento de los niveles de acetaldehído, aunque esto suele ocurrir fundamentalmente en la etapa de maduración de la bebida.

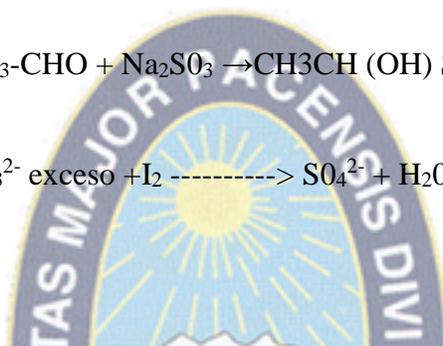
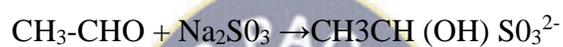
Las bebidas después de ser fermentadas son destiladas, el alcohol etílico contenido en el producto, es oxidado a aldehído etílico y posteriormente a ácido acético, esta reacción es muy lenta y es catalizada por sales ferrosas; al mismo tiempo el alcohol etílico reacciona con los Aldehídos formados constituyendo los acetales, los cuales tienen olores muy desagradables. (FERNANDO JOSE HERNANDEZ, JUNIO 2015)



FUNDAMENTO DEL MÉTODO DEL ANÁLISIS DE ALDEHÍDOS

El método se basa en la reacción de adición que sufren los aldehídos presentes en la muestra al añadir solución de bisulfito de sodio en exceso la cantidad de bisulfito no reaccionante se determina por titulación yodométrica. (NMX-V-005-S-1980, 1980)

REACCIÓN DEL MÉTODO PARA ALDEHÍDO





CAPITULO III METODOLOGÍA

3.1 LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN

Se visitó diferentes lugares de venta de bebidas alcohólicas en la ciudad de La Paz, encontrándose que la mayor venta de estos productos está centrada en la zona de Rosario, que comprende la avenida Manco Kapac, desde la plaza Juariste Eguino hasta el inicio de la Avenida Apumalla. La avenida Tumusla también es un sector donde existe venta de bebidas alcohólicas de dudosa procedencia, en el pasaje Ortega existe venta de estos productos en recipientes de plástico y sin marca alguna.

Estas dos áreas de venta fueron tomadas en cuenta para recolectar muestras para su análisis.

3.2. TOMA DE MUESTRA

Con la información recolectada se escogieron 12 bebidas alcohólicas destiladas, que según las proveedoras de estos productos de son de mayor venta, por sus precios bajos, también se recolectaron algunas bebidas de marca.

Las muestras se tomaron en la etapa de venta al público, en duplicado para los análisis, los cuales fueron trasladados al laboratorio y mantenidos a 4°C y protegidos de la luz hasta el momento de su respectivo procesamiento y análisis.

IMAGEN 1: Toma de muestra de bebidas alcohólicas más consumidas



FUENTE: Propia

3.3 ANÁLISIS QUÍMICOS

Los análisis químicos fueron realizados en los laboratorios de la Carrera de Ciencias Químicas (Lab. Físico química orgánica) de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés y en el de Instituto de Toxicología y Químicas de la Universidad Policial Boliviana que se encuentra ubicado en la zona de bajo Seguencoma de la Ciudad de La Paz. A continuación se describen los protocolos utilizados por este laboratorio.

IMAGEN 2: Análisis Químico en Lab. de Físicoquímica Orgánica



FUENTE: Propia

IMAGEN 3: Análisis Químico en Lab. De Toxicología



FUENTE: Propia

3.3.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Una vez que las muestras llegaron al laboratorio se efectuaron los respectivos análisis, debido a que con el paso del tiempo el proceso de fermentación continúa y altera las características físicas, químicas y organolépticas de las bebidas. Para realizar cada una de las determinaciones se homogenizó las muestras mediante agitación al momento de tomar un volumen para cada análisis.

IMAGEN 4: Muestras de Bebidas Alcohólicas en el Laboratorio



FUENTE: Propia

DESCRIPCIÓN DE MUESTRAS

Se muestra las descripciones específicas de todas las muestras de bebidas alcohólicas analizadas que se consideraron de mayor consumo y económicas.

