

## *Revista Electrónica Nova Scientia*

# Identificación y discriminación de Tequilas reposados in situ para la protección de marca

**Ulises Contreras-Loera<sup>1</sup>, O. Barbosa-García<sup>1</sup>, G. Ramos-Ortíz<sup>1</sup>, J.L. Pichardo-Molina<sup>1</sup>, M.A. Meneses-Nava<sup>1</sup>, J.L. Maldonado<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Departamento de fotónica, Centro de Investigaciones en Óptica, León, Gto.

---

**México**

## Resumen

A través de una técnica óptica de espectroscopia basada en la absorción de luz en el rango UV visible y un análisis estadístico multivariable es posible identificar marcas de tequila para la protección de marca *in situ*. Se adquirieron 40 muestras de tequilas tipo reposado de 4 marcas registradas en tiendas de licores y en algunos bares en las ciudades de León Gto. y de Zacatecas, Zac. con el propósito de encontrar similitudes y diferencias que permitan una agrupación y una posible predicción de marcas para futuras muestras. Se describe el método para la discriminación de estas bebidas alcohólicas el cual es complementario a los métodos actuales basados en análisis químicos que son mayor coste y complejidad. Los resultados muestran una buena agrupación de las marcas analizadas por lo que una nueva muestra pudiera clasificarse si pertenece o no a alguna de las marcas estudiadas. El análisis de muestras se realiza en tiempos de minutos y pueden realizarse *in situ*.

