



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**“APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA  
UV-VIS Y MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS  
PARA LA DIFERENCIACIÓN DE TEQUILAS Y  
MEZCALES”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**Q U Í M I C A**

P R E S E N T A:

**TANIA STEFANIE MONROY BARRERA**

**ASESORA: DRA. MARÍA GUADALUPE PÉREZ CABALLERO**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2015.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Aplicación de la espectroscopia UV-VIS y métodos quimiométricos para la diferenciación de tequilas y mezcales.

Que presenta la pasante: Tania Stefanie Monroy Barrera  
Con número de cuenta: 410089594 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura de Química

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Agosto de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. María Guadalupe Pérez Caballero	
<b>VOCAL</b>	M. en Ed. Victoria O. Hernández Palacios	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Dr. Julio César Botello Pozos	
<b>2do. SUPLENTE</b>	M. en C. Pablo Hernández Matamoros	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/mmgm\*

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A mis padres, Manuel Monroy y Laura Barrera, que me enseñaron, con honestidad, humildad y perseverancia, a alcanzar siempre mis metas, y que sin su apoyo no hubiera sido posible realizar este gran triunfo. Les agradezco por estar siempre conmigo, por su incondicional amor, esfuerzo, paciencia y lecciones de vida. Ustedes son mi gran motivación e inspiración para seguir adelante, los quiero mucho.

A mis hermanos Abraham y Melisa que me apoyaron en esta meta, les agradezco sus consejos, su cariño y por los gratos y malos momentos que han compartido conmigo. Gracias por creer en mí y ser una de mis motivaciones para seguir adelante, los quiero mucho.

A mis abuelitos, Cirilo Barrera y Martha Azpe, a quienes quiero y respeto, gracias por haberme apoyado y por ser parte de este triunfo de vida. De igual importancia, quiero dedicar esta tesis en memoria de mis abuelitos José Monroy† y Celia Ángeles† a quienes respeto y admiro.

A mis tíos, tías, primos y primas les agradezco por brindarme su apoyo, por creer en mí, por sus consejos y cariño en todo momento. Gracias por ser parte de mi familia, los quiero mucho.

A mi asesora de tesis, Dra. Guadalupe Pérez Caballero, mi admiración, respeto y cariño. Gracias por su apoyo y dedicación en esta tesis, por todas sus enseñanzas que me ayudaron a madurar profesionalmente, ser una mejor persona, pero sobre todo le agradezco su motivación que contribuyó a lograr una de mis metas más anheladas.

A mis mejores amigos de la FES-C: Ariadna, Lydia, Kenia, Donaldo, Carolina, Alexis y Daniela, quienes me apoyaron en el transcurso de mi carrera con todas sus enseñanzas y consejos, los cuales me alentaban a seguir adelante. A mis mejores amigos de la UAM: Yael, Daniel y Felipe, les agradezco todo su apoyo y años de amistad. A mi gran amiga Samara gracias por su confianza y sinceridad en todo momento. A todos les agradezco su amistad y permitirme ser su amiga, muchas gracias por compartir conmigo buenos y malos momentos.



A mis sinodales M. en Ed. Victoria Oralia Hernández Palacios, Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez, Dr. Julio César Botello Pozos y M. en C. Pablo Hernández Matamoros, les agradezco su apoyo en la revisión de esta tesis, por sus sugerencias y comentarios que contribuyeron a mejorarla.

A mis profesores de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán quienes me formaron y cuyas enseñanzas académicas me permitieron descubrir lo maravilloso que es la química.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, de manera especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, que me brindó esta gran oportunidad de adentrarme en el maravilloso mundo del conocimiento y vivir una bonita etapa que siempre recordaré.

A cada uno de ustedes les dedico esta tesis y les agradezco ser parte de mi vida, ya que aportaron en mí confianza, valentía y paciencia, las cuales aumentaron mi perseverancia para lograr al fin este gran triunfo de vida.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Generales.....	2
2.2. Específicos.....	2
3. ANTECEDENTES.....	3
3.1. El Tequila y el Mezcal.....	3
3.1.1. Aspectos botánicos del género Agave.....	4
3.1.1.1. Agave Tequilero.....	5
3.1.2. Denominación de Origen.....	6
3.1.2.1. Denominación de Origen del Mezcal (DOM).....	7
3.1.2.2. Denominación de Origen del Tequila (DOT).....	8
3.1.3. Elaboración del Tequila y el Mezcal.....	9
3.1.4. Diferencias entre Tequila y Mezcal.....	15
3.1.5. Clases de Tequilas y Mezcales.....	16
3.1.6. Composición del Tequila y el Mezcal.....	18
3.1.7. Adulteración de las bebidas alcohólicas.....	22
3.2. Espectrofotometría UV-VIS.....	24
3.2.1. Leyes de Absorción.....	29
3.2.2. Espectrofotómetro.....	30
3.2.2.1. Espectrofotómetro de doble haz.....	31
3.2.3. Aplicación de la Espectroscopia UV-VIS.....	32
3.3. Quimiometría.....	32
3.3.1. Tratamiento previo de los datos.....	33
3.3.1.1. Derivadas.....	33
3.3.1.2. Escalado.....	35
3.3.2. Clasificación de los métodos quimiométricos.....	36
3.3.3. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	36
3.3.4. Análisis Cluster Jerárquico (CA).....	40
4. METODOLOGÍA.....	44
4.1. Equipo.....	44
4.2. Materiales.....	44

4.2.1. Muestras de Tequilas.....	45
4.2.2. Muestras de Mezcales.....	47
4.3. Determinación de los espectros de absorción UV-VIS.....	49
4.4. Análisis Quimiométrico.....	49
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	52
5.1. DIFERENCIACIÓN ENTRE TEQUILAS BLANCOS 100% AGAVE Y MIXTOS.....	52
5.1.1. Comportamiento espectral UV-VIS.....	52
5.1.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS BRUTOS.....	54
5.1.2.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	54
5.1.2.2. Pautas Internas del modelo.....	58
5.1.2.3. Análisis de Loadings.....	59
5.1.3. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA PRIMERA DERIVADA.....	62
5.1.3.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	62
5.1.3.2. Pautas Internas del modelo.....	64
5.1.4. Análisis Cluster (CA).....	65
5.1.5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON PCA.....	66
5.2. DIFERENCIACIÓN ENTRE MEZCALES JÓVENES.....	67
5.2.1. Comportamiento espectral UV-VIS.....	67
5.2.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS BRUTOS.....	71
5.2.2.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	71
5.2.2.2. Pautas Internas del modelo.....	73
5.2.2.3. Análisis de Loadings.....	74
5.2.2.4. Análisis Cluster (CA).....	75
5.2.3. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA PRIMERA DERIVADA.....	77
5.2.3.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	77
5.2.3.2. Pautas Internas del modelo.....	79
5.2.4.3. Análisis Cluster.....	80
5.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA SEGUNDA DERIVADA.....	82
5.2.4.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	82
5.2.4.2. Pautas Internas del modelo.....	85
5.2.4.3. Análisis Cluster.....	88
5.2.5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR PCA.....	90

5.3. DIFERENCIACIÓN ENTRE MEZCALES JÓVENES Y TEQUILAS BLANCOS.....	91
5.3.1. Comportamiento espectral UV-VIS.....	91
5.3.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS BRUTOS.....	93
5.3.2.1. Análisis por Componentes Principales.....	93
5.3.2.2. Pautas Internas del modelo.....	94
5.3.2.3. Análisis de Loadings.....	96
5.3.3.3. Análisis Cluster (CA).....	97
5.3.3. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA PRIMERA DERIVADA.....	99
5.3.3.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	99
5.3.3.2. Pautas Internas.....	100
5.3.3.3. Análisis Cluster (CA).....	102
5.3.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA SEGUNDA DERIVADA.....	104
5.3.4.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	104
5.3.4.1.1. Primer modelo: intervalo 200-900 nm.....	105
5.3.4.1.2. Segundo modelo: intervalo 210-500 nm.....	106
5.3.4.2. Pautas Internas del modelo.....	107
5.3.4.3. Análisis Cluster (CA).....	109
5.3.5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR PCA.....	111
6. CONCLUSIONES.....	112
7. REFERENCIAS.....	113
8. ANEXOS.....	117
Anexo I. Tabla de compuestos orgánicos presentes en el Tequila Blanco y Mezcal Joven.....	117

## RESUMEN

En los últimos años el Tequila y el Mezcal han tenido gran demanda nacional e internacional, lo cual ha beneficiado a los productores, particularmente en el caso del Tequila. Diferentes estados cuentan con la denominación de origen para estas bebidas que son exclusivas de México. La regulación de elaboración y almacenamiento de estas bebidas están regidas por las Normas Oficiales Mexicanas NOM-070-SCFI-1994-Bebidas Alcohólicas-Mezcal y NOM-006-SCFI-2012-Bebidas Alcohólicas Tequila. El Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal (COMERCAM) y el Consejo Regulador del Tequila (CRT) se encargan de vigilar el cumplimiento de dichas normas. Sin embargo, cerca de 25 millones de litros de bebidas alcohólicas son adulterados y no cumplen con la normatividad respecto a su etiquetado. Además, la gran demanda que han tenido el Tequila y el Mezcal ha ocasionado que su valor comercial se incremente, lo que propicia su alteración ilegal e irregular (Contreras et al; 2009). Hoy en día la verificación de la calidad del Tequila y el Mezcal constituye un desafío analítico, dada la sofisticación desarrollada para llevar a cabo la adulteración de estas dos bebidas, lo cual influye en la disminución de su calidad (Bautista et al; 2001). Actualmente, la aplicación de métodos quimiométricos en combinación con técnicas espectroscópicas es una poderosa herramienta para discriminar y evaluar la calidad de los productos agroalimentarios y bebidas alcohólicas tales como el Tequila y el Mezcal (Muñoz et al; 2010). El presente estudio muestra la aplicación de espectroscopia UV-VIS y métodos quimiométricos no supervisados (Análisis de Componentes Principales PCA, y Análisis Cluster jerárquico, CA) con la finalidad de diferenciar entre Tequilas blancos 100% agave y mixtos, entre tipos de Mezcales jóvenes y por último entre Tequilas blancos y Mezcales jóvenes. Además, se realizó el estudio de pautas internas de los modelos óptimos de PCA para discernir acerca de las características y grado de fermentación de los Tequilas blancos y Mezcales jóvenes. También en este estudio se llevaron a cabo diferentes análisis cluster a partir de las condiciones de los modelos óptimos de PCA para corroborar la diferenciación de estas bebidas. Por otra parte, se incluye el análisis de los loadings con los cuales se permitió elucidar sobre algunos compuestos orgánicos presentes en los Tequilas blancos y Mezcales jóvenes que influyen en la diferenciación entre categorías de Tequilas blancos, tipos de Mezcales jóvenes y entre estas dos bebidas. Los mejores resultados para diferenciar entre tipos de Mezcales jóvenes,

y entre Tequilas blancos y Mezcales jóvenes se obtuvieron al aplicar la segunda derivada a los espectros de las muestras en combinación con los métodos quimiométricos no supervisados. Esta tesis demuestra que la aplicación de los métodos quimiométricos no supervisados en el análisis de Tequilas y Mezcales, constituye una opción viable para determinar su adulteración, debido a que estos procedimientos son herramientas sencillas, confiables y rápidas que pueden ser utilizadas posiblemente por instancias que estén involucradas en la elaboración, comercialización y regulación del Tequila y el Mezcal, con la finalidad de llevar a cabo un mejor control de calidad.

## 1. INTRODUCCIÓN.

En México el Tequila y el Mezcal constituyen dos símbolos étnicos, con denominación de origen, que en los últimos años han cobrado gran popularidad tanto nacional como internacional. El maguey para producir el mezcal es una planta de la familia de las amarilidáceas, de hojas largas y fibrosas de forma lanceolada, de color verde azulado. Los diferentes mezcales que se producen en México se diferencian en esencia por la especie de agave empleada en su elaboración y por las características tradicionales que en diferentes regiones del país utilizan para su manufactura (García Mendoza, 2012). Las características y la elaboración de los tequilas y mezcales están reguladas por la NOM-006-SCFI-2012 y NOM-070-SCFI-1994, respectivamente.

Cada bebida según su origen ostenta una composición de compuestos orgánicos volátiles que aunque en baja concentración es suficiente para conferir a la bebida un aroma y un sabor único, los cuales dependen de la materia prima utilizada para su fermentación, del tiempo de reposo y del proceso de elaboración (Lachenmeier et al; 2006). La gran demanda del tequila y el mezcal ha dado lugar a prácticas de adulteración, las cuales no sólo representan pérdidas económicas para los fabricantes, al poner en juego el prestigio de la marca, sino también la salud de los consumidores. Recientemente muchas bebidas alcohólicas se ofertan mediante la introducción de muchos componentes de menor costo y de menor calidad. Es por esto que debemos considerar la adulteración del tequila y el mezcal como un problema de especial relevancia económica, social y de salud. Actualmente, la aplicación de las técnicas quimiométricas constituye un importante paso para el control de calidad, autenticación, clasificación y determinación del origen de las bebidas alcohólicas de forma simple, rápida y a bajo costo (Contreras et al; 2009). Por lo tanto, el presente estudio plantea establecer modelos para diferenciar y discernir acerca del grado de fermentación entre Tequilas blancos 100% agave y mixtos, entre tipos de Mezcales jóvenes y por último entre Tequilas blancos y Mezcales jóvenes, mediante la combinación de la espectrofotometría UV-VIS y las técnicas quimiométricas no supervisadas (Análisis de Componentes Principales, PCA y Análisis Cluster, CA).

## 2. OBJETIVOS.

### 2.1. Generales.

Construir modelos óptimos para diferenciar entre:

- Tequilas Blancos 100% agave y mixtos.
- Tipos de Mezcales Jóvenes (sin gusano, con gusano y COMERCAM).
- Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes.

Mediante dos métodos quimiométricos no supervisados (Análisis de Componentes Principales y Análisis Cluster) a partir de espectros UV/VIS brutos, primera y segunda derivadas con la finalidad de discernir sobre su grado de fermentación.

### 2.2. Específicos.

- Realizar Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Cluster (CA) a partir de los perfiles espectroscópicos de Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes y seleccionar los modelos óptimos para diferenciar entre Tequilas Blancos 100% agave y mixtos, entre Mezcales Jóvenes sin gusano, con gusano y COMERCAM y entre los Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes.
- Obtener estos modelos con la finalidad de que estos permitan conocer el grado de fermentación y autenticidad de estas dos bebidas alcohólicas y que sean modelos sencillos, con perspectivas a ser aplicados como métodos de control de calidad del Tequila Blanco y Mezcal Joven.
- Explorar la existencia de pautas internas en los grupos formados de PCA mediante el análisis de los scores y sus respectivos espectros para discernir acerca del grado de fermentación de los Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes.
- Relacionar los loadings más importantes de los modelos óptimos de PCA con compuestos orgánicos para identificar aquellos que influyen en la diferenciación de los grupos en cada modelo.



### 3. ANTECEDENTES.

#### 3.1. El Tequila y el Mezcal.

La NOM-006-SCFI-2012 define al Tequila como bebida alcohólica regional obtenida por destilación de **mostos**<sup>1</sup>, preparados directa y originalmente del material extraído, en las instalaciones de la fábrica de un productor autorizado, el cual debe estar ubicado en el territorio comprendido en la Declaración General de Protección de la Denominación de Origen del Tequila, derivados de las cabezas de Agave de la especie “*Tequilana weber*” **variedad azul**, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidas a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no, siendo susceptibles los mostos de ser enriquecidos y mezclados conjuntamente en la formulación con otros azúcares hasta en una proporción no mayor de 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa, no permitiéndose las **mezclas en frío**.<sup>2</sup>

Por otra parte, la NOM-070-SCFI-1994 define al Mezcal como bebida alcohólica regional obtenida por destilación y rectificación de **mostos**<sup>1</sup>, preparados directa y originalmente con los azúcares extraídos de las cabezas maduras de los agaves con denominación de origen (ver sección 3.1.2.1) del Mezcal, previamente hidrolizadas o cocidas, y sometidas a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no, siendo susceptible de ser enriquecido, para el caso del Mezcal tipo II, con hasta en 20% de otros carbohidratos en la preparación de dichos mostos, siempre y cuando no se eliminen los componentes que le dan las características a este producto, no permitiéndose las **mezclas en frío**.<sup>2</sup>

En resumen, el Tequila y el Mezcal son bebidas alcohólicas regionales elaboradas a partir de las plantas conocidas como Agave de diferentes especies.

---

<sup>1</sup> Líquido azucarado, proveniente de la extracción del agave hidrolizado y, en su caso, adicionado de otros azúcares conforme a las NOM's 006 y 070, listo para el proceso de fermentación.

<sup>2</sup> Consiste en adicionar o mezclar cualquier producto alcohólico diferente del Tequila y el Mezcal, en las operaciones unitarias del proceso de elaboración del Tequila y el Mezcal, incluyendo el producto terminado (NOM 006 y 070).

### 3.1.1. Aspectos botánicos del género *Agave*.

El *Agave*, es una planta que pertenece a la familia de las Agaváceas, la cual es endémica de América; de hojas largas, fibrosas, en forma lanceolada, y color verde azulado, cuya parte aprovechable para la elaboración del Tequila y el Mezcal es la piña o cabeza (tallo y base de sus hojas), ya que es rica en azúcares (Castañeda Ponce, 2013).

Los agaves crecen en las planicies, las montañas, los acantilados, las dunas costeras o en los picos montañosos, preferentemente entre los mil y dos mil metros de altitud. El nombre genérico *Agave* proviene del griego *Agavos*, y fue propuesto por el naturalista sueco Carlos Linneo en 1753 para reconocer aquellas plantas americanas con hojas suculentas, arregladas en espiral alrededor de un tallo corto, en cuyos bordes se encuentran espinas marginales y una terminal en el ápice (García Mendoza, 2012).

El género *Agave* es una monocotiledónea, económicamente muy importante y cuenta con 136 especies (Bautista-Justo et al; 2001). La distribución geográfica de esta familia abarca desde el sur de Canadá hasta el norte de Sudamérica. La familia Agavácea alcanza los máximos niveles de riqueza y diversidad en México, por lo que este país se considera su centro de origen (Ávila Reyes, 2010). De un total de 210 especies de agaves, México tiene 159, es decir el 75 por ciento con 119 especies endémicas, esto es que son exclusivas de su territorio (García Mendoza, 2012).

Dentro de México, los estados con mayor diversidad de especies del género *Agave* son Oaxaca con 32 especies, Puebla con 31, Sonora con 30, Durango con 24, y San Luís Potosí con 23 (Ávila Reyes, 2010).

La relevancia actual de varias especies de *Agave* se ha incrementado debido al aumento en la demanda de bebidas alcohólicas como el Tequila y el Mezcal tanto nacional como internacionalmente (Ávila Reyes, 2010).

Es importante mencionar que los magueyes, también conocidos como Agaves o Mezcales, han sido aprovechados por el hombre americano durante miles de años. Desde hace al menos 400 años a las bebidas obtenidas de la destilación de los mostos fermentados de las

piñas o cabezas cocidas de maguey o Agave se le otorgaba el nombre de *Mezcal*, palabra de origen náhuatl (metl “maguey” e ixcalli “cocido”) que significa “*cocimiento de Maguey*”. Existen, por lo tanto, una gran cantidad de Mezcales según la especie o combinación de especies de Agaves, instrumentos y procesos de elaboración, que cambian de una región a otra. Por lo tanto, tequila, bacanora, raicilla, minero, de pechuga, tobalá, tuche y tuxca son sólo algunos nombres locales de Mezcales (García Mendoza, 2012). Como lo menciona Ávila Reyes (2010), de las diferentes especies de Agave que crecen en nuestro país sobresale por su importancia actual en la producción de bebidas alcohólicas, el Agave *Tequilana*, así como otras especies de Agave que representan un uso potencial para el desarrollo económico regional, tales como, *Agave angustifolia* en Oaxaca, *Agave crassispina* en el Antiplano Potosino y *Agave durangensis* en el estado de Durango.

### 3.1.1.1. *Agave Tequilero*.

El Agave “*Tequilana weber*” mejor conocido como agave azul, es una planta xerófila (que crece en zonas áridas y cálidas) de hojas color azul-verdoso, delgadas y casi planas: mide aproximadamente 1.25 m de largo y 10 cm de ancho y tiene una espina terminal de color rojo oscuro de 2 cm (Bautista-Justo et al; 2001).



Figura 3.1. *Agave Tequilero*.

En una hectárea de cultivo se tienen aproximadamente de 2,500 a 2,800 plantas que dependiendo del clima alcanzan su madurez en un periodo de seis a diez años. Los terrenos más aptos para su cultivo son los resecos, de tipo arcilloso, ricos en sílice de color rojiza, altos y pedregosos (Bautista-Justo et al; 2001).

Según la historia, en 1750 los Amatitecos, vecinos de Amatitán, Jal. (que se encuentra a 15 km de Tequila, Jal.), cocieron la piña del maguey, la molieron y fermentaron su jugo, para destilarlo en ollas, obteniendo así un líquido con alta concentración alcohólica, llamado

Mezcal. En la población de Tequila, Jalisco, esta misma bebida fue destilada usando alambiques, obteniéndose así el Tequila (Bautista-Justo et al; 2001).

Por otra parte, Oaxaca es la principal entidad productora de Mezcal, le siguen en importancia San Luis Potosí, Zacatecas y Durango. En todos esos estados, la producción es en mayor o en menor grado irregular, porque a diferencia de lo que ocurre con la industria de la producción del Tequila, la materia prima se recolecta a partir de poblaciones silvestres, en donde se carece de infraestructura suficiente y solo constituye una actividad temporal (Ávila Reyes, 2010).

### **3.1.2. Denominación de Origen.**

La Denominación de Origen (DO), es una designación reconocida internacionalmente que sólo se otorga a productos cuya calidad y características se deben a una región geográfica específica, tanto por factores naturales como humanos que intervienen en su proceso de elaboración (Revista del Consumidor, 2013).

Para que una denominación de origen sea ratificada a nivel internacional, los gobiernos del orbe deben generar un marco legal que proteja y garantice su calidad. En el caso de nuestro país, existe una Norma Oficial Mexicana (NOM) para cada uno de estos productos, así como un organismo encargado de promover y vigilar su cumplimiento cabal. En esta NOM se plasman de forma detallada los procesos y características que debe tener el producto final para poder denominarlo como tal (Revista del Consumidor, 2013). Para el caso del Tequila y el Mezcal, estos organismos son el Consejo Regulador del Tequila (CRT) y Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal (COMERCAM).

El CRT menciona que “En general, existe un consenso entre los expertos de la materia quienes aceptan que los factores decisivos en una denominación de origen son los siguientes y en ese orden:”

- 1. Clima.-** En este renglón, sobresalen, la intensidad lumínica, horas/luz, precipitación pluvial, temperatura y humedad relativa.
- 2. Suelo.-** Son factores relevantes la textura del suelo y la química del suelo.

3. **Especie vegetal.-** En el caso del Tequila, sabemos que el vegetal utilizado es el *Agave Tequilana weber* var. azul. Especie endémica y por lo tanto, perfectamente adaptado a las condiciones climatológicas y de suelo.
4. **Actividades humanas.-** Se refiere a las labores humanas involucradas desde el cultivo del agave, su cosecha, producción y maduración del Tequila. Estas actividades pueden incluir la técnica, tradiciones artesanales y habilidades.

En México el Tequila y el Mezcal constituyen dos símbolos étnicos, con denominación de origen debido a que se elaboran a partir de las plantas de agave ubicadas en diferentes zonas geográficas, como se menciona a continuación.

#### **3.1.2.1. Denominación de Origen del Mezcal (DOM).**

La NOM-070, describe que las especies de Agave utilizadas para la elaboración de Mezcal son las siguientes:

- *Agave Angustifolia haw* (maguey espadín).
- *Agave Esperrima jacobi*, *Amarilidáceas* (maguey de cerro, bruto o cenizo).
- *Agave Weberi cela*, *Amarilidáceas* (maguey de Mezcal).
- *Agave Patatorum zucc*, *Amarilidáceas* (maguey de Mezcal).
- *Agave Salmiana Otto Ex Salm SSP Crassispina (Trel) Gentry* (maguey verde o mezcalero).
- Otras especies de agave, siempre y cuando no sean utilizadas como materia prima para otras bebidas con denominaciones de origen dentro del mismo estado. Cultivados en las Entidades Federativas, Municipios y Regiones que señala la Declaración General de Protección a la denominación de origen “Mezcal”, en vigor.

Las modificaciones de la Declaración General de Protección de la Denominación de Origen del Mezcal (DOM), declarada el 22 de noviembre de 2012, establece que el Mezcal se puede producir en los siguientes estados: Guerrero, Zacatecas, San Luis Potosí, Durango, Oaxaca en la zona denominada “Región del Mezcal” comprendido por 7 distritos, un municipio de Guanajuato, 7 de Tamaulipas y 29 municipios de Michoacán (ver Figura 3.2).

### 3.1.2.2. Denominación de Origen del Tequila (DOT).

El Tequila es un mezcal que a partir de la declaración de Denominación de Origen del Tequila (DOT), se obtiene sólo de la variedad azul de *Agave Tequilana weber*. Hace tiempo que se dejó de usar el término “Mezcal” para esta bebida, a fin de identificarla con el nombre del pueblo de Tequila, donde se produjo por primera vez en gran escala. Se ha convertido en una bebida popular en el mundo entero y se elabora mediante métodos industriales para alcanzar mayor homogeneidad en todos sus aspectos y reducir costos (García Mendoza, 2012).

El 13 de octubre de 1977 en el Diario Oficial de la Federación y en la modificación de dicha declaración el 03 de noviembre de 1999, se estableció la Denominación de Origen a los municipios que pueden elaborar el producto denominado “Tequila”, comprendidos por el Estado de Jalisco, 6 municipios de Guanajuato, 25 municipios de Michoacán, 8 municipios de Nayarit y 11 municipios de Tamaulipas (ver Figura 3.2).

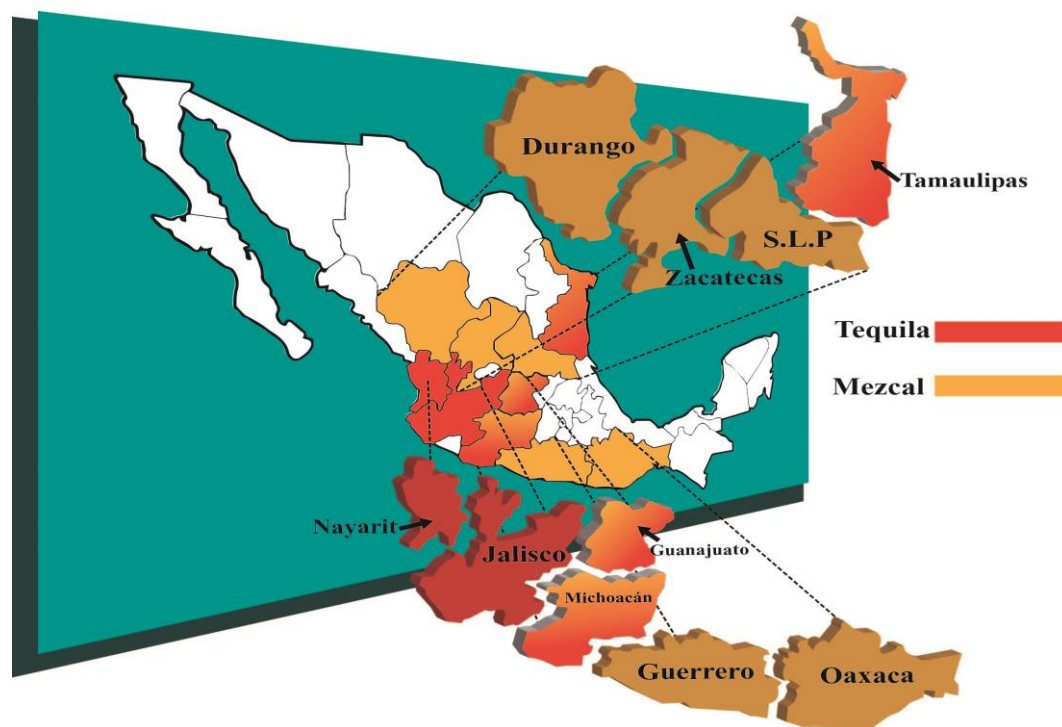


Figura 3.2. Estados con Denominación de Origen del Tequila y el Mezcal.

### 3.1.3. Elaboración del Tequila y el Mezcal.

La elaboración del Tequila y el Mezcal comienza con el cultivo del Agave en los territorios con denominación de origen para cada uno. Posteriormente, es la selección de la especie, el Agave *“Tequilana weber”* exclusivo para el Tequila y diversas especies de agaves según la región para el Mezcal, las cuales deben estar libres de enfermedades y con una altura aproximada de 50 cm (Cruz Ruiz, 2011).

La selección del Agave es aproximadamente a los 10 años, debido a que la planta alcanza su plena madurez; es decir, es capaz de aportar una mayor cantidad de azúcares para la producción de los mostos, y está lista para la jima (Castañeda Ponce, 2013).

La cocción del tallo de la planta sin hojas es para convertir los polisacáridos contenidos, derivados de los fructanos, en una mezcla de azúcares más pequeños (principalmente fructosa y glucosa); y posteriormente llevar a cabo la doble destilación del fermentado y su dilución (Mancilla y López, 2002). El producto es incoloro; sin embargo, si se permite madurar por periodos variables de tiempo en barricas adquiere una coloración amarillenta (Ávila Reyes, 2010). Las etapas detalladamente para el proceso de manufactura del Tequila y el Mezcal son las siguientes:

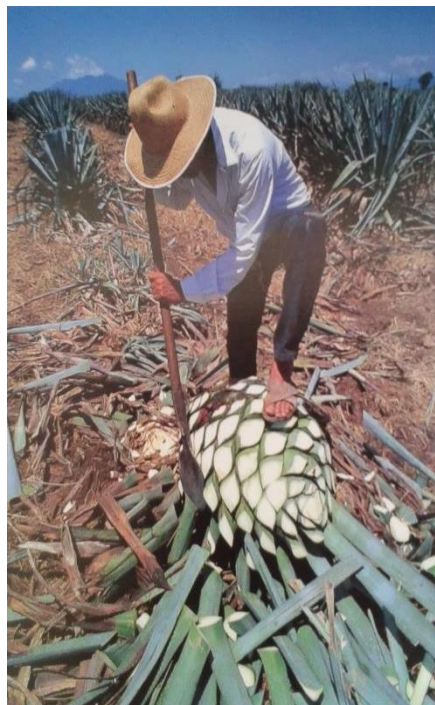
**1. Cosecha de la Piña:** Para poder cosechar las piñas, las plantas adultas de maguey deben ser previamente “castradas” o “capadas”, esto implica remover la inflorescencia o qurote en cuanto es detectado como primordio (Ávila Reyes, 2010).



**Figura 3.3. Inflorescencia joven en planta de maguey (izquierda), que es desprendida (derecha) como preparación de la planta antes del jimado (tomado de Ávila Reyes, 2010).**



**2. La jima o despencado:** Consiste en cortar las hojas de la planta de Agave al ras de la base. Al tallo y la base de las hojas que quedan unidas a él se le denomina cabeza o piña y de esa manera es como las plantas son recolectadas en el campo. Cuando a las plantas de Agave se les elimina el escapo floral, ocurre una concentración de azúcares en el tallo y se acelera su muerte. El periodo que transcurre entre segar las plantas y despencarlas es variable, puede durar varios días o varios meses, dependiendo de un criterio empírico que cada productor establece (Ávila Reyes, 2010).



**Figura 3.4. Jima del Agave.**

**3. Recepción de la materia prima:** Después de la cosecha, las piñas se transportan en camiones a las industrias, antes de ingresarlas se realiza un muestreo de cada carga para determinar la cantidad de azúcares reductores (fructuosa, glucosa) que contienen. La calidad de las piñas es alta cuando presentan de 25 a 30% en peso de azúcares (Bautista Justo et al; 2001).



**Figura 3.5. Piñas de Agave listas para transportarse a la planta de producción (tomado de Ávila Reyes, 2010).**





**Figura 3.6. Piñas de Agave listas para cocerse en autoclaves de acero inoxidable.**

**4. Cocción:** Las cabezas de agave se someten al proceso de cocción con vapor de agua a presión, ya sea en tradicionales hornos de mampostería, hechos bajo tierra (durante 36 a 48 horas) o en autoclaves de acero inoxidable (durante 12 horas) (Castañeda Ponce, 2013). Las piñas pueden ser cocidas enteras o cortarse en fragmentos (Bautista Justo et al; 2001). La finalidad de esta etapa es convertir a los fructanos (azúcares del agave) en moléculas menos complejas como la fructosa, glucosa y sacarosa, las cuales son fáciles de fermentar (Castañeda Ponce, 2013). Durante esta cocción se forman algunos compuestos que contribuyen al aroma y al sabor del Tequila y el Mezcal, como los aldehídos (Mancilla y López, 2002).