CUADRO 4: Descripción de las Muestras a Analizar

muestra	Tipo de bebida	DESCRIPCIÓN DE LA BEBIDAS ALCOHÓLICA
M-1	Singani	GALÓN SINGANI INTEGRAL, INDUSTRIA BOLIVIANA
M-2	Ron	RON RANCHERITO LIMÓN,30 °GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-3	Vodka	STARK VODKA AROMATIZADO, 40° GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-4	Ron	BOCA RICA RON BLANCO LIMÓN SABORIZADO, 34 °GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-5	Vodka	TROPICAL MIX LIMÓN, 20 °GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-6	Vodka	TROPICAL DUO CHERRYMELO, 5 °GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-7	Ron	CUBA LIBRE DORADOS, 9°GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-8	Vodka	VODKA IMPERIAL, 20 °GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-9	Vodka	DRIX SABOR UVA, 5 °GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-10	Ron	CALICON RON COLA, 7 °GL INDUSTRIA BOLIVIANA
M-11	Whisky	JOHNNIE WALKER RED LABEL ESTABLECIDO 1820 40°GL
M-12	Singani	CASA REAL ETIQUETA AZUL, 42°GL INDUSTRIA BOLIVIANA

FUENTE: Propia

3.3.2. DETERMINACIÓN DE ESTERES (ACETATO DE ETILO)

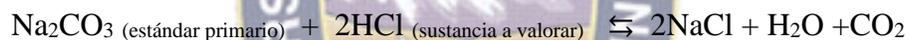
PROCEDIMIENTO DE LA ESTANDARIZACIÓN DE SOLUCIONES

Estandarización de una solución de HCl 0,01 M.

Se emplean tres muestras de estándar primario de carbonato de sodio (Na_2CO_3 , PM = 105.99 g/mol) pesado exactamente en una balanza analítica.

El estándar primario fue disuelto en agua destilada y valorado con una solución ácido clorhídrico de concentración aproximada a la requerida y empleando naranja de metilo 1%.

Según la siguiente reacción:



Estandarización del hidróxido de sodio 0,01M

Se emplea 5 ml de HCl ya estandarizado empleando como indicador fenolftaleína al 1% y fue valorada con NaOH de concentración aproximada a 0,011 M. (A.P.KREHKOV, 1985)

Según la siguiente reacción:



IMAGEN 5: Soluciones Estandarizadas de HCl, NaOH



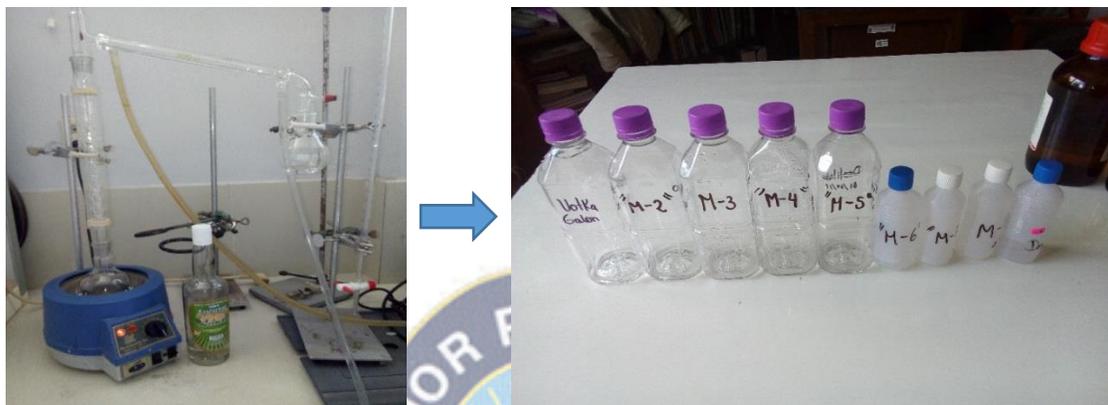
FUENTE: Propia

METODO DE LA DETERMINACIÓN DE ÉSTERES TOTALES

La determinación de ésteres ($R-COOR'$) totales en muestras de bebidas alcohólicas destiladas como: vodka, ron, singani, whisky (expresada en función del acetato de etilo) se realiza de la siguiente forma:

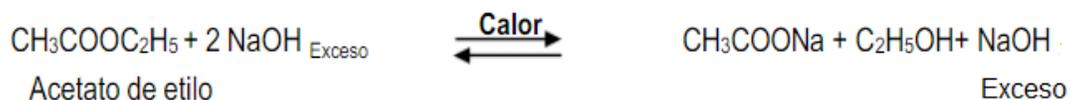
Se destilan las muestras de las bebidas alcohólicas, destiladas, en un rango de temperatura de 60-70 °C, por destilación fraccionada, donde se extrae el acetato de etilo.

IMAGEN 6: Destilación de Bebidas Alcohólicas.



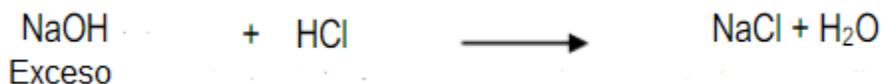
FUENTE: Propia

A un volumen de 10 ml de muestra ya destilada se le añaden 4 ml de solución estandarizada de NaOH, agitar para que ocurra la saponificación completa de los ésteres presentes en la muestra (vodka, ron, singani, whisky) según la siguiente reacción:



Posteriormente, el NaOH en exceso que no reaccionó con los ésteres, se valora con una solución estandarizada de HCl

La reacción involucrada del proceso:



Resulta imposible emplear un método de valoración directa de los ésteres con la solución de NaOH puesto que esta reacción de saponificación se mantiene en constante agitación para una reacción completa.

