



Método a bajo costo para la cuantificación del grado alcohólico en muestras de tequila blanco

Miriam Minerva Jiménez Lara

miriam-jimenez@utem.edu.mx

Raúl Alejandro Limón Hernández

raul.limon@utgz.edu.mx

Nayelly Abigail Zuñiga Beristain

a20190484@utem.edu.mx

Judith Emily Hernandez Ortega

a20190341@utem.edu.mx

Marco Antonio Villa Ramírez

marco-villa@utem.edu.mx

Verónica López Hernández

quimica@utgz.edu.mx

María Elena Zenteno Vázquez

elena-zenteno@utem.edu.mx

Universidad Tecnológica de Manzanillo

Manzanillo, Colima-México

y

Universidad Tecnológica de Gutiérrez Zamora

Gutiérrez Zamora, Veracruz-México

RESUMEN

La química verde abordada en el área de los análisis químicos consiste en el diseño de técnicas cualitativas o cuantitativas que tengan una mínima generación de residuos y que permitan tener una validez en los resultados comparable con métodos tradicionales. En este sentido, la química a microescala ha tenido un papel relevante en años recientes para poder modificar e implementar nuevas metodologías para la cuantificación de analitos químicos. En el presente proyecto se desarrolló una técnica de cuantificación del grado alcohólico de muestras de tequila basada en los principios químicos de la oxidación de

alcoholes, la cual es una técnica colorimétrica que permite identificar la presencia de un alcohol. El objetivo del trabajo fue aprovechar el cambio de color de la oxidación del etanol y cuantificar el contenido alcohólico con base en la intensidad del color azul generado en la oxidación, mismo que se cuantificó con un fotocolorímetro a bajo costo y que mostró resultados comparables con los obtenidos con un espectrofotómetro, además que se realizó una validación estadística de los resultados para conocer la confiabilidad de los mismos y finalmente, se hizo una correlación para que con la técnica propuesta se obtuvieran los mismos resultados que con el equipo comercial.

Palabras clave: etanol, tequila, cuantificación, oxidación, fotocolorímetro.

A low-cost method for the quantification of the alcoholic content in white tequila samples

ABSTRACT

The green chemistry in the chemical analysis area consists of the design of qualitative or quantitative techniques that make a minimum generation of residues and have a validity in the results comparable to traditional methods. The microscale chemistry has had a relevant role in recent years in order to modify and implement new methodologies for the quantification of chemical analytes. In this project, a technique for quantifying the alcoholic content of tequila samples was developed based on the chemical principles of alcohol oxidation, which is a colorimetric technique that allows identifying the presence of an alcohol. The objective of the project was to apply the color change of the ethanol oxidation and to quantify its content based on the intensity of the blue color generated in the oxidation, using a low-cost photocolormeter. The results were comparable with the obtained with a spectrophotometer, it was validated by a statistical method to know their reliability and finally, a correlation was made so that the same results were obtained with the proposed technique as with the commercial equipment.

Keywords: ethanol, tequila, quantification, oxidation, photocolormeter.

Artículo recibido: 02 enero 2022

Aceptado para publicación: 28 enero 2022

Correspondencia: miriam-jimenez@utem.edu.mx

Conflictos de Interés: Ninguna que declarar

1. INTRODUCCIÓN

En la química verde, las técnicas de cuantificación son relevantes ya que permiten dar alternativas de análisis utilizando bajos recursos y generando bajos residuos. En el caso de la aplicación de la óptica en los análisis químicos, se puede ver que existen metodologías cuantitativas utilizando equipos comerciales que tienen altos costos por lo que generar alternativas de análisis puede ser benéfico para instituciones educativas al permitir desarrollar prácticas económicas a sus estudiantes y a la industria ya que disminuye el volumen de muestras lo que repercute en un ahorro económico.

En el espectro electromagnético, se encuentran ondas de luz, las cuales pueden ser percibidas por el ojo humano, de forma visible e invisible, esta apreciación del rayo, depende de la longitud de onda donde se produce. En la figura 1, se observa las diferentes longitudes de onda que del espectro electromagnético (Montalvo, 2010).