**5. Molienda:** La molienda se divide en varias etapas y tiene como propósito extraer de la fibra del agave el jugo en el cual los azúcares se encuentran solubilizados (Cruz Ruíz, 2011). Este proceso es realizado de diferentes formas (ver Figura 3.7), según la región del estado que se trate, mediante tractores, molinos cañeros, machacados manualmente con hachas o con prensas (Ávila Reyes, 2010). La etapa de la molienda se inicia con el desgarramiento de las piñas, el cual consiste en pasar el agave cocido por una máquina que se encarga de desmenuzarlo para posteriormente, llevarlo a una sección en donde prensas de tipo cañero exprimirán los jugos. Una vez exprimido este material fibroso, pasa por una selección donde se aplica agua para la máxima extracción de los azúcares. Como resultado de este proceso se obtiene un jugo de agave que contiene un 12% de azúcares (Cruz Ruiz, 2011). Las mieles extraídas del agave cocido también llamados mostos, son captadas en depósitos y transportadas por tuberías a las tinas de formulación o de fermentación, según sea el caso (Castañeda Ponce, 2013).



**Figura 3.7. Diferentes tipos de molienda. a) Molinos artesanales, b) Prensas para triturar las piñas cocidas de agave en plantas de producción.**

**6. Fermentación:** El jugo extraído de las piñas cocidas y molidas se deja fermentar de manera espontánea y natural (con las cepas propias de levadura) durante 4 a 7 días, lo cual dependerá de las condiciones ambientales. Este proceso se realiza en tanques fermentadores de acero inoxidable a los cuales se les adicionan levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* para la fermentación. Los productos de esta fermentación son: alcohol,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y energía (en forma de calor). El mosto en fermentación es efervescente, el movimiento cesa cuando las levaduras han terminado de fermentar azúcares y el contenido alcohólico es de 13.5-15% v/v, ya que la *S. cerevisiae* sólo es capaz de resistir hasta esta concentración de etanol, en ese momento finaliza el proceso y se acostumbra a decir que el mosto está muerto (Castañeda Ponce, 2013). En la mayoría de las vinazas no se utiliza inóculo, ni alimento para levadura, ni controles en cuanto a la concentración de azúcares en la cuba de fermentación. Durante este proceso, además de etanol, se forman compuestos que proporcionan sabor y aroma al Mezcal, entre los que se encuentran diferentes aldehídos derivados del etanol. En cerveza han sido reportados procesos oxidativos en vez de

fermentativos, después de que la concentración de azúcares disminuye durante la fermentación, provocando el incremento de la formación de los aldehídos, principalmente de acetaldehído; aunque para el Mezcal procesos similares no han sido reportados, éstos quizá puedan ocurrir durante la fermentación del jugo de agave para el Mezcal y Tequila (Ávila Reyes, 2010).



**Figura 3.8. Tanques fermentadores de acero inoxidable.**

**7. Destilación:** Es el procedimiento en donde el material fermentado se calienta, se evapora y se condensa lentamente a través de un alambique de cuchara, serpentín de cobre o destiladores de acero inoxidable (ver Figura 3.9), para obtener productos de riqueza alcohólica (Tequila o Mezcal) y vinazas; estas últimas constituyen un producto de desecho (levaduras muertas, azúcares no fermentables y minerales). El material fermentado es destilado dos veces, en la primera destilación llamada “destrozamiento” se obtiene un producto llamado “aguavino”, pues éste es de baja graduación alcohólica (10-12°G.L.) (Ávila Reyes, 2010). En la primera destilación es donde se separan las vinazas y otros componentes como aldehídos y cetonas. La segunda destilación llamada “rectificación” concentra el alcohol etílico y lo purifica de otros alcoholes. En esta etapa se obtienen dos fracciones: “cabezas y colas”, separando los compuestos más volátiles que el etanol, principalmente el metanol nocivo para el ser humano. En las “colas” se separan los compuestos de peso molecular más elevado que el etanol, encontrándose varios alcoholes que se conocen como “aceite de fusel” (Bautista Justo et al; 2001). Por lo tanto, en esta segunda destilación se obtiene un producto con mayor riqueza alcohólica con un contenido de alcohol entre 37 y 42°G.L. Esta reportado que para el Mezcal la graduación es estimada



de manera empírica por los productores, tomando en consideración el perlado que forma la bebida al ser agitada, sin utilizar ningún instrumento de prueba. Finalmente los productos de la segunda destilación pueden ser envasados en recipientes o garrafones de vidrio o plástico, dando lugar al Tequila blanco y Mezcal joven, según sea el caso, o pasar a la etapa de añejamiento (Ávila Reyes, 2010).



**Figura 3.9. a) Alambique de serpentín (tomado de Ávila Reyes, 2010), b) Destiladores de acero inoxidable.**

**8. Añejamiento o Maduración:** La finalidad del añejamiento es conferirle al Tequila y Mezcal el color, aroma y sabor característico a partir de dos procesos. El primero depositando el Tequila blanco o el Mezcal joven en barricas de roble blanco o encino, donde permanece por un periodo mínimo de 3 meses a 3 años. El segundo mediante el abocamiento (Castañeda Ponce, 2013). La definición de abocamiento se describe en la sección 3.1.4. Después de utilizar cualquiera de los dos procesos se ajusta el contenido alcohólico a 38-40°G.L y el producto es filtrado para separar algunas partículas provenientes de las barricas.



**Figura 3.10. Barricas donde se reposa o se añeja el Tequila y el Mezcal.**

### 3.1.4. Diferencias entre Tequila y Mezcal.

Una diferencia importante entre el Mezcal y el Tequila es su elaboración. Si bien el Mezcal, se produce industrialmente, existen también una gran variedad de procesos artesanales; en cambio el Tequila es un producto de un proceso más tecnificado y estandarizado (Molina Guerrero et al; 2007). Esto origina que la concentración de los componentes orgánicos en el Tequila presenten una menor variabilidad en comparación con el Mezcal (Lanthenmeier et al; 2006). Esto lo confirman los resultados obtenidos sobre un análisis de diversas muestras de mezcales, las cuales presentaron una composición química muy variable (Molina Guerrero et al; 2007).

Por otra parte, estas dos bebidas presentan ciertas variantes en la definición de sus categorías. Las categorías para el Tequila son los denominados **100% agave** que sólo contienen azúcares provenientes del *Agave Tequilana weber*, variedad azul y los **Tequilas mixtos** o simplemente denominados **Tequilas**, que además de originarse del agave azul, pueden elaborarse a partir de otros azúcares que no son de agave (Bautista Justo et al; 2001). Es decir, las mieles de agave (mínimo 51%) se mezclan con un preparado de otras mieles, como azúcar estándar, glucosa, piloncillo o sacarosa, fructosa, melaza, etc., en una proporción no mayor al 49% (Castañeda Ponce, 2013). Este enriquecimiento máximo de hasta el 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa, no se debe realizar con azúcares provenientes de cualquier especie de agave (NOM 006, 2012).

Por otra parte, el producto final del Mezcal es el resultado de la especie de Agave utilizada, que dependerá de la zona geográfica del país (ver sección 3.1.2.1), el clima, el proceso de fermentación, la técnica de destilación y el recipiente en el cual es reposado. El Mezcal puede provenir de la explotación de una sola especie de Agave o de la mezcla del alcohol proveniente de varias de ellas (García Mendoza, 2012). La NOM 070 señala dos categorías de Mezcal: El **Mezcal Tipo I**, 100% agave que se elabora solamente de las cabezas maduras de las especies de agaves mencionadas en la sección 3.1.2.1., las cuales son sometidas a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no. Un **Mezcal Tipo II** que permite la adición de hasta 20% de azúcares no provenientes de Agave sin informar al consumidor.

La NOM 070 y la NOM 006 establecen que ambas categorías de Tequilas y Mezcales pueden ser susceptibles a ser abocados. El **abocamiento** es un procedimiento para suavizar el sabor del Mezcal o Tequila, mediante la adición de uno o más productos naturales, aromatizantes, saborizantes, edulcorantes o colorantes permitidos por la Secretaría de Salud. Algunos de estos ingredientes son:

- Color caramelo
- Extracto de roble o encino natural
- Glicerina
- Jarabe a base de azúcar

El abocamiento se realiza con la finalidad de proporcionar o intensificar color, aroma y/o sabor a estas dos bebidas. Por ejemplo, el Mezcal y Tequila son líquidos cuyo olor y sabor dependen de su clase. Estas bebidas pueden ser incoloras o adquirir un color amarillento como resultado de su reposo en recipientes de madera de roble blanco o encino, o bien a causa del abocamiento (NOM 070 y NOM 006).

### **3.1.5. Clases de Tequilas y Mezcales.**

La NOM 006 y el Consejo Regulador del Tequila (CRT) establecen que el Tequila 100% agave y el Tequila mixto se clasifican en:

- **Tequila Blanco o Plata “Silver”**. Producto sin abocante, embotellado posterior a la destilación, cuyo contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución.
- **Tequila Joven u Oro “Gold”**. Producto susceptible de ser abocado, su contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución. Este tipo de Tequila es resultado de las mezclas de Tequila blanco con Tequilas reposados y/o añejos y/o extra añejos.
- **Tequila reposado “Aged”**. Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos dos meses en recipientes de madera de roble o encino. Su contenido alcohólico comercial debe ajustarse con agua de

dilución. El resultado de las mezclas de Tequila reposado con Tequilas añejos o extra añejos, se considera como Tequila reposado.

- **Tequila añejo. "Extra aged"**. Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos un año en recipientes de madera de roble o encino, cuya capacidad máxima sea de 600 litros. Su contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución. El resultado de las mezclas de Tequila añejo con Tequila extra añejo se considera como Tequila añejo.
- **Tequila Extra Añejo "Ultra aged"**. Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos tres años, sin especificar el tiempo de maduración en la etiqueta, en contacto directo con la madera de recipientes de roble o encino, cuya capacidad máxima sea de 600 litros, su contenido alcohólico comercial debe ajustarse con agua de dilución.

La NOM 070 establece que el Mezcal puede clasificarse, según el tiempo de almacenamiento en barricas, en tres clases:

- **Mezcal Joven:** Producto embotellado recién destilado, susceptible de ser abocado.
- **Mezcal Reposado:** Producto susceptible de ser abocado que se deja por lo menos dos meses en recipientes de madera de roble blanco o encino, para su estabilización antes de ser embotellado.
- **Mezcal Añejo o Añejado:** Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos un año, en recipientes de madera de roble blanco o encino, cada una con capacidad máxima de 200 litros. En mezclas de diferentes Mezcales añejos, la edad para el Mezcal resultante es el promedio ponderado de las edades y volúmenes de sus componentes.

Por otra parte, se considera al *Mezcal con gusano* un tipo de Mezcal tradicional de nuestro país. El gusano en las botellas de mezcal sirve únicamente para aportar un sabor específico al Mezcal. El origen de esta práctica se remonta a 1940 en donde un empresario sin experiencia, dueño de una pequeña empresa de producción de mezcal, descubrió que el maguey con gusano dio al Mezcal un sabor diferente, ya que cuando la planta de Agave fue

cortada para su cocción, una gran cantidad de gusanos se mantuvo en las piñas de agave. Así fue cómo surgió la idea de darle a su producto un toque distintivo de mercado (Mezcales de Oaxaca ).

Se conoce como gusano de maguey a dos especies de larvas de lepidópteros que se crían en las pencas de las especies de la familia del Agave. El término es nombre común a *Acentrocneme hesperiaris*, el gusano blanco de maguey, y *Hypoptya agavis*, el chinicuil o gusano rojo de maguey. El gusano de maguey *Acentrocneme hesperiaris*, es la larva de una mariposa, que crece en las hojas, pencas y raíces del maguey. Es blanco (excepto la cabeza y las extremidades pardas) y, en México, se puede comer frito. Está emparentado con el chinicuil, que también es un gusano comestible parásito del maguey, pero de color rojo.



**Figura 3.11. Gusano de maguey rojo.**

El gusano de maguey es el insecto mexicano que ha alcanzado mayor prestigio gastronómico mundial, siendo apreciado por todos los sectores de la sociedad mexicana. El gusano del agave, que se encuentra algunas veces en las pencas del agave después de cosecharlas, indica una mala elección ya que representa un Agave infestado. Se ha mencionado que el uso del gusano de maguey, además de un truco de mercado, sirve para enmascarar el sabor del mezcal debido a una mala producción de compuestos orgánicos (Mezcales de Oaxaca ).

### **3.1.6. Composición del Tequila y el Mezcal.**

El Tequila y el Mezcal son una mezcla que presentan como principales compuestos al etanol y al agua, además de muchos compuestos volátiles que les proporcionan diferentes características de aroma y sabor (Bautista Justo et al; 2001). Los compuestos que menciona la NOM-006 y que deben contener en ciertos parámetros el Tequila 100% y Tequila mixto se muestran en la siguiente tabla:



**Tabla 3.1.** Especificaciones Fisicoquímicas del Tequila.

Parámetros (1)	Tequila Blanco		Tequila Joven u Oro		Tequila Reposado		Tequila Añejo		Tequila Extra-añejo		Método de Ensayo (Ref.)
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	
Alcoholes Superiores	20	500	20	500	20	500	20	500	20	500	NMX-V-005-NORMEX
Metanol	30	300	30	300	30	300	30	300	30	300	NMX-V-005-NORMEX
Aldehídos	0	40	0	40	0	40	0	40	0	40	NMX-V-005-NORMEX
Esteres	2	200	2	200	2	200	2	200	2	200	NMX-V-005-NORMEX
Furfural	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	NMX-V-004-NORMEX

(1) Valores expresados en mg/100 mL de alcohol anhidro.

Para el caso del Mezcal tipo I y II la NOM-070 solo menciona los siguientes compuestos, no especificando los parámetros para cada clase de Mezcal, por lo que se consideran los mismos valores para las tres clases de mezcales.

**Tabla 3.2.** Especificaciones Fisicoquímicas del Mezcal.

Especificaciones	Mínimo <sup>1</sup>	Máximo <sup>1</sup>
Alcoholes superiores	100	400
Metanol	30	300

(1) Valores expresados en mg/100 mL de alcohol anhidro.

Los compuestos anteriores pueden definirse según la NOM-006 de la siguiente manera:

- **Alcoholes Superiores:** También conocidos como alcoholes de fusel, estos son alcoholes de peso molecular superior al alcohol etílico, por ejemplo el alcohol isoamílico (3-metil-1-butanol) y el isobutílico (2-metil-1-propanol). Se encuentran en altas concentraciones en cualquier tipo de bebidas destiladas. Si estas concentraciones son excesivamente altas se pueden considerar como sustancias indeseables.

- **Metanol:** Es muy frecuente en productos elaborados a partir de fruta ya que estos contienen pectinas que pueden desprender metanol. Se considera una sustancia indeseable y tóxica ya que en concentraciones altas puede ocasionar ceguera y muerte.
- **Ácidos orgánicos:** El principal es el ácido acético que proviene una parte de la fermentación y por otra parte de la madera de la barrica. Otros ácidos orgánicos importantes son el propanoico, isobutírico y el hexanoico.
- **Aldehídos:** Como acetaldehído que confiere aroma al Tequila y al Mezcal.
- **Ésteres:** Como acetato de etilo.
- **Furfurales:** Principalmente conocidos como aldehídos furánicos.

Los principales alcoholes cuantificados y detectados en los Tequilas y Mezcales han sido metanol, etanol, propanol, 2-butanol, 2-metil-1-propanol, 2-feniletanol y la mezcla de 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol; sin embargo, no se identificó la presencia de 1-butanol y 2-butanol para el Tequila de acuerdo a lo que menciona De León et al. (2008) y Díaz et al. (2008). En el caso de los Mezcales, han sido cuantificados todos los alcoholes antes mencionados incluyendo en pequeñas proporciones a 1-butanol y 2-butanol. En algunos mezcales se ha identificado el hexanol, ya que su síntesis, al igual que la del resto de los alcoholes, dependerá directamente del metabolismo de los microorganismos encargados de realizar la fermentación (Medina Valtierra, 2008). En el Mezcal, el contenido de compuestos volátiles tales como etanol, metanol y alcoholes superiores, conocidos como mayoritarios, dependen de diversos factores. Entre éstos, se encuentran principalmente la especie de Agave, las condiciones de fermentación y la técnica de destilación empleada. En particular, durante la destilación se separan las puntas” (primera fracción destilada), el “cuerpo” (segunda fracción) y las “colas” (tercera fracción). La concentración de estos alcoholes debe vigilarse debido a que en el sistema tradicional del mezcal, aún no está estandarizada su destilación, sino que depende del criterio del productor (Vera Guzmán et al; 2009).

Como lo menciona Vallejo et al. (2004) y Ávila (2010) el aroma del Tequila y el Mezcal está determinado por compuestos orgánicos volátiles, como ácidos orgánicos, ésteres, aldehídos y cetonas, que son productos de la oxidación del etanol, pero también se

considera que éstos tienen un impacto importante en la percepción del sabor. Por lo tanto, las etapas de cocción y fermentación de las bebidas alcohólicas del Tequila y el Mezcal son las más importantes, ya que en éstas se producen estos compuestos orgánicos volátiles. Sin embargo, esos compuestos también se incorporan a estas bebidas alcohólicas a partir de la madera de las barricas donde se reposan y añejan.

Estudios sobre la composición de volátiles del Tequila, mencionan que más de 175 componentes se identificaron en un extracto realizado con diclorometano, entre los cuales se detectaron más de 60 odorantes y cinco de ellos fueron importantes para determinar el aroma (Benn y Peppard, 1996). En relación a los mezcales, un estudio sobre la composición de volátiles reveló la presencia de 85 componentes de los cuales 30 compuestos fueron importantes como descriptores de aromas en las bebidas alcohólicas, como son acetales, ácidos, alcoholes, cetonas, aldehídos entre otros (Molina Guerrero et al; 2007).

Los compuestos como acetaldehído y aldehídos furánicos son los principales que proporcionan el sabor agradable al Tequila y Mezcal. Barbosa et al. (2007) y Ávila (2010), mencionan la presencia de diferentes compuestos orgánicos volátiles en el Tequila y Mezcal tales como furfural, 2 acetilfurano y metil furfural, originados en el proceso de cocción y fermentación de los jugos del agave.

Los ácidos orgánicos como el ácido acético también se encuentran presentes en las bebidas alcohólicas principalmente formados en la reacción de Maillard durante el proceso de cocción del agave (Mancilla y López, 2002) y posteriormente en la fermentación. Por otra parte, Vallejo et al. (2004) han cuantificado ésteres etílicos en diferentes clases de Tequilas, en donde el Tequila blanco presenta una concentración relativamente alta. La mayoría de los ésteres puede ser el resultado del metabolismo de la levadura durante la fermentación. Otros estudios han mostrado que el éster más abundante identificado al final de la fermentación del agave, es el acetato de etilo, y los ésteres de menor concentración son el acetato de isoamilo, octanoato de etilo, 2-fenil-acetato de etilo, decanoato de etilo, hexanoato de etilo y acetato de isobutilo (Díaz Montaña et al; 2008).

Díaz et al. (2008) mencionan que la concentración de los compuestos orgánicos volátiles en el Tequila dependerá de la especie y género de levadura, factores de crecimiento de la

levadura, cantidad de aminoácidos que presente el jugo del agave y condiciones fisicoquímicas durante la producción de esta bebida.

### **3.1.7. Adulteración de las bebidas alcohólicas.**

Actualmente los consumidores son cada vez más conscientes de que el cuidado de su salud está relacionado con la calidad de los alimentos y bebidas que ingieren. La verificación de la autenticidad del Tequila y el Mezcal representa un reto dada la sofisticación que existe para realizar adulteraciones mediante la introducción de muchos componentes de menor costo y calidad. Durante las últimas décadas estas prácticas han tenido un incremento enorme debido a los grandes beneficios económicos para quienes las realizan.

Cruz (2011) menciona que la adulteración se refiere a una parcial o total sustitución de una especie por otra y frecuentemente involucra la mezcla de productos auténticos con unos similares, pero menos caros. Esta adulteración no es fácil de detectar, aunque frecuentemente hay marcadores naturales presentes en el material adulterado que pueden ser monitoreados. La detección de la autenticidad tiene particular importancia en bebidas alcohólicas, porque éstas generalmente están asociadas con una región de origen específica, lo que hace más importante al producto.

La NOM 142 define que un producto se considera adulterado cuando su naturaleza o composición no corresponden a aquellas con que se etiquete, anuncie, comercie, suministre o cuando no correspondan a las especificaciones de su autorización. También un producto es adulterado cuando haya sufrido un tratamiento que disimule su alteración, se encubran defectos en su proceso o en la calidad sanitaria de las materias primas utilizadas. La NOM 142 también describe los siguientes términos:

- **Alteración:** Se considera alterado un producto o materia prima cuando, por acción de cualquier causa, haya sufrido modificaciones que lo conviertan en nocivo para la salud o que modifique sus características, siempre que tenga repercusión en la calidad sanitaria de los mismos.

- **Falsificación:** Se considera falsificado un producto cuando se fabrique, envase o se venda, haciendo referencia a una autorización que no existe; o se utilice una autorización otorgada legalmente a otro; o se imite al legalmente fabricado y registrado.

Una bebida adulterada no asegura calidad ni higiene en su elaboración, lo cual constituye un grave problema para la industria y para el consumidor, pues no sólo representan pérdidas económicas para los fabricantes, sino que pueden provocar serias complicaciones en la salud de quienes las consumen. La Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO) asegura que entre el 45 y 50 % de las bebidas consumidas en el país son adulteradas o falsificadas en establecimientos clandestinos. El 13 de marzo de 2013, la PROFECO, la Cámara Nacional de la Industria Tequilera (CNIT) y el CRT firmaron un convenio para evitar la venta de agave adulterado y establecer mejores prácticas para que las bebidas alcohólicas cumplan con las normas. Sin embargo, una manera de que el consumidor pueda reconocer la autenticidad de un Tequila o Mezcal es mediante la revisión de ciertas características en las botellas (ver Figura 3.12). De acuerdo a la NOM-006, NOM-070 y el CRT las etiquetas del Tequila y el Mezcal deben especificar lo siguiente:

- a) La palabra “**TEQUILA**” o “**MEZCAL**”.
- b) Clase y categoría del Tequila o Mezcal.
- c) Contraseña oficial NOM y número de productor autorizado (4 dígitos).
- d) Contenido neto expresado en litros o mililitros.
- e) Nombre o razón social del productor y domicilio fiscal del productor y envasador.
- f) Leyenda precautoria “El abuso en el consumo de este producto es nocivo para la salud”.
- g) Marca comercial registrada en México.
- h) Porcentaje de alcohol en volumen "Alc. Vol." (de 35% a 55%).
- i) Leyenda “Envasado de origen”, “Envasado en México”, “Hecho en México”, u otras.
- j) Número de Lote.



Figura 3.12. Características de la etiqueta de una bebida alcohólica.

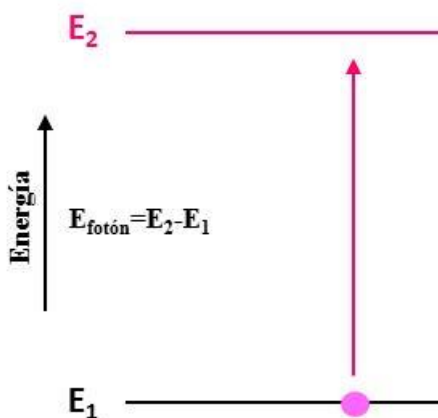
### 3.2. Espectrofotometría UV-VIS.

Los métodos analíticos espectroscópicos se fundamentan en medir la cantidad de radiación electromagnética que producen o absorben las especies moleculares o atómicas, para llevar a cabo su caracterización y/o su cuantificación (Skoog et al; 2005).

La espectroscopia UV-VIS se considera una técnica de tipo molecular y se basa en la absorción o emisión de la radiación ultravioleta/visible. La radiación ultravioleta se extiende desde 180 hasta 380 nm, y la visible desde 380 a 800 nm del espectro electromagnético. La radiación menor a 180 nm se conoce como ultravioleta lejana o al vacío. Esta espectroscopia no es muy utilizada debido a que se necesita de equipo especial ya que en esta región comienza la absorción del cuarzo y oxígeno atmosférico (Field et al; 2008).

Para entender la espectroscopia UV-VIS es importante mencionar que el intercambio de energía entre los componentes de la materia y la radiación electromagnética se da de manera discreta, es decir, en porciones de cuantos o fotones que son cantidades definidas de energía. Un fotón es absorbido por un átomo o molécula ocasionando la excitación de sus electrones desde un nivel de energía menor (estable) llamado estado energético fundamental, a uno de mayor energía (inestable) llamado estado excitado. A este proceso

se le conoce como transición electrónica (Skoog et al; 2005), la cual se representa mediante una flecha en la Figura 3.13.



**Figura 3.13. Diagrama de una transición electrónica. E1 estado energético fundamental, E2 estado energético excitado.**

Por lo tanto, la absorción de radiación ultravioleta/visible será la energía necesaria para originar las transiciones de los electrones de valencia. Para que se lleven a cabo estas transiciones debe cumplirse la siguiente ecuación:

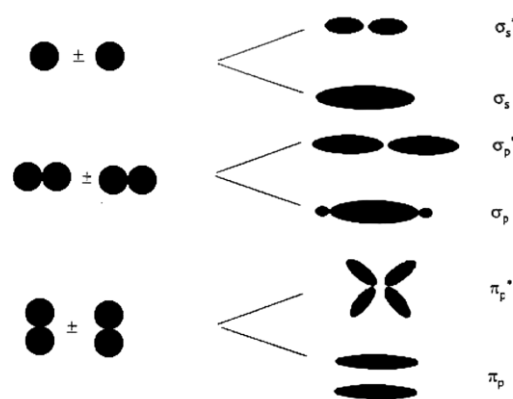
$$\Delta E = \frac{hc}{\lambda}$$

Donde  $h$  es la constante de Planck,  $c$  la velocidad de la luz y  $\lambda$  la longitud de onda. La ecuación representa la relación entre la energía de un fotón absorbido, necesario para una transición electrónica, y la longitud de onda que incide sobre la molécula. Un espectro de absorción se origina cuando una molécula absorbe la energía igual a la diferencia ( $\Delta E = E_2 - E_1$ ) entre dos niveles de energía para promover dicha transición electrónica (Belarra y Resano, 2011). La energía absorbida dependerá de la diferencia entre el estado fundamental y el estado excitado, cuanto menor sea la diferencia de energía, mayor la longitud de onda de absorción (Silverstein et al.)

La absorción de radiación ultravioleta/visible por parte de las moléculas originan transiciones de electrones entre orbitales, es decir, las moléculas tienen niveles de energía electrónica semejante al de los átomos llamados orbitales moleculares que se originan a

partir de las interacciones de los orbitales atómicos de los átomos que forman la molécula. Esta interacción de los orbitales atómicos da lugar a un orbital molecular de menor energía denominado orbital de enlace y otro de mayor energía llamado orbital antienlace (\*). El orbital que no interacciona se denomina orbital de no enlace (n), es decir, los electrones que no participan en la formación de enlaces covalentes en la molécula originan este tipo de orbital. En las moléculas orgánicas los electrones (n) están localizados principalmente en los orbitales atómicos como: nitrógeno, oxígeno, azufre y el grupo de los halógenos. Mientras mayor sea la interacción entre los orbitales mayor será la diferencia de energía entre el orbital molecular de enlace y antienlace (Salgado, 2005).

Los enlaces covalentes se originan por la interacción de dos orbitales atómicos, estos orbitales atómicos pueden ser de dos tipos: orbitales sigma ( $\sigma$ ) y orbitales pi ( $\pi$ ). Estos orbitales moleculares se representan en la Figura 3.14.



**Figura 3.14.** Formación de los orbitales moleculares  $\sigma$  y  $\sigma^*$  por traslapamiento frontal de dos orbitales atómicos s y p, así como enlaces  $\pi$  y  $\pi^*$  por traslapamiento lateral de los orbitales p.

La absorción de energía radiante Ultravioleta/Visible ocasionará la excitación de los electrones de la molécula, los cuales pasan a un orbital de mayor energía (antienlace).

Generalmente, a mayor conjugación de enlaces en una molécula, es menor la energía para excitar a un electrón, debido a que el espacio que hay entre un orbital lleno a uno vacío es menor, por lo tanto, no se necesita mayor cantidad de energía para excitar al electrón al siguiente orbital molecular (Salgado, 2005).

Las transiciones electrónicas se producen entre ciertos niveles de energía por absorción de radiación ultravioleta/visible (Llamas et al; 1998). Los tipos de transiciones que se pueden presentar se muestran en la Figura 3.15.



De acuerdo al diagrama en la Figura 3.15 que muestra el orden energético de las transiciones posibles en las moléculas. La transición de mayor energía es  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  y la de menor energía es  $n \rightarrow \pi^*$ . Mientras mayor sea la energía requerida para una determinada transición, menor será la longitud de onda de la radiación que debe suministrarse para conseguir dicha transición.

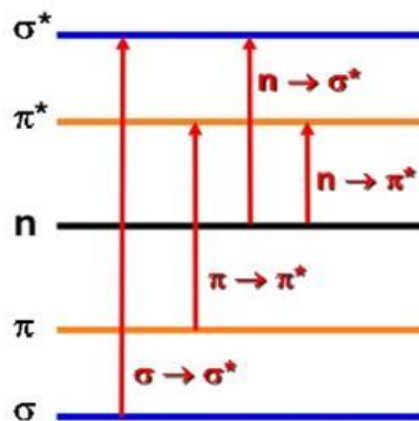
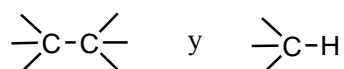


Figura 3.15. Transiciones electrónicas.

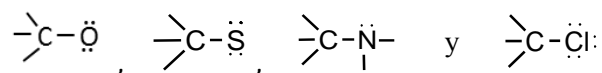
### **Cromóforos.**

Los grupos funcionales orgánicos capaces de absorber radiación electromagnética ultravioleta visible se llaman **cromóforos** (Skoog et al; 2005).

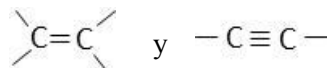
Los cromóforos que originan las transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  son moléculas que contienen electrones en los orbitales moleculares  $\sigma$ . Los compuestos que solamente contienen orbitales moleculares  $\sigma$  son moléculas orgánicas saturadas que no disponen de átomos con pares de electrones solos y por lo tanto presentan enlaces sencillos (Llamas et al; 1998). Ejemplos de estas moléculas orgánicas es el metano o aquellas que presenten enlaces como:



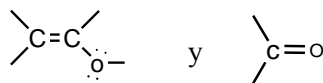
Los cromóforos que originan las transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$  son moléculas que contienen electrones solamente en los orbitales moleculares  $n$  y  $\sigma$ , es decir, son moléculas orgánicas saturadas que disponen de uno o más átomos con pares de electrones solos. Ejemplos de estas moléculas orgánicas son aquellas que presentan enlaces como:



Los cromóforos que originan las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  son moléculas que contienen electrones en los orbitales moleculares  $\pi$ , es decir, son compuestos orgánicos insaturados. Ejemplos de estos compuestos orgánicos son aquellos que presenten enlaces como:



Los cromóforos que originan las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  son moléculas que contienen electrones en los orbitales moleculares  $n$  y  $\pi$ , es decir, son compuestos orgánicos insaturados que disponen de átomos con pares de electrones solos. Ejemplos de estos compuestos orgánicos son aquellos que presenten enlaces como:



La intensidad de la absorción debida a la transición del tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  siempre será más intensa que las absorciones de tipo  $n \rightarrow \pi^*$  o  $n \rightarrow \sigma^*$ . En términos generales, los compuestos que solamente tienen transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  absorben la luz cerca de 150 nm, mientras que los compuestos con transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$  y  $\pi \rightarrow \pi^*$  absorben la luz cerca de 200 nm debido a los cromóforos sin conjugación. Los compuestos con transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  absorben la luz en el ultravioleta de 180 a 380 nm (Creswell et al; 1972).

La posición de la absorción máxima de cada banda espectral corresponde a una longitud de onda máxima ( $\lambda_{\text{máx}}$ ), que es la energía necesaria de luz para efectuar cada tipo de transición electrónica. La amplitud de las bandas espectrales se debe en parte a la instrumentación (Belarra y Resano, 2011).

Algunos compuestos orgánicos cromóforos de utilidad para esta tesis se muestran en el anexo 1, en donde se muestran las longitudes de onda máxima de absorción y su transición correspondiente. Los datos de longitudes de onda máxima sirven solamente como una guía aproximada para la identificación de grupos funcionales, porque la posición de los máximos es afectada por el disolvente que se utilice y detalles estructurales del compuesto químico (Llamas et al; 1998).