IMAGEN 7: Método de Valoración Directa de los Esteres



FUENTE: Propia

CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ESTERES EN LAS MUESTRAS.

El cálculo de la masa de acetato de etilo se realiza de la siguiente forma:

$$m_{\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5} = (V_{\text{NaOH}} * N_{\text{NaOH}})_{\text{Añadido}} - (V_{\text{HCl}} * N_{\text{HCl}}) * PM_{\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5}$$

Conociendo el PM del acetato de etilo ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$) que es 88.11 g/mol, y el volumen de HCl consumido en la valoración del exceso de NaOH, se determina la masa de acetato de etilo presente en el volumen de muestra de las bebidas alcohólicas destiladas.

Conociendo la masa de acetato de etilo, se puede calcular su concentración en la muestra de las bebidas alcohólicas, expresándola de dos formas (NB-206, 1977):

Miligramos de acetato por litro de bebida alcohólica (mg/L) en los 10 ml de muestra valorada:

$$\frac{mg_{CH_3COOC_2H_5}}{L \text{ bebida alcohólica}} = \frac{mg}{L}$$

Porcentaje (m/v) de acetato en la bebida alcohólica:

$$\%_{CH_3COOC_2H_5} = \frac{mg_{CH_3COOC_2H_5}}{\text{volumen bebida alcohólica}} \times 100$$

3.3.2 DETERMINACIÓN DE ALDEHÍDOS (ACETALDEHÍDO)

PROCEDIMIENTO DE LA ESTANDARIZACIÓN DE SOLUCIONES

Estandarización de una solución de tiosulfato de sodio 0,025 M

Para la estandarización de la disolución de Tiosulfato de Sodio ($Na_2S_2O_3$), se pipetea alícuotas de 10 ml de una disolución de Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$) 0,01 M en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se agrega 1 g de Yoduro de Potasio (KI) y 1 ml de Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, se mezcla bien y se añade 1 ml de indicador de almidón al 1% valorando se hasta lograr que el indicador de almidón cambie de color azul hasta incoloro. Utilizando como blanco agua destilada tratada de la misma manera que la muestra. (A.P.KREHKOV, 1985)

Las reacciones involucradas son las siguientes:

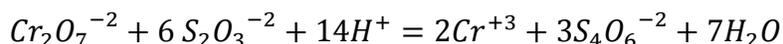
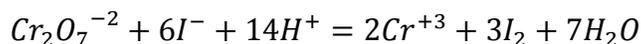
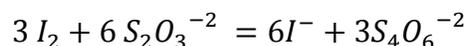


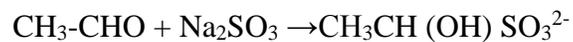
IMAGEN 8: Solución a Utilizar y Solución Estandarizada de $S_2O_3^{-2}$



FUENTE: Propia

METODO DE LA DETERMINACIÓN DE ALDEHÍDOS

El método se basa en las reacciones de adición de los aldehídos presentes en la muestra al añadir solución de bisulfito en exceso, la cantidad de bisulfito de sodio no reaccionante se determina mediante una valoración yodométrica, las reacciones involucradas son:



- A un matraz Erlenmeyer, añadir 5 ml de la muestra de bebida alcohólica, 5 ml de agua destilada y 2 ml de bisulfito de sodio agitando constantemente.

- Añadir la solución de yodo, agitando constantemente, y valorar con una solución de tiosulfato de sodio hasta obtener una coloración amarilla pálida,
- Luego, añadir unas gotas de solución de almidón al 1 %, continuar con la valoración hasta la desaparición total de la coloración azul.

IMAGEN 9: Método de Valoración Directa de los Aldehídos



FUENTE: Propia

CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ESTERES EN LAS MUESTRAS

El cálculo para la determinación de acetaldehído en la muestras de las bebidas alcohólicas se realiza de la siguiente manera (NMX-V-005-S-, 1980),

$$\text{acetaldehido} \frac{\text{mg}}{100 \text{ mL}} = \frac{(V_m - V_b)}{\text{GAR}} \times 100$$

Donde:

V_m = volumen de solución de tiosulfato gastado por la muestra

V_b = volumen de solución de tiosulfato de gastado por el blanco

GAR = grado alcohólico de la muestra.