La mayoría de los rayos electromagnéticos son inapreciables para el ojo humano entre ellos se encuentran los rayos Gamma, Rayos X, UV, Infrarrojo, Microondas, hasta las ondas de radio, por lo que abarcan de forma considerable la mayor parte del espectro; sin embargo, la luz visible, se encuentra entre los 400 y 700 nm

La espectroscopia, es un método óptico de análisis que utiliza el rango de radiación ultravioleta (UV), Visible (VIS) o Infrarrojo (IR), se basa en interactuar energía térmica o electromagnética para provocar activar átomos y moléculas, los cuales son inducidos a un estado de excitación,

inestable y transitorio, por lo que tienden a estabilizarse, regresando a su estado original, la identificación se realiza de manera cualitativa, porque cada átomo utiliza una longitud de onda diferente. Al mismo tiempo

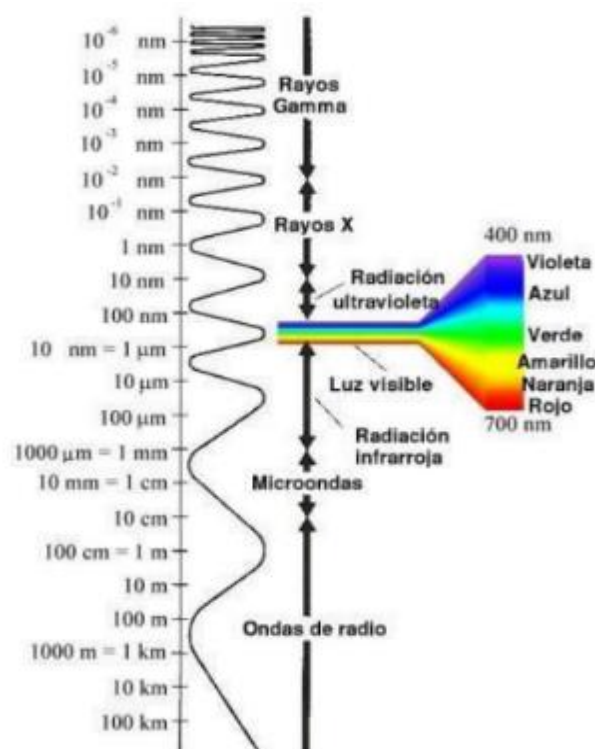


Figura 1, se observa las diferentes longitudes de onda que del espectro electromagnético (Montalvo, 2010)

se emplea este análisis como cuantitativo, observando la cantidad de energía que se absorbe por la muestra que se presenta.

Un fotocolorímetro es un dispositivo que permite determinar la concentración química de un compuesto en una solución (Baeza, 2012), tomando en cuenta la absorción de una parte de la radiación electromagnética en una muestra, al pasar un haz de luz con una longitud de onda (λ) determinada (Hernández, 2002).

Los componentes principales de los fotocolorímetros que se utilizan en análisis químicos se pueden observar en la figura 2, entre los cuáles se encuentran la fuente emisora de luz, que va a incidir en la muestra; el selector de longitud de onda, que determina la región del espectro con el que se trabaja (UV, VIS, IR); la celda, es el recipiente contenedor de la muestra, el cuál debe de ser transparente, para permitir el flujo de luz; el detector de radiación, como su nombre lo dice manifiesta la presencia la energía radiante, convirtiéndola en una señal; por último la lectura se transmite a un procesador, el cual muestra la lectura en equipo electrónico (García, 2018). Cabe mencionar que las muestras que se procesan para cuantificar el analito, deben tener un color que permita distinguir la longitud de onda a utilizar y poder realizar los análisis correspondientes. Por lo tal si la muestra que deseamos determinar no posee color por sí misma, debemos llevar a cabo un desarrollo de color empleado reactivos que den lugar a sustancias coloreadas con la muestra que interesa estudiar (Aparicio, 2017).

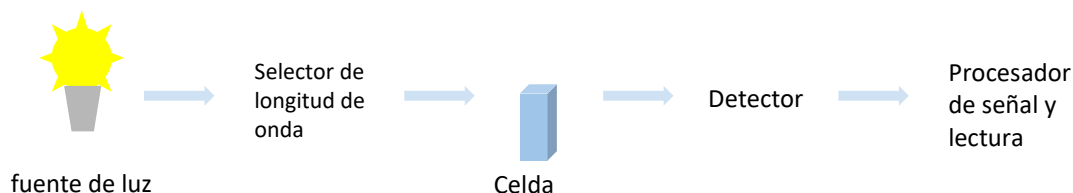
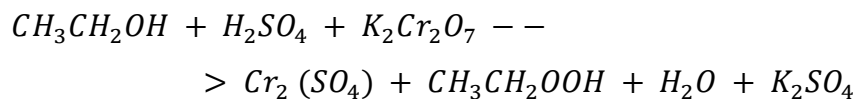