**Palabras Clave:** Tequila, absorción, espectroscopia UV-Visible, análisis multivariado.

Recepción 05-11-08

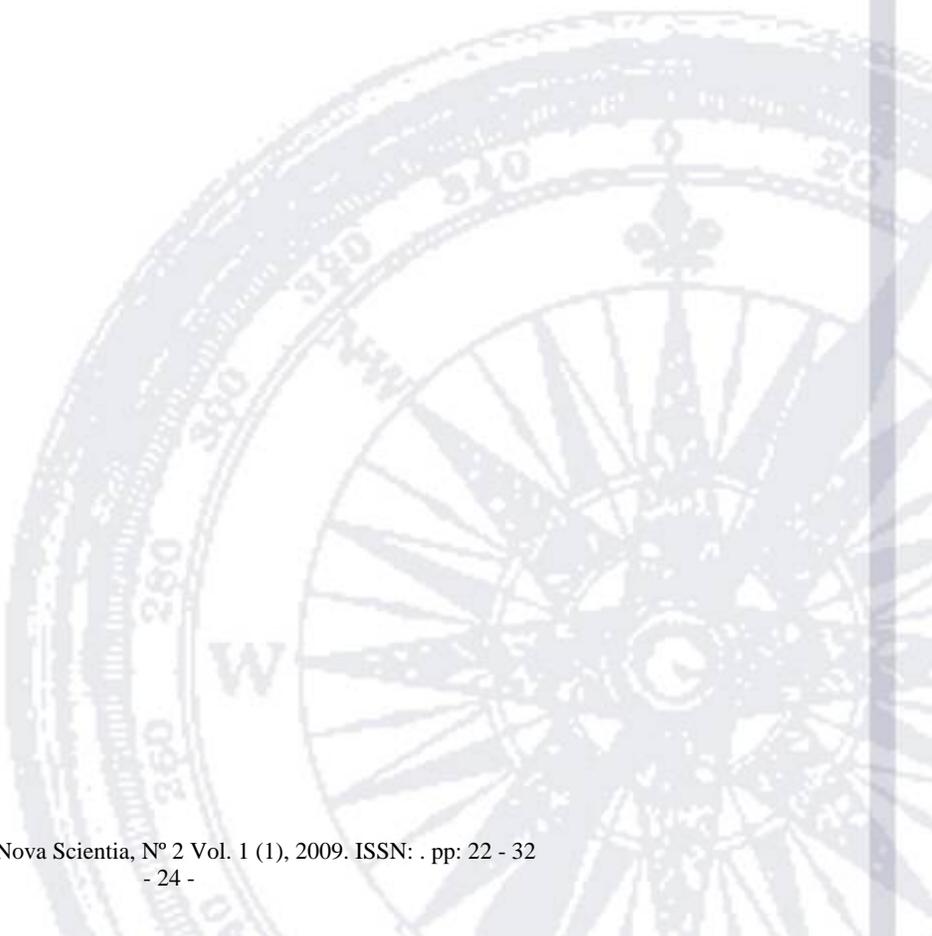
Aceptación 21-11-08

## Abstract

The UV-Visible absorption spectra of four well-known brands of rested Tequilas were analyzed using multivariate techniques in order to identify brands. This methodology can be performed *in situ* therefore it can be implemented as a protection means of the beverage brand. 40 samples of rested Tequilas were purchased from bars and liquor stores in the cities of Zacatecas, Zac and Leon, Gto. and we were looking for similarities and differences among the tested brands for grouping and predictions over new testing samples. This work describes the used methodology for those alcoholic beverages which is complementary to the methodology used through analytical chemistry. The methodology shows results in minutes and can be performed *in situ*, this in contrast to chromatography techniques. The results show a nice grouping of tequilas according

to the corresponding brand such that any new testing tequila could be classified among the studied brands.

**Keywords:** Tequila, absorption, UV-Vis spectroscopy, multivariate analysis.



## Introducción

El Tequila es una bebida alcohólica mexicana con denominación de Origen (D. O. T.) obtenida de la doble destilación de jugo fermentado, también llamado mosto, que proviene de la planta Agave Tequilana Weber variedad Azul. De acuerdo al porcentaje de los azúcares provenientes del agave que se utilizan en su elaboración, la Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI define las categorías para el Tequila de la manera siguiente: “Tequila 100% agave” es el tequila no enriquecido con otros azúcares distintos a los obtenidos del Agave tequilana weber variedad azul cultivado exclusivamente en territorio comprendido en la Declaración General de Protección a la Denominación de Origen del Tequila y envasado por el productor autorizado dentro de la región comprendida por la misma Declaración. El “Tequila mixto” o simplemente “Tequila” es el producto en el que el jugo fermentado es enriquecido y mezclado con azúcares provenientes de otras especies de agave en una proporción no mayor al 49% y puede ser envasado en plantas ajenas a productores autorizados.

De acuerdo a las características adquiridas en procesos posteriores a la destilación, el tequila se clasifica de la siguiente manera: *Tequila blanco*. Producto embotellado posterior a la destilación. *Tequila reposado*. Producto susceptible a ser abocado (coloreado, suavizado y/o endulzado), sujeto a un proceso de maduración de por lo menos dos meses en contacto directo con la madera en recipientes de roble o encino. *Tequila añejo*. Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos un año en contacto directo con la madera de recipientes de roble o encino. El contenido alcohólico comercial de todas las clases debe ajustarse, en su caso, con agua en dilución [1].

Hoy en día existe una gran variedad de marcas de tequilas en el mercado, algunas de ellas de gran prestigio a nivel mundial y algunas otras nuevas e incluso de dudosa procedencia. La fama del tequila ha trascendido fronteras, posicionándose como una bebida de gran reconocimiento, lamentablemente esto provocó el surgimiento de pseudo tequilas en el mercado degradando la imagen y calidad de esta bebida. Como consecuencia, han sido publicados numerosos artículos acerca de los ingredientes orgánicos del tequila. Los métodos usados tradicionalmente para caracterizar bebidas alcohólicas consisten generalmente en la separación previa de los compuestos químicos puros antes de analizarlos. Estas técnicas, como la cromatografía garantizan la autenticación y clasificación de bebidas alcohólicas [2], sin embargo, estos métodos presentan costes elevados debidos a la necesidad de disponer de

instrumentación analítica especializada, personal de laboratorio e incluso la inversión de tiempo para optimizar la separación de los componentes químicos. En este trabajo se propone un método espectroscópico complementario a las técnicas existentes capaz de identificar y clasificar tequila - *in situ*- proveniente de distintas compañías productoras basado en el análisis del espectro de absorción en el rango UV-VIS y un análisis multivariable. Las técnicas quimiométricas han sido utilizado en diversas áreas en el ámbito científico, en particular, Mignani et al. [3] agruparon aceites de oliva de acuerdo a su región de origen. Esta técnica es de bajo costo y no demanda instrumentación especializada e incluso no se requiere una preparación de la muestra previa a la medición, lo cual involucra un consumo de tiempo mínimo.