4.1. DETERMINACIÓN DE ACETATO DE ETILO

La determinación de ésteres totales en las muestras de bebidas alcohólicas llevadas a laboratorio, se destilaron en un rango de temperatura de 60-70 °C, ya que en este rango de temperatura se extrae el acetato de etilo, así para luego analizar la muestras y valorarla, ya que al destilarla no se extrajo etanol porque su punto de ebullición es mayor a la del rango.

El método de la valoración ácido base” saponificación “de los esteres presentes en las muestras de estas bebidas alcohólicas (vodka, ron, singani, whisky).

Los resultados obtenidos de las muestras de las bebidas alcohólicas analizadas se presentan en la tabla 1., donde se observa la cantidad de acetato de etilo en mg/l determinada. Por otro lado en esta misma tabla se presenta la comparación realizada entre las Normas Nacional e Internacional del contenido de acetato de etilo. (NOM-199-SCFI, 2017), (NB-324012, 2003), (NB-324013, 2004), (NB-324014, 2004) y (NB-344001, 2015).

TABLA 1: Comparación de rango de concentración de acetato de etilo con las normas nacional e internacional.

		EXPERIMENTAL (*)	NORMA NAC.	NORMA INTER.
Muestra Nº	Tipo de bebida	$\bar{x} \pm DS$	acetato de etilo mg/l	acetato de etilo mg/l
M-1	Singani	834,01±12,17	10-2000	-----
M-2	Ron	1.933,52±42,03	2000	2000
M-3	Vodka	423,43±5,934	200	200
M-4	Ron	2.675,58±35,36	2000	2000
M-5	Vodka	218,54±3,36	200	200
M-6	Vodka	373,65±2,30	200	200
M-7	Ron	9.260,58±135,01	2000	2000
M-8	Vodka	630,23±8,65	200	200
M-9	Vodka	375,75±8,01	200	200
M-10	Ron	2.169,19±65,27	2000	200
M-11	Whisky	759,22±11,42	250	-----
M-12	Singani	630,75±10,88	10-2000	-----

FUENTE: PROPIA

(*) El cálculo por triplicado se presenta en ANEXO 3

DS (desviación estándar)

La muestra “M-1” (SINGANI AGRANEL) pese a ser una bebida sin marca su contenido de éster está dentro de lo permitido por las normas nacionales (IBNORCA) este producto son la mezcla de agua, alcohol y esencias de uva, es menor a la norma que indica que está permitido. Y de la muestra “M-2” (RON) del contenido de esterés es 1,03 veces menor que la norma nacional e internacional, está dentro la norma.

De las muestras (RON) de “M-4”, “M-10” su contenido de éster es 1.3 veces mayor que las normas, está fuera de la norma. La muestra “M-7” (RON) su contenido de éster es mucho más mayor respecto a las otras muestras de unos 4 veces mayor a las normas, esto indica que esta muestra tiene una gran cantidad de esterés y no está permitido.

Las muestras (VODKA) de: “M-3”, “M-6” y “M-9” tienen de éster 2 veces mayor, “M-5” 1,09 veces a la norma nacional e internacional y la muestra “M-8” (VODKA) tiene 3 veces mayor a la de la norma boliviana e internacional, todas las muestras de vodka no están dentro de las permitidas.

La “M-11” (whisky de marca) esta bebida alcohólica según los análisis esta 3 veces es mayor que la que permite la norma nacional. De “M-12” (singani nacional) esta bebida está dentro de lo permitido por la norma.

4.2. DETERMINACIÓN DE ACETALDEHÍDO

Para la determinación de aldehídos en las muestras de bebidas alcohólicas llevadas a laboratorio y refrigeradas, se analizaron directamente sin destilar como se hizo en los esteriles, esto por su punto de ebullición del acetaldehído que es de 21 °C, esto se vio porque se trató de destilar pero el método de destilación simple, destilación fraccionada y no se extrajo nada ya que la temperatura del ambiente en laboratorio fue de 19-25 °C.

El método para la identificación de aldehídos que se utilizó es una valoración oxidoreducción “yodométrica” ya que por el exceso de bisulfito también es una valoración en retroceso. (NB-324012, 2003), (NB-324013, 2004), (NB-324014, 2004), (NB-344001, 2015) y (NOM-199-SCFI, 2017).

En la tabla 2, se presentan todos los resultados obtenidos de las muestras de las bebidas alcohólicas analizadas determinando la cantidad de acetaldehído en mg/l. Por otro lado en esta misma tabla se presenta la comparación realizada entre las Normas Nacional e Internacional del contenido de acetaldehído.