Figura 2: Componentes de un instrumento alineados (García, 2018)

El etanol es un líquido incoloro, volátil, conocido como alcohol etílico. En alimentos se obtiene por medio de fermentaciones de sacáridos por medio de levaduras anaerobias lo que genera variadas bebidas alcohólicas que existen en el mundo. Después de la fermentación puede llevarse a cabo una destilación para obtener un producto con una mayor cantidad de alcohol (Suárez, 2016). Cuando el alcohol se difunde sobre una mezcla oxidante de dicromato de potasio en ácido sulfúrico, el ion crómico de color amarillo-naranja se reduce a ion cromoso de color verde-azul y el etanol es oxidado cuantitativamente a acetaldehído, ácido acético y agua.

En esta reacción, siendo el dicromato de potasio un oxidante fuerte, es muy probable que en el medio ácido proporcionado por el ácido sulfúrico (Villalobos, 2019) se dé la oxidación de este alcohol hasta llegar a ser un ácido carboxílico, ácido butanoico en este caso la reacción es:



Con la reacción anterior, el alcohol inicial transparente pasa a formar un complejo azul, la tonalidad del complejo será más fuerte entre mayor sea el contenido alcohólico de la muestra a analizar, por lo que estos principios químicos en conjunto con las técnicas de espectroscopia brindan las bases para poder proponer una técnica de análisis.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación de las soluciones químicas

Para la experimentación se siguió la metodología desarrollada por Limón et al., (2021) para lo cual se utilizó una muestra de 250 ml de tequila blanco comercial y se prepararon las diluciones con agua destilada al 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35% con la finalidad de obtener las diluciones de concentración conocida. Posteriormente, se preparó la solución oxidante por lo que se disolvió 1 g de dicromato de potasio en 20 ml de agua destilada en una parrilla de calentamiento con agitación mecánica, una vez disuelta la solución se le agregaron 2 ml de ácido sulfúrico concentrado, se continuó con la agitación, se trasvasó a un recipiente ámbar para evitar que degrade con la luz y se dejó enfriar. Para la reacción de oxidación de alcoholes, se tomaron 5 ml de cada muestra diluida de alcohol y por separado se le agregaron 2 ml de la solución oxidante, se homogeneizó y posteriormente se leyó el voltaje en el prototipo de fotocolorímetro. El proceso de oxidación de muestras de alcohol y su análisis en el fotocolorímetro se realizó 10 veces.

2.2. Obtención de curvas de calibración

Se utilizó un prototipo de fotocolorímetro con las dimensiones reportadas por Limón et al., (2021) y en las especificaciones se utilizó un LED de color rojo y como blanco se utilizó agua destilada, ideal para pruebas analíticas (Valdivia, 2010). El blanco se colocó en la celda para espectrofotómetro de plástico y se introdujo al prototipo y se registró el voltaje del blanco (V_o), después las muestras reaccionadas se colocaron por separado en

una celda de plástico y se introdujo en el prototipo, se midió el voltaje y posteriormente se calculó la absorbancia por medio de la siguiente ecuación (Vidal, 2014):

$$A = -\text{Log} \frac{V_i}{V_o}$$

Donde:

Vi: voltaje obtenido con la muestra oxidada

Vo: voltaje obtenido del blanco

Lo que proporcione cantidades conocidas para la obtención de la curva de calibración (Coto, 2020). Cada experimentación se repitió 10 veces con la finalidad de analizar estadísticamente la validación del método de análisis fotocolorimétrico.

2.3 Validación estadística del método de cuantificación de alcohol

Con los resultados experimentales de absorbancias y concentraciones de las muestras se elaboró un análisis estadístico para validación del método propuesto en el software Microsoft Excel versión 2019 y se siguió la metodología marcada por Miller y Miller (2002). Se tomaron los datos y se graficó el promedio de las diez absorbancias en el eje de las ordenadas y la concentración del analito en el eje de las abscisas, esto permite que una vez graficado, pueda obtenerse la concentración del analito por interpolación.