## Métodos

### *Espectroscopia UV-Visible*

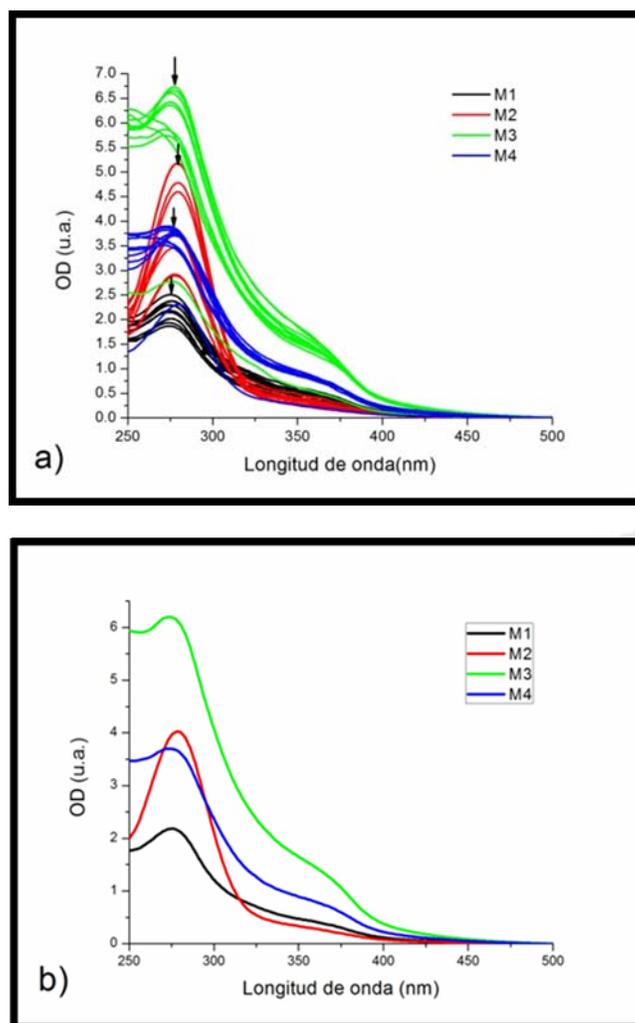
Para la adquisición de datos se empleo un espectrómetro Perkin Elmer modelo Lambda 900 en celdas de cuarzo de 2mm de camino óptico en el rango de 250nm a 500nm del espectro electromagnético con una resolución de 1nm, por lo que cada muestra está caracterizada por 251 variables correspondientes a cada nanómetro del rango previamente mencionado. Para las medidas de absorción se utilizó menos de 2ml por muestra. En el canal de referencia se colocó una celda de cuarzo vacía idéntica y se corroboró la reproducibilidad de las mediciones. Se seleccionó la misma línea base para las 40 muestras.

### *Métodos multivariantes*

Utilizamos PCA (Principal Component Analysis) para el análisis de los espectros de Tequilas. PCA es una técnica empleada básicamente para reducir la dimensionalidad o el número de variables, es decir, la información proveniente de las variables originales es proyectada a un número menor de variables subyacentes llamadas componentes principales en donde dichas componentes están ordenadas de acuerdo a la máxima varianza. Al graficar las componentes principales, se pueden observar las relaciones entre diferentes variables e identificar e interpretar patrones en las muestras, agrupaciones, similitudes, diferencias, etc. [4]. Los cálculos se realizaron en software comerciales Matlab®, Unscrambler® y OriginLab®.