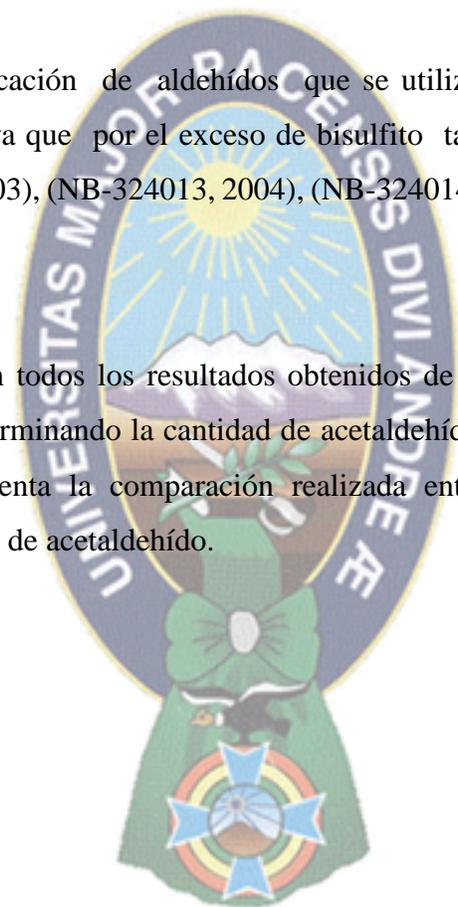


TABLA 2: Comparación de rango de concentración para aldehídos con las normas nacional e internacional.

		EXPERIMENTAL (*)	NORMA NAC.	NORMA INTER.
Muestra	TIPO DE BEBIDA	$\bar{x} \pm DS$	acetaldehído mg/l	Acetaldehído mg/l
M-1	singani	73,33±1,12	20-600	-----
M-2	Ron	108,89±1,57	0-300	400
M-3	vodka	85,0±0,00	40	100
M-4	ron	115,56±1,57	0-300	400
M-5	vodka	86,67±1,18	40	100
M-6	vodka	81,67±1,18	40	100
M-7	Ron	108,89±1,57	0-300	400
M-8	Vodka	85,83±1,18	40	100
M-9	Vodka	79,12±1,18	40	100
M-10	Ron	110,00±0,00	0-300	400
M-11	whisky	77,50±0,00	0-40	40
M-12	singani	72,22±1,12	20-600	-----

(*) El cálculo por triplicado se presenta en ANEXO 4.

Las muestras “M-2”, “M-4”, “M-7”, “M-10” (RON) en estas bebidas su contenido de aldehídos es 3 veces menor que la normas nacionales y normas internacionales donde estas permitidas.

Las muestras “M-3”, “M-5”, “M-6”, “M-8” y “M-9” (VODKA) en estas bebidas alcohólicas según la norma boliviana es apta para su consumo pero si se toma como referencia la internacional está fuera de norma.

La muestra “M-11” (WISKY) esta bebida supera 2 veces los valores permitidos en la norma nacional e internacional.

La muestra “M-12” (singani nacional) esta bebida cumple la norma nacional.



CAPITULO V
CONCLUSIONES Y
RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

La propuesta del método volumétrico para la determinación de esteres y aldehídos en bebidas alcohólicas toma como referencia la norma boliviana NB-206 (IBNORCA) y la norma mexicana NMX-V-005-1980. Es en este sentido que para la determinación de esteres el método utilizado fue la norma boliviana modificando las cantidades de muestra y cantidad de reactivos, utilizando el mismo método. Para la determinación de aldehídos la norma boliviana recomienda usar el reactivo de SCHIFF que es de fácil degradación; por tanto, en el presente trabajo se adaptó la volumetría redox por yodométrica empleando bisulfito de sodio como indica la norma mexicana.

- El contenido de esteres en las bebidas alcohólicas están en un rango de (218.5 - 9260.6) mg/l. y el contenido de aldehídos se encuentra en un rango de (72.2 - 115.6) mg/l.
- Existen muchas bebidas alcohólicas sin marca que están dentro de las normas permitidas de la nacional y mexicana.
- Las muestras de las bebidas analizadas, las que estarían dentro las permitidas y son aptas para el consumo por las dos normas son las “M-1”, “M-2” y “M-12”,
- Las muestras de las otras bebidas analizadas como “M-3”, “M-4”, “M-5”, “M-6”, “M-7”, “M-8”, “M-9” y “M-10”, no están dentro las permitidas para su consumo.

5.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda que esta técnica volumétrica, de determinación de congéneres en bebidas alcohólicas a hacer implementada en el laboratorio de toxicología del IICUP, ser corroborada para efectos de comparación con otras técnicas como el HPLC y espectrofotometría visible.