### 3.2.1. Leyes de Absorción.

Como lo menciona Skoog et al. (2005) la espectroscopia UV/VIS de absorción sucede cuando un haz de luz (radiación) se hace pasar por un monocromador que aísla una sola longitud de onda (radiación monocromática), la cual presenta una potencia  $P_0$  que incide sobre una muestra de espesor  $b$ . El haz emergente de la muestra tendrá una potencia  $P$ , de manera que la muestra absorbe una fracción de la luz, por lo que  $P \leq P_0$ . A esta fracción de radiación incidente que se transmite en la solución puede expresarse como transmitancia ( $T$ ), definida por:

$$T = P/P_0$$

La absorbancia ( $A$ ) de una solución se relaciona con la transmitancia de manera logarítmica como lo expresa la siguiente ecuación:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P}$$

La ley de Lambert-Beer relaciona la absorción de luz con las propiedades de la muestra de interés. Esta ley establece que la cantidad de radiación absorbida es proporcional al número de moléculas absorbentes a través de las cuales la luz pasa, y ésta también dependerá de la longitud del trayecto por el que pasa la luz, esto se representa en la siguiente ecuación:

$$A = \log \frac{P_0}{P} = abc$$

Donde  $c$  es la concentración de la especie,  $b$  la longitud de la trayectoria del medio de absorción y  $a$  es una constante de proporcionalidad llamada absortividad.

Cuando  $c$  es expresado en moles por litro, y la longitud de paso óptico ( $b$ ) en centímetros, la ecuación se convierte en:

$$A = \epsilon cb$$

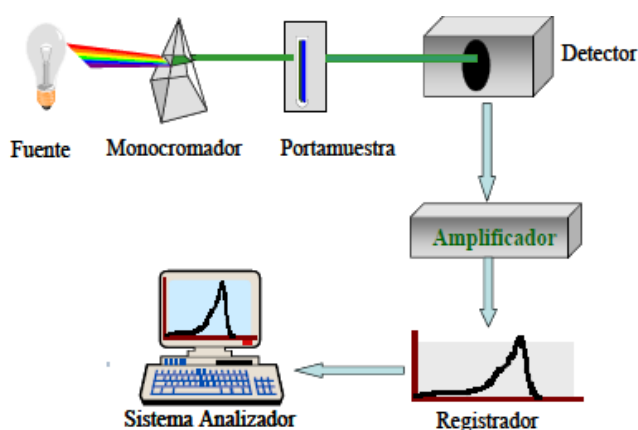
El término  $\epsilon$  es conocido como coeficiente de absortividad molar (depende de la longitud de onda y de la naturaleza de la especie). La intensidad de una banda de absorción en los

espectros UV/VIS es usualmente expresada como la absorptividad molar del máximo de absorción  $\epsilon_{\max}$  o  $\log \epsilon_{\max}$ .

### 3.2.2. Espectrofotómetro.

El equipo empleado para la medición de la absorbancia o transmitancia de radiación en el intervalo del ultravioleta-visible se llama espectrofotómetro UV/VIS.

La Figura 3.16 muestra un diagrama del funcionamiento de un espectrofotómetro sencillo UV/VIS. El espectrofotómetro UV/VIS tienen cinco componentes: (1) una fuente estable de energía radiante; (2) un selector de longitudes de onda; (3) uno o varios recipientes con muestras; (4) un detector de radiación; y (5) una unidad de procesamiento y lectura de señales.



**Figura 3.16. Funcionamiento del espectrofotómetro de haz sencillo (tomado de Botello Pozos).**

El proceso comienza cuando la fuente de radiación del espectrofotómetro se hace pasar a través de un monocromador, que aísla y permite el paso de una longitud de onda deseada para que sólo la banda de interés sea detectada y medida. Estas longitudes de onda se hacen pasar a través de las celdas que contiene la muestra, por lo que parte de las ondas de luz han interaccionado con las moléculas en las celdas y han sido absorbidas por las mismas. Posteriormente, las longitudes de ondas absorbidas pueden detectarse permitiendo que la luz emergente de la celda de la muestra incida en un detector que convierte la energía radiante en una señal eléctrica medible. Por último, la señal eléctrica procedente del detector es amplificada mediante un procesador de señales que consiste en un equipo electrónico y una computadora en los instrumentos más modernos. La imagen registrada se denomina espectro. Una línea espectral es la longitud de onda a la cual se ha absorbido la

radiación UV/VIS. Es decir, un espectro se origina por absorción de energía a ciertas longitudes de onda en UV/VIS por parte de la molécula (Skoog et al; 2005).

### 3.2.2.1. Espectrofotómetro de doble haz.

Un espectrofotómetro de doble haz contiene los mismos componentes de un espectrofotómetro sencillo, pero en este caso la radiación pasa alternadamente por las celdas de muestra y de referencia (ver Figura 3.17). El haz de luz se separa mediante un motor que hace girar a un espejo dentro y fuera de la trayectoria de la radiación. Cuando el espejo obturador intermitente (entre cortador) no desvía el haz, la luz pasa a través de la muestra y el detector mide la potencia radiante emitida de la muestra. Cuando dicho espejo desvía el haz a través de la celda de referencia, el detector registra la potencia emitida por esta celda (ver Figura 3.17). En este tipo de espectrofotómetros la luz es desviada varias veces por segundo y el circuito compara automáticamente la potencia emitida de la muestra y la emitida por la referencia, para obtener la absorbancia. Este procedimiento proporciona una corrección automática de fluctuaciones en la intensidad de la fuente o en la respuesta del detector, dado que la potencia que sale de las dos muestras se compara con mucha frecuencia (Skoog et al; 2005). Se compara la energía del haz transmitido por la solución del analito contenido en una celda, con la energía de un haz que atraviesa un blanco contenido en otra celda idéntica de referencia. Este blanco posee la misma composición de la muestra, excepto el analito.

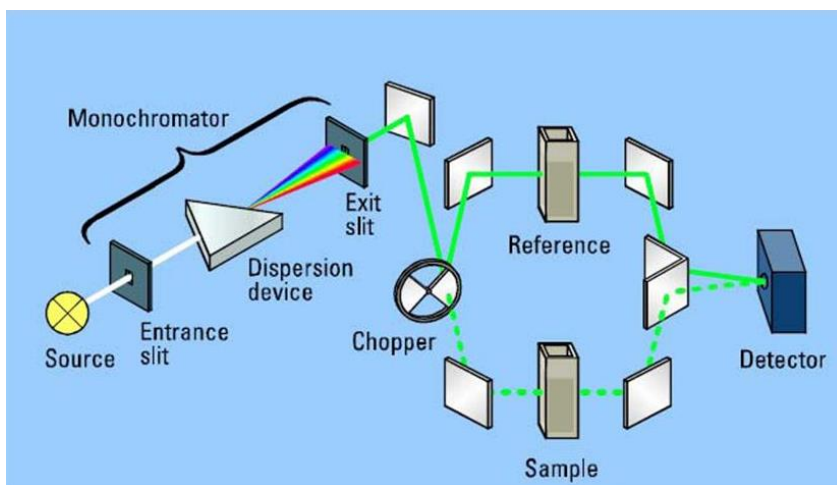


Figura 3.17. Funcionamiento del espectrofotómetro de doble haz.

### **3.2.3. Aplicación de la Espectroscopia UV-VIS.**

La espectroscopia ha tenido una función vital en el desarrollo de la teoría atómica moderna, además la espectroscopia molecular se emplea mucho en la identificación y determinación cuantitativa y cualitativa de muchos compuestos orgánicos, inorgánicos y bioquímicos (Skoog et al; 2005).

### **3.3. Quimiometría.**

En diversos estudios se han reportado que los métodos espectroscópicos se emplean para el análisis de bebidas alcohólicas con la finalidad de caracterizarlas químicamente y autentificarlas para mantener un control de calidad. Por ejemplo, como lo reportan Barbosa et al. (2007) y Ávila (2010) para el Tequila y el Mezcal, respectivamente. Los métodos espectroscópicos pueden proporcionar datos analíticos sobre muchos componentes de una única muestra proporcionando datos multivariantes. El problema es cómo evaluar dichos datos para obtener información (Lucio Gutiérrez, 2012).

El desarrollo de la quimiometría se inició en 1969, con los trabajos de Jurs, Kowalski e Isenhour. Éste fue incrementándose debido a la utilización masiva de computadoras acopladas a la instrumentación moderna. La quimiometría es una disciplina metrológica que aplica conocimientos matemáticos, especialmente estadísticos, a procesos químicos, para extraer de los datos experimentales la mayor cantidad posible de información y extender el conocimiento del sistema químico. Además, para que este conocimiento sea óptimo se deberá discriminar entre la información relevante y aquella otra de menos interés. (Mongay Fernández, 2005). Otros autores definen a la quimiometría como una disciplina que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para diseñar o seleccionar procedimientos de medida y experimentos óptimos, con la finalidad de proporcionar la máxima información química mediante el análisis de los datos químicos (Ramis y García, 2001).

Los análisis espectroscópicos de Tequilas y Mezcales a partir de los instrumentos actuales, constituyen sistemas multivariantes debido a la gran cantidad de señales analíticas que pueden ser registradas, las cuales son originadas por los diferentes componentes orgánicos presentes en estas dos bebidas. En este sentido, el uso de la quimiometría, como

herramienta de análisis, permite afrontar las dificultades para diferenciar entre estas dos bebidas con gran similitud y por ende se puede establecer un mejor método de control de calidad. Con estos métodos quimiométricos se logra extraer la información más importante y útil a partir de un gran número de variables lo que permite observar ciertas pautas o tendencias en los datos.

### **3.3.1. Tratamiento previo de los datos.**

Los procedimientos de reducción de variables no se suelen aplicar directamente a los datos originales, sino que éstos sufren previamente algún tipo de pretratamiento (Blanco y Cerda, 2007). De manera general, el pretratamiento es la modificación de datos realizados antes de construir un modelo matemático o antes de aplicar otra forma de analizar los datos. El propósito del pretratamiento es hacer lineal la respuesta de las variables y eliminar las fuentes extrañas de variación que no son de interés en el análisis. De no ser eliminada la varianza debida a los errores sistemáticos presentes en los experimentos, el modelo requerirá un trabajo más complejo para obtener la información de interés (Lucio Gutiérrez, 2012). Los pretratamientos que fueron utilizados en esta tesis se describen a continuación.

#### **3.3.1.1. Derivadas.**

Las derivadas permiten aumentar las diferencias entre las bandas anchas y solapadas de los espectros mejorando la resolución de las señales, las cuales a veces pueden ser difíciles de apreciarse en un espectro normal. Esto se realiza con la finalidad de identificación, criterio de pureza o control de calidad para las muestras de interés.

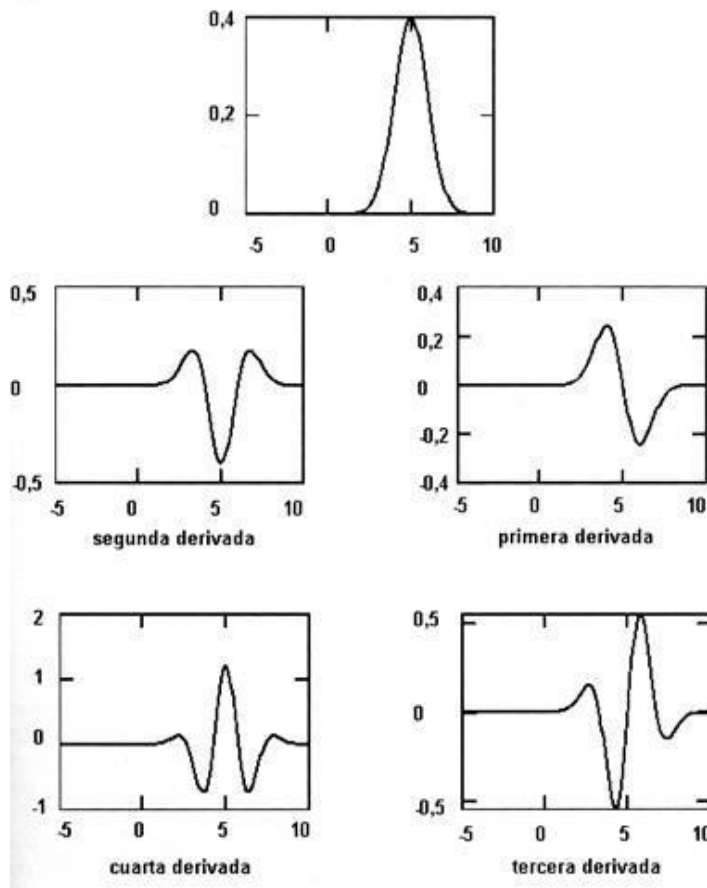
Debido a que los métodos instrumentales utilizados en esta tesis son espectroscópicos, la espectrofotometría derivativa es una opción viable. Esta técnica consiste en la obtención y tratamiento del cociente diferencial  $\frac{d^n A}{d^n \lambda}$  de un espectro convencional en un determinado intervalo de longitudes de onda, siendo  $n$  el orden de la derivada.

Al derivar las señales consideradas de tipo gaussiano, éstas presentan las siguientes características: las derivadas impares son funciones dispersas con muy poca similaridad con

la función original (ver Figura 3.18). La primera derivada puede servir para detectar con mayor exactitud el máximo de la función, o bien pequeñas señales escondidas, puesto que la derivada se hará cero para los máximos de los picos (Blanco y Cerda, 2007).

Por otra parte, las derivadas de tipo par (ver Figura 3.18) presentan un pico central de signo alternante que es más estrecho, pero coincidente con la posición del pico original (Blanco y Cerda, 2007).

La primera derivada de un espectro original se define como la grafica de la pendiente de la curva de absorcion en cada longitud de onda. En el espectro de la primera derivada o de la segunda derivada, la señal de las ordenadas no son proporcionales al valor de absorcion, sino a la pendiente del espectro normal.



**Figura 3.18. Derivadas de los espectros (tomado de Blanco y Cerda, 2007).**

Por ello, como la pendiente en el espectro normal puede tener valores positivos y negativos, en la escala de ordenadas, o bien, máximos y mínimos, según el carácter de la pendiente para una sustancia absorbente, la posición de la longitud de onda y la relación entre los valores de los extremos (máximos y mínimos) representa una magnitud característica y proporcional a la concentración en que se encuentren los compuestos.

Una desventaja de la espectrofotometría derivativa es que disminuye la señal/ ruido. Se ha estudiado este efecto concluyendo que la relación depende de la anchura de banda y



decrece cuando aumenta el orden de la derivada. En la derivación siempre se pierde algo de información. En ocasiones, sin embargo, esta pérdida puede ser beneficiosa.

Debe tenerse siempre en cuenta que las ventajas de derivación son tales si la operación se aplica sobre señales limpias. De lo contrario los efectos de enfatización y magnificación de los pequeños cambios aparecidos en la señal conducirán a señales derivadas prácticamente imposibles de interpretar. Además, este efecto se incrementa al aumentar el orden de la derivada (Blanco y Cerda, 2007). Los métodos de derivación más utilizados son el de Norris y el de Savitzky-Golay.

### **3.3.1.2. Escalado.**

El escalado de los datos de una matriz entre un valor mínimo y uno máximo, es un caso particular de normalización que puede ser aplicado antes de la construcción de los modelos matemáticos. Este pretratamiento puede ser útil para evitar la presencia de valores extremos en la escala de los datos en algunas muestras de origen natural (Lucio Gutiérrez, 2012).

Los tratamientos con escalado se fundamentan en una matriz  $X$  de datos donde cada fila se corresponde con el espectro de una muestra (cada columna es la absorbancia medida a una determinada longitud de onda (variable)). Denominando  $x_{ik}$  al elemento de la matriz que está en la fila  $i$  y en la columna  $k$  (Blanco y Cerda, 2007). Los tratamientos a dicha matriz son:

**1. Centrado de los datos.** Se calcula el valor medio de cada variable de la matriz y se resta a cada punto de la columna. El valor medio corresponde al centro del modelo, y los valores de todas las variable están ahora referidos a dicho centro (Blanco y Cerda, 2007).

$$x'_{ik} = x_{ik} - \bar{x}_k$$

Donde  $x'_{ik}$  es el dato centrado,  $x_{ik}$  es el dato de la fila  $i$  (o espectro  $i$ ) y la columna  $k$  (o la variable  $m$ ) antes del centrado y  $\bar{x}_k$  es la media de la columna  $k$ . Este tratamiento permite seguir manteniendo las unidades originales.

**2. Autoescalado.** Después de centrar cada columna, se divide el resultado por la desviación estándar de la misma,  $s_k$ , de esta forma la varianza de cada variable vale la unidad (Blanco y Cerda, 2007). La ecuación de autoescalado se define de la siguiente manera:

$$x'_{ik} = \frac{x_{ik} - \bar{x}_k}{s_k}$$

Donde  $x'_{ik}$  es el dato autoescalado,  $x_{ik}$  es el dato de la fila  $i$  (o espectro  $i$ ) y la columna  $k$  (o la variable  $m$ ) antes del autoescalado y  $x_k$  es la media de la columna  $k$ .

### 3.3.2. Clasificación de los métodos quimiométricos.

Los métodos quimiométricos se pueden dividir en dos: pueden llamarse métodos de reconocimiento de pautas no supervisados, los cuales se basan en observar si los objetos forman grupos cuando no se espera ningún conocimiento *a priori* de los grupos, es decir, que llevan a cabo una clasificación o diferenciación entre las muestras. Y otros que se llaman métodos de reconocimiento de pautas supervisados, en donde la pertenencia a un grupo de una serie de objetos es conocida, utilizando estos objetos para encontrar una regla para asignar un nuevo objeto de grupo desconocido al grupo correcto (Miller y Miller, 2002). En este trabajo se describirán los métodos de reconocimiento de pautas no supervisados que fueron utilizados para esta tesis. Es importante mencionar que el álgebra matricial, resulta necesaria para describir los métodos de análisis multivariantes de manera completa. Sin embargo, en este trabajo no se abordará este tema. El objetivo es sólo proporcionar una perspectiva del propósito y el potencial de los métodos multivariantes (Miller y Miller, 2002).

### 3.3.3. Análisis de Componentes Principales (PCA).

Es una técnica habitual en el análisis multivariable cuyos objetivos destacan la clasificación, manifestando las relaciones existentes entre las diferentes muestras, y en la reducción de datos. Como definición se podría decir que PCA es una técnica multivariable en la cual un número de variables más o menos correlacionadas son transformadas a otro número menor de variables no correlacionadas. Esta colinealidad significa que la matriz X

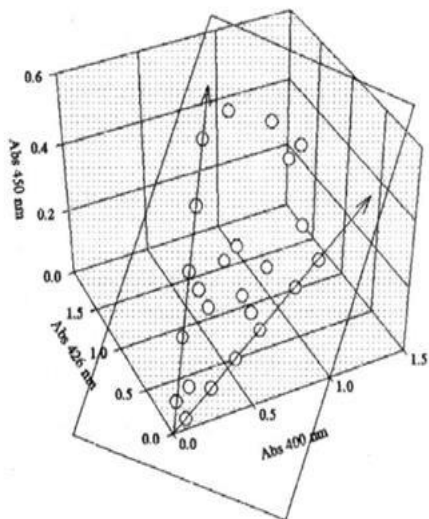
tiene algún tipo de variabilidad dominante que lleva la información principal; el objetivo de PCA será eliminar la información redundante y la variabilidad debida al ruido (Blanco y Cerda, 2007).

Es importante mencionar que el punto de partida de todos los análisis multivariados es una matriz de datos  $X$ . Cada fila de esta matriz se denomina objeto, correspondiendo en química a una muestra; cada una de las columnas, denominadas variables, corresponden a las medidas que se realizan a los objetos. En espectroscopia, esa matriz puede corresponder a los espectros de un conjunto de muestras; cada objeto (fila de la matriz) corresponde al espectro de una muestra, y las columnas son las longitudes de onda a las que se ha registrado el espectro. Si se registran  $M$  muestras a  $K$  longitudes de onda tendremos una matriz de dimensión  $M \times K$  (Blanco y Cerda, 2007).

Un espectro, medido a  $K$  longitudes de onda, constituye un conjunto de  $K$  variables que puede ser descrito matemáticamente como un vector. Se puede construir un espacio de  $K$  dimensiones de forma que cada dimensión corresponda a una de las longitudes de onda, y se puede representar el mismo objeto como un punto en este nuevo espacio (ver Figura 3.19). Si tenemos  $M$  muestras, se pueden representar como otros tantos puntos en el espacio de  $K$  dimensiones. Si no tienen nada en común los unos con los otros, los  $M$  puntos estarán dispersos en el espacio, pero si los  $M$  espectros están relacionados los  $M$  puntos aparecerán agrupados. El objetivo de PCA es hallar las direcciones en que están agrupados los  $M$  puntos de los objetos en el espacio de  $K$  variables, y reducir el sistema inicial  $K$  dimensional a uno  $A$  dimensional, con  $A < K$ , manteniendo la información relevante del sistema. Geométricamente es un cambio de ejes, representando esas muestras en un nuevo sistema de coordenadas con un número inferior de ejes al utilizado inicialmente (Blanco y Cerda, 2007).

Matemáticamente cualquier espectro de un analito puro (un vector) se puede poner como combinación lineal de otro espectro del mismo analito, es decir, un componente expande el espacio unidimensional y cualquier otro vector caerá en la línea formada por la extensión del vector que define a ese componente. Las muestras de un componente puro se situarán en una recta que definirá el espectro de ese analito, y las muestras de otro componente (con

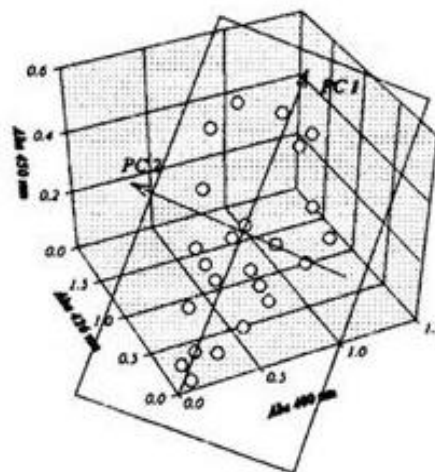
diferente espectro) se colocarán en otra línea recta de diferente dirección a la anterior (Blanco y Cerda, 2007). Esto se puede observar en la Figura 3.19.



**Figura 3.19. Representación de muestras en un espacio tridimensional. Las flechas señalan la dirección de las muestras de los analitos puros (tomado de Blanco y Cerda, 2007).**

Cada punto en la Figura 3.19 representa una muestra y las flechas indican la dirección en que se colocan las muestras con cada analito puro; el resto de posibles mezclas con combinaciones de ambos analitos quedarán en posiciones intermedias entre estas, en un plano que podrá ser definido por dos vectores. El análisis de componentes principales busca las direcciones que expliquen la máxima variabilidad de las muestras, definiendo unos nuevos ejes que describirán el volumen en que se encuentran las mezclas. Estos nuevos ejes son los **componentes principales (PCs)** (Blanco y Cerda, 2007).

El primer componente principal es la dirección que explica la máxima variabilidad de las muestras; el segundo, se escoge que sea perpendicular al primero, y explique la máxima variabilidad de las muestras una vez restada la explicada por el primer componente principal, y así sucesivamente. En la Figura 3.20 pueden mostrarse los componentes principales (Blanco y Cerda, 2007).



**Figura 3.20. Representación de los dos primeros componentes principales (tomado de Blanco y Cerda, 2007).**

Para poder definir esos ejes matemáticamente se utilizan los cosenos de los ángulos que forman cada uno de estos nuevos ejes con los ejes antiguos, son los loadings, y las coordenadas de las muestras en estos nuevos ejes son los scores (Blanco y Cerda, 2007).

Matemáticamente, la matriz de datos espectrales  $X$  se descompone en el producto de dos matrices,  $T$  (matriz de *scores*) y  $P$  (matriz de *loadings*), más una matriz  $E$  de residuales, es decir la variación residual de  $X$  que no es explicada por el modelo con  $a$  componentes principales. El superíndice  $T$  indica la matriz traspuesta. Se representa por la siguiente ecuación:

$$X = TP^T + E$$

$T$  la matriz de scores, presenta tantas filas como la matriz original  $X$ , y que contiene la información sobre las filas (los objetos) de la matriz original;  $P^T$  corresponde a la traspuesta de la matriz de loadings, con tantas columnas como los datos originales, y que contiene información sobre las columnas (variables) de la matriz original. El número de columnas de la matriz de scores corresponde al número calculado de componentes principales; PC1 explica la máxima variabilidad de la matriz  $X$ , PC2 es ortogonal a la primera componente y abarca la mayor cantidad de la variación restante, y así sucesivamente, hasta que se explica el total de la variación útil de la matriz original  $X$ . Los componentes principales forman ángulos rectos unos con otros, propiedad conocida como ortogonalidad, la cual esta propiedad hará que las varianzas no estén contenidas una dentro de la otra. Al representar gráficamente los valores de los scores, es posible detectar e interpretar las pautas presentadas por las muestras, agrupaciones, similitudes, diferencias y muestras anómalas (Lucio Gutiérrez, 2012).

Existen diferentes algoritmos para calcular las matrices  $T$  y  $P$ , siendo el NIPALS (*Nonlinear Iterative Partial Least Squares*) uno de los más utilizados.

Uno de los aspectos fundamentales del PCA es la selección del número de PCs que contienen la información relevante de la matriz de datos. La forma más habitual de realizarlo es mediante un gráfico de la varianza explicada en función del número de PCs,

escogiendo el menor número de PCs para el cual no se encuentra un incremento significativo (Castillo, 2007).

Una vez establecido el número de PCs, el estudio de los gráficos de *scores* y *loadings* aporta información sobre el sistema. Los *scores* son útiles para ver variaciones en los datos en un menor número de dimensiones. El gráfico de dispersión de PC's (generalmente PC1 vs PC2 cuando ambos explican un porcentaje elevado de la varianza explicada) revela la relación existente entre las muestras, mostrando la existencia de *clusters*, *outliers*, etc. Los *loadings* son útiles para determinar las variables originales más importantes. Definido el *loading* como el coseno del ángulo entre el PCA y la variable  $n$ , cuando su valor sea próximo a  $\|1\|$ , indica que esa variable contribuye de forma importante a la varianza explicada por ese PC. Al contrario, cuando sea próximo a 0, ambos serán ortogonales indicando que la variable contribuye poco a la varianza explicada por ese PC. El estudio visual de los *loadings* es útil para identificar las regiones espectrales, y en consecuencia los compuestos químicos, con mayor importancia en los datos (Castillo, 2007).

Como se mencionó anteriormente previo al análisis en componentes principales es necesario un pretratamiento de los datos, siendo los más frecuentes el centrado, que se realiza siempre para que los PCs describan adecuadamente la orientación de las muestras; el autoescalado, que puede ser adecuado cuando se desea que todas las variables tengan la misma importancia independientemente de la escala de los datos (Castillo, 2007).

#### **3.3.4. Análisis Cluster Jerárquico (CA).**

El análisis de conglomerados o análisis cluster es un método para dividir un grupo de objetos en una serie de clases, de manera que los objetos similares se encuentren en la misma clase. El análisis de conglomerados busca objetos que se encuentren próximos en el espacio de las variables (Miller y Miller, 2002).

La disimilaridad es un concepto clave en el análisis de agrupamiento porque formaliza la idea de objetos (variables) parecidas. La disimilaridad es una cantidad,  $d(i,j)$ , que asocia cada par de objetos (el  $i$ -ésimo y el  $j$ -ésimo) en base a la matriz  $Z$  y es una medida de lo

distintas que son sus respectivas filas. La matriz de disimilaridades  $D$  entre objetos será por lo tanto cuadrada (de dimensión  $n$ ) y simétrica. Si el análisis de agrupamiento se hace sobre las variables la disimilaridad entre ellas,  $d(i, j)$ , será una medida de lo distintas que son las columnas de  $Z$ ; la correspondiente matriz  $D$  simétrica y cuadrada ahora es de dimensión  $p$  (Blanco y Cerda, 2007).

Como lo mencionan Blanco y Cerda (2007) las medidas de disimilaridad se realizan mediante el cálculo de distancias entre los objetos o variables. Existen diferentes expresiones matemáticas para calcular estas distancias:

- **Distancia Euclídea:** Es la más difundida de las distancias y está definida mediante la siguiente ecuación:

$$d(z_i, z_j) = \sqrt{(z_{i1} - z_{j1})^2 + \dots + (z_{ip} - z_{jp})^2}$$

- **Distancia de Manhattan:** La distancia de Manhattan entre 2 vectores  $p$  y  $q$  en un espacio vectorial real  $n$ -dimensional con un sistema de coordenadas cartesianas fijo, es la suma de las longitudes de las proyecciones del segmento de línea entre los puntos sobre el sistema de ejes. Más formalmente,

$$d_1(p, q) = |p - q|_1 = \sum_{i=1}^n |p_i - q_i|$$

donde  $p = (p_1, p_2, \dots, p_n)$  y  $q = (q_1, q_2, \dots, q_n)$  son vectores.

- **Distancia de Mahalanobis:** La distancia de Mahalanobis entre 2 variables aleatorias con la misma distribución de probabilidad se define mediante la siguiente ecuación:

$$d(\bar{p}, \bar{q}) = \sqrt{(\bar{p} - \bar{q})^T S^{-1} (\bar{p} - \bar{q})}$$

donde  $p = (p_1, p_2, \dots, p_n)$  y  $q = (q_1, q_2, \dots, q_n)$  son vectores y  $S$  es la matriz de covarianza. La distancia de Mahalanobis se diferencia de la distancia Euclídea en que tiene en cuenta la correlación entre las variables aleatorias mediante la matriz de covarianza  $S$ .

El análisis cluster puede realizarse mediante métodos **jerarquizados** y **no jerarquizados**. Los **no jerarquizados** se basan en métodos de partición donde todos los grupos se constituyen al mismo tiempo de modo que no es posible establecer ningún tipo de jerarquía entre una partición y otra. En la mayoría de los métodos no jerárquicos el número de agrupamientos ha de ser dado de antemano, de modo que el algoritmo busca la mejor agrupación posible en base a optimizar alguna función criterio que describe la bondad del agrupamiento establecido. Los métodos **jerárquicos** producen una sucesión encajada de particiones para todos los posibles agrupamientos. Cada método jerárquico depende de optimizar una función objetivo, de modo que en cada etapa del proceso busca qué agrupamiento debe ser dividido en dos (proceso divisivo) o qué dos agrupamientos han de ser unidos para formar uno sólo (proceso aglomerativo). Los métodos aglomerativos son los más difundidos y algunos de ellos se citan a continuación (Blanco y Cerda, 2007).

- **Unión simple (single linkage):** La disimilaridad entre dos agrupamientos  $C_K$  y  $C_H$  se define como la menor de las disimilaridades entre los pares de objetos  $(i,j)$   $i$  de  $C_K$  y  $j$  de  $C_H$ .

$$d(C_H, C_K) = \min\{d(i,j)/i \in C_H, j \in C_K\}$$

- **Unión completa (complete linkage):** La disimilaridad entre dos agrupamientos  $C_K$  y  $C_H$  se define como la mayor de las disimilitudes entre los pares de objetos  $(i,j)$   $i$  de  $C_K$  y  $j$  de  $C_H$ .

$$d(C_H, C_K) = \max\{d(i,j)/i \in C_H, j \in C_K\}$$

- **Unión media (average linkage):** La disimilaridad entre dos agrupamientos  $C_K$  y  $C_H$  con  $|C_K|$  y  $|C_H|$  número de objetos respectivamente, se define como la media de las disimilaridades entre los pares de objetos  $(i,j)$   $i$  de  $C_K$  y  $j$  de  $C_H$ .

$$d(C_H, C_K) = \frac{1}{|C_H||C_K|} \sum_{i \in C_H, j \in C_K} d(i,j)$$



- **Unión de centroides (centroid linkage):** La disimilaridad entre dos agrupamientos  $C_K$  y  $C_H$  se define como la distancia Euclídea entre sus centroides.