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

Posteriormente se desarrolló la recta de regresión por mínimos cuadrados, la cual permite mediante una función, el ajuste de los parámetros, estimando sus valores (Lemagne & Calzadilla, 2012) y se calculó el coeficiente de correlación momento-producto, es utilizado para determinar los comportamientos presentes entre las dos variables (x,y). Hernández, (2018) menciona que los valores de la correlación varían en positivos, negativos, dependiendo de su relación con la media y la distribución de los cuadrantes. El coeficiente de correlación momento-producto debe ser al menos 90% para la validación del método.

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{\frac{1}{2}}}$$

Derivado de que se realizaron diferentes repeticiones, en las mediciones de los análisis, Eslava & Escobar (2012) mencionan que estos pueden propiciar Errores de forma aleatoria, por lo que se continuó con el cálculo de errores aleatorios, en la pendiente y ordenada al origen de la recta de calibración. por lo que se calcularon los errores estadísticos $S_{y/x}$ que estima los errores aleatorios en la dirección y.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

La Varianza, se utiliza para representar la dispersión de los datos, con respecto a la media (Salazar & Del Castillo, 2018). Por lo que es importante obtener las desviaciones estándar de la pendiente y ordenada al origen mediante las siguientes ecuaciones:

Desviación estándar de la pendiente:

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Desviación estándar de la ordenada en el origen

$$S_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Se prosiguió con el cálculo del error aleatorio de la concentración mediante la determinación de un error global S_{x_0}

$$S_{x_0} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Finalmente, se desarrolló el cálculo de los límites de confianza los cuales son las líneas punteadas en la misma dirección que la regresión obtenida, una línea se localiza sobre la línea de regresión y la otra por debajo. Estas líneas entre más estrechas sean, los límites de confianza son bastante pequeños y el método analítico será mejor. Los límites de confianza se calculan utilizando la media ponderada (m) y la desviación estándar (S_{x_0}) de la forma:

$$LC = m \pm S_{x_0} w$$

Por lo anterior se calculó la desviación estándar de los datos por medio de la ecuación:

$$S_{X_{Ow}} = \frac{S_{(y/x)w}}{b} \left\{ \frac{1}{w_0} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y}_w)^2}{b^2 (\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2)} \right\}^{1/2}$$

Donde en la ecuación anterior, el término $S_{(y/x)w}$ viene dado por:

$$S_{(y/x)w} = \left\{ \frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right\}^{1/2}$$

Al haberse calculado todos los puntos anteriormente descrito, se graficaron los estadísticos con respecto a la concentración y se analizó la viabilidad del método analítico.

2.4 Comparación de los resultados del prototipo con un espectrofotómetro UV vis

Posterior a la validación estadística de los resultados del prototipo, se desarrolló la misma metodología de oxidación de alcoholes y en esta ocasión las muestras oxidadas se midieron en un espectrofotómetro UV-VIS a 750 nm, correspondiente a una luz roja (González & Urzúa, 2012). Se elaboró una curva de calibración de absorbancia vs concentración para conocer la linealidad del método y finalmente se elaboró una gráfica de absorbancia obtenida con el espectrofotómetro versus la absorbancia obtenida con el fotocolorímetro para conocer si se podría establecer una linealidad entre ambos métodos ya que, de haberla, se podría comprobar que los resultados del prototipo son válidos químicamente.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La oxidación de las muestras de tequila se aprecia en la Figura 3 donde se visualiza una muestra de solución oxidante (izquierda) y algunas de las muestras de tequila después de la reacción de acuerdo a diferentes concentraciones (derecha). En el caso de las muestras oxidadas se puede distinguir que la coloración azul es más homogénea en la muestra del 35% debido a que presenta mayor cantidad de etanol, mientras que por el contrario en la muestra del 10% se nota aún una coloración amarilla en el fondo del recipiente debido a que presenta menor concentración de etanol y por ende la solución oxidante no reaccionó por completo, quedando una parte de dicromato remanente. Por la coloración del producto

de la oxidación es por lo que se utilizó en el fotocolorímetro un LED de color rojo debido a presenta mayor absorbancia en esta longitud de onda.