CAPITULO VI BIBLIOGRAFÍA

6.1. BIBLIOGRAFÍA.

- A.P.KREHKOV, A. Y. (1985). *CURSO DE QUIMICA ANALITICA ANALISIS CUANTITATIVO*. MOSCU.
- ALTEÑO, E. (10 de SEPTIEMBRE de 2017). *SEGURIDAD*. Obtenido de <http://www.elalteno.com.bo/seguridad/20170910/metanol-se-apropia-bares-altenos>
- BOLIVIA.COM. (5 de ABRIL de 2018). *ACTUALIDAD*. Obtenido de <https://www.bolivia.com/actualidad/nacionales/bolivia-estas-son-las-ciudades-en-las-que-mas-se-consume-alcohol-185853>
- DIARIO, E. (4 de ABRIL de 2018). *AVISOS CLASIFICADOS*. Obtenido de http://www.eldiario.net/noticias/2018/2018_04/nt180404/sociedad.php?n=42&-69-de-poblacion-boliviana-consume-bebidas-alcoholicas
- FERNANDO JOSE HERNANDEZ, V. E. (JUNIO 2015). *DETERMINACION DE CONGENERES EN ALCOHOL EXTRA NEUTRO RECTIFICADO EMPLEANDO EN LA ELABORACION DE BEBIDAS ALCOHOLICAS*. POPAYAN- COLOMBIA.
- MEDINA, G. B. (1994). *ANALISIS FISICOQUIMICO DE ALIMENTOS, BEBIDAS ALCOHOLICAS, VINOS, AGUARDIENTE Y LICORES*. SANTA FE DE BOGOTA.
- MEXICANA, N. (JUNIO 2015). DETERMINACIÓN DE CONGÉNERES EN ALCOHOL EXTRA NEUTRO RECTIFICADO EMPLEADO EN LA ELABORACION DE BEBIDAS ALCOHOLICAS. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 28-36.
- MX-V-019-NORMEX (2016). BEBIDAS ALCOHÓLICAS DESTILADAS-VODKA-DENOMINACIÓN, ETIQUETADO Y ESPECIFICACIONES . *NORMA MEXICANA*.
- NB-206. (1977). BEBIDAS ALCOHÓLICAS –DETERMINACIÓN DE ESTERES, METANOL, ALDEHÍDOS, Y ALCOHOLES SUPERIORES EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS DESTILADAS. *NORMA BOLIVIANA*.

- NB-324012. (2003). BEBIDAS ALCOHÓLICAS –aguardientes y licores - ron-requisitos. *NORMA BOLIVIANA*.
- NB-324013. (2004). BEBIDAS ALCOHÓLICAS –aguardientes y licores- Vodka- Requisitos. *NORMA BOLIVIANA*.
- NB-324014. (2004). BEBIDAS ALCOHÓLICAS –aguardientes y licores- Whisky - Requisitos. *NORMA BOLIVIANA*.
- NB-344001. (2015). BEBIDAS ALCOHÓLICAS –Singanis-Requisitos. *NORMA BOLIVIANA*.
- NMX-V-001-NORMEX (2012). BEBIDAS ALCOHOLICAS DESTILADAS-WHISKY Y WHISKEY-DENOMINACION, ETIQUETADO Y ESPECIFICACIONES. *NORMA MEXICANA*.
- NMX-V-002-NORMEX. (2010). BEBIDAS ALCOHOLICAS-DESTILADAS-RON-DENOMINACION, ETIQUETADO Y ESPECIFICACIONES. *NORMA MEXICANA*.
- NMX-V-005-S (1980). BEBIDAS ALCOHOLICAS DESTILADAS. DETERMINACION DE ESTERES Y ALDEHIDOS. *NORMA MEXICANA*.
- NOM-199-SCFI. (2017). BEBIDAS ALCOHOLICAS -DENOMINACION, ESPECIFICACIONES FISICOQUIMICAS. *NORMA MEXICANA*.
- OPINION.COM.BO. (8 de JULIO de 2012). *INFORME ESPECIAL*. Obtenido de http://www.opinion.com.bo/opinion/informe_especial/2012/0708/suplementos.php?id=3380
- PATRIA, L. (14 de AGOSTO de 2017). *REGIONAL*. Obtenido de <http://lapatriaenlinea.com/?t=decomisan-bebidas-alcoha-licas-adulteradas-y-sin-registro-sanitario¬a=296217>
- Rojas, I. E. (SEPTIEMBRE 2013). *Determinación de acetato de etilo en bebidas alcohólicas destiladas con añejamiento (ron) por el método de cromatografía de gases200*. QUITO.

SENASAG. (19 de SEPTIEMBRE de 2017). *PRENSA*. Obtenido de

<http://www.senasag.gob.bo/prensa/videos/172-noticias-slider/3797-senasag-controla-a-empresas-que-elaboran-bebidas-alcoh%C3%B3licas.html>

SEVEROS, L. B. (30 de 12 de 2017). Obtenido de REDACCION BBC MUNDO:

<https://www.sertox.com.ar/modules.php?name=News&file=article&sid=11570>

TOGORES, J. H. (2011). *TRATADO DE ENOLOGIA*. MADRID: MUNDI-PRESA.