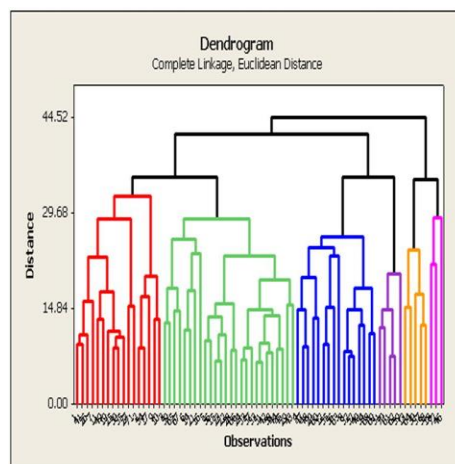
$$d(C_H, C_K) = d\bar{x}(H), \bar{x}(K)$$

- **Método Ward:** La disimilaridad entre dos agrupamientos  $C_K$  y  $C_H$  se define como la distancia Euclídea entre sus centroides ponderada por un factor.

$$d(C_H, C_K) = \sqrt{\frac{2|C_H||C_K|}{|C_H| + |C_K|}} d_2(\bar{x}(H), \bar{x}(K))$$

Un método empieza considerando que cada objeto forma un “conglomerado” de tamaño uno y compara la distancia entre éstos. Los dos puntos que se encuentran más próximos se unen para formar uno nuevo. Las distancias entre los conglomerados se comparan de nuevo y se combinan los dos conglomerados que se encuentren más próximos. Este procedimiento se repite y, si se continuará indefinidamente, agruparía todos los puntos juntos. Existe una amplia gama de formas de calcular la distancia entre dos conglomerados que contengan más de un miembro. El más simple conceptualmente consiste en tomar la distancia entre dos conglomerados como la distancia entre los elementos o puntos más próximos de los mismos. Esto se conoce como el método de vinculación simple o del vecino más próximo.

Habitualmente las sucesivas etapas de la agrupación de los datos se pueden mostrar sobre un **dendograma** (ver Figura 3.21). El dendograma o diagrama de árbol consiste en la elaboración de una clasificación jerárquica donde los grupos grandes se dividen en otros más pequeños (Blanco y Cerda, 2007). El eje vertical puede mostrar la distancia,  $d_{ij}$ , entre dos puntos  $i$  y  $j$  cuando se unen o alternativamente la similitud,  $s_{ij}$ , definida por  $s_{ij}=100(1-d_{ij}/d_{\max})$  donde  $d_{\max}$  es la máxima separación entre cualquier par de puntos (Miller y Miller, 2002).



**Figura 3.21. Dendograma ilustrando la agrupación de los conglomerados.**

## 4. METODOLOGÍA.

### 4.1. Equipo

Se utilizó un Espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer, Lambda 35 de doble haz. Intervalo de 190 a 900 nm. Resolución 1 nm. La Figura 4.1 muestra el equipo.



**Figura 4.1. Espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer, Lambda 35 de doble haz.**

La Figura 4.2 muestra las celdas de cuarzo de 2 mm de paso óptico.



**Figura 4.2. Celdas de cuarzo de 2mm de paso óptico.**

### 4.2. Materiales.

Para propósito de esta Tesis, 42 muestras de Tequilas blancos y 32 muestras de Mezcales jóvenes fueron adquiridos en diferentes establecimientos. Las características de estas muestras como la clave asignada, nombre comercial, tipo de agave, número NOM, porcentaje de alcohol, apariencia y características espectrales se pueden observar en las

secciones 4.2.1 para los tequilas y 4.2.2 para los mezcales. La Figura 4.3 muestra algunos de los Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes analizados.



Figura 4.3. Muestras de Tequilas (a) y Mezcales (b) analizados.

#### 4.2.1. Muestras de Tequilas.

En la tabla 4.1 se pueden apreciar las características de las muestras de Tequilas blancos. De acuerdo a su etiqueta, 22 muestras fueron 100% agave, y 20 muestras Tequilas mixtos. Como se observará algunas muestras presentan marcas iguales; sin embargo, el lote es diferente.

Tabla 4.1. Características de las muestras de Tequilas blancos.

Clave	Nombre del Tequila Blanco	NOM-CRT <sup>b</sup>	%Alc.Vol. <sup>c</sup>	Apariencia <sup>d</sup>	Tipo de agave <sup>e</sup>	A <sub>max</sub> <sup>f</sup>	λ <sub>max</sub> <sup>g</sup> (nm)
TB01	Cazadores	1487	35	I	100	0.4	280
TB02	100 Años	1102	35	I	Mixto	0.07	276
TB03	100 Años <sup>a</sup>	-----	35	I	Mixto	0.08	276
TB04	100 Años <sup>a</sup>	-----	35	I	Mixto	0.07	277
TB05	Jimador	1119	35	I	100	0.26	281
TB06	Jimador <sup>a</sup>	-----	35	I	100	0.27	280
TB07	El Amo	1479	38	I	100	0.36	279
TB08	El Amo <sup>a</sup>	-----	38	I	100	0.36	279
TB09	Arcano	1360	38	I	100	0.51	278
TB10	Orendain	1110	38	I	Mixto	0.14	279
TB11	Orendain	1110	38	I	Mixto	0.25	279
TB12	Orendain <sup>a</sup>	-----	-----	I	Mixto	0.13	279
TB13	Orendain <sup>a</sup>	-----	38	I	Mixto	0.15	279

TB14	Viuda de Romero	1111	35	I	Mixto	0.35	280
TB15	Viuda de Romero	1111	35	I	Mixto	0.35	280
TB16	Viuda de Romero <sup>a</sup>	-----	35	I	Mixto	0.36	280
TB17	Herradura	1119	46	I	100	0.47	281
TB18	Herradura	1119	46	I	100	0.21	279
TB19	Sierra	1451	38	I	Mixto	0.29	281
TB20	Espolón	1440	38	I	100	0.23	280
TB21	Puerto Vallarta	1110	35	I	Mixto	0.11	279
TB22	Puerto Vallarta <sup>a</sup>	-----	-----	I	Mixto	0.12	279
TB23	Puerto Vallarta <sup>a</sup>	-----	35	I	Mixto	0.10	279
TB24	Casco Viejo Clásico <sup>a</sup>	1456	35	<b>G</b>	Mixto	0.79	283
TB25	Casco Viejo <sup>a</sup>	1456	35	<b>G</b>	Mixto	0.18	278
TB26	Álamo	1529	38	I	100	0.36	279
TB27	Dos Siglos	1122	38	I	100	0.31	281
TB28	Hornitos	1102	40	I	100	0.04	274
TB29	Corralejo	1368	38	I	100	0.28	281
TB30	José Cuervo Tradicional	1122	38	I	100	0.34	279
TB31	Gran Centenario	1122	35	<b>G</b>	100	0.57	279
TB32	De los dorados	1137	38	I	Mixto	0.17	281
TB33	San Matías	1103	38	I	Mixto	0.28	280
TB34	El Tequileño	1108	40	I	Mixto	0.27	279
TB35	Don Agustín	1456	35	I	100	0.46	281
TB36	Don Julio	1449	38	I	100	0.21	277
TB37	Don Julio	1449	38	I	100	0.27	276
TB38	1800	1122	38	<b>G</b>	100	0.48	278
TB39	La Invencible	1476	38	I	Mixto	0.05	278
TB40	El gran jubileo	1445	40	I	100	0.98	281
TB41	Los tres Toños	1459	40	I	100	1.07	283
TB42	1921	1535	40	I	100	0.45	281

<sup>a</sup> Muestras donadas y embotelladas en frascos, ninguna de éstas especificaba el número NOM-CRT.

<sup>b</sup> Número de certificación, otorgado por el consejo regulador del tequila (CRT).

<sup>c</sup> Porcentaje de alcohol de la muestra de tequila, especificado en la botella o frasco.

<sup>d</sup> Se refiere al color de las muestras de tequilas, por lo que se utilizaron dos simbologías: I= incoloro y G= ligeramente amarillo cristalino.

<sup>e</sup> En tipo de agave, 100 significa que es un tequila 100% agave; mixto se refiere a que los proveedores de estos tequilas no especificaban en la botella 100% agave, por lo tanto se consideraron como mixtos.

<sup>f</sup>  $A_{max}$  significa el valor máximo de absorbancia a cierta longitud de onda.

<sup>g</sup>  $\lambda$  significa la longitud de onda donde se encuentra la  $A_{max}$ .

#### 4.2.2. Muestras de Mezcales.

Las muestras de Mezcales jóvenes provenientes de la región oaxaqueña se etiquetaron de acuerdo a su procedencia en tres tipos; éstos fueron: Mezcales jóvenes sin gusano (MJ), Mezcales jóvenes con gusano (MJG), estos dos tipos adquiridos en el comercio; y Mezcales jóvenes COMERCAM (MJC), donados por el Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal A.C. En la Tabla 4.2 se muestran sus correspondientes características:

**Tabla 4.2. Características de las muestras de Mezcales jóvenes.**

Origen <sup>a</sup>	Clave <sup>b</sup>	Nombre del Mezcal Joven <sup>c</sup>	Tipo <sup>d</sup>	NOM <sup>e</sup>	%Alc .Vol. <sup>f</sup>	Apariencia <sup>g</sup>	Tipo de Agave <sup>h</sup>	A <sub>max</sub> <sup>i</sup>	λ <sub>max</sub> <sup>j</sup> (nm)
<b>Comercio</b>	MJ01	Don Agave	SG	039X	38	2	100	0.67	280
	MJ02	Don Tacho	SG	-----	-----	2	100	0.88	279
	MJ03	El Golpe	SG	-----	45	1	100	0.871	277
	MJ04	Rey Zapoteco	SG	-----	-----	1	100	0.875	281
	MJ05	Espina Dorada*	SG	-----	-----	1	<b>ND</b>	1.37	283
	MJ06	Santiago Matatlán *	SG	-----	-----	1	<b>ND</b>	0.55	280
	MJ07	SINAI *	SG	-----	-----	1	<b>ND</b>	0.31	277
	MJ08	El Huehuete*	SG	-----	-----	1	<b>ND</b>	0.34	276
	MJ09	San Juan del Río	SG	-----	40	2	100	1.18	282
	MJ10	Santiago Zochila*	SG	-----	-----	1	<b>ND</b>	0.61	282
	MJG01	Bacanda*	G*	-----	-----	1	<b>ND</b>	0.53	280
	MJG02	Chinantla	G	-----	38.5	2	100	1.45	282
	MJG03	Don Luis	G	0113 X	-----	2	100	1.30	280
	MJG04	Don Agave	G	039X	38	3	100	0.34	278
	MJG05	Don Tacho	G	-----	-----	4	100	1.56	279
	MJG06	Espina Dorada*	G*	-----	-----	2	<b>ND</b>	1.11	281
	MJG07	Pensamiento*	G*	-----	-----	1	<b>ND</b>	0.45	277
	MJG08	Rey Zapoteco	G	-----	-----	3	100	1.71	282

	MJG09	SINAI*	G*	----	----	1	ND	0.30	276
	MJG10	Oro de Oaxaca	G	----	38	4	100	1.68	282
	MJG11	Benevá	G	006X	38	5	100	0.70	282
COMERCAM	MCJ01	Productores de maguey y mezcal de San Dionisio Ocotepec S.C. de R.L.	SG	----	----	1	100	0.77	280
	MCJ02	Benevá S.A de C.V.	SG	----	----	1	100	0.65	278
	MCJ03	Casa Armando Guillermo Prieto S.A de C.V.	SG	----	----	2	100	1.12	280
	MCJ04	Destiladoras de Agaves Mexicanos S.A. de C.V.	SG	----	----	1	100	0.60	281
	MCJ05	Tóbala S.A. de C.V.	SG	----	----	2	100	1.24	280
	MCJ06	Cosme Hernández	SG	----	----	1	100	0.81	282
	MCJ07	Mezcales de Gusano S.P.R. de R.L.	SG	----	----	2	100	0.88	280
	MCJ08	LAAJSH DOOB S.P.R. de R.L.	SG	----	----	1	100	0.63	279
	MCJ09	Del maguey single Village Mezcal S.A de C.V.	SG	----	----	2	100	0.71	279
	MCJ10	Zósmimo Méndez Sernas	SG	----	----	1	100	1.05	283
	MCJ11	Compañía Bronco Matateco S.A. de C.V.	SG	----	----	1	100	0.53	280

<sup>a</sup> COMERCAM y Comercio procedencia de las muestras de mezcales jóvenes.

<sup>b</sup> Clave asignada a las muestras de mezcales jóvenes para su identificación.

<sup>c</sup> Nombre del mezcal joven especificado en la etiqueta. En esta categoría los nombres con un \*, se refiere a las muestras donadas y embotelladas en frasco, identificados con una etiqueta no formal.

<sup>d</sup> SG, se refiere a mezcales sin gusano; G, se refiere a mezcales con gusano, éste presente en la botella; G\*, se refiere a mezcal con gusano descrito en la etiqueta, pero no presente en la botella.

<sup>e</sup> Número de certificación, otorgado por la COMERCAM.

<sup>f</sup> Porcentaje de alcohol de la muestra de mezcal.

<sup>g</sup> Se refiere al color que presentaban las muestras de mezcales jóvenes, utilizando la siguiente simbología:

1= incoloro, 2= ligeramente amarillo cristalino, 3= Amarillo claro cristalino, 4=Amarillo cristalino y 5= Amarillo intenso o ámbar cristalino.

<sup>h</sup> 100, se refiere a un mezcal 100% agave. ND, se refiere a que el tipo de agave no estaba definido en la botella.

<sup>i</sup>  $A_{max}$  significa el valor máximo de absorbancia a cierta longitud de onda.

<sup>j</sup>  $\lambda$  significa la longitud de onda donde se encuentra la  $A_{max}$ .

### 4.3. Determinación de los espectros de absorción UV-VIS.

Se midieron de cada muestra de Tequila y Mezcal, aproximadamente 2 mL con una pipeta volumétrica y se procedió a colocar la muestra en la celda de cuarzo de 2 mm de paso óptico. Posteriormente, ésta se introdujo en el espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer, Lambda 35 de doble haz y se procedió a la obtención del espectro de cada muestra seleccionando un intervalo de 190 a 900 nm, con una resolución nominal de 1 nm. La solución blanco para ajuste a cero de absorbancia fue etanol:agua (38% v/v).

### 4.4. Análisis Quimiométrico.

Con los datos de los espectros de absorbancia de cada muestra de Tequila y Mezcal, se conformaron 3 tipos de matrices en Excel. Los datos sin tratamiento denominados *brutos*, los datos de la primera y segunda derivadas. Cada conjunto de datos fueron exportados al software GenEx© (MultiDAnalysis AB, Göteborg, Suecia) que fue utilizado para construir los modelos quimiométricos.

A fin de encontrar el modelo óptimo de PCA para diferenciar entre categorías de Tequilas, tipos de Mezcales y entre Tequilas y Mezcales según correspondiera, se ensayaron diferentes intervalos de longitud de onda de los espectros y diferentes escalados (ninguno, centrado en la media y autoescalado). Cabe mencionar que se descartaron las muestras que aparecieron como anómalas, confirmando esto mediante el análisis del perfil de sus respectivos espectros. En este caso estas muestras anómalas pueden ser originadas por no contar con un conjunto de muestras de tequilas blancos y mezcales jóvenes certificados.

Una vez obtenido el modelo óptimo se exploraron la existencia de posibles pautas internas dentro de los agrupamientos formados en el modelo. Asimismo, se analizaron los valores de los loadings para su correlación con los compuestos orgánicos volátiles presentes en los Tequilas blancos y Mezcales jóvenes. Finalmente bajo las condiciones del modelo óptimo de PCA, se realizaron análisis cluster. Para este fin, se seleccionó el método cluster y la distancia que permitiera observar las diferencias entre los grupos de los Tequilas blancos y Mezcales jóvenes según los objetivos de estudio. Todo el procedimiento experimental antes mencionado se puede apreciar en el diagrama de la Figura 4.4.

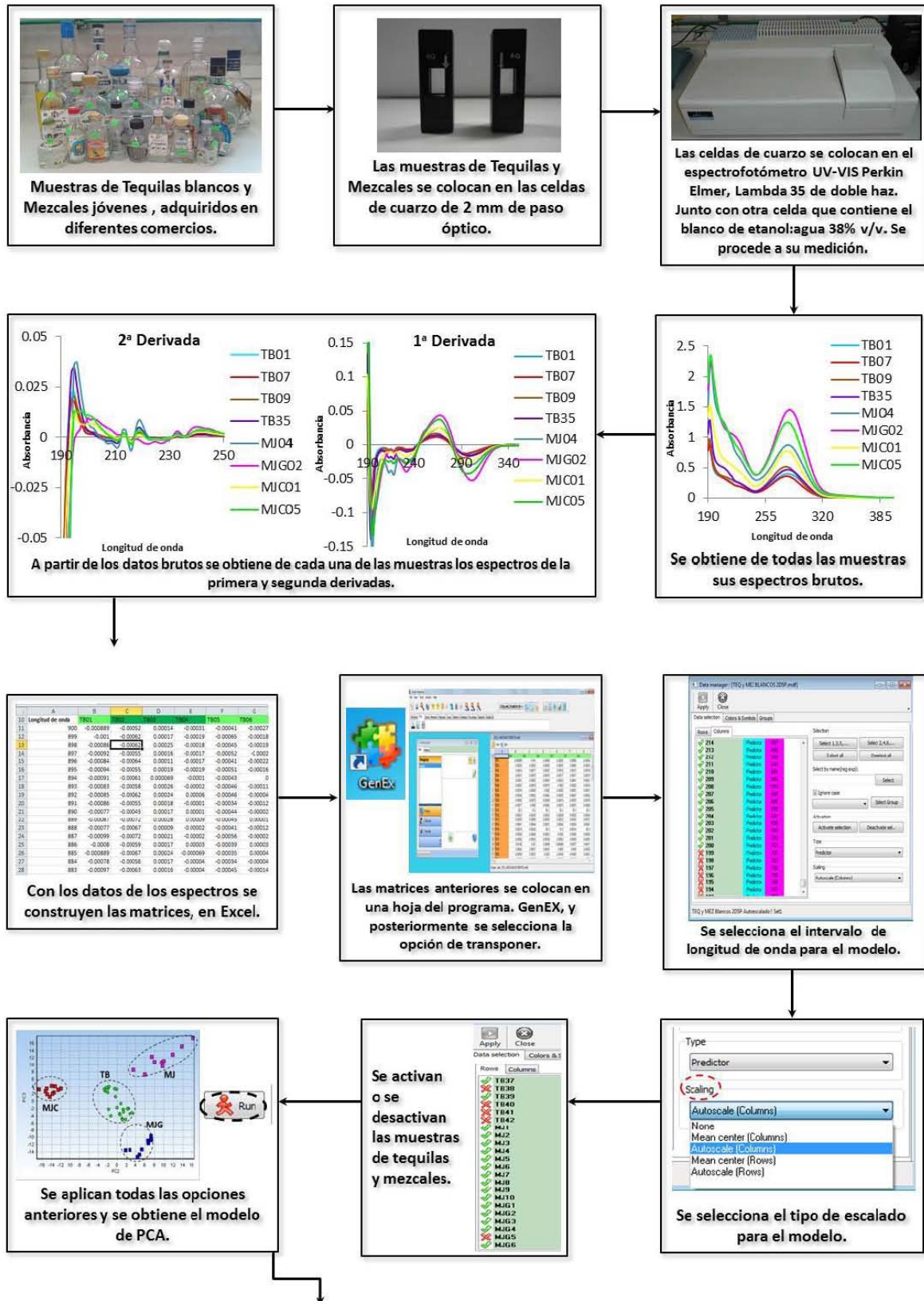


Figura 4.4. Diagrama del Procedimiento Experimental.



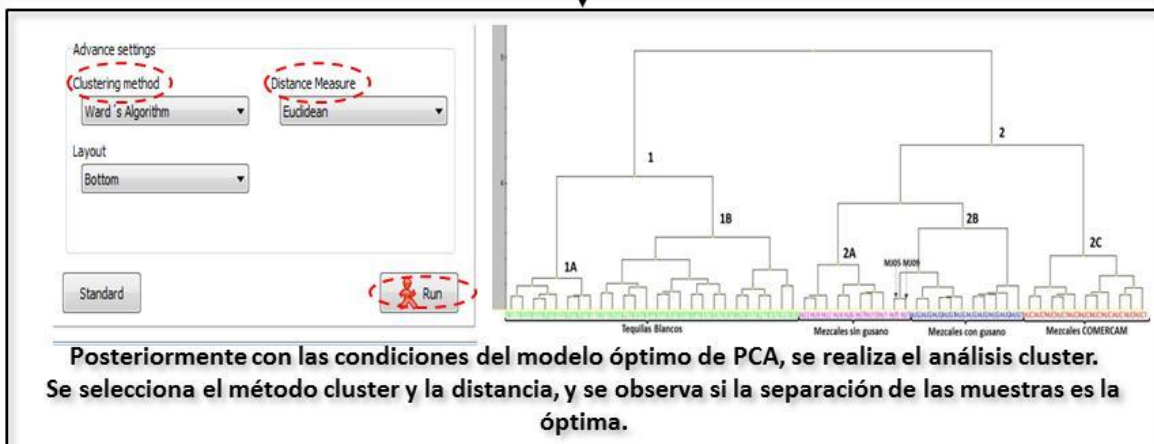
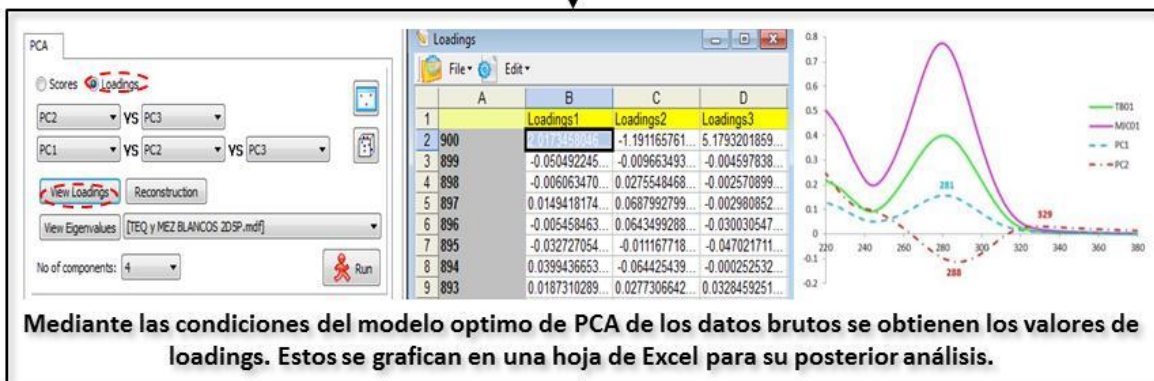
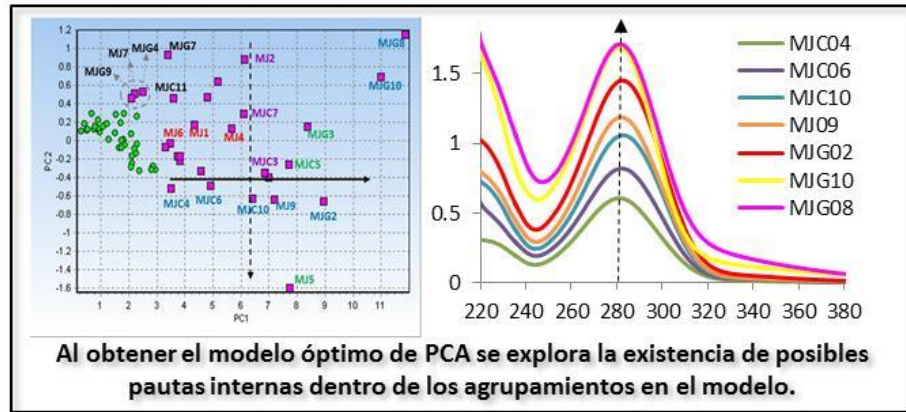


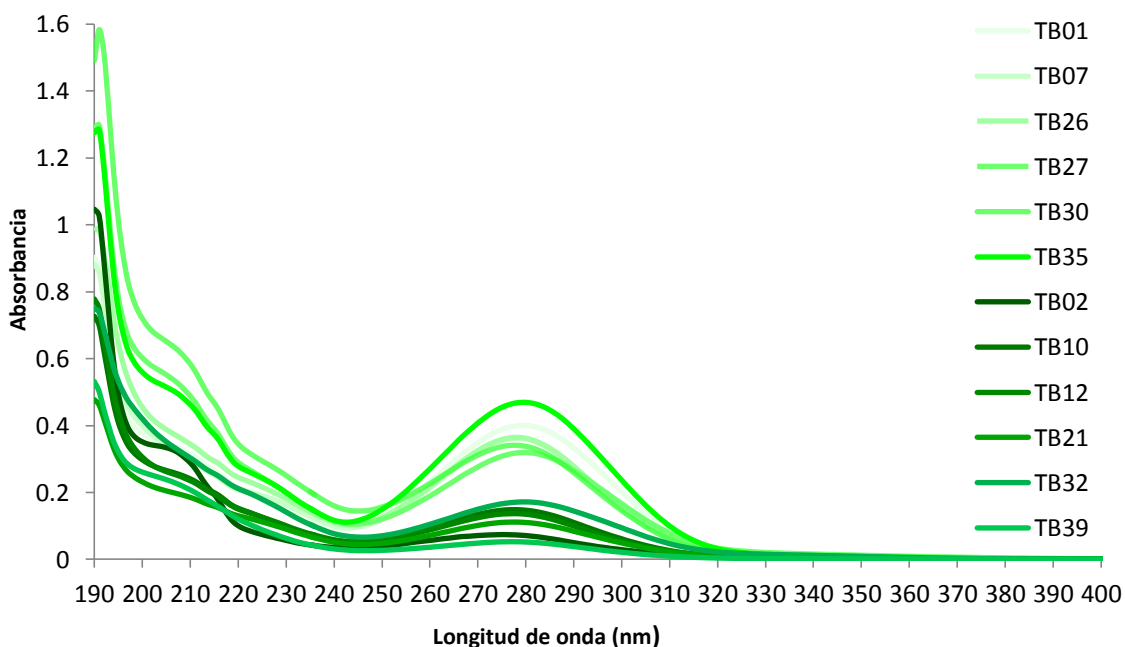
Figura 4.4 (cont.) Diagrama del Procedimiento Experimental.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 5.1. DIFERENCIACIÓN ENTRE TEQUILAS BLANCOS 100% AGAVE Y MIXTOS

#### 5.1.1. Comportamiento espectral UV-VIS.

La Figura 5.1 muestra doce espectros representativos de absorción UV-VIS (190-400nm) correspondientes a tequilas 100% agave y tequilas mixtos. Los espectros presentan una banda de absorción característica aproximadamente desde 245 a 335 nm, en la región UV, con un máximo de absorción entre 278 a 281 nm (ver tabla 4.1) y casi nula absorción a longitudes mayores de 335 nm. La absorbancia máxima de los tequilas 100% agave es alrededor de 0.25 a 1.00, mientras que para los tequilas mixtos es cerca de 0.05-0.35. Esta característica posiblemente será la que determinará la diferenciación entre los tequilas 100% agave y mixtos mediante el análisis de componentes principales.

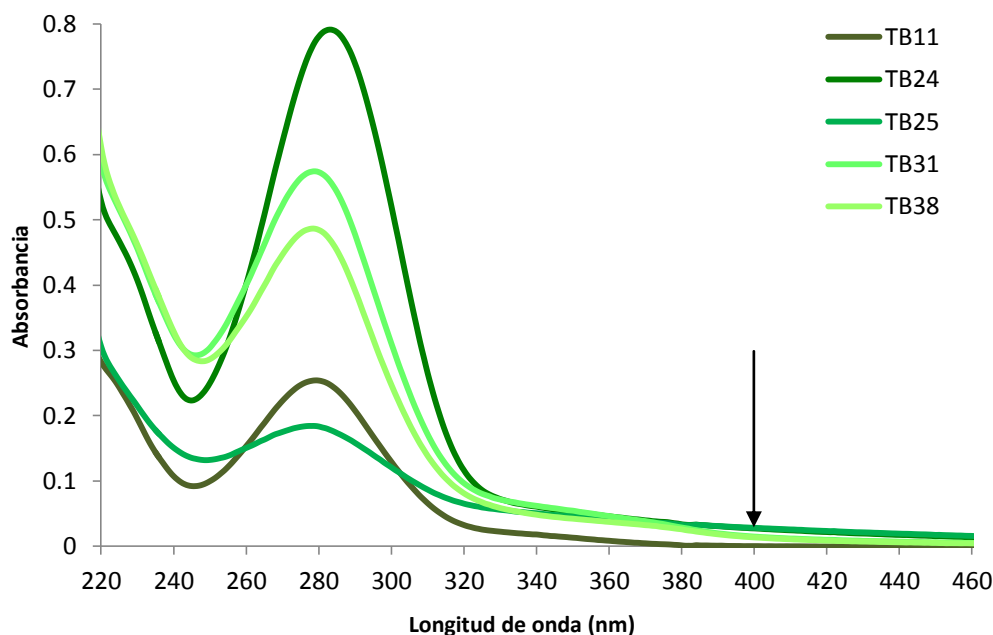


**Figura 5.1. Espectros UV- VIS de tequilas 100% agave (verde claro) y tequilas mixtos (verde oscuro).**

La intensidad de dicha banda, de acuerdo a Ley de Lambert-Beer, está en relación directa con el número de componentes orgánicos resultantes del proceso de cocimiento y fermentación de los jugos del agave, es decir, que ésta puede ser un indicador del grado de fermentación del tequila. Además, Barbosa et al. (2007), afirman que esta banda se debe

mayoritariamente a la presencia de furfural, 2 acetilfurano y metil furfural. Así mismo, en la Figura 5.1 puede observarse un máximo de absorción alrededor de 190-195 nm, el cual puede ser indicativo de compuestos tales como alcoholes y aldehídos saturados, que han sido identificados y cuantificados previamente en los tequilas (De León et al; 2008, y Díaz et al; 2008).

Por otra parte, en la Figura 5.2 se muestran espectros de absorción para muestras de tequilas 100% agave (verde claro) y mixtos (verde oscuro) que exhiben bandas anchas que se extienden asintóticamente más allá de 345 nm, en comparación con los tequilas de la Figura 5.1, cuyas bandas van aproximadamente de 320 hasta 335 nm. Dicha diferencia puede deberse a que las primeras muestras están abocadas, lo que les confiere una apariencia amarillenta, dando lugar a los denominados tequilas blancos oro. En cambio, los tequilas de la Figura 5.1 presentan una apariencia incolora.



**Figura 5.2. Espectros UV- VIS de tequilas 100% agave (verde claro) y tequilas mixtos (verde oscuro) en un intervalo de 220-460 nm. La flecha negra indica la intensidad del perfil asintótico.**

En la Figura 5.2 puede observarse que la muestra TB11 presenta una extensión de su banda aproximadamente en 350 nm, y para las demás muestras su banda se extiende a valores

mayores de 400 nm. La muestra TB11 debido a su apariencia incolora no presenta abocamiento; sin embargo, se observa un aumento en el perfil asintótico de su banda, lo cual puede deberse a que su proceso de producción haya sido alterado.

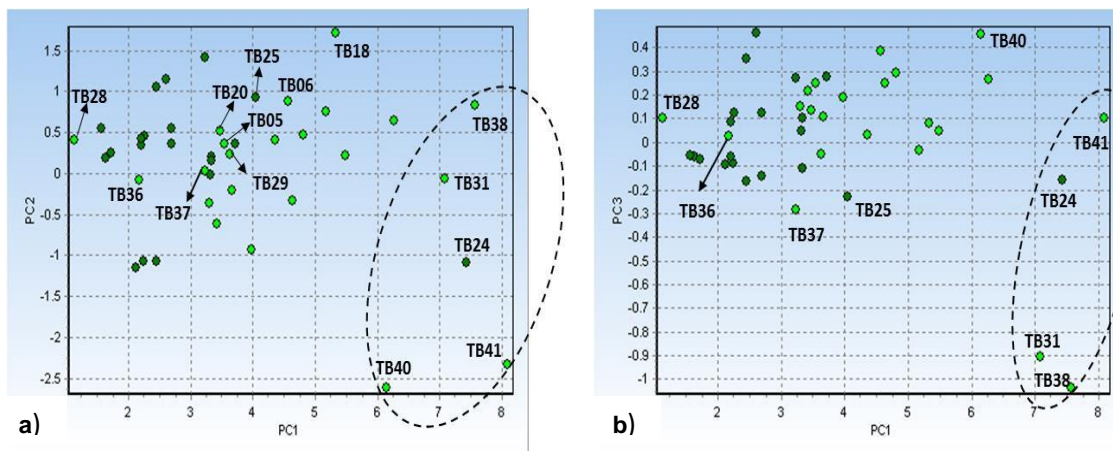
Cabe mencionar que el abocamiento, aunque lo permite la NOM-006, es un factor importante a controlar para asegurar la calidad de los tequilas, ya que el abocamiento del tequila en exceso podría tener la intención de compensar características organolépticas que se obtienen de forma natural en el proceso de fermentación del tequila y como consecuencia alterando la calidad de los tequilas. Por esta razón, es importante obtener modelos quimiométricos que nos permitan diferenciar el tipo de agave del tequila para un mejor control de calidad.