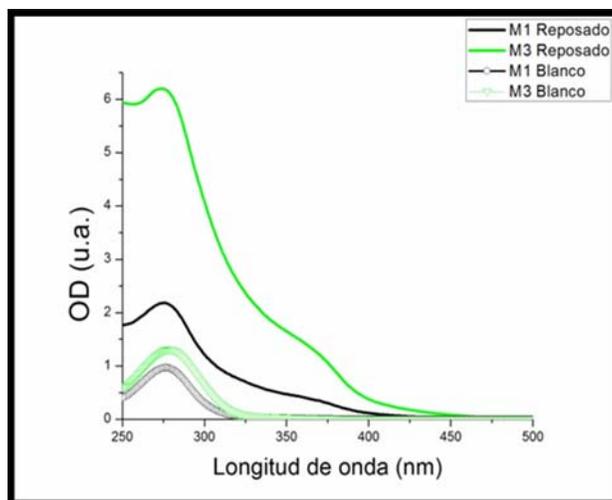
## Resultados y Discusión

La absorción de los tequilas reposados en la región UV-Visible está caracterizada por una banda ancha con un máximo de absorción cercano a los 278nm y absorción prácticamente nula después de los 400nm. las muestras de tequila se etiquetaron como M1, M2, M3 y M4, donde M4 corresponde al tequila reposado mixto; la figura 1 a) muestra el espectro de absorción de 10 tequilas por cada marca.



**Figura 1. a)** Absorción en el rango UV-Visible del espectro electromagnético para 40 muestras de Tequilas reposados. Las flechas indican las longitudes de onda de máxima absorción para cada marca todas ellas cercanas a los 278nm. **b)** Promedio del espectro de absorción de las marcas analizadas

Las bandas de absorción de los tequilas revelan la presencia de compuestos orgánicos originados en la cocción y fermentación del agave [5,6]; y se han reportado espectros muy similares en otras bebidas alcohólicas como brandies, cognacs y whiskies [7]. De acuerdo a la figura 1a), los máximos de absorción del total de muestras no se encuentran exactamente en la misma longitud de onda, éstas oscilan de los 274 a los 279nm, además, todos ellos difieren en intensidad aunque se encuentran en rangos de absorción definidos para cada marca como podemos ver, por ejemplo, en densidad óptica para M3, la intensidad oscila entre 5.75 y 6.75 unidades mientras que las bandas correspondientes a M1 presentan su máximo de absorción entre 1.75 y 2.5 unidades. Las bandas de absorción presentan un “hombro” entre los 300 y 400nm aproximadamente cuya intensidad parece tener una correlación con la marca a la que corresponden. Con el fin de hacer más obvias las diferencias presentes entre cada marca, se muestra el espectro de absorción promedio para M1, M2, M3 y M4 en la figura 1 b), donde es evidente que las 4 marcas presentan bandas de absorción distintas. Estas diferencias son de esperarse ya que las compañías productoras elaboran sus tequilas bajo condiciones diferentes y los procesos de producción, el equipo de destilación usado y los tiempos de reposo y maduración de sus productos dependen de cada compañía [8]. Aun cuando el control de calidad sea adecuado, no es extraño encontrar diferencias en el espectro de absorción para muestras provenientes de distintas destilaciones en una misma marca de tequila. O. Barbosa, et al [9] reportan diferencias similares en los espectros de absorción de tequilas blancos pero con una densidad óptica menor ( $OD \leq 2.55$ ), donde cada marca presenta un rango de absorción característico. La principal diferencia entre tequilas blancos y reposados radica en el tiempo de maduración al que se someten los reposados, lo que conlleva a la adición de otros compuestos químicos al estar en contacto directo con las barricas de madera; la Figura 2 muestra las diferencias en los espectros de absorción entre estas clases de tequilas.



**Figura 2.** Espectros de absorción promedio de las marcas de tequila M1 y M3 para las clases blanco y reposado.

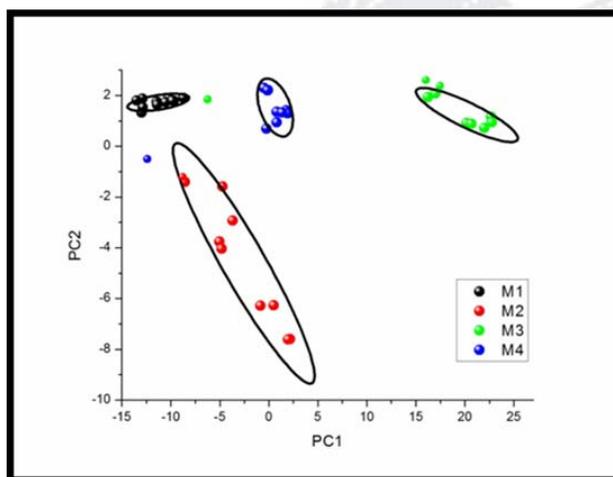
Los máximos de absorción para tequilas blancos y reposados están ubicados sobre un mismo rango de longitudes de onda. Por otro lado, para longitudes de onda mayores a los 325nm la absorción en los tequilas blancos prácticamente es nula mientras que en los tequilas reposados se extiende una banda de absorción desde los 250nm hasta la región visible cercana a los 450nm.