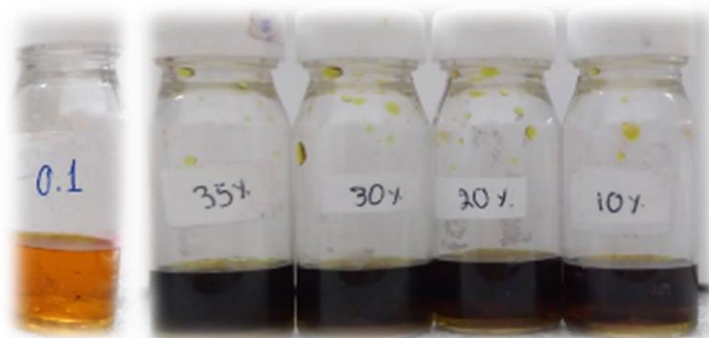


Figura 3. Comparativo de color de solución oxidante y muestras de alcohol oxidadas

En el caso del análisis matemático, los promedios estadísticos de las diez experimentaciones se graficaron en la Figura 4. Se puede observar que la tendencia de las absorbancias obtenidas por el prototipo (triángulos rojos) presentan una tendencia lineal lo que a primera vista puede considerar al método propuesto con buena confiabilidad. En el caso de la regresión por mínimos cuadrados (absorbancia calculada) se tiene un coeficiente de correlación momento-producto del 98.89%, este valor es cercano al 100% que indicaría que todos los puntos se encuentran sin desviación estándar, sin embargo, es un buen resultado ya que considera las variaciones de la linealidad por los errores aleatorios. El coeficiente de correlación al ser mayor de 90% ya indica una validación del método por lo que estadísticamente la oxidación de alcoholes a escala y su cuantificación por fotocolorimetría es viable.

En el caso de los límites de confianza se puede observar que se encuentran muy cercanos a la regresión lineal entre los valores de concentración de entre 5 y 20% de concentración de alcohol en las muestras analizadas, y que entre el 20 y 35% de concentración se visualiza una apertura y separación de las líneas. Esto indica que para una mayor precisión en el método de análisis se debe considera un límite de detección óptimo que se muestra cuando los límites de confianza están más cercanos a la regresión (Abdullah, 2017) por lo que aunque el método tiene una aceptación estadística, se recomienda que las muestras a analizar tengan una concentración de etanol máxima del 20%, por lo que desde el punto de vista químico, para una mayor confiabilidad se podría trabajar con diluciones de las muestras para realizar el análisis.

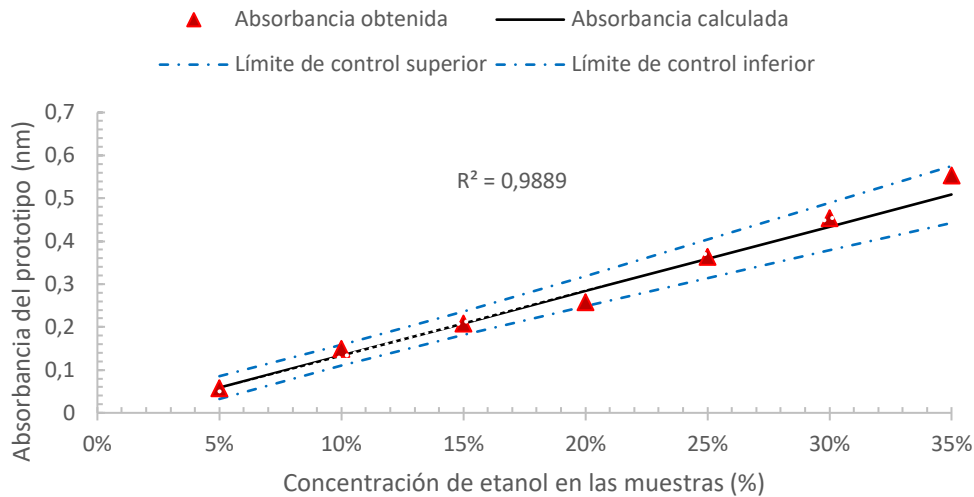


Figura 4. Gráfica de resultados finales de los análisis estadísticos del método propuesto para cuantificación de contenido de alcohol en muestras de tequila

En el caso de los resultados de la experimentación utilizando el espectrofotómetro se muestran en la Figura 5. Se observa una tendencia lineal, sin embargo algo a resaltar es que los espectrofotómetros se utilizan para cuantificar los analitos de preferencia diluidos para cumplir la linealidad marcada por la ley de Lambert-Beer y que en el presente proyecto se utilizaron soluciones concentradas de la solución oxidante, esto puede ser una razón por la cual el coeficiente de correlación es menor incluso que en el caso de los resultados del método propuesto por fotocolorimetría, sin embargo, con el 97.8% el resultado también es válido para análisis químicos (Oskolok, 2018).