## **5.1.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS BRUTOS.**

### ***5.1.2.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).***

A partir de los 42 espectros de UV-VIS de las muestras de tequilas blancos se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con el fin de encontrar algún modelo óptimo que permita destacar las diferencias entre tequilas blancos 100% agave y mixtos. Para este fin se irán descartando las muestras que aparezcan como anómalas, ya que no se cuenta con un conjunto de muestras de tequilas validadas.

El primer modelo fue obtenido sin escalado, en un intervalo de longitud de onda de 190 a 380 nm. La Figura 5.3 muestra las gráficas de scores del modelo. Los scores de color verde claro son las muestras de tequilas blancos 100% agave y los scores de color verde oscuro tequilas blancos mixtos. En este modelo tres PCs explican el 99.6496% de la varianza total (PC1: 94.7324%, PC2: 4.471% y PC3:0.4462%). En los gráficos de scores no se aprecia todavía una clara diferenciación o un agrupamiento de los tequilas blancos 100% agave y mixtos.



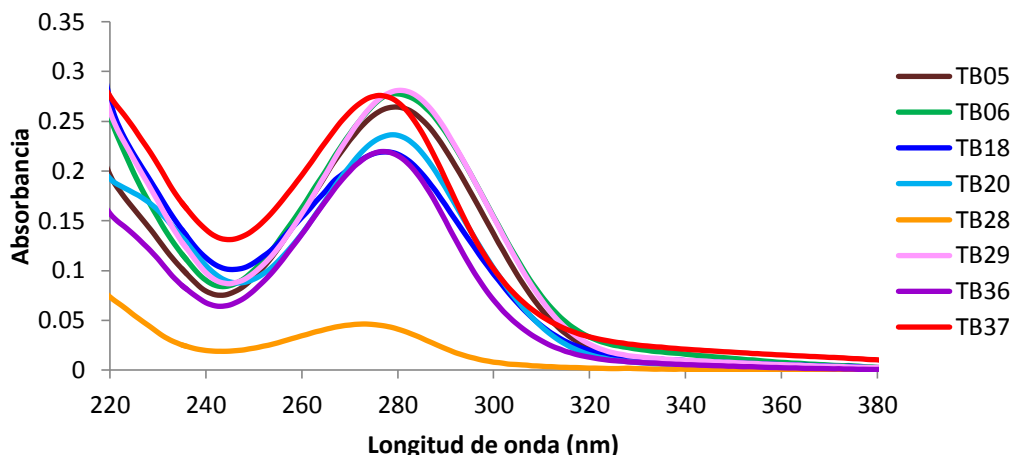
**Figura 5.3. Gráfica de scores para el conjunto de datos brutos de tequilas blancos 100% agave y mixtos, ningún escalado, intervalo de número de onda: 190 a 380 nm.**  
**a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC3.**

Como se puede observar en el gráfico 5.3(a) las muestras de tequilas 100% agave TB 38, 31 y la muestra de tequila mixto TB 24 muestran una gran dispersión. Esto se debe a que los valores de absorbancia máxima son mayores para estas muestras tequilas (entre 0.5-0.8), como se puede apreciar en la Figura 5.2 y en la tabla 4.1. Sin embargo, la dispersión de las muestras anteriores (TB 24, 31 y 38) también puede deberse a que son tequilas oro por lo que presentan abocamiento. Aunque estas tres muestras pueden considerarse como bien comportadas por la altura de su banda espectral, el modelo utiliza una parte importante de la varianza para diferenciar estas muestras. Por lo tanto, se decidió retirar del modelo estas muestras de tequilas con clasificación oro y dejar solo muestras de tequilas blancos con apariencia incolora. Las muestras de tequilas oro retiradas fueron TB 24, 25, 31 y 38.

También en el gráfico de scores 5.3(a) algunas muestras de tequilas 100% agave (TB 28, 36, 37, 20, 05, 29) aparecen cerca del conjunto de scores de los tequilas mixtos; esto se debe a que sus valores máximos de absorbancia oscilan entre 0.05 a 0.28, similares a los tequilas mixtos. Los espectros de estas muestras y de algunas otras (TB06 y TB18) que tienen las mismas características en su banda espectral se representan en la Figura 5.4.

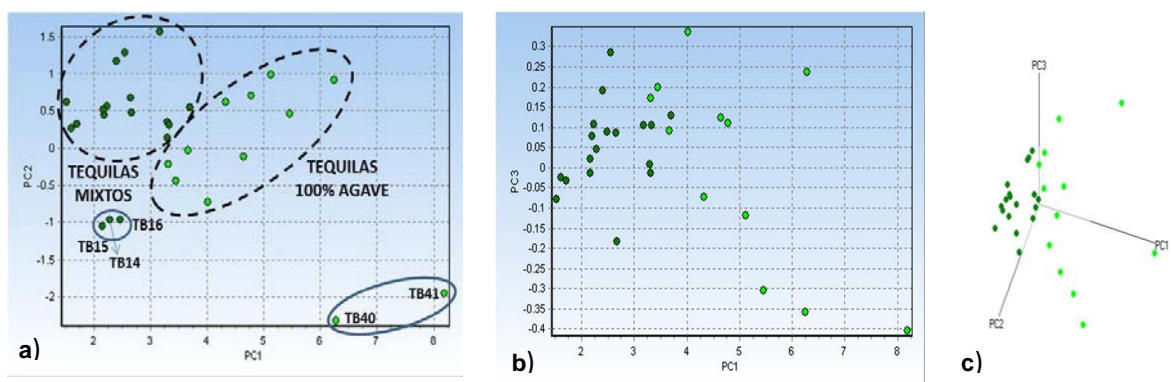
En la Figura 5.4 se puede apreciar que los espectros de las muestras TB28 y TB37 presentan un pequeño desplazamiento hipsocrómico con respecto al máximo de absorción. Estas muestras se consideraron no bien comportadas, porque el valor de absorbancia

máxima para TB28 es de 0.04, presentando una banda ancha no bien definida. Por otra parte, la banda de la muestra TB37 se extiende asintóticamente a longitudes mayores de 380 nm.



**Figura 5.4. Espectros de tequilas 100% agave no bien comportados, en un intervalo de 220 a 380 nm.**

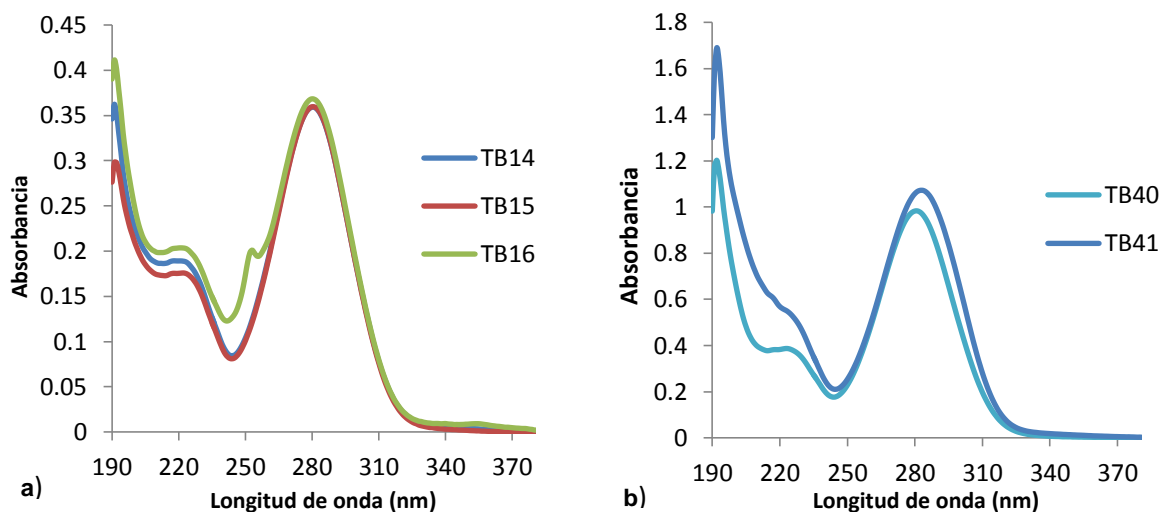
Después de retirar las muestras de la Figura 5.4, se obtuvo el modelo representado en la Figura 5.5, sin escalado en un intervalo de 190 a 380 nm. Tres PCs explican el 99.7145% de la varianza total (PC1:94.3597%, PC2: 5.159% y PC3:0.1958%). El modelo de PCA realizado bajo estas condiciones diferencia entre tequilas blancos 100% agave y mixtos a lo largo de PC1 (Figura 5.5(a)). En la Figura 5.5(b) también se puede observar una tendencia a la diferenciación de tequilas blancos 100% agave y mixtos. Por otra parte, en la Figura 5.5(c) en el subespacio de scores PC1-PC2-PC3 se observa también esta tendencia.



**Figura 5.5. Gráfica de scores para los datos brutos de tequilas blancos 100% agave y mixtos, ningún escalado, intervalo de número de onda: 190 a 380 nm.**  
**a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC3, c) Subespacio PC1-PC2-PC3.**



Aunque en los modelos de la Figura 5.5 se logró observar la diferenciación entre tequilas 100% agave y mixtos, hay muestras que no se agrupan en su respectivo grupo; éstas se encerraron en un círculo azul en la Figura 5.5(a). Las muestras de tequilas mixtos encerradas en el círculo azul son TB 14, 15, 16, éstas presentan valores de absorbancia máxima de 0.35, los cuales son ligeramente mayores al valor promedio de los tequilas mixtos que es aproximadamente de 0.25. Sin embargo, estas muestras no se retiraron del modelo ya que se consideran como bien comportadas debido a que sus bandas espectrales son las de mayor intensidad para los tequilas blancos mixtos y representan un mayor grado de fermentación. Estas tres muestras posiblemente se agrupan juntas por que pertenecen a la misma marca de tequila (ver Tabla 4.1). Los espectros de absorción de las muestras antes mencionadas se representan en la Figura 5.6(a).



**Figura 5.6. a) Espectros de tequilas mixtos, b) Espectros de tequilas 100% agave. Intervalo de 190 a 380 nm.**

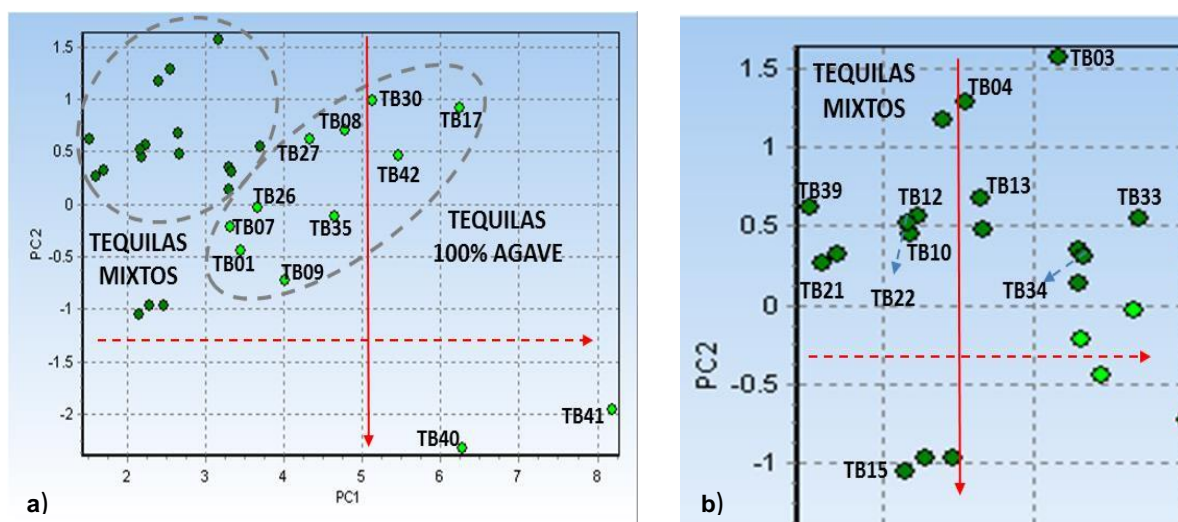
Las muestras de tequilas blancos 100% agave, encerradas en un círculo azul son TB 40 y 41, éstas no se agrupan con todas las demás muestras porque se encuentran muy alejadas a valores mayores de PC1 (ver Figura 5.5(a)). Estas muestras de tequilas blancos presentan valores de absorbancia máxima entre 0.98 a 1.07, respectivamente. Estos valores son mayores en comparación con las otras muestras de tequilas blancos 100% agave del modelo y posiblemente por esto no se agrupan con las demás. Sin embargo, estas muestras no se retiraron del modelo, ya que se consideran como bien comportadas debido a la intensidad de su banda que indica un mayor grado de fermentación. Los espectros de absorción de

estas muestras se representan en la Figura 5.6(b). Por lo tanto la espectroscopia UV-VIS en combinación con métodos quimiométricos son herramientas importantes para discernir acerca del grado de fermentación de estas bebidas alcohólicas (Contreras et al; 2009).

### 5.1.2.2. Pautas Internas del modelo.

En el modelo óptimo de la Figura 5.5(a), donde se aprecia la diferenciación entre tequilas 100% agave y mixtos, se constató que las intensidades de los máximos de absorbancia entre 278 a 281 nm para las muestras de tequilas 100% agave y mixtos aumentan en el sentido de las flechas que se representan en la Figura 5.7, es decir, las muestras de tequilas que se encuentren a valores mayores de PC1 y menores de PC2, indica que son muestras con un mayor grado de fermentación.

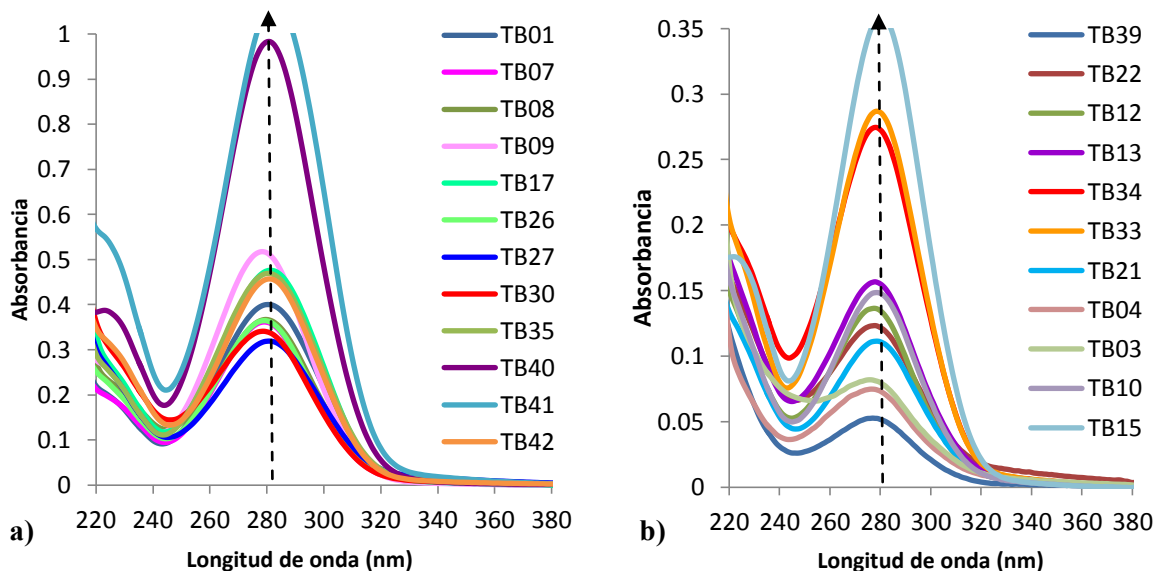
A estas tendencias se les conocen como pautas internas del modelo de PCA. En los gráficos de la Figura 5.7, las pautas más importantes se representaron mediante flechas rojas continuas y las menos importantes por flechas rojas discontinuas.



**Figura 5.7. Gráfica de scores con pautas internas para los datos brutos de tequilas blancos 100% agave y mixtos, sin escalado, intervalo de 190 a 380 nm. Subespacio PC1-PC2. Flecha roja continua pauta más importante. Flecha roja discontinua pauta de menor importancia. a) Pautas de los Tequilas 100% agave, b) Pautas de los Tequilas mixtos.**

En las Figuras 5.7(a) y (b) se presentan las claves de las muestras de los tequilas 100% agave y mixtos a fin de compararlos con sus correspondientes espectros que se muestran en la Figura 5.8. Esto permitió describir las pautas en el modelo de PCA.





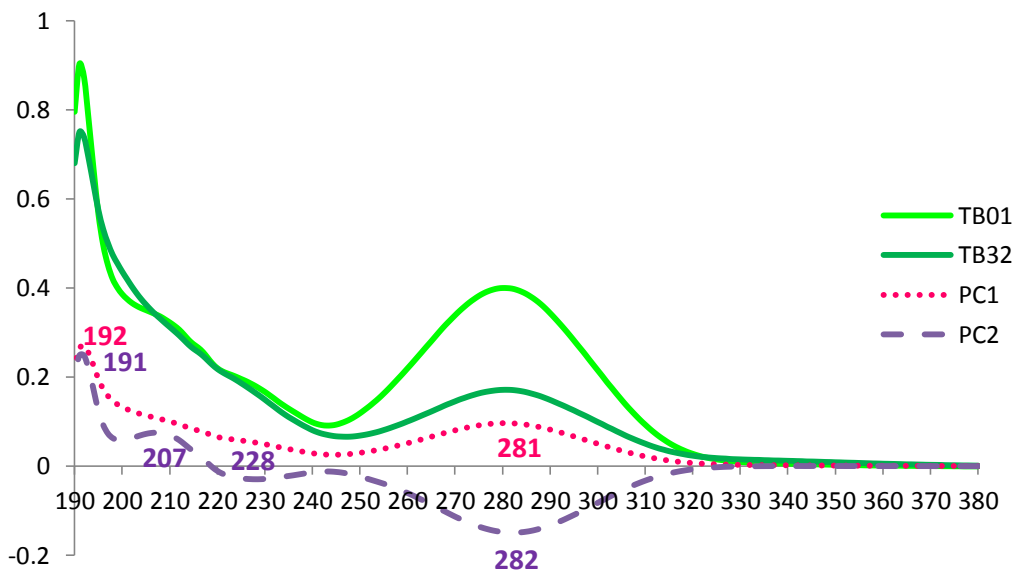
**Figura 5.8. Espectros de muestras de tequilas blancos para confirmar las pautas en el modelo de PCA para los datos brutos, subespacio PC1-PC2. a) Tequilas 100% agave, b) Tequilas mixtos.**

Se comprobó que las pautas internas del modelo de PCA para los datos brutos están en relación directa con la intensidad de la banda principal de los espectros de tequilas blancos mixtos y 100% agave.

### 5.1.2.3. Análisis de Loadings.

Los loadings se obtuvieron a partir del modelo óptimo de PCA para los datos brutos de los tequilas blancos 100% agave y mixtos, el cual se representó en la Figura 5.5. Los loadings y dos espectros representativos del tequila 100% agave y mixto se muestran graficados en la Figura 5.9.

Asimismo, en la tabla 5.1 se muestran los valores de las variables representativas para cada loading. Estas variables son las que consideran los PCs como importantes para la diferenciación entre los tequilas blancos 100% agave y mixtos.



**Figura 5.9.** Gráfica de loadings para los datos brutos UV-VIS para Tequilas blancos 100% agave y mixtos, con ningún escalado e intervalo de 190-380 nm.

**Tabla 5.1.** Variables representativas para cada loading de los datos brutos.

<b>Loadings</b>	<b>Variables (nm)</b>			
PC1	281			192
PC2	282	228	207	191

Como se puede observar en la Figura 5.9 y en la tabla 5.1, PC1 y PC2 están definidos en forma mayoritaria por las variables 281 y 282, respectivamente. Es importante mencionar que aunque PC2 está casi definido por la misma variable, los componentes principales son ortogonales por definición, por lo que PC1 y PC2 deben venir definidos por variables diferentes, es decir, ambos factores están teniendo en cuenta compuestos de estructura química diferente. La variable 281 es probable que corresponda al máximo de absorción de la banda principal, relacionada con furfural, 2-acetilfuranó y metil furfural, mencionada por Barbosa et al. (2007). Esto también se puede confirmar observando la tabla de posibles compuestos orgánicos presentes en los tequilas blancos en el Anexo I. En este anexo podemos apreciar que los aldehídos furánicos, identificados y cuantificados en los tequilas blancos (Barbosa et al; 2007) con una transición electrónica  $n \rightarrow \pi^*$ , muestran varios máximos de absorción en 200, 225, 250 y 270 nm, cuyos valores son cercanos a los loadings obtenidos.

Por otra parte, las variables de PC1 y PC2 presentan valores de 192 y 191 nm, respectivamente. Alguno de estos valores podría atribuirse a los compuestos aldehídos saturados según la tabla del Anexo I, ya que estos compuestos presentan señales a longitudes de onda máxima menores de 200 nm, como es el acetaldehído. Díaz et al. (2008) han reportado compuestos como acetaldehído, alcoholes superiores, ésteres y ácidos como productos de la fermentación del tequila. Además, de acuerdo con la tabla del Anexo I, también puede decirse que ya sea PC1 o PC2 pueden atribuirse a los alcoholes debido a la transición de  $n \rightarrow \sigma^*$ . De León et al. (2008) detectaron y cuantificaron en los tequilas, alcoholes como metanol, etanol, propanol, 2-butanol, 2-metilpropanol, 2-feniletanol y la mezcla de 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol.

Por último, el PC2 tiene una contribución de la variable 207 nm, la cual puede atribuirse a los compuestos ácidos orgánicos y ésteres etílicos; estos compuestos presentan longitudes de onda aproximadamente entre 200 a 210 nm (ver anexo I). Por ejemplo, el ácido acético y el acetato de etilo que presentan longitudes máximas de 204 y 205 nm, respectivamente.

Los ácidos orgánicos presentes en las bebidas alcohólicas, son principalmente formados en el proceso de cocción del agave (Mancilla y López, 2002) y posteriormente en la fermentación. Por otra parte, Vallejo et al. (2004) han cuantificado ésteres etílicos en diferentes clases de tequilas, los cuales, en el tequila blanco, se encuentran en una concentración relativamente alta. Además, la mayoría de los ésteres pueden ser el resultado del metabolismo de las levaduras durante la fermentación.

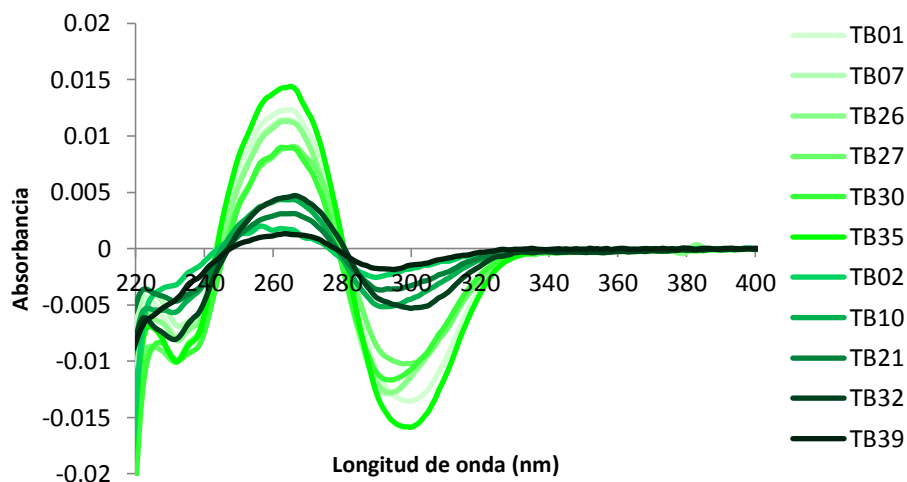
En resumen, las variables de 200 a 210 nm pueden atribuirse a los compuestos con un grupo carbonilo del tipo ácido carboxílico y ésteres. Por otra parte, las variables de 228 y 280 nm pueden estar relacionadas con compuestos tales como aldehídos, aldehídos furánicos y cetonas.

### 5.1.3. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA PRIMERA DERIVADA.

#### 5.1.3.1. *Análisis de Componentes Principales (PCA).*

El análisis de componentes principales aplicado a los datos espectrales brutos fue satisfactorio para diferenciar entre tequilas blancos 100% agave y mixtos; sin embargo, se realizaron modelos utilizando la primera y segunda derivadas con el interés de compararlos. Cabe mencionar que con la segunda derivada no se obtuvieron resultados satisfactorios por lo que no se reportaron.

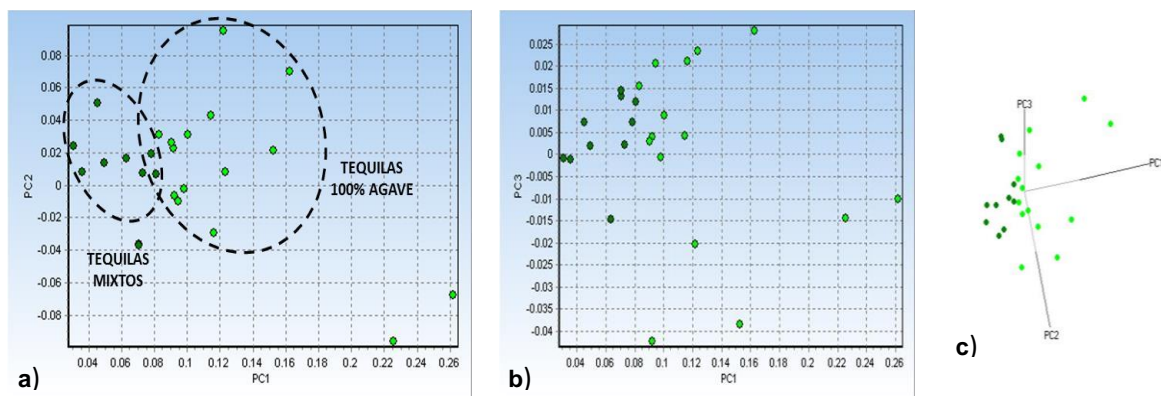
La primera derivada de los datos espectrales se realizó mediante el algoritmo de Savitsky-Golay, con 5 puntos en la ventana. La Figura 5.10 muestra la primera derivada de 11 espectros correspondientes a los tequilas blancos 100% agave y mixtos, los cuales se obtuvieron a partir de derivar los espectros originales brutos. Las diferencias más notorias de estos espectros derivados de los tequilas blancos 100% agave y mixtos se observan en el intervalo de 200 a 340 nm. En la Figura 5.10 se observa que los espectros derivados de los tequilas mixtos (verde oscuro) presentan bandas de menor intensidad en comparación con los tequilas 100% agave (verde claro) en el intervalo antes mencionado, y posiblemente esta característica será la que determinará la diferenciación entre los tequilas blancos 100% agave y mixtos mediante el análisis de componentes principales.



**Figura 5.10. Primera derivada de los espectros UV-VIS de tequilas blancos 100% agave (verde claro) y mixtos (verde oscuro). Intervalo de 220-400 nm.**

Con la primera derivada, el mejor modelo obtenido fue con ningún escalado y un intervalo de 200 a 350 nm. Los PCAs realizados bajo estas condiciones permitieron observar una diferenciación entre los tequilas 100% agave (verde claro) y tequilas mixtos (verde oscuro).

La Figura 5.11 muestra las gráficas de scores. Tres PCs explican el 98.6326% de la varianza inicial (PC1: 87.7259%, PC2:10.9067% y PC3:1.9306%). A lo largo de PC1 se observa la separación de las dos categorías de tequilas blancos (Figura 5.11 (a) y (b)). Sin embargo, en la Figura 5.11(b) se observa un mayor número de muestras no agrupadas. Por otra parte, en la Figura 5.11(c) se puede observar en el subespacio de *scores* PC1-PC2-PC3 una tendencia a la separación de los tequilas blancos 100% agave de los mixtos.

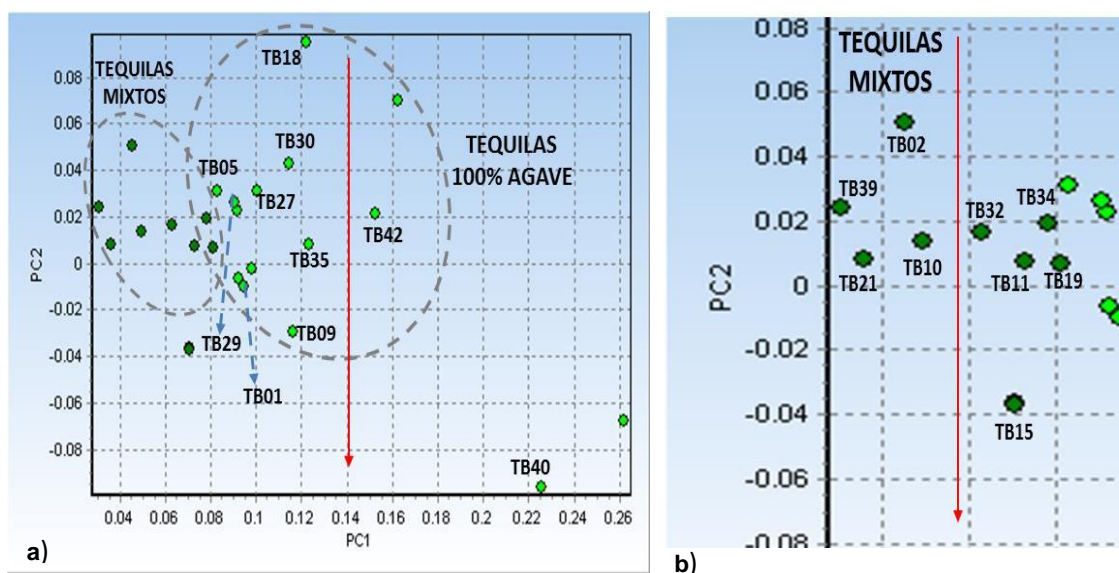


**Figura 5.11. Gráfica de scores para los datos con la 1ª derivada de tequilas blancos 100% agave y mixtos, con ningún escalado, intervalo de longitud de onda: 200 a 350 nm. a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC3, c) Subespacio PC1-PC2-PC3.**

En el modelo de la Figura 5.11 se observa una tendencia a la diferenciación entre tequilas blancos 100% agave y mixtos. Sin embargo, al igual que en el modelo con los datos brutos, hay muestras que no se agrupan en su respectivo grupo. Estas muestras son TB 14, 15, 16, 40 y 41, las cuales no se retiraron del modelo porque como se mencionó anteriormente, en el tratamiento de los datos espectrales brutos, estas muestras se consideran como bien comportadas. También se puede observar que el grupo de los tequilas blancos mixtos se encuentra a valores menores a lo largo de PC1 y el grupo de los tequilas blancos 100% agave a valores mayores. Esto coincide con los resultados de los datos brutos.

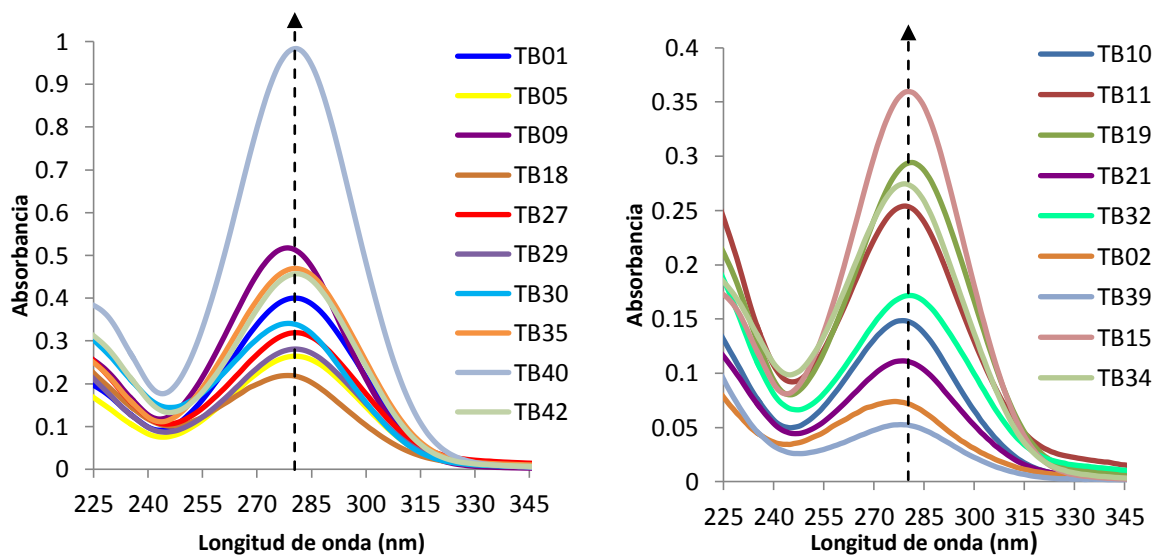
### 5.1.3.2. Pautas Internas del modelo.

Al analizar la ubicación de los scores del modelo óptimo (Figura 5.11(a)) para los tequilas blancos 100% agave y mixtos, se encontraron pautas internas que fueron representadas mediante flechas continuas rojas en la Figura 5.12(a) y (b), respectivamente.