VASQUEZ, B. M. (ENERO 2014). *CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y*

MICROBIOLOGIA DE LAS PRINCIPALES BEBIDAS FERMENTADAS

TRADICIONALES DE LA PROVINCIA DE BOLIVAR-ECUADOR. QUITO.





CAPITULO VII

ANEXOS

7.1. NORMAS Y LEYES

7.1.1. NORMA INTERNACIONAL-NORMA OFICIAL MEXICANA

ANEXO 1: NORMA MEXICANA REQUISITOS

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-199-SCFI-2017, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-DENOMINACIÓN, ESPECIFICACIONES FISICOQUÍMICAS, INFORMACIÓN COMERCIAL Y MÉTODOS DE PRUEBA.

TABLA 3: Especificaciones de Ron - MEXICANA

ESPECIFICACIONES	RON		RON AÑEJO		RON ADICIONADO DE (AROMA Y/O SABOR)	
	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx
Contenido de alcohol a 293 K (20°C) (% Alc. Vol.)	35	55	35	55	35	55
Aldehídos (mg/100 ml de alcohol anhidro)	0	40	0	40	0	40
Ésteres (mg/100 ml de alcohol anhidro)	0	200	0	200	0	200

FUENTE: NOM-199-SCFI-2017

TABLA 4: Especificaciones del Vodka - MEXICANA

ESPECIFICACIONES	VODKA		VODKA (CON AROMA Y/O SABOR)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Contenido de alcohol a 293 K (20°C) (% Alc. Vol.)	35	55	35	55
Ésteres (mg/100 ml de alcohol anhidro)	0	20	0	-
Aldehídos (mg/100 ml de alcohol anhidro)	0	10	0	40

FUENTE: NOM-199-SCFI-2017

TABLA 5: Especificaciones de Whisky o Whiskey - MEXICANA

ESPECIFICACIONES	Whisky o Whiskey	
	Mínimo	Máximo
Contenido de alcohol a 293 K (20°C) (% Alc. Vol.)	40	55
Aldehídos (mg/100 ml de alcohol anhidro)	0	40

FUENTE: NOM-199-SCFI-2017

ANEXO 2: NORMA NACIONAL REQUISITOS.

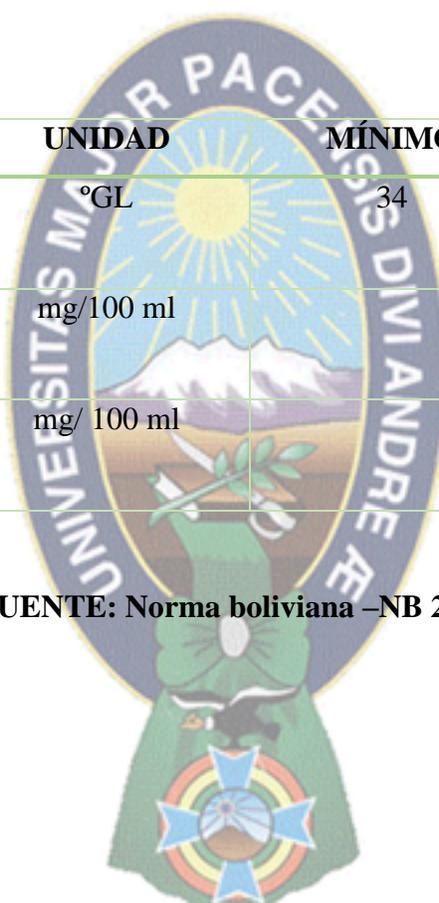
7.1.2. NORMA NACIONAL IBNORCA

NORMA BOLIVIANA –NB 324012 BEBIDAS ALCOHÓLICAS –AGUARDIENTES Y LICORES - RON-REQUISITOS.

TABLA 6: Especificaciones para el Ron-NACIONAL

PARÁMETROS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO
grado alcohólico a 15°C	°GL	34	40
Aldeídos expresados como acetaldehído	mg/100 ml		30
Esteres, expresados como acetato de etilo	mg/ 100 ml		200

FUENTE: Norma boliviana –NB 206



NORMA BOLIVIANA –NB 324013 BEBIDAS ALCOHÓLICAS –AGUARDIENTES Y LICORES- VODKA-REQUISITOS.

TABLA 7: Especificaciones para el Vodka -NACIONAL

PARÁMETROS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO
grado alcohólico a 15°C	°GL	40	50
Aldeídos expresados como acetaldehído	mg/l	-----	40
Esteres, expresados como acetato de etilo	mg/l	-----	200

FUENTE: Norma boliviana –NB 324013

NORMA BOLIVIANA –NB 324001- BEBIDAS ALCOHÓLICAS –SINGANIS-REQUISITOS.