Para tequilas blancos se ha reportado que la banda ancha de absorción centrada alrededor de los 280nm la generan principalmente tres componentes orgánicos, i.e. Furfural, 5-Methyl Furfural y 2-Acetyl Furan [10]. Sin embargo, al observar y comparar los espectros mostrados en la Figura 2 es notorio que la banda de absorción de los tequilas reposados contiene un mayor número de componentes orgánicas puesto que la banda es más ancha y de mayor intensidad. En general otros autores reportan la presencia de más de 200 componentes orgánicos en la composición de un tequila y solo algunos de estos compuestos como los aldehídos se detectaron espectroscópicamente en la región UV entre 365nm y 390nm [11]. El análisis realizado en este trabajo no nos permite determinar ni cuantificar los componentes de los tequilas reposados, sin embargo usamos las diferencias presentes en sus espectros de absorción para obtener una clasificación e identificación de marcas con la ayuda de técnicas quimiométricas.

Con la representación de la absorción en función de la longitud de onda, Figura 1, se observan diferencias entre las marcas analizadas pero no se genera un modelo confiable para predecir marcas de futuras muestras utilizando los rangos de absorción característicos de cada marca de tequila. Empleamos Principal Component Analysis (PCA) con el fin de encontrar algún patrón en los datos que permita destacar con mayor claridad las diferencias y similitudes

presentes en las muestras de tequila. Para este análisis, los espectros de absorción se representan por una matriz, donde cada fila corresponde a una muestra de tequila (sin importar la marca) y cada columna constituye un nanómetro de longitud de onda del rango ya mencionado. Los espectros de absorción se suavizaron previamente al análisis estadístico con el fin de mejorar la señal a ruido. Debido al bajo número de muestras en este análisis estadístico, empleamos la técnica de validación cruzada completa [4] donde todas las muestras son usadas para calibrar y validar el modelo manteniendo una muestra fuera en cada cálculo. Los resultados obtenidos del análisis de PCA predicen 2 componentes principales, PC1 y PC2, con una varianza de 93.2% y 6.2% respectivamente. Los valores PC1 y PC2 constituyen el 99.4% de la información original.

La figura 3 muestra la gráfica de PC1 vs PC2 donde se representan las cuatro marcas de tequilas reposados. De esta figura se observa que casi todas las muestras se agrupan por marca en una región particular en el plano PC1-PC2 y se encuentran dentro de su correspondiente elipse de confiabilidad [12]. Las coordenadas del centro de cada elipse son los valores promedio PC1-PC2 de las muestras pertenecientes a cada marca particular. De acuerdo a un análisis de distribución bivariante [12], el área de cada elipse contiene el 95% de la información que proveen las muestras de cada marca. Haciendo una comparación de la figura 1a) y la figura 3 es evidente una correlación entre la dispersión de las intensidades de los máximos de absorción y la dispersión en el plano PC1-PC2 de las muestras de tequila. Para el caso específico de M2, los valores en OD son muy amplios en comparación con las otras marcas, al igual que su distribución en el plano PC1-PC2 mostrado en la figura 3.



**Figura 3.** Gráfica de 40 muestras de Tequila en sus componentes principales PC1 y PC2. Las muestras se agrupan en 4 marcas, cada una delimitada por una elipse de confiabilidad de 95%.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este análisis se puede predecir si una nueva muestra corresponde o no a cierta marca de tequila de la base de datos utilizando las elipses de confiabilidad. Las 4 marcas analizadas en este trabajo gozan de buen prestigio y se consideran marcas de buena calidad, sin embargo, de acuerdo al análisis realizado la marca M2 muestra una alta dispersión en las muestras analizadas lo que podría indicar un control de calidad deficiente en el proceso de fabricación en comparación con las otras marcas analizadas.