**Figura 5.12. Gráfica de scores con pautas internas para datos de la 1ª derivada de tequilas blancos 100% agave y mixtos, ningún escalado, intervalo número de onda: 190 a 380 nm. Subespacio PC1-PC2. a) Pautas de los Tequilas 100% agave, b) Pautas de los Tequilas mixtos.**

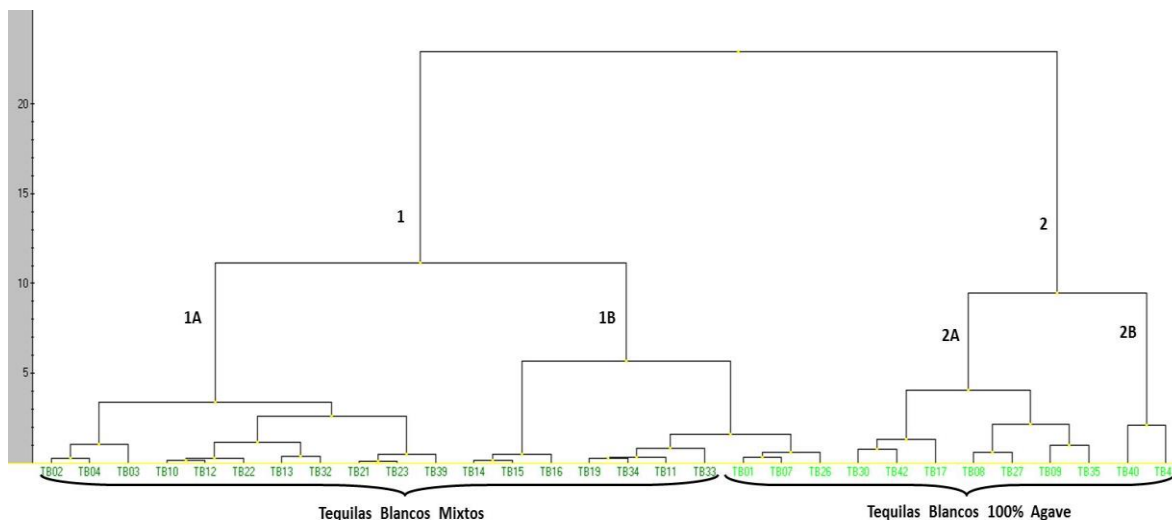
En la Figura 5.12 se observan las claves para cada categoría de tequila blanco con la finalidad de compararlos con sus correspondientes espectros en la Figura 5.13. Al examinar la secuencia de los grupos formados de los tequilas 100% agave y mixtos, se constató que la altura del máximo de absorción de la banda aumenta en el sentido de las flechas rojas en la Figura 5.12, es decir, el máximo de la banda espectral aumenta a valores menores de PC2 para los tequilas 100% agave y mixtos. Por lo que, las dos categorías de tequilas blancos que se encuentren en esos valores indicará que son muestras con un mayor grado de fermentación como se comentó anteriormente para los datos brutos.



**Figura 5.13. Espectros de diferentes muestras de tequilas blancos para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la primera derivada, subespacio PC1-PC2.**  
 a) Tequilas 100% agave, b) Tequilas mixtos.

#### 5.1.4. Análisis Cluster (CA).

Se realizaron distintos análisis cluster (CA) utilizando las condiciones de los modelos óptimos de PCA para los datos brutos y la primera derivada. El mejor resultado obtenido se muestra en la Figura 5.14; éste se obtuvo con el método Algoritmo de Ward y la distancia Euclidean, con ningún escalado y un intervalo de 190 a 380 nm. El dendograma de la Figura 5.14 muestra dos agrupaciones que corresponden a las dos categorías de tequilas blancos. El primer grupo se encuentra formado por todos los tequilas blancos mixtos, pero también en el subgrupo 1B hacia la derecha, por tres muestras tequilas 100% agave (TB01, 07 y 26), debido a que estos tequilas 100% agave presentaban características similares a los tequilas blancos mixtos agrupándose cercanos a ellos. Por otra parte, el segundo grupo se encuentra formado por las muestras restantes de tequilas 100% agave, subdividiéndose en dos grupos (2A y 2B). El subgrupo 2B se encuentra formado por las muestras TB40 y TB41, los cuales son tequilas 100% agave que presentan valores altos de absorbancia máxima en comparación con los tequilas 100% agave del grupo 2A. Por último, con este análisis cluster también se confirmó la separación de los tequilas 100% agave y mixtos.



**Figura 5.14. Dendrograma para el conjunto de datos brutos de los tequilas blancos 100% agave y mixtos con el método Algoritmo de Ward y la distancia Euclidean.**

**5.1.5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON PCA.**

Los resultados obtenidos al aplicar componentes principales a los datos espectrales brutos y primera derivada para las muestras de tequilas blancos, se resumen en la siguiente tabla:

**Tabla 5.2** Resultados obtenidos con PCA.

Datos	Intervalo (nm)	Escalado	Muestras anómalas	PC responsable de la diferencia	% Varianza			Gráficos de scores
					PC1	PC2	PC3	
Brutos	190-380	Ninguno	TB, 100% agave: 05, 06, 18, 20, 28, 29, 31, 36, 37,38. TB, Mixtos: 24, 25	PC1	94.35	5.15	0.19	Figura 5.5
1ª derivada	200-350	Ninguno	TB, 100% agave: 28, 31, 36, 37, 38 TB, Mixtos: 24, 25, 33	PC1	87.72	10.90	1.93	Figura 5.11

Se observó que los modelos obtenidos con los datos brutos presentan valores mayores de varianza para PC1, los cuales son considerados como el mejor modelo óptimo que diferencia entre tequilas blancos 100% agave y mixtos.



## 5.2. DIFERENCIACIÓN ENTRE MEZCALES JÓVENES.

### 5.2.1. Comportamiento espectral UV-VIS.

Mediante la espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-VIS) se obtuvieron espectros de absorción (190-900 nm) de tres tipos de muestras de mezcales jóvenes (MJ, MJG, MJC). Las características de estas muestras se pueden apreciar en la tabla 4.2.

En la Figura 5.15 se muestran doce espectros de absorción UV-VIS (190-400nm) representativos a las tres tipos de mezcales jóvenes (MJ, MJG y MJC) los cuales presentan una banda de absorción aproximadamente desde 245 a 345 nm, en la región UV, con un máximo de absorción entre 276 a 283 nm (ver tabla 4.2); además, se puede observar en estos espectros casi nula absorción a longitudes mayores de 345 nm.

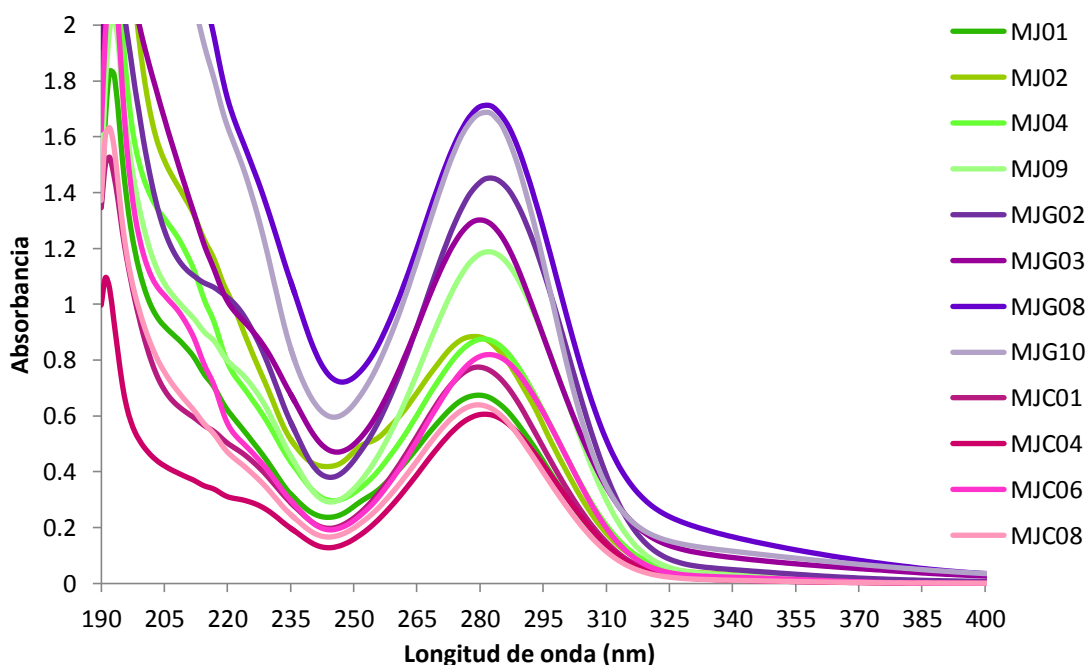
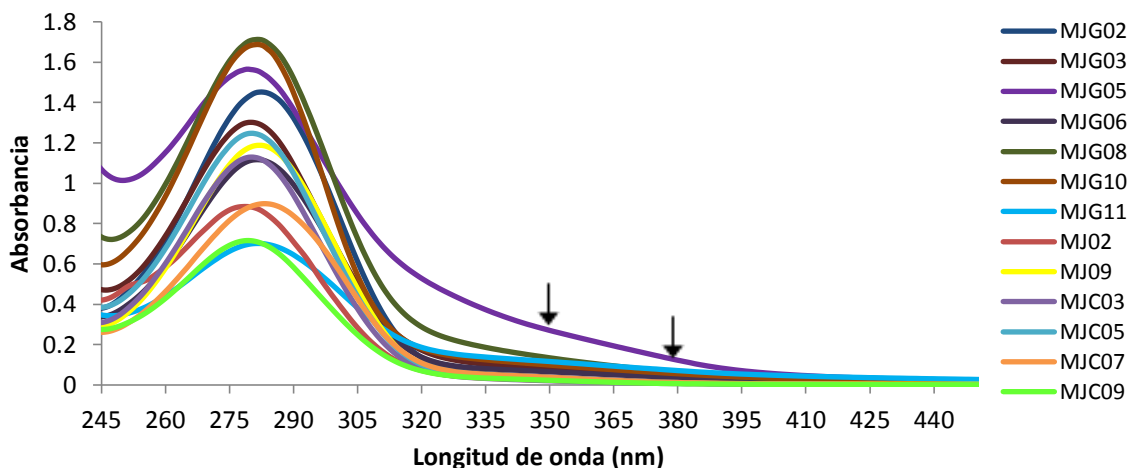


Figura 5.15. Espectros UV-VIS representativos para tres tipos de mezcales jóvenes (MJ, MJG, MJC).

Esta banda de absorción ancha, similar a la del tequila, es debida a la presencia de compuestos orgánicos volátiles que esencialmente corresponden a la mezcla de furfural, 2 acetilfurano y metil furfural, originados en el proceso de cocción y fermentación de los jugos del agave (Muñoz et al; 2010). La intensidad de dicha banda está en relación directa

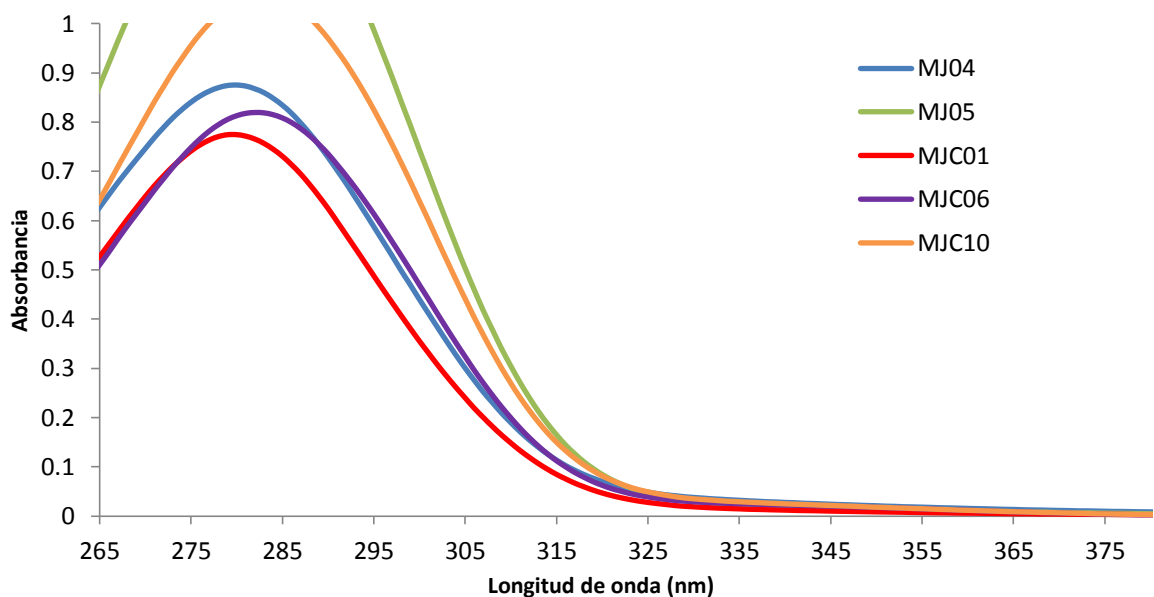
con el número de componentes orgánicos, resultantes del proceso de cocimiento y fermentación del agave, es decir, que la intensidad de esta banda podría ser un indicador de la calidad para el tequila y el mezcal como lo mencionan Muñoz et al. (2010). Asimismo, en la Figura 5.15 puede observarse un máximo de absorción alrededor de 192-194 nm, el cual puede ser indicativo de compuestos tales como alcoholes y aldehídos saturados, los cuales se generan durante el proceso de cocción y fermentación del agave. Estos compuestos han sido identificados y cuantificados previamente en bebidas alcohólicas como los tequilas (De León et al; 2008 y Díaz et al; 2008).

Sin embargo, es importante mencionar, que los espectros de algunas muestras de mezcales jóvenes de la COMERCAM (MJC) y con gusano (MJG), muestran características diferentes debido a que el ancho de su banda espectral se extiende más allá de 345 nm, con un perfil asintótico de mayor intensidad de absorción. En la Figura 5.16 las flechas indican dicha zona, aproximadamente entre 350 a 450 nm. Dicho comportamiento es más notorio en los mezcales jóvenes con gusano (MJG) y podría deberse a que estos mezcales mostraban una apariencia amarillenta mínima, intermedia o muy intensa (ver tabla 4.2), resultado de un abocamiento. Aunque esta acción es más usual en mezcales reposados o añejos, también puede darse en mezcales jóvenes con fines de acentuar el sabor del mezcal. Al igual que sucede con el tequila, el abocamiento puede colorear al mezcal joven, dándole una apariencia amarillenta, ocasionando que su banda presente una extensión en regiones mayores a 350 nm.



**Figura 5.16. Espectros UV-VIS de mezcales jóvenes abocados (MJG y MJC). Las flechas indican la región de abocamiento (350 a 440 nm).**

Por otra parte, se encontraron muestras de mezcales sin gusano como MJ04, MJ05, MJC06 y MJC10 que no se consideran como muestras abocadas, ya que su apariencia es incolora (ver tabla 4.2). Sin embargo, la extensión de su banda a valores mayores de 350 nm, se debe a que éstas presentan valores de absorbancia muy altos en el punto máximo (276-283 nm), originando que su perfil asintótico aumente a longitudes mayores de 350 nm, esto puede observarse comparando dichas muestras con MJC01 que no exhibe este comportamiento (ver Figura 5.17).



**Figura 5.17. Espectros UV-VIS de mezcales jóvenes sin gusano con una extensión de su banda mayor a 350 nm.**

Por otra parte, de acuerdo con la tabla 4.2 el intervalo de variación de los máximos de absorbancia son amplios (276 - 283 nm). Asimismo, los valores de absorbancia de estos máximos, para los tres tipos de mezcales jóvenes, varían entre 0.30 a 1.71. Estas variaciones probablemente se deban a que el mezcal es una bebida originada a partir de distintas especies de agave y procesos de elaboración tradicionales poco estandarizados (Molina et al; 2007). Esta variabilidad se aprecia en los espectros de las Figuras 5.18, 5.19 y 5.20 para cada tipo de mezcal.

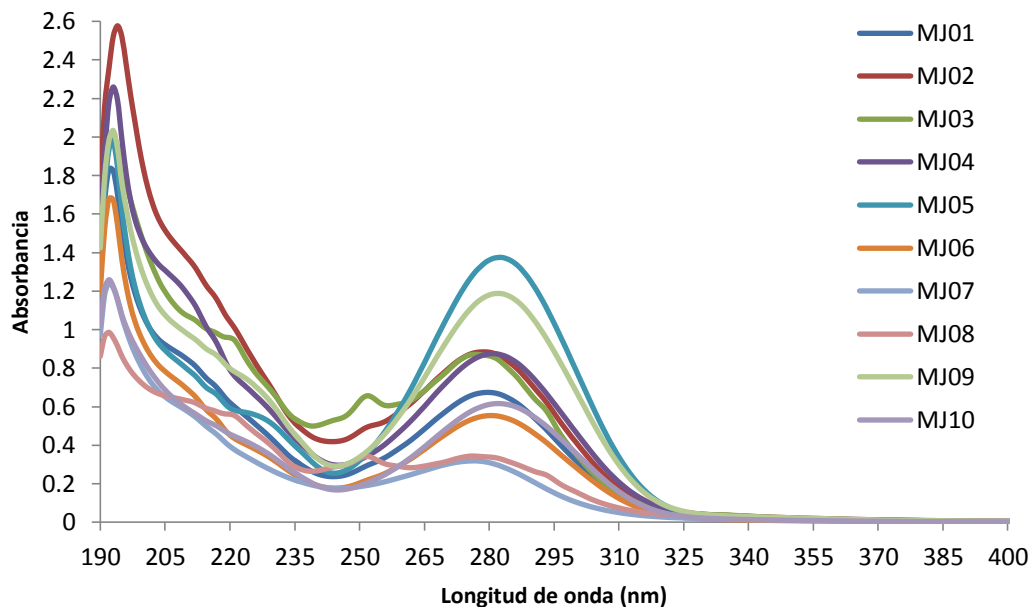


Figura 5.18. Espectros UV-VIS de muestras de mezcales jóvenes sin gusano (MJ).

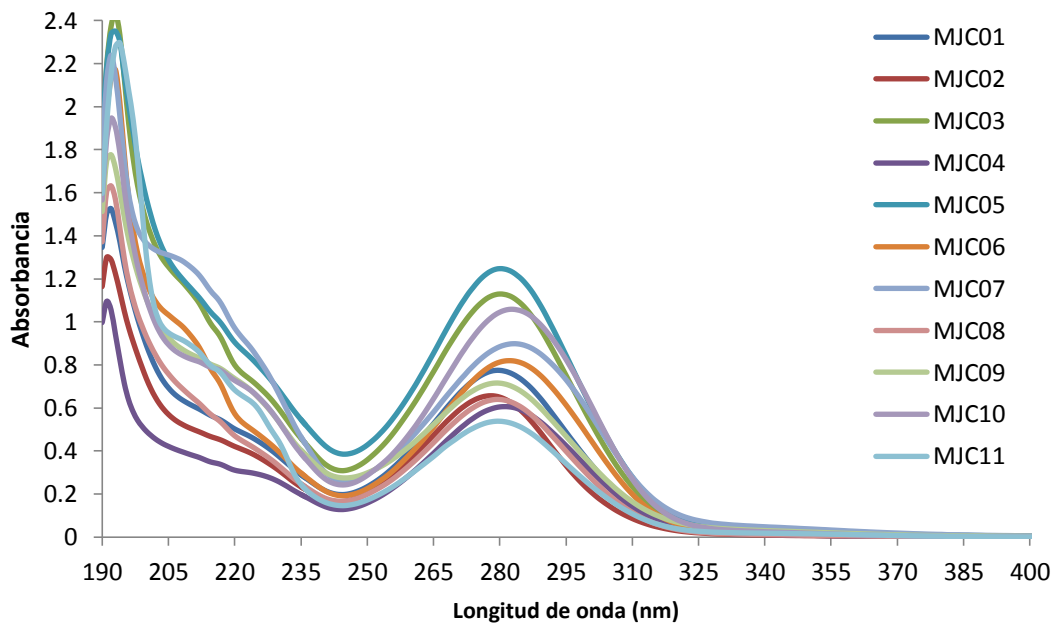
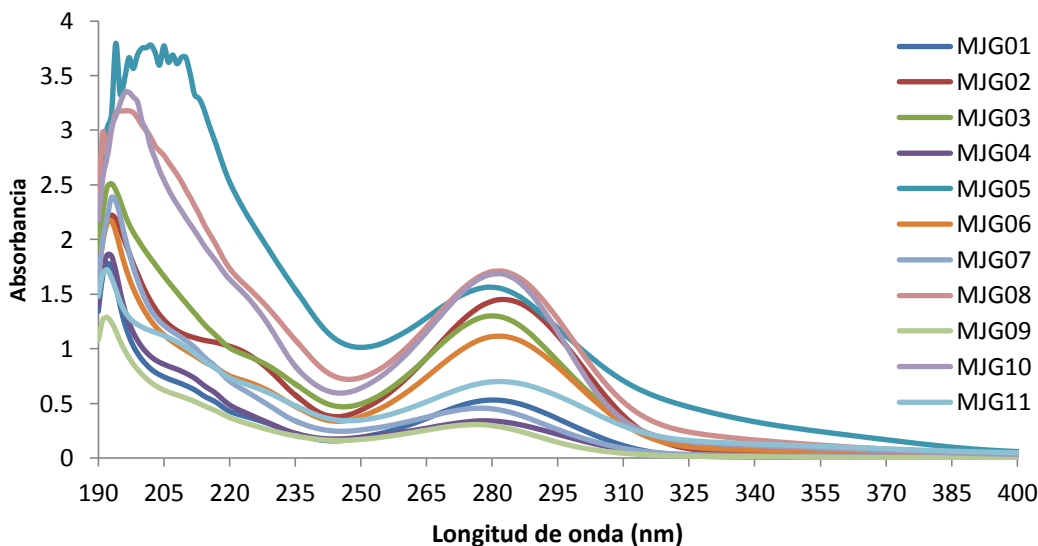


Figura 5.19. Espectros UV-VIS de muestras de mezcales jóvenes COMERCAM (MJC).



**Figura 5.20. Espectros UV-VIS de muestras de mezcales jóvenes con gusano (MJG).**

Por lo tanto, aunque los mezcales jóvenes pertenezcan al mismo tipo o grupo, es evidente que existen diferencias entre los espectros de cada muestra, y probablemente este hecho será lo que determine la diferenciación entre los mezcales jóvenes mediante el análisis de componentes principales.

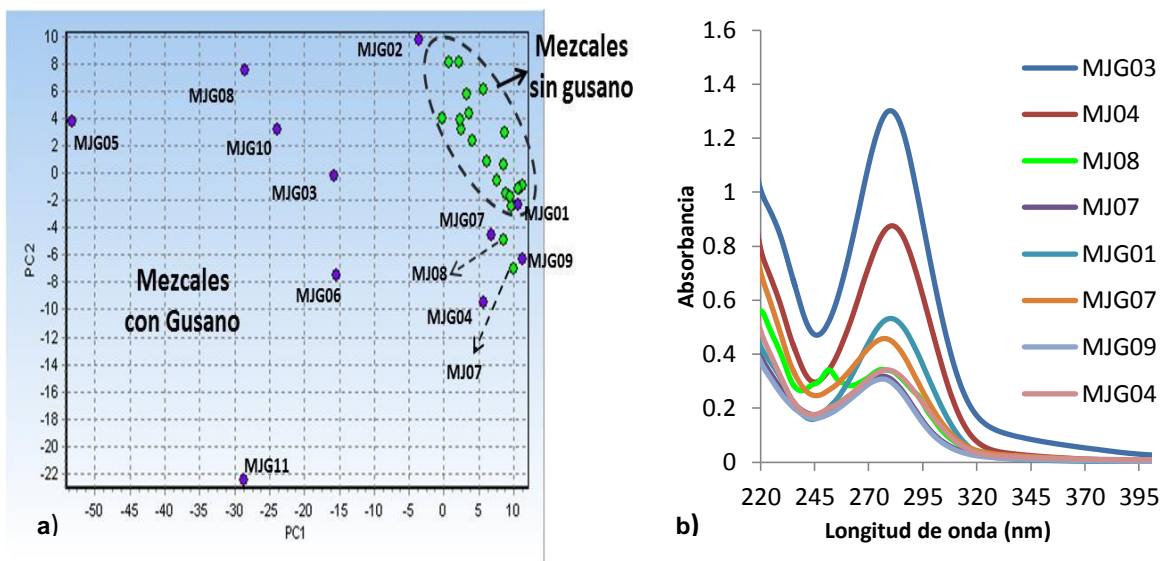
## 5.2.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS BRUTOS.

### 5.2.2.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) a partir de 32 espectros UV-VIS de las muestras de mezcales jóvenes. De entre éstos, 21 muestras de mezcales jóvenes fueron sin gusano y 11 con gusano (ver tabla 4.2).

El primer paso realizado para obtener el modelo fue elegir el intervalo de longitud el cual fue de 220 a 500 nm, a fin de evitar que muestras como MJG05 (ver Figura 5.20), presentaran señales de saturación en el UV. Con este intervalo, autoescalado y sin retirar ninguna muestra de mezcal, se obtuvo el modelo óptimo. La Figura 5.21 muestra las gráficas de scores del modelo; los scores de color verde claro corresponden a los mezcales jóvenes sin gusano (MJ y MJC) y los scores de color morado corresponden a los mezcales

jóvenes con gusano (MJG). Tres PCs del modelo explican el 98.5182% de la varianza total (PC1: 80.1151%, PC2: 14.4499% y PC3:3.9532%). En estos gráficos se aprecia una diferenciación entre los mezcales jóvenes sin y con gusano, a lo largo de PC1 y PC2 (Figura 5.21(a)).



**Figura 5.21. a) Gráfica de scores para los datos brutos de mezcales jóvenes con gusano (MJG, color morado) y sin gusano (MJ y MJC, color verde), autoescalado, intervalo de número de onda: 220 a 500 nm. Subespacio PC1-PC2. b) Espectros típicos de mezcales con y sin gusano (MJG03, MJ04) y espectros de mezcales no típicos (MJ07, MJ08, MJG01, MJG04, MJG07, MJG09).**

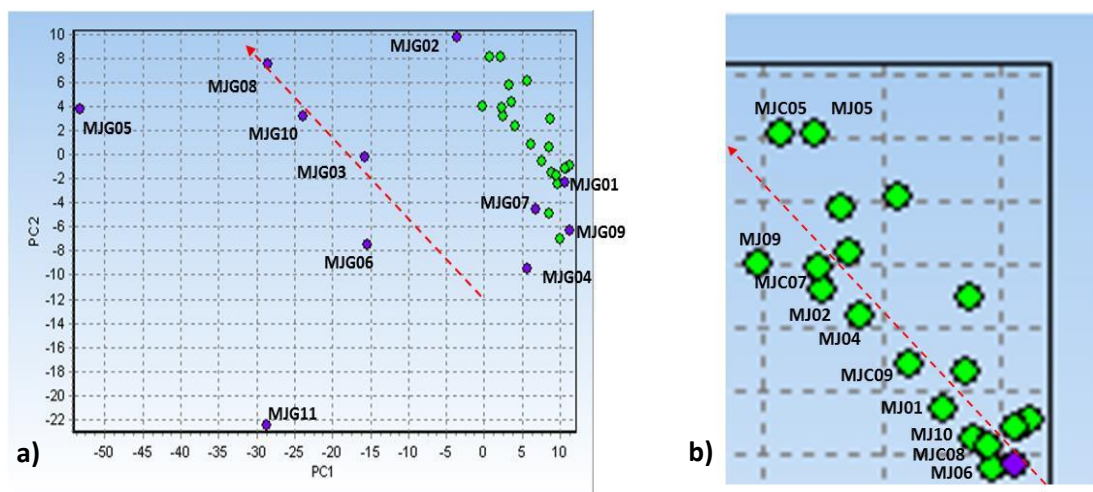
Sin embargo, en la Figura 5.21(a) se observa que los scores de las muestras MJG01, MJG07, MJG09, MJG04, MJ08 y MJ07 no se agrupan correctamente, posiblemente debido a que estas muestras de mezcales jóvenes presentan una banda de menor intensidad en comparación con mezcales típicos con gusano (MJG03) y sin gusano (MJ04) como se aprecia en la Figura 5.21(b), por lo que puede decirse que esas muestras tienen un menor grado de fermentación. Por ejemplo, la muestra MJ08 presenta una banda adicional alrededor de 250 nm (ver Fig. 5.21(b)), que no corresponde a un espectro típico del mezcal.

Como puede observarse en el modelo de la Figura 5.21(a) los mezcales sin gusano, presentan una agrupación compacta posiblemente debido a que estas muestras han sido elaboradas mediante procesos más estandarizados, ya que cabe mencionar que este grupo de mezcales sin gusano se encuentra formado en su mayoría por muestras provenientes de la COMERCAM.

Por otra parte, los scores de las muestras con gusano (MJG) se encuentran muy dispersos (ver Fig. 5.21(a)), probablemente a que tanto su materia prima como su producción esté menos regulada, pero además la presencia del gusano en el mezcal le puede proporcionar cierto grado de “abocamiento”, ya que este tipo de mezcales suelen tener máximos por encima de los mezcales sin gusano (ver Fig. 5.21(b)) y un color amarillento más marcado, en contraste con los tequilas sin gusano que tienen un color menos intenso.

### 5.2.2.2. Pautas Internas del modelo.

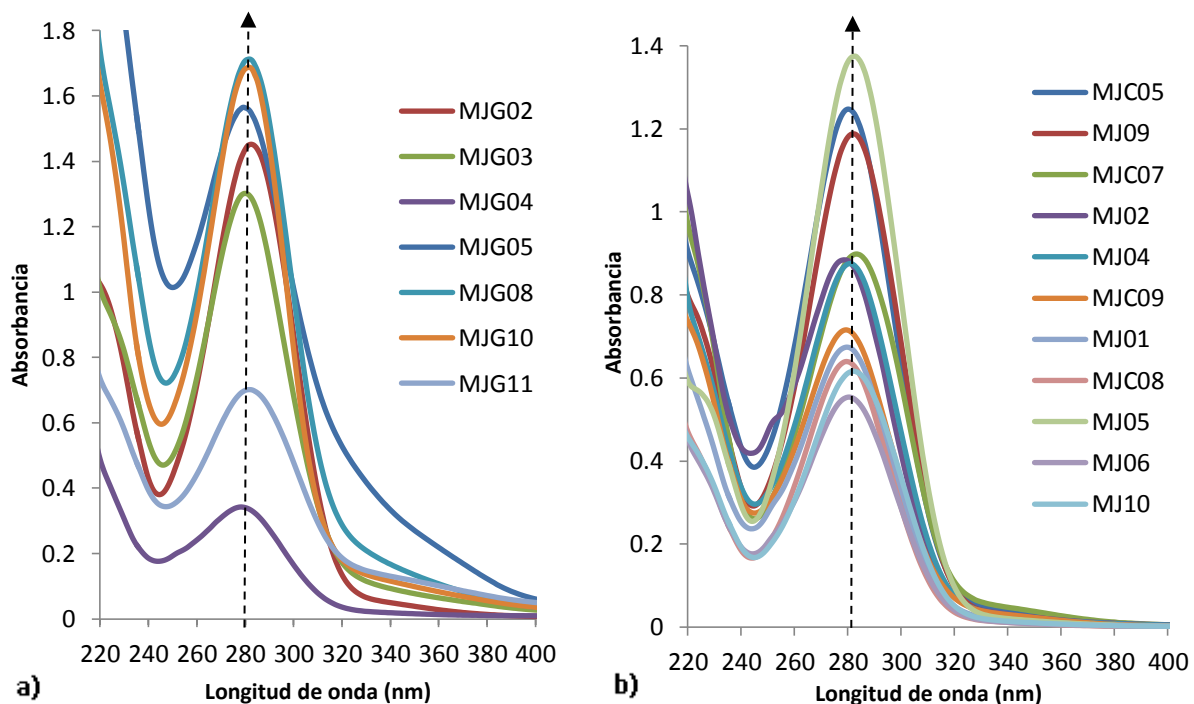
Al analizar la ubicación de los scores en el modelo de la Figura 5.21 se encontraron dos pautas internas. Para el caso de los mezcales con gusano, la muestra MJG11, es uno de los mezcales más amarillos, no obstante la intensidad de su banda es baja y es el más alejado del resto, (ver Figura 5.22(a)). Las muestras MJG08, MJG10, MJG03, MJG06 y MJG04 que se encuentran en la trayectoria de la línea (ver Figura 5.22(a)), presentan una banda más intensa en el sentido de la flecha, es decir, la altura de este máximo aumentará a valores mayores de PC2 y menores de PC1. Este mismo comportamiento ocurre para los mezcales sin gusano (ver figura 5.22(b)). Por lo tanto, el sentido de la flecha roja indica el grado de fermentación de los mezcales.