TABLA 8: Especificaciones Singani - NACIONAL

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO
Alcohol(singani de altura)	% v/v	37	45
Alcohol(singani de primera y singani de segunda)	% v /v	35	42
Esteres	mg/l	10	2000
Aldeídos	mg/l	20	600

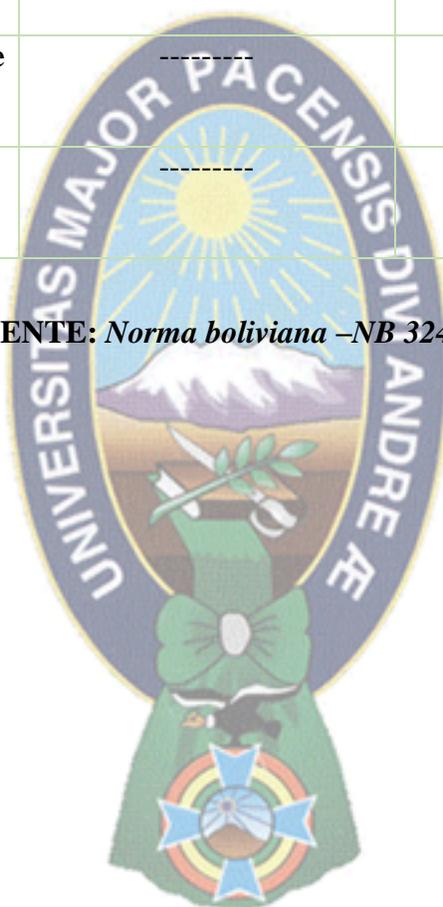
FUENTE: Norma boliviana –NB 324001

**NORMA BOLIVIANA –NB 324014 BEBIDAS ALCOHÓLICAS –AGUARDIENTES
Y LICORES- WHISKY -REQUISITOS.**

TABLA 9: Especificaciones del whisky - NACIONAL

REQUISITOS	MÍNIMO	MÁXIMO
Grado alcohólico a 20 °C en ° GL	40	-----
Esteres(como acetato de etilo) en mg/l	-----	250
Aldeídos(como acetaldehído) en mg/l	-----	40

FUENTE: Norma boliviana –NB 324014



ANEXO 3: CÁLCULOS POR TRIPLICADO PARA IDENTIFICACIÓN DE ÉSTER

					EXPERIMENTAL
Muestra	Tipo de Bebida Alcohólica	x_1	x_2	x_3	$\bar{x} \pm DS$
M-1	Singani	816,45	842,79	842,79	834,01±12,17
M-2	Ron	1.903,81	1.992,96	1.903,81	1.933,52±42,03
M-3	Vodka	431,83	419,23	419,23	423,43±5,934
M-4	Ron	2.625,57	2.700,58	2.700,58	2.675,58±35,36
M-5	Vodka	220,92	213,79	220,92	218,54±3,36
M-6	Vodka	372,02	376,91	372,02	373,65±2,30
M-7	Ron	9.165,11	9.451,51	9.165,11	9.260,58±135,01
M-8	Vodka	642,47	624,11	624,11	630,23±8,65
M-9	Vodka	370,02	387,20	370,02	375,75±8,01
M-10	Ron	2.076,88	2.215,34	2.215,34	2.169,19±65,27
M-11	Whisky	775,37	751,14	751,14	759,22±11,42
M-12	Singani	646,14	623,06	623,06	630,75±10,88

TABLA 10: Cálculos por triplicado para esteres



ANEXO 4: CÁLCULOS POR TRIPLICADO PARA IDENTIFICACIÓN DE ALDEHÍDO

					EXPERIMENTAL
Muestra	TIPO DE BEBIDA ALCOHÓLICA	x_1	x_2	x_3	$\bar{x} \pm DS$
M-1	Singani	75,00	72,50	72,50	73,33±1,12
M-2	Ron	106,67	110,00	110,00	108,89±1,57
M-3	vodka	85,00	85,00	85,00	85,0±0,00
M-4	Ron	116,67	113,33	116,67	115,56±1,57
M-5	vodka	87,50	85,00	87,50	86,67±1,18
M-6	vodka	82,50	82,50	80,00	81,67±1,18
M-7	Ron	110,00	106,67	110,00	108,89±1,57
M-8	Vodka	87,50	85,00	85,00	85,83±1,18
M-9	Vodka	80,00	80,00	77,50	79,12±1,18
M-10	Ron	110,00	110,00	110,00	110,00±0,00
M-11	whisky	77,50	77,50	77,50	77,50±0,00
M-12	singani	71,43	73,81	71,43	72,22±1,12

TABLA 11: Cálculos por triplicado para aldehídos