En la misma figura, se pueden notar dos zonas en la misma recta, de 5-20% y de 25-35% ya que pareciera que se cuenta con dos rectas con una pendiente cada una. Este fenómeno da sustento a los resultados del método fotocolorimétrico propuesto debido a que se podría argumentar que una causa de la variabilidad de los resultados en el espectrofotómetro está en relación a los límites de detección del método y que de igual forma se recomienda trabajar con concentraciones máximas de 20% de etanol.

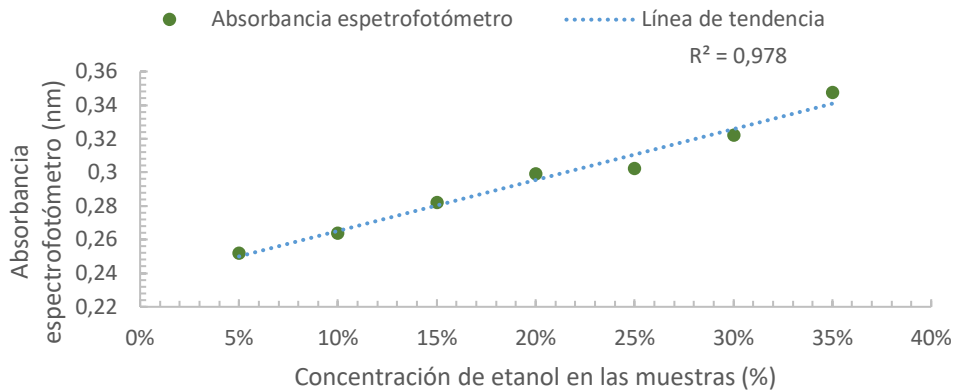


Figura 5. Curva de calibración de absorbancia vs concentración obtenidas con el espectrofotómetro comercial

En la comparación de los resultados de absorbancias obtenidas, en la Figura 6 se aprecia la correlación que presentan los resultados del fotocolorímetro y espectrofotómetro. Se cuenta con un coeficiente de correlación del 97.07% el cual es aceptable y cuyo valor puede estar influenciado por los valores altos en la concentración de la solución oxidante. En este caso se puede concluir que el método puede ser aceptado químicamente ya que los resultados utilizando el prototipo y el equipo comercial muestran una tendencia similar y coeficiente de correlación mayor al 90% señalado por Miller y Miller (2002) por lo que se valida el método propuesto estadísticamente y con los resultados comparativos se valida químicamente tal y como reporta Nabor et al., (2016).

Finalmente, con la regresión obtenida se muestra una ecuación que se podría utilizar para que los resultados obtenidos por el fotocolorímetro pudiesen ser similares a los obtenidos por el espectrofotómetro lo que da pie a futuras aplicaciones y desarrollo del prototipo.

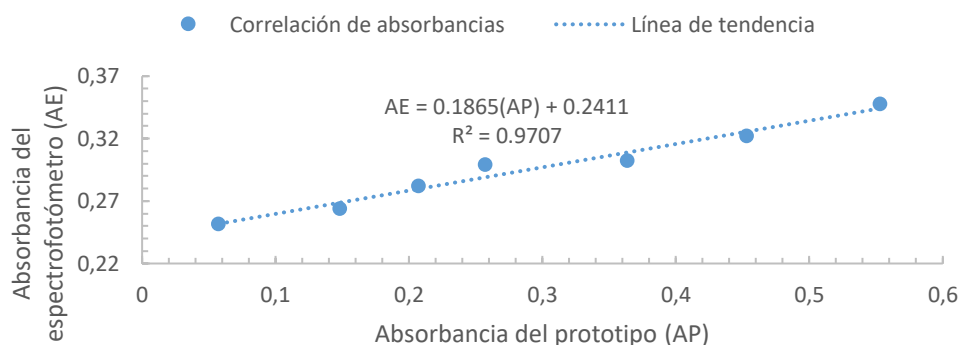


Figura 6. Gráfica de correlación de absorbancias de espectrofotómetro y prototipo

4. CONCLUSIÓN O CONSIDERACIONES FINALES

A manera de comentarios finales se pudo desarrollar una técnica analítica a bajo costo con resultado viables y validados estadísticamente. Esta técnica ofrece la posibilidad de que pueda ser empleada en laboratorios de enseñanza aplicando conceptos de química verde ya que los residuos generados son mínimos debido a la versatilidad de utilizar muestras con volúmenes pequeños. De igual forma se podría emplear para cuantificar muestras a nivel industrial ya que los resultados obtenidos sugieren que la técnica es estadísticamente similar a los resultados mostrados por el equipo comercial.