**Figura 5.22. Gráfica de scores con pautas internas para los datos brutos de mezcales jóvenes, autoescalado, intervalo número de onda: 220 a 500 nm. Subespacio PC1-PC2. Flecha roja discontinua pauta más importante. a) Pauta de los Mezcales con gusano, b) Pauta de los Mezcales sin gusano.**



En las Figuras 5.22(a) y (b) aparecen las claves de las muestras de los mezcales con y sin gusano a fin de compararlos con sus correspondientes espectros de la Figura 5.23, lo que permitió constatar las pautas antes mencionadas.



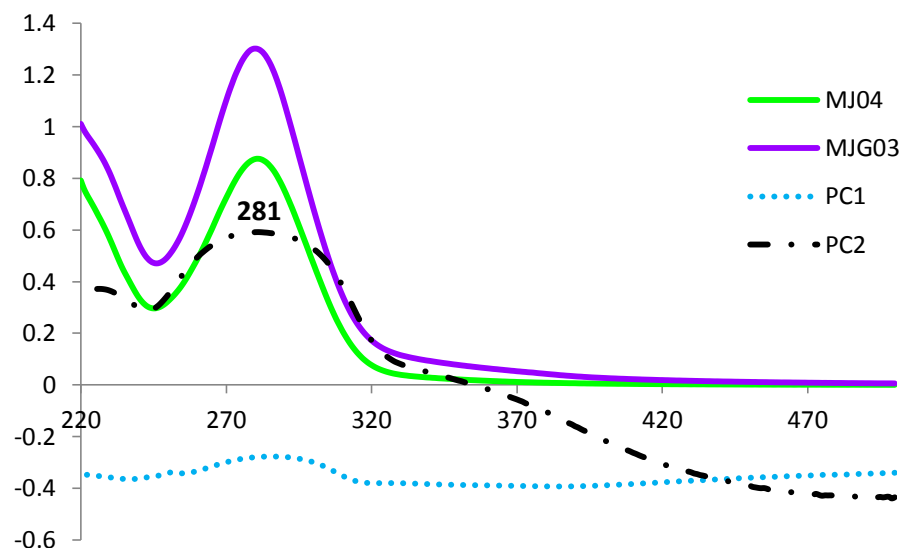
**Figura 5.23. Espectros de diferentes muestras de mezcales jóvenes para confirmar las pautas en el modelo de PCA para los datos brutos, subespacio PC1 vs PC2. a) Espectros de mezcales con gusano, b) Espectros de mezcales sin gusano.**

### 5.2.2.3. Análisis de Loadings.

Los loadings para los datos brutos de los mezcales jóvenes con y sin gusano se obtuvieron a partir de las condiciones del modelo óptimo de PCA. Estos loadings y dos espectros representativos de los mezcales con y sin gusano se muestran en la Figura 5.24.

Como se puede observar en la Figura 5.24, para PC1 no destaca ninguna variable en particular, lo que indica que todas las variables tienen la misma importancia para la diferenciación entre mezcales jóvenes con y sin gusano.





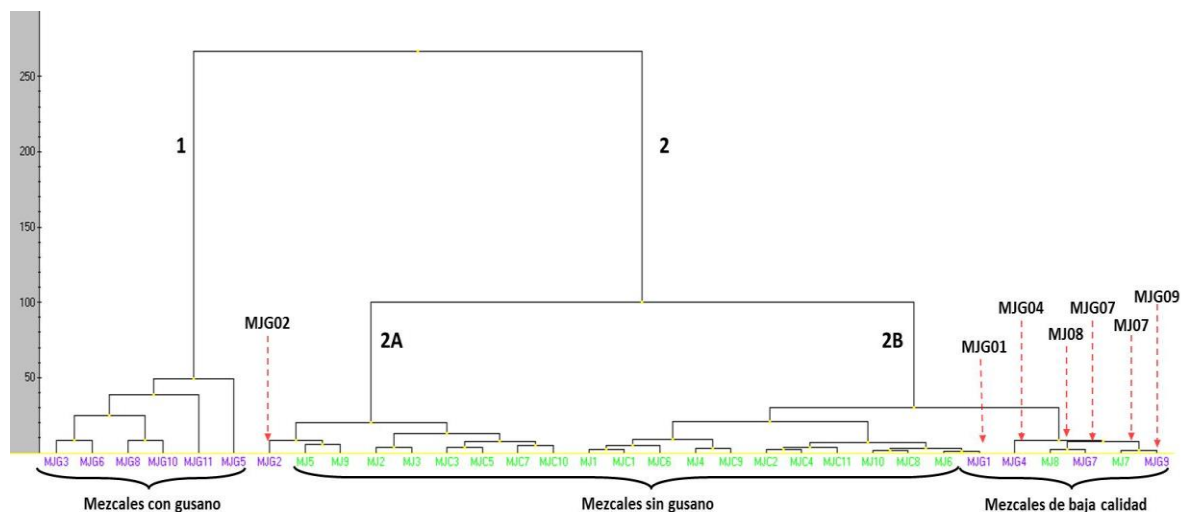
**Figura 5.24.** Gráfica de loadings para los datos brutos UV-VIS para el conjunto de mezcales jóvenes con y sin gusano, con autoescalado, para el intervalo de 220-500 nm.

Por otra parte, PC2 está definido por la variable 281 nm, la cual puede atribuirse a compuestos como aldehídos furánicos, ya que estos cromóforos presentan una transición electrónica  $n \rightarrow \pi^*$  donde sus máximos de absorción se encuentran aproximadamente en 200, 225, 250 y 270 nm (ver anexo I). Los aldehídos furánicos han sido identificados y cuantificados en tequilas y mezcales por Muñoz et al. (2010), por lo que la variable de 281 nm podría estar relacionada con estos compuestos, y por tanto dar la pauta para diferenciar entre mezcales jóvenes con y sin gusano. Cada muestra de mezcal presenta diferentes proporciones de estos compuestos, por lo que cualquier variación en su concentración ocasionará un cambio en la intensidad de dicha banda. Por lo que ésta es un parámetro indicador para conocer el grado de fermentación del mezcal y otras bebidas alcohólicas (Muñoz et al; 2010).

#### 5.2.2.4. Análisis Cluster (CA).

Se realizaron distintos análisis cluster utilizando las condiciones del modelo óptimo de PCA para los datos brutos con autoescalado y un intervalo de 220 a 500 nm. El mejor resultado se muestra en la Figura 5.25, obtenido con el método Algoritmo de Ward y la distancia Euclidean. Este dendograma presenta diferentes agrupaciones. En el grupo 1 se ubican la mayoría de los mezcales con gusano y en el grupo 2 los mezcales sin gusano.

Observando los espectros de las muestras del grupo 1 se constató que MJG03, MJG06, MJG08 y MJG10 presentan máximos de absorbancia notablemente altas en su banda espectral. Por otra parte, las muestras MJG05 y MJG11 no presentan una similar intensidad en su banda espectral pero si exhiben un abocamiento parecido, posiblemente por esto se agrupan separadas de las demás muestras con gusano en este grupo 1. En el subgrupo 2A se ubica la muestra MJG02 junto a los mezcales sin gusano, como ocurrió en el modelo de PCA, lo que podría indicar que su composición es muy similar a los mezcales sin gusano que exhiben una mayor grado de fermentación.



**Figura 5.25. Dendrograma para el conjunto de datos brutos de los mezcales jóvenes con y sin gusano con el método Algoritmo de Ward y la distancia Euclidean.**

Por último, en el subgrupo 2B hacia la derecha se observan muestras de mezcales jóvenes con y sin gusano. Observando sus respectivos espectros se confirmó que estas muestras presentan máximos de absorbancia bajos en su banda espectral, lo que indica que estas muestras de mezcales tienen un menor grado de fermentación. Ya que estas muestras presentan un comportamiento similar es por esto que se agrupan cercanas.

Por lo tanto, este análisis permitió corroborar los resultados obtenidos por PCA y comprobar el grado de fermentación de las muestras de mezcales con y sin gusano.

### 5.2.3. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA PRIMERA DERIVADA.

#### 5.2.3.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).

El análisis de componentes principales aplicado a los datos espectrales brutos mostró un modelo óptimo para diferenciar entre mezcales jóvenes con y sin gusano; sin embargo, se intentaron otros modelos utilizando la primera derivada y segunda derivada con el interés de compararlos.

Para la primera derivada se realizó un análisis de componentes principales (PCA) a partir de 32 espectros UV-VIS de muestras de mezcales jóvenes. De entre éstos, 10 muestras de mezcales jóvenes fueron sin gusano, 11 con gusano y 11 de la COMERCAM (ver tabla 4.2).

La primera derivada de los datos espectrales se realizó mediante el algoritmo de Savitsky-Golay, con 5 puntos en la ventana. La Figura 5.26 muestra, a manera de ejemplo, la primera derivada de 12 espectros correspondientes a los tres tipos de mezcales jóvenes.

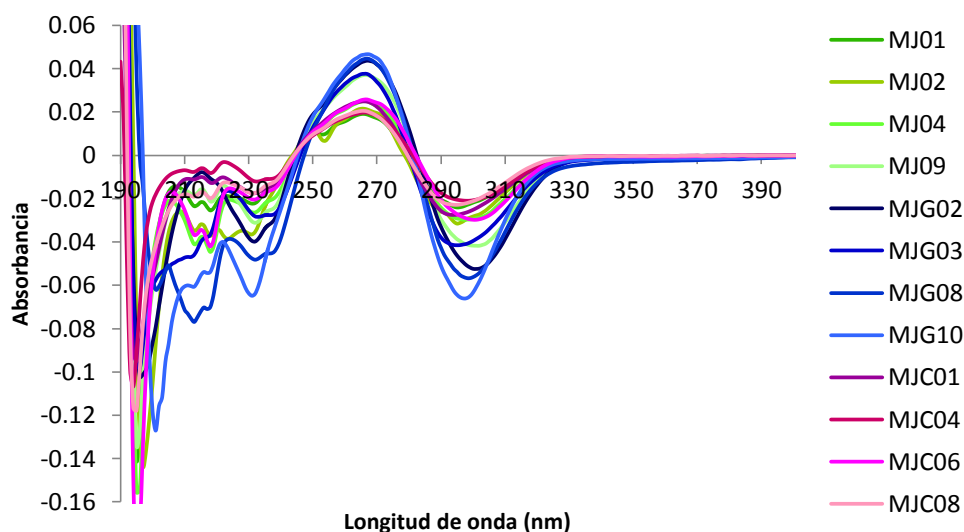
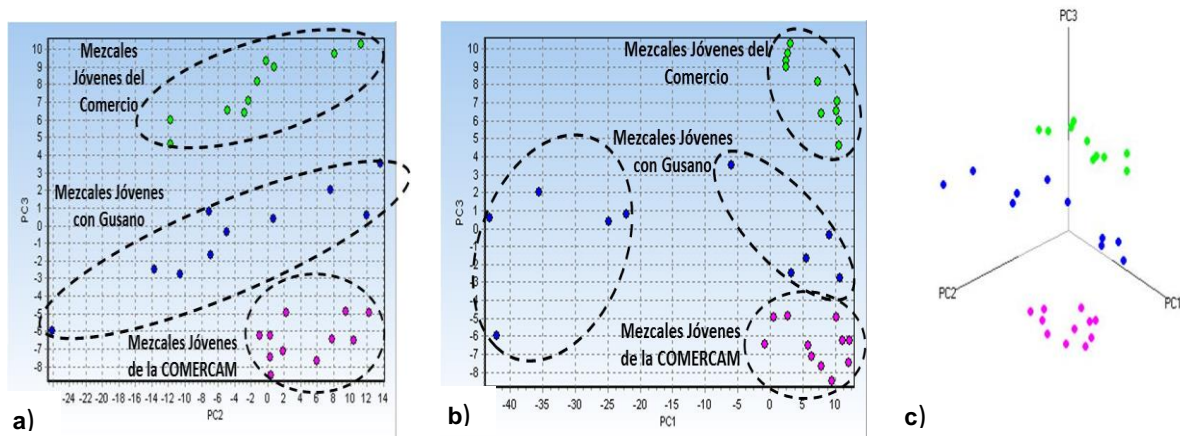


Figura 5.26. Primera derivada de los espectros de UV-VIS (200-400 nm) de los tres tipos de mezcales jóvenes.

Las diferencias de los espectros derivados de los mezcales jóvenes se encuentran alrededor de 200 a 350 nm. Se observa que los espectros de los mezcales jóvenes con gusano posiblemente presentan intensidades mayores. Por otra parte, a longitudes mayores de 400 nm, la absorción de estos espectros es casi nula.

Al aplicar PCA a los datos de la primera derivada, el mejor modelo obtenido fue con autoescalado, en el intervalo de 200 a 750 nm. La Figura 5.27 muestra las gráficas de scores. Tres PCs explican el 67.8997% de la varianza inicial (PC1: 46.0237%, PC2:14.8242% y PC3:7.0518%). En este modelo no se observa la agrupación de mezcales jóvenes con y sin gusano; lo que podemos apreciar es la diferenciación entre cada tipo de mezcal, las cuales son tres: MJ (verde), MJG (azul) y MJC (rosa). A lo largo de PC3 se aprecia esta separación en la Figura 5.27 (a) y (b). A lo largo de PC2 y PC1 en la Figura 5.27(a) y 5.27(b) respectivamente, se puede observar la dispersión que presenta cada tipo de mezcal. Por otra parte, en la Figura 5.27(c) se puede percibir nuevamente que el subespacio de *scores* PC1-PC2-PC3 separa los mezcales jóvenes también por tipos.



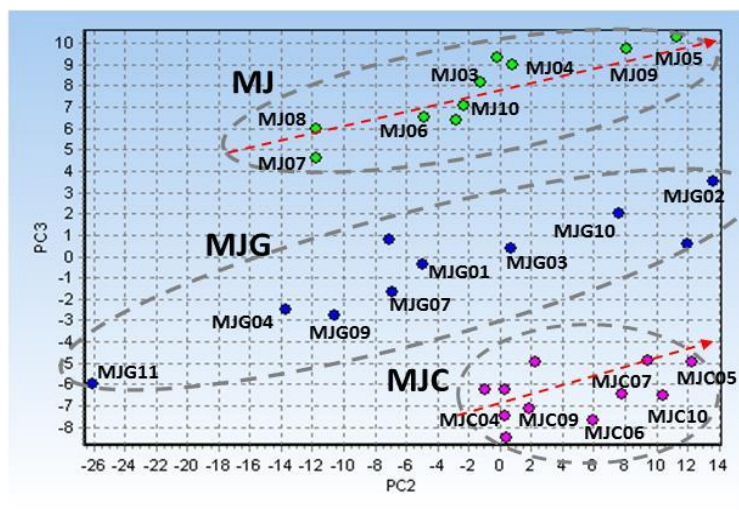
**Figura 5.27. Gráfica de scores para los datos de la 1ª derivada de mezcales jóvenes, con autoescalado, intervalo longitud de onda: 200 a 750 nm. a) Subespacio PC1-PC3, b) Subespacio PC2-PC3, c) Subespacio PC1-PC2-PC3.**

Los PCAs realizados bajo estas condiciones permitieron observar una diferenciación entre los tres tipos de mezcales jóvenes. Se probaron diferentes modelos combinando intervalos y escalados, observando siempre que los tres tipos de mezcales jóvenes se separaban. La Figura 5.27 muestra el modelo óptimo con la primera derivada. Como se puede apreciar, a diferencia del modelo obtenido con los datos brutos, en este modelo se advierten 3 claros

agrupamientos, puestos en evidencia por la derivada. Por otra parte, el modelo de la Figura 5.27 se obtuvo al retirar únicamente la muestra de mezcal joven MJG05; debido a que esta muestra se separaba de todas las demás afectando la varianza del modelo. Puede observarse que la muestra MJG05 (ver Figura 5.20) presenta un comportamiento atípico en comparación con las demás muestras de mezcales jóvenes con gusano por lo que se consideró anómala.

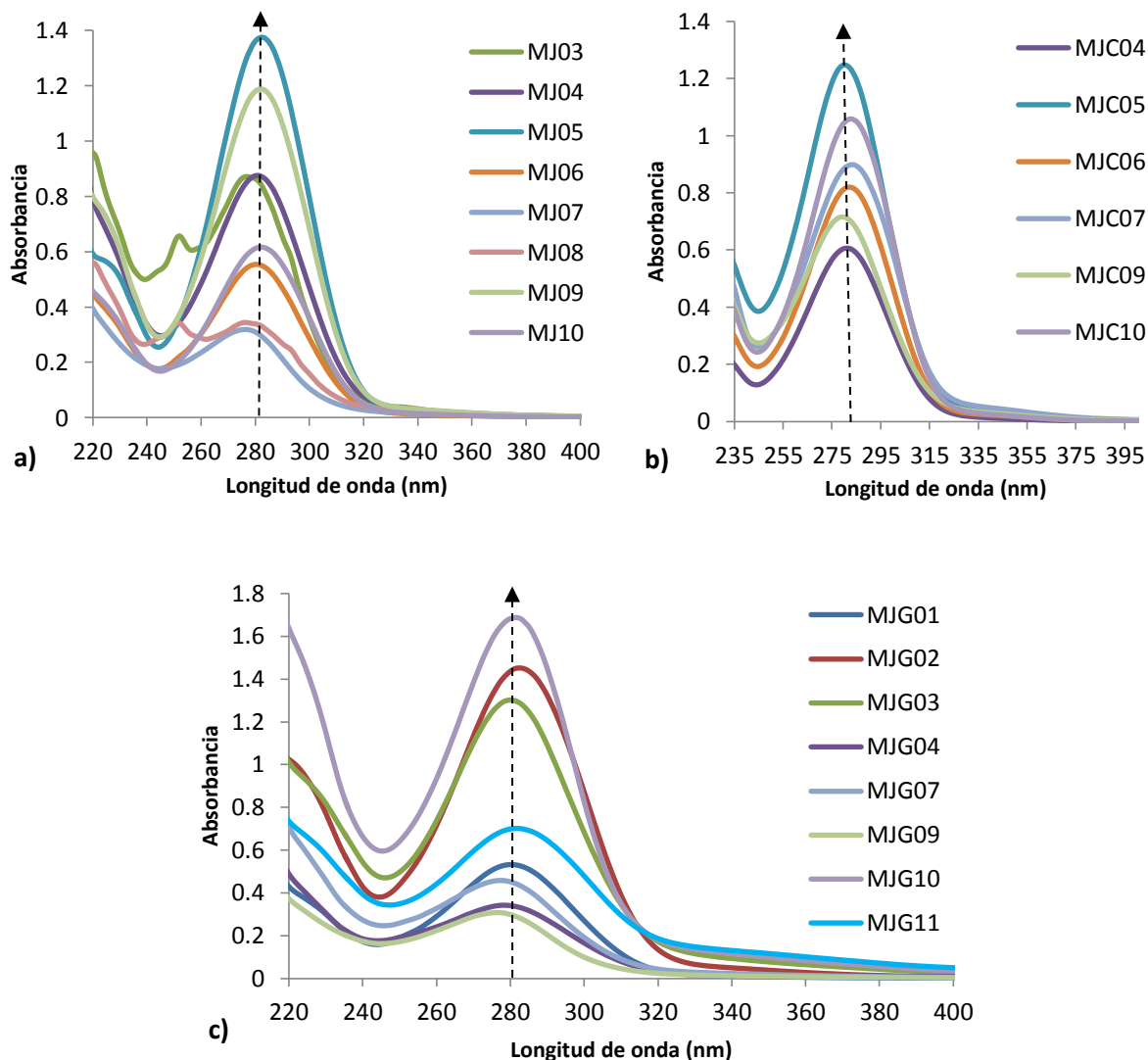
### 5.2.3.2. Pautas Internas del modelo.

Las pautas internas del modelo óptimo (Figura 5.27), sólo se encontraron con los datos de la primera derivada que se observan en la Figura 5.28 en el subespacio PC2 vs PC3.



**Figura 5.28.** Gráfica de scores con pautas internas para el conjunto de 1ª derivada para los tipos de mezcales jóvenes, autoescalado, intervalo número de onda: 200 a 750 nm. Subespacio PC2-PC3. Flecha roja pauta más importante para cada grupo.

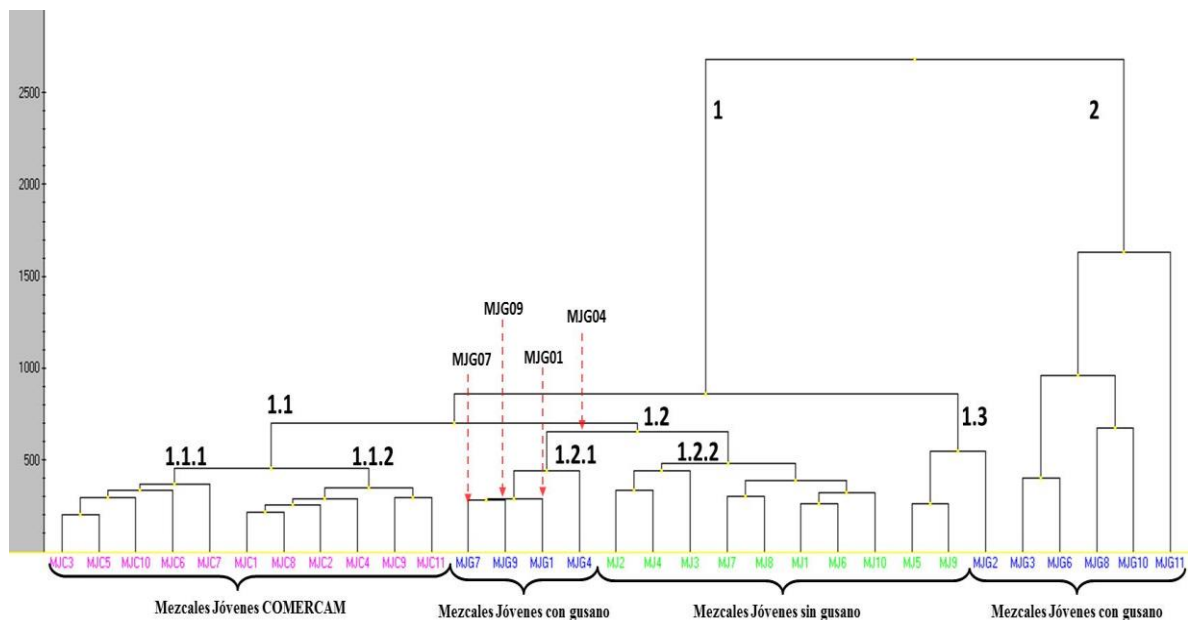
En la Figura 5.28 aparecen las claves para cada mezcal con la finalidad de compararlos con sus correspondientes espectros en la Figura 5.29. Se confirmó que la altura del máximo de absorción de la banda aumenta en el sentido de las flechas rojas representadas en la Figura 5.28, es decir, el máximo de la banda espectral para los tipos MJ y MJC aumenta a valores mayores de PC2 y PC3. Por lo tanto, las muestras que se encuentren en esos valores, poseen un mayor grado de fermentación. Cabe mencionar que para el grupo MJG no se encontraron pautas internas.



**Figura 5.29.** Espectros de las muestras de cada tipo de mezcal joven para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 1ª derivada, subespacio PC2 vs PC3. a) Mezcales sin gusano (MJ), b) Mezcales de la COMERCAM (MJC), c) Mezcales con gusano (MJG).

### 5.2.4.3. Análisis Cluster.

Se realizaron distintos análisis cluster (CA) utilizando las condiciones del modelo de la Figura 5.27 para la primera derivada. El mejor resultado obtenido se muestra en la Figura 5.30, el cual se obtuvo con el método Average Linkage y la distancia Euclidean cuadrado, con un autoescalado y un intervalo de 200 a 750 nm. En este dendograma se puede observar la separación de los tres tipos de mezcales MJ (verde), MJG (azul) y MJC (rosa).



**Figura 5.30. Dendrograma para el conjunto de la primera derivada para los mezcales jóvenes MJ, MJG, MJC, con el método Average Linkage y la distancia Euclidean al cuadrado.**

El dendrograma de la Figura 5.30 presenta dos agrupaciones. En el grupo 1 se encuentran la mayoría de las muestras de mezcales jóvenes donde se observan diferentes sub-agrupaciones. En el sub-grupo 1.1 se aprecia la agrupación del grupo MJC. Observando detenidamente las muestras de este grupo existe un subgrupo 1.1.1 donde se ubican las muestras de la COMERCAM con un mayor grado de fermentación de acuerdo a sus respectivos espectros. Por otra parte, en el sub-grupo 1.2 se aprecian las agrupaciones de MJG y MJ. En el grupo 1.2.1 se observa un pequeño grupo formado por mezcales jóvenes con gusano (MJG07, MJG09, MJG01 y MJG04), debido a que estas muestras presentan una banda espectral de menor intensidad en comparación con los mezcales jóvenes con gusano del grupo 2. Por otra parte, el grupo 1.2.2 se encuentra formado por la mayoría de los mezcales jóvenes sin gusano. Sin embargo, las muestras MJ05 y MJ09 se ubican en el subgrupo 1.3 debido a que presentan una banda espectral de mayor intensidad. Por último, en el grupo 2 se observa que se encuentra formado por las muestras restantes de mezcales con gusano que presentan máximos de absorbancia mayores en su banda espectral.

Por lo tanto, este análisis cluster confirma la separación de los mezcales jóvenes por tipos como lo había predicho PCA.



## 5.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA SEGUNDA DERIVADA.

### 5.2.4.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).

La segunda derivada de los datos espectrales se realizó mediante el algoritmo de Savitsky-Golay, con 5 puntos en la ventana. La Figura 5.31 muestra, a manera de ejemplo, la segunda derivada para 12 espectros correspondientes a los tres tipos de mezcales jóvenes; obtenidos a partir de derivar los espectros originales brutos.

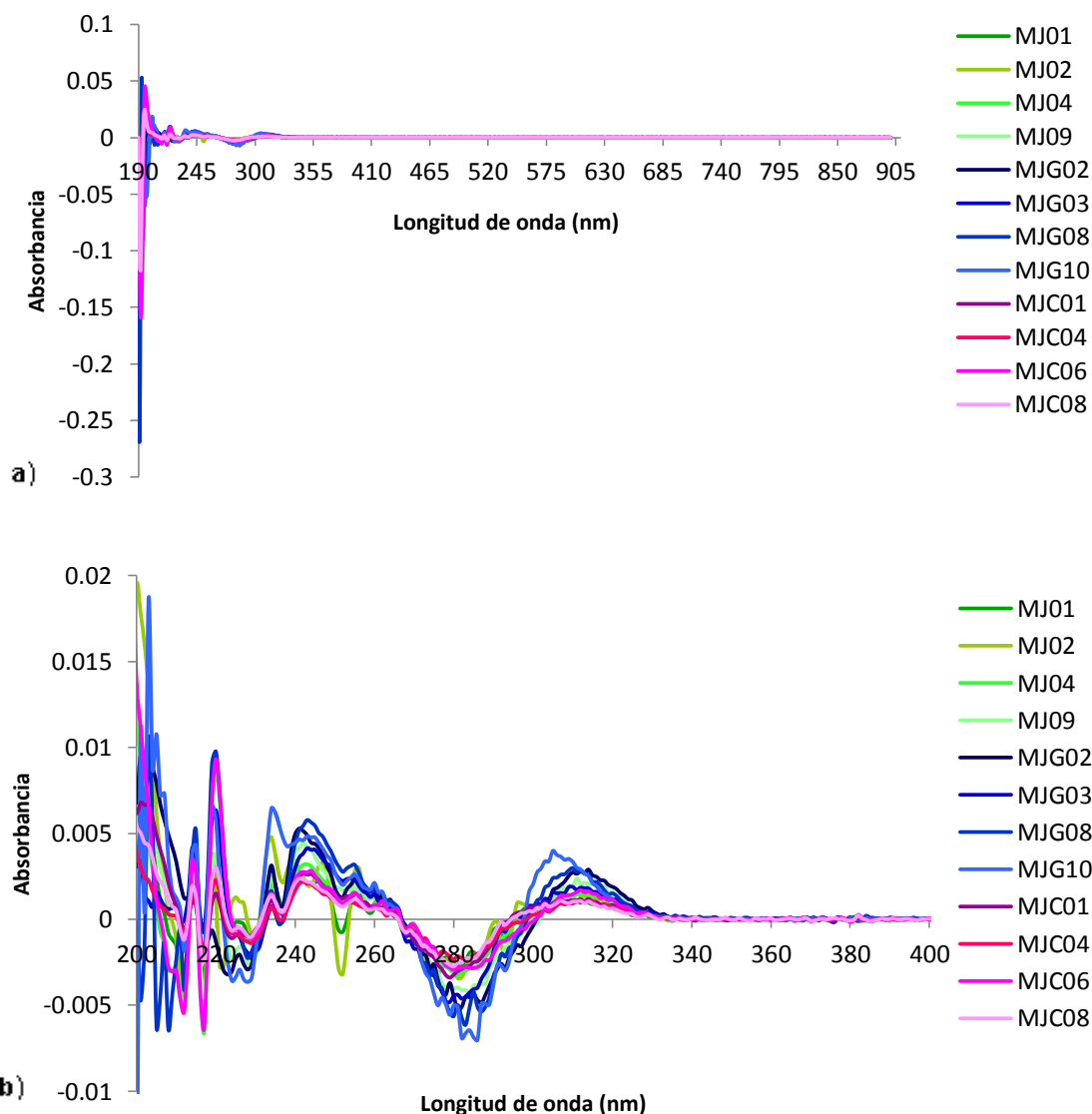


Figura 5.31. Segunda derivada de los espectros de UV-VIS de las tres categorías de mezcales jóvenes 100% agave. a) Intervalo 190-900 nm, b) Intervalo 200-400 nm.

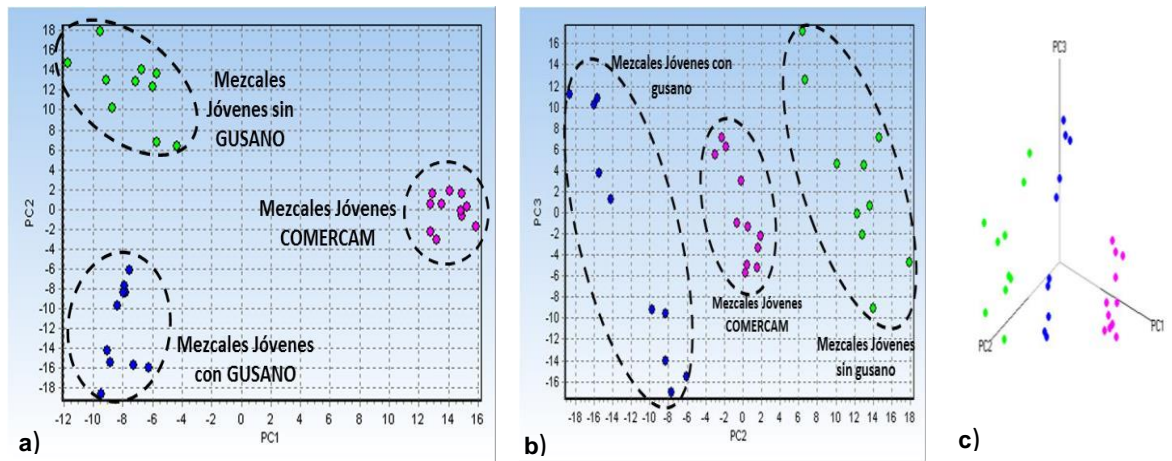


Las diferencias entre estos espectros derivados de los mezcales jóvenes se encuentran alrededor de 200 a 400 nm. Al igual que en la primera derivada, no se observa alguna característica especial en las intensidades de las bandas de los tres tipos de mezcales jóvenes (MJ, MJC y MJG). Además, se observa en la Figura 5.31(a) que a longitudes mayores de 350 nm, los espectros presentan nula absorción.

El análisis de componentes principales aplicado a los datos espectrales con la primera derivada mostró un modelo óptimo en el cual se observó la separación de los tres tipos de mezcales jóvenes (Figura 5.27). Por lo tanto, se realizaron modelos PCA utilizando la segunda derivada con el interés de compararlos.