## **Conclusiones**

Tequilas reposados correspondientes a cuatro marcas se analizaron a través de espectroscopia de absorción en la región UV-Visible en el rango 250-500nm y los datos espectrales se analizaron utilizando técnicas quimiométricas. Los espectros de absorción de cada marca presentan características únicas y cada muestra, de un total de 40, se agrupó en la marca correspondiente. La metodología presentada en este trabajo representa una técnica potencial alternativa para la identificación y clasificación de marcas registradas de tequilas y puede extrapolarse a otras bebidas alcohólicas. Para mejores resultados en la identificación y agrupación de marcas es necesaria una base de datos más amplia. La metodología empleada no requiere de alguna preparación de las muestras, ni exige costes elevados ni gran demanda de tiempo para su análisis comparada con técnicas actualmente usadas para la identificación y caracterización de estas bebidas.

## **Agradecimientos**

UCL agradece al bar “Rincón de San Pancho” de la Cd. de San Francisco del Rincón, Gto. por las muestras de Tequila proporcionadas para esta investigación.

## **Referencias**

Ana Celia Muñoz-Muñoz, O. Barbosa-García, G. Ramos-Ortiz, J.L. Maldonado, J.L. Pichardo-Molina, M.A. Meneses-Nava, Pedro Luis López de Alba. “UV-vis spectroscopy and multivariate calibration (PLS) as a tool for identification and classification of tequilas”, enviado a publicación. [10].

Anna Grazia Mignani, Leonardo Ciaccheri, Constanza Cucci, et al. “EAT-by-LIGHT: Fiber-Optic and Micro-Optic Devices for Food Quality and Safety Assessment” IEEE Sensors Journal, Vol. 8, No. 7 Julio 2008. [3].

B.O Aguilar-Cisneros., M. G. Lopez, W. Freank, P. Shreier, J. Agric. Food Chem. 50(2002) 7520. [2].

Brereton G. Richard. “Chemometrics. Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant”. John Wiley & Sons LTD England, 2003. [4].

J.D. Jobson, Applied Multivariate Data Analysis, Regression and Experimental Design, vol 1, Springer-Verlag, New York, 1991. [12].

M. Cedeño Cruz, J. Alvarez Jacobs. “Production of Tequila from agave: historical influences and contemporary processes” [8].

M. Bautista-Justo, L. Garcia-Oropeza, J. E. Barbosa-Corona, L. A. Parra-Negrete. “El agave Tequilana Weber y la producción de Tequila”. Acta Universitaria, agosto, año/vol. 11, numero 002. Universidad de Guanajuato. Pp 26-34. [14].

Muñoz R. David, Wrobel K. Wrobel K., Determination of aldehydes in tequila by high-performance liquid chromatography with 2,4-dinitrophenylhydrazine derivatization. European Food Research and Technology, Vol. 221, No. 6, Springer – Verlag, Noviembre 2005. [11].

Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2005, Bebidas-Alcohólicas-Tequila-Especificaciones. [1].

O. Barbosa-García, G. Ramos-Ortiz, J.L. Maldonado, J.L. Pichardo-Molina, M.A. Meneses-Nava, J.E.A. Landgrave, J. Cervantes-Martinez. “UV-vis absorption spectroscopy and multivariate analysis as a method to discriminate tequila” Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2007, 66,(1),129-134. [9].

Robert C. Smoot. “Chemistry. A modern course”. Bell and Howell Company 1989 . [13].  
S.M. Benn, T.L. Peppard, J. Agric. Food Chem. 44 (1996) 557. [5].

B. Vallejo-Cordoba, A.F. González-Córdova, M.C. Estrada-Montoya, J. Agric. Food Chem. 52 (2004) 5567. [6].

S.A. Savchuk, V.N. Vlasov, S. A. Appolonova, V.N. Arbuzov, A.N. Venedin, A. B. Mesinov, B. R. Grigor’yan, J. Anal. Chem. 56 (2001) 214 [7].