5. LISTA DE REFERENCIAS

- Abdullah, M., Mohamed, N., & Ismail, Z. (2007). The effect of microscale chemistry experimentation on students' attitude and motivation towards chemistry practical work. *Journal of Science and Mathematics Education in Southeast Asia*, 30(2): 44-51.
- Aparicio C, E. G. (2017). Técnicas Colorimétricas. CLEU, 18-23. Obtenido de: http://revista.cleu.edu.mx/new/descargas/1703/articulos/Articulo08_Tecnicas_colorimetricas.pdf
- Baeza A. (2012). Química analítica a microescala total. Obtenido de: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Documento_de_apoyo:QUIMICA_ANALITICA_MICROESCALA_TOTAL_2172.pdf
- Coto, C. E. (2020). (s/f). Capítulo 3 Las curvas de calibración. Obtenido de: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/contratapa/calibracion/calibracion.htm>
- Eslava, S. J., & Escobar, C. F. (2012). Error aleatorio, sesgo y fraude en las publicaciones científicas. *Colombiana de Anestesiología*, 40(2), 91-94.
- García, R. (2018). Instrumentos que revolucionaron la química: la historia del espectrofotómetro. *Avances en Química*. Obtenido de: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/87008/CONICET_Digital_Nro.14279992-2fa1-48b5-93d6-7674ea150cf9_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

- González, A. & Urzúa, C. (2012). Experimentos de bajo costo: un aporte desde la microescala. *Revista Eureka sobre enseñanza y divulgación de las ciencias*, 9(3): 401-409.
- Hernández, L. (2002). *Introducción al Análisis Instrumental*. Barcelona: Ariel Ciencia.
- Hernández, L. (2018). Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson: definición, propiedades y suposiciones. *AVFT*, 37(5), 587-595.
- Lemagne, P. J., & Calzadilla, M. A. (2012). Investigación Mínimos cuadrados generalizados para funciones vectoriales en la Geofísica Espacial. *Pensamiento matemático*. 1-21. Obtenido de <file:///C:/Users/Mine/Downloads/Dialnet-MinimosCuadradosGeneralizadosParaFuncionesVectoria-3891884.pdf>
- Limón, R., López, V., Aguilar, F., Hernández, I., Xochihua, J., Sosa, A. & Morales, E. (2021). Validación de un fotocolorímetro para análisis cuantitativos en la enseñanza de la química. Da Silva, C. (ed.), *O ensino e a pesquisa em química* (25-39).
- Limón, R., López, V. & Olmedo, M. (2021). *Photocolourimetric Methods: Low-cost laboratory practices* (1ª ed.). Lambert Academic Publishing.
- Miller, J. & Miller, J. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica* (4ª ed.). Prentice Hall.
- Montalvo, C. (Agosto de 2010). *Optica*. Obtenido de: http://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/1_optica.pdf
- Nabor, A., Candanedo, E., De la Cruz, I., Salazar, E., Salazar, J. & Cabrera, A. Prototipo de un fotocolorímetro didáctico de fuente abierta. *Ingeniantes*, 1(2): 29-34.
- Oskolok, K., Shults, E. Monogarova, O., & Chaplenko, A. (2018). Optical molecular analysis using office flatbed photo scanner: New approaches and solutions. *Talanta*, 178(1):377-383.

Salazar, P. C., & Del Castillo, G. S. (2018). Fundamentos Básicos de Estadística.

Obtenido de:

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13720/3/Fundamentos%20B%C3%A1sicos%20de%20Estad%C3%ADstica-Libro.pdf>

Suárez, C. G. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol.

Revisión bibliográfica. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar.

Obtenido de: <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>

Vidal, S. L. (2014). Medición de la absorbancia óptica de soluciones acuosas mediante la instrumentación virtual y el control. *Scientia et Technica* Año XIX, 19(1): 49-53.

Villalobos, K., & al, e. (2019). Desarrollo de un método verde para la oxidación de alcoholes utilizando alcohol bencílico como modelo. *Ciencia y Tecnología*, 35(1), 31–43.