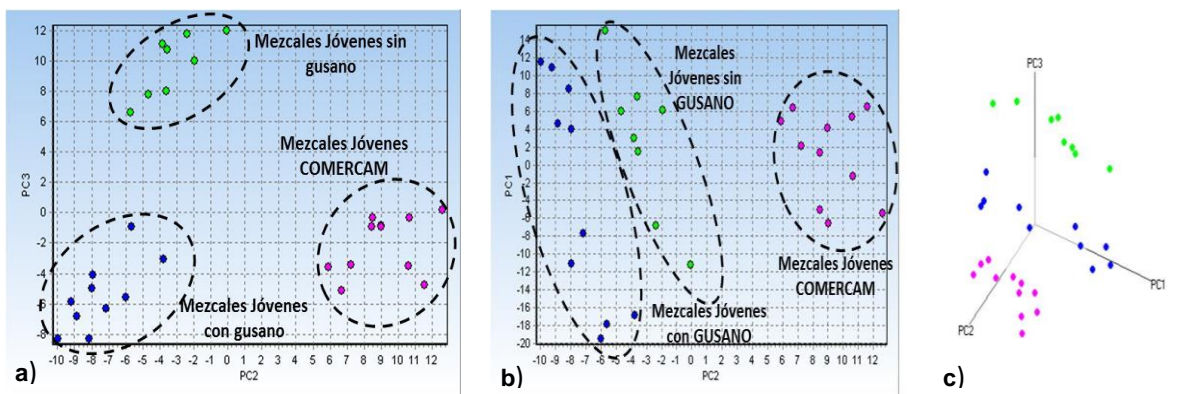
Para la obtención de los modelos con la segunda derivada se consideraron los 32 espectros UV-VIS de los mezcales jóvenes de la tabla 4.2. (10 muestras de mezcales sin gusano, 11 con gusano y 11 de la COMERCAM).

Al aplicar PCA a los datos de la segunda derivada, se obtuvieron dos modelos. El primero fue con autoescalado, en un intervalo de 200 a 900 nm. La Figura 5.32 muestra las gráficas de scores. Tres PCs explican el 42.6307% de la varianza inicial (PC1:16.6558%, PC2:15.5816% y PC3:10.3933%). El segundo modelo fue con autoescalado, en un intervalo de 200 a 600 nm. La Figura 5.33 muestra las gráficas de scores. Tres PCs explican el 46.345% de la varianza inicial (PC1: 20.8017%, PC2:14.694% y PC3:10.8493%). En ambos modelos (Figuras 5.32 y 5.33) se observa la separación de los tres tipos de mezcales jóvenes MJ (verde), MJG (azul) y MJC (rosa). A lo largo de PC2 se aprecia esta separación para las Figuras 5.32(a), (b) y 5.33(b). Para la Figura 5.33(a) esta separación es a lo largo de PC2 entre los grupos MJG y MJC, y a lo largo de PC3 entre MJ y MJG. Por otra parte, en la Figura 5.32(c) y 5.33(c) se puede observar nuevamente que el sub-espacio de *scores* PC1-PC2-PC3 separa los mezcales jóvenes también por tipos.



**Figura 5.32.** Gráfica de scores para los datos con la 2ª derivada de mezcales jóvenes, con autoescalado, intervalo longitud de onda: 200 a 900 nm.

a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC2-PC3, c) Subespacio PC1-PC2-PC3.



**Figura 5.33.** Gráfica de scores para los datos con la 2ª derivada de mezcales jóvenes, con autoescalado, intervalo longitud de onda: 200 a 600 nm.

a) Subespacio PC2-PC3, b) Subespacio PC2-PC1, c) Subespacio PC1-PC2-PC3.

Los PCAs realizados bajo estas condiciones permitieron observar una diferenciación entre los tres tipos de mezcales jóvenes. Lo que nos indica que PCA con la segunda derivada logra agrupar mejor los tres tipos en comparación con el modelo de la primera derivada (ver Figura 5.27). Es importante mencionar que para obtener el modelo de la Figura 5.32 se retiró únicamente la muestra MJG05; y en el modelo de la Figura 5.33 se retiraron las muestras MJG05, MJ03 y MJ08. Estas muestras se retiraron por presentar algunas características diferentes en contraste con espectros típicos de mezcales como MJ04 y MJG03 (ver Figura 5.18 y 5.20). Sin embargo, aunque no se retiraran estas muestras, los modelos siempre agruparon a las muestras de mezcales jóvenes por tipos.

Las diferencias entre el modelo de la Figura 5.32 y 5.33, aparte de las ya mencionadas, es el intervalo de longitud de onda, el cual resalta diferentes características en los modelos. Por ejemplo, se aprecia en el modelo de la Figura 5.32(a), que el agrupamiento de los tres tipos de los mezcales jóvenes se encuentran menos dispersos en comparación con el del modelo de la Figura 5.33(a). Además, en la Figura 5.32(b) las muestras se encuentran dispersas a lo largo de PC3, mientras que para el modelo de la Figura 5.33(b) esto sucede lo largo de PC1. Sin embargo, se confirma que la separación por tipos de los mezcales jóvenes es mejor en la Figura 5.32(b), porque en el modelo de la Figura 5.33(b) se encuentran más cercanos los grupos MJ y MJG. Por lo tanto, se considera como mejor modelo óptimo el de la Figura 5.32, aunque en éste se haya utilizado casi todo el intervalo de los espectros, la separación por tipos de mezcales jóvenes fue satisfactoria.

La diferenciación por tipos con la primera y segunda derivadas, confirma que las muestras de mezcales jóvenes presentan una diversidad de características que se ponen de manifiesto al aplicar el análisis de componentes principales y las derivadas. Por lo que se puede decir que los mezcales jóvenes sin gusano, con gusano y del COMERCAM guardan diferencias que estos métodos son capaces de elucidar.

#### ***5.2.4.2. Pautas Internas del modelo.***

Las pautas internas que exhiben los modelos óptimos (Figura 5.32 y 5.33) con la segunda derivada se representan en la Figura 5.34 y 5.35 respectivamente. En el subespacio PC2 vs PC3 de la Figura 5.33(a) no se encontraron pautas internas para los grupos de mezcales formados y tampoco para el grupo MJC en el modelo de la Figura 5.32(a). Esto es normal puesto que no en todos los modelos o grupos formados de PCA necesariamente presentan pautas internas.

Las pautas internas de los modelos indican las intensidades de los máximos de absorbancia entre 276 a 283 nm de los mezcales jóvenes. Se confirmó que estos máximos para los tres tipos de mezcales jóvenes en diferentes subespacios, aumenta de acuerdo al sentido de las flechas rojas representadas en las Figuras 5.34 y 5.35, es decir, en la Figura 5.34(a) para los mezcales MJ y MJG aumentan a valores menores de PC2; en la Figura 5.34(b) para los tres

tipos de mezcales aumentan a valores mayores de PC3. Por otra parte, en la Figura 5.35(a) para los tres tipos de mezcales los máximos aumentan a valores menores de PC1 y PC2; y en la Figura 5.35(b) no se observaron pautas internas. Por lo tanto, las muestras de mezcales que se encuentren en estos valores de componentes principales tendrán mayor grado de fermentación. Las pautas internas más importantes se representaron mediante flechas rojas continuas y las menos importantes por flechas rojas discontinuas.

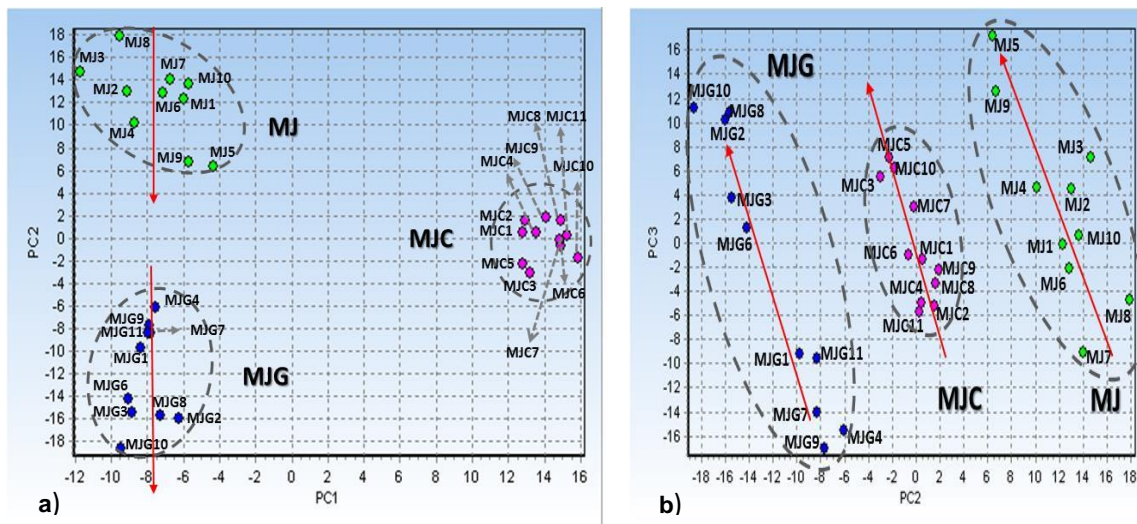


Figura 5.34. Gráfica de scores con pautas internas para los datos de 2ª derivada de mezcales jóvenes, autoescalado, intervalo de número onda: 200 a 900 nm. Flechas rojas continuas pautas de mayor importancia. a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC2-PC3.

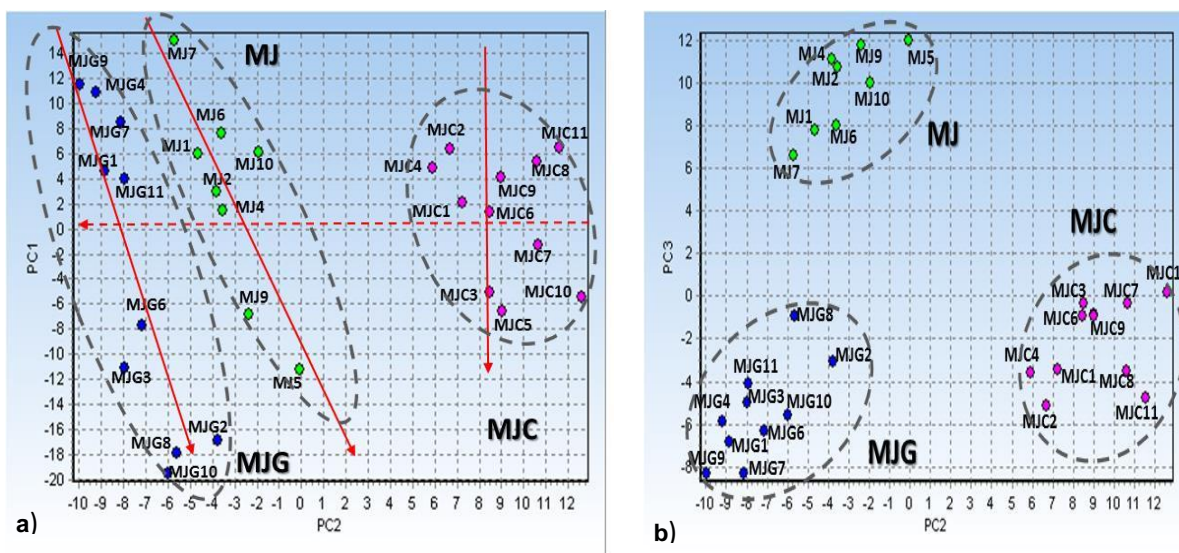
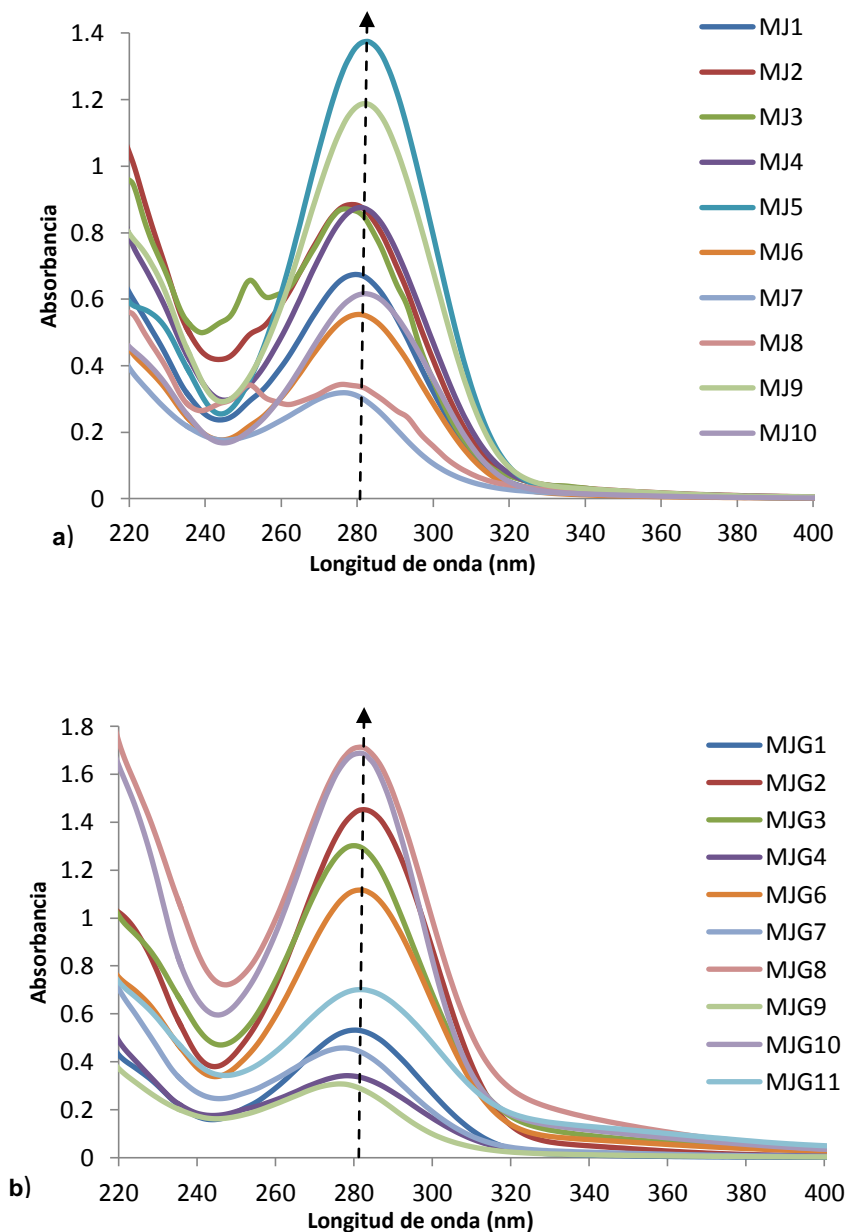


Figura 5.35. Gráfica de scores con pautas internas para los datos de 2ª derivada para los tres tipos de mezcales jóvenes, autoescalado, intervalo de número onda: 200 a 600 nm. Flechas rojas continuas pautas de mayor importancia, flechas rojas discontinuas pautas de menor importancia. a) Subespacio PC2-PC1, b) Subespacio PC2-PC3.

En las Figuras 5.34 y 5.35 aparecen las claves para cada tipo mezcal con la finalidad de compararlos con sus correspondientes espectros en la Figura 5.36. Esto permitió constatar las pautas internas descritas anteriormente.



**Figura 5.36. Espectros de las muestras de cada tipo de mezcal joven para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 2ª derivada. a) Espectros de mezcales sin gusano (MJ), b) Espectros de mezcales con gusano (MJG).**



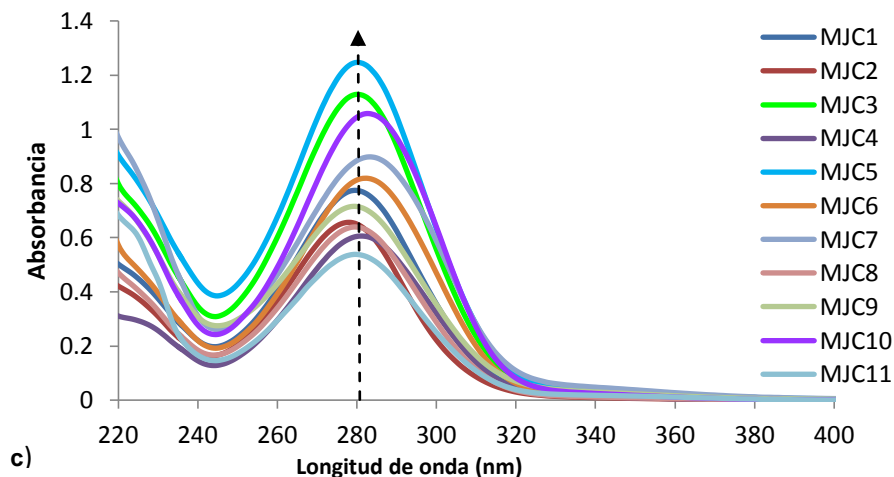


Figura 5.36(c). Espectros de mezcales COMERCAM (MJC) para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 2ª derivada.

### 5.2.4.3. Análisis Cluster.

Se realizaron distintos análisis cluster (CA) utilizando las condiciones de los modelos óptimos de PCA para la segunda derivada. Los resultados se muestran en la Figura 5.37 y 5.38 que corresponden a las condiciones de los modelos óptimos de las Figuras 5.34 y 5.35 respectivamente.

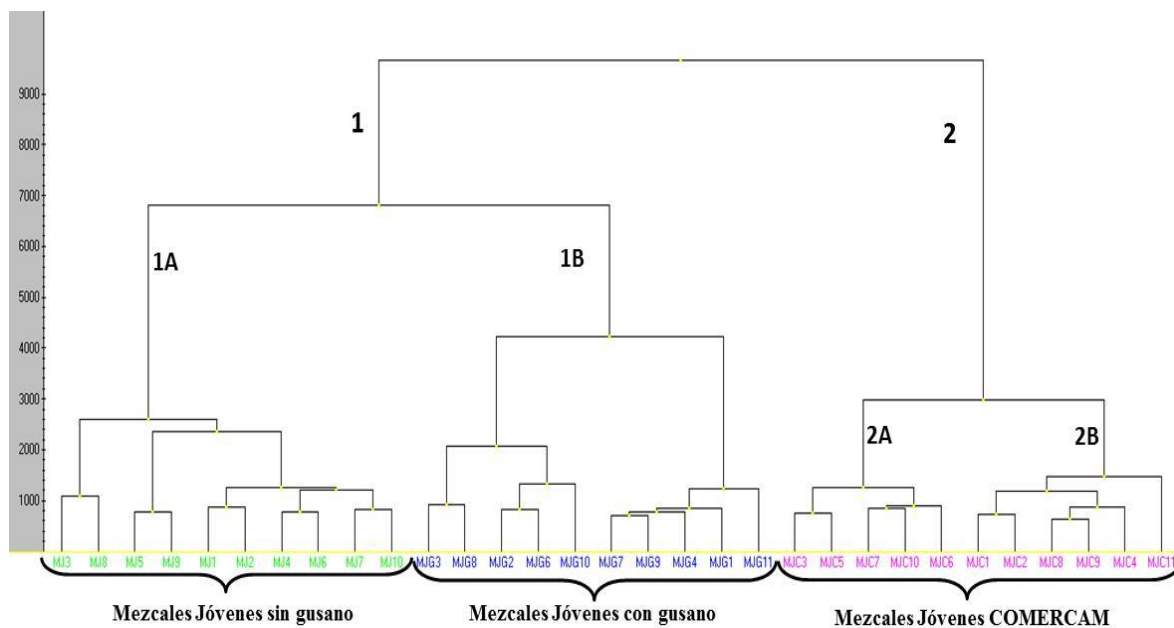
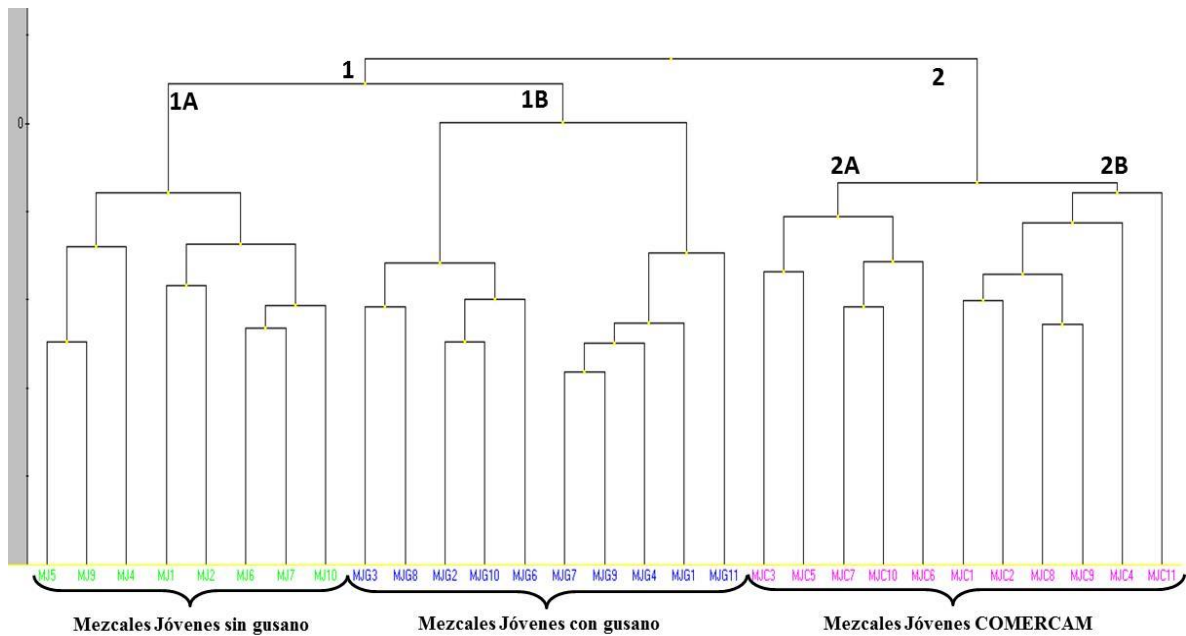


Figura 5.37. Dendrograma de la segunda derivada para los mezcales jóvenes MJ, MJG, MJC, intervalo de 200-900nm, con el método Algoritmo de Ward y la distancia Euclidean al cuadrado.



**Figura 5.38. Dendrograma de la segunda derivada para los mezcales jóvenes MJ, MJG, MJC, intervalo de 200-600 nm, con el método Enlace Promedio y la distancia Correlación de Pearson.**

El dendrograma de la Figura 5.37 se obtuvo con el método Algoritmo de Ward y la distancia Euclidean al cuadrado. Por otra parte, el dendrograma de la Figura 5.38 se obtuvo con el método Enlace Promedio y la distancia Correlación de Pearson. Ambos dendrogramas presentan dos agrupaciones y las siguientes características. El grupo 1 se subdivide en las muestras MJ y MJG, que son mezcales adquiridos en el comercio. En el grupo 2 se observan las muestras MJC provenientes de la COMERCAM. Este grupo presenta dos subdivisiones 2A y 2B, que de acuerdo a las pautas internas están formados por muestras MJC que presentan mayor y menor grado de fermentación, respectivamente. Ambos dendrogramas nos indican las diferencias entre los tres tipos de mezcales jóvenes, observando que estas son mayores entre MJ y MJC, ya que estos grupos se encuentran más alejados uno del otro. Sin embargo, el grupo MJG se encuentra en medio por lo que puede decirse que la mitad de sus muestras se encuentran cercanas al grupo MJ y la otra mitad cercanas al grupo MJC. En estos dendrogramas se acentúa más la separación de MJC en comparación con los otros dos grupos de mezcales jóvenes, posiblemente porque estos mezcales se hayan elaborado mediante procesos más estandarizados por ser provenientes del Consejo Regulador del Mezcal.

### 5.2.5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR PCA.

Los resultados obtenidos al aplicar componentes principales a los datos espectrales brutos y derivadas de las muestras de mezcales jóvenes, se resumen en la tabla 5.3:

**Tabla 5.3.** Resultados obtenidos con PCA para los mezcales jóvenes.

Datos	Intervalo (nm)	Escalado	Muestras anómalas	PC responsable de la diferencia	% Varianza			Gráficos de scores
					PC1	PC2	PC3	
Brutos	220-500	Autoescalado	Ninguna	PC1	80.90	14.25	3.29	Figura 5.21
1a derivada	200-750	Autoescalado	MJG:05	PC3	47.97	15.55	7.88	Figura 5.27
2a derivada	200-900	Autoescalado	MJG:05	PC2	16.65	15.58	10.39	Figura 5.32
2a derivada	200-600	Autoescalado	MJG:05 MJ:03,08	PC2	20.80	14.69	10.84	Figura 5.33

Se analizó que el modelo obtenido con los datos brutos presentó valores mayores de varianza y es un modelo que muestra la diferenciación entre mezcales jóvenes con y sin gusano. Por otra parte, las derivadas aplicadas a los espectros brutos muestran modelos que diferencian a los mezcales jóvenes en tres tipos los cuales son: MJ, MJC y MJG. En los modelos obtenidos con la segunda derivada, se puede observar mejor esta diferenciación de los mezcales jóvenes por tipos.

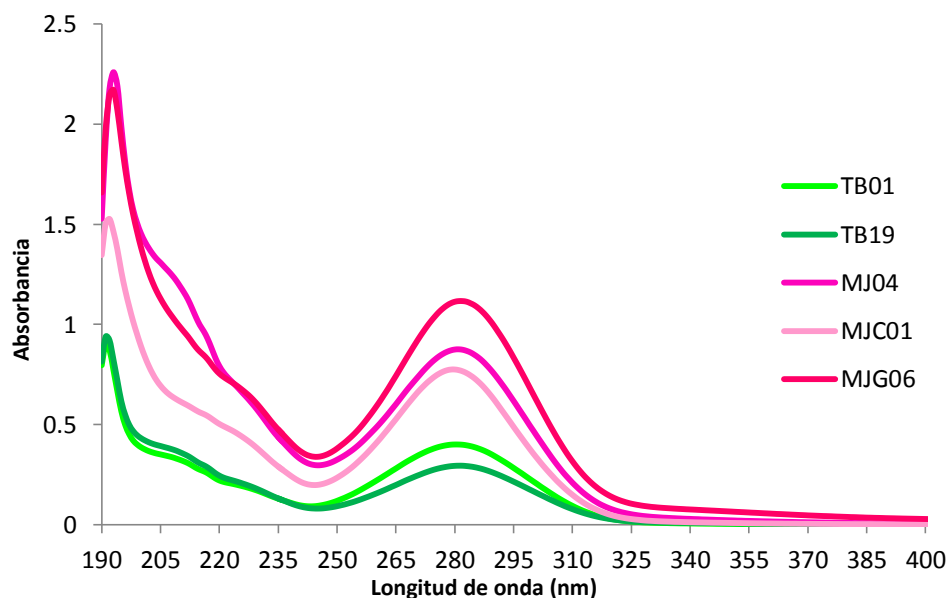


### 5.3. DIFERENCIACIÓN ENTRE MEZCALES JÓVENES Y TEQUILAS BLANCOS.

#### 5.3.1. Comportamiento espectral UV-VIS.

Como se mencionó en los análisis anteriores con la espectroscopia UV-VIS se obtuvieron espectros de absorción (190-900 nm) de tequilas 100% agave y mixtos y tres tipos de mezcales jóvenes: mezcal joven (MJ), mezcal joven con gusano (MJG) y mezcal joven COMERCAM (MJC). Las características de cada muestra de tequila y mezcal se encuentran reportadas en las tablas 4.1 y 4.2.

En la Figura 5.39 se muestran cinco espectros de absorción UV-VIS (190-400nm) representativos de los tequilas blancos (100% agave y mixto) y mezcales jóvenes (MJ, MJG, MJC).



**Figura 5.39. Espectros UV- VIS de tequilas blancos (100% agave TB01 y mixto TB19) y mezcales jóvenes (MJ, MJG y MJC).**

En la Figura 5.39 los espectros presentan una banda principal de absorción aproximadamente desde 245 a 345 nm en la región UV, con un máximo de absorción que oscila, en el caso de los tequilas entre 278 a 281 nm y para los mezcales de 276 a 283 nm (ver tabla 4.1 y tabla 4.2). Para los mezcales jóvenes, esta banda es notoriamente más intensa y por lo tanto más ancha, en comparación con la de los tequilas, lo que provoca que

presenten un perfil asintótico de mayor intensidad a medida que la longitud de onda aumenta. Para los mezcales los valores de absorbancia máxima de la banda ancha se encuentran entre 0.3 a 1.71 (ver tabla 4.2) y para los tequilas los valores son entre 0.25 a 1.00 para los 100% agave y de 0.05 a 0.35 para los tequilas mixtos (ver tabla 4.1). Las diferencias entre estas dos bebidas probablemente se deban a que el mezcal puede ser originado a partir de un mayor número de especies de agave en comparación con el tequila. Además, en el caso del mezcal existen una gran variedad de procesos tradicionales artesanales para su elaboración (Molina et al; 2007), mientras que los usados para el tequila están más estandarizados.

Como se ha mencionado la existencia e intensidad de esta banda principal es el resultado del número de compuestos orgánicos, originados durante la cocción y fermentación de las respectivas piñas utilizadas para la elaboración del tequila y el mezcal, por lo que su intensidad podría ser un indicador de la calidad. Entre estos compuestos, destacan la mezcla de furfural, 2 acetilfurano y metil furfural, como lo menciona Muñoz et al. (2007). Asimismo, fue mencionado que el máximo de absorción alrededor de 192-194 nm, observado en los espectros, puede deberse a alcoholes y aldehídos saturados, también generados durante la cocción y la fermentación del agave. Estos compuestos han sido identificados en los tequilas (De León et al; 2008 y Díaz et al; 2008).

Por otra parte, la mayoría de las muestras de los mezcales jóvenes COMERCAM (MJC) y con gusano (MJG), presentan una banda más intensa, cuyo ancho de banda se extiende hasta longitudes mayores de 350 nm (ver Figura 5.16). Se comentó que esto se debía a que las muestras de mezcales jóvenes presentaban una mínima, intermedia o muy amarillenta apariencia (ver tabla 4.2), debido al abocamiento. Éste también puede presentarse en mezcales jóvenes con el fin de acentuar el sabor del mezcal, al igual que sucede con el tequila. Por lo tanto, estas diferencias en la banda principal de los espectros entre tequilas blancos y mezcales jóvenes, posiblemente será la característica que determine su diferenciación mediante el análisis de componentes principales.

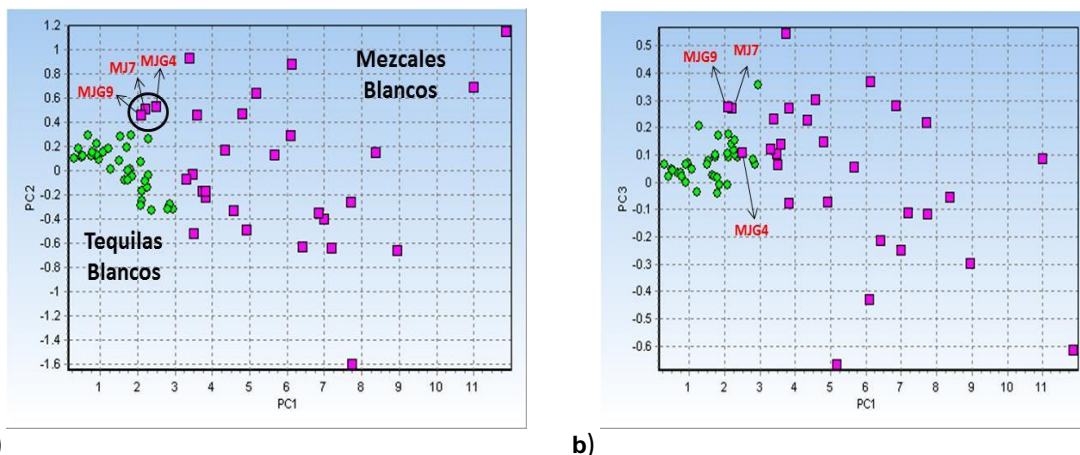
### 5.3.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS BRUTOS.

#### 5.3.2.1. *Análisis por Componentes Principales.*

A partir de los 32 espectros de UV-VIS de las muestras de mezcales jóvenes y los 42 espectros UV-VIS de los tequilas blancos, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con el fin de encontrar algún modelo que permita destacar las diferencias entre los tequilas blancos y mezcales jóvenes.

El primer modelo que se obtuvo con los datos espectrales brutos fue con las siguientes condiciones: intervalo de longitud de onda de 220 a 380 nm, ningún escalado y retirando solamente las muestras de tequilas que presentaban una apariencia amarilla (TB 24, 25, 31, 38) consideradas como blancos oro (ver tabla 4.1 y Figura 5.2). Esto se realizó para que el modelo sólo incluyera muestras de tequilas blancos con apariencia incolora. Por otro lado, las muestras de mezcales que se descartaron fueron MJG05, MJ03 y MJ08. Debido a que la muestra MJG05 presentaba un perfil espectral atípico como se observa en la Figura 5.16, y por otra parte MJ03 y MJ08 presentaban una banda pequeña entre 250 a 255 nm, diferente a todas las muestras de mezcales jóvenes de su tipo (ver Figura 5.18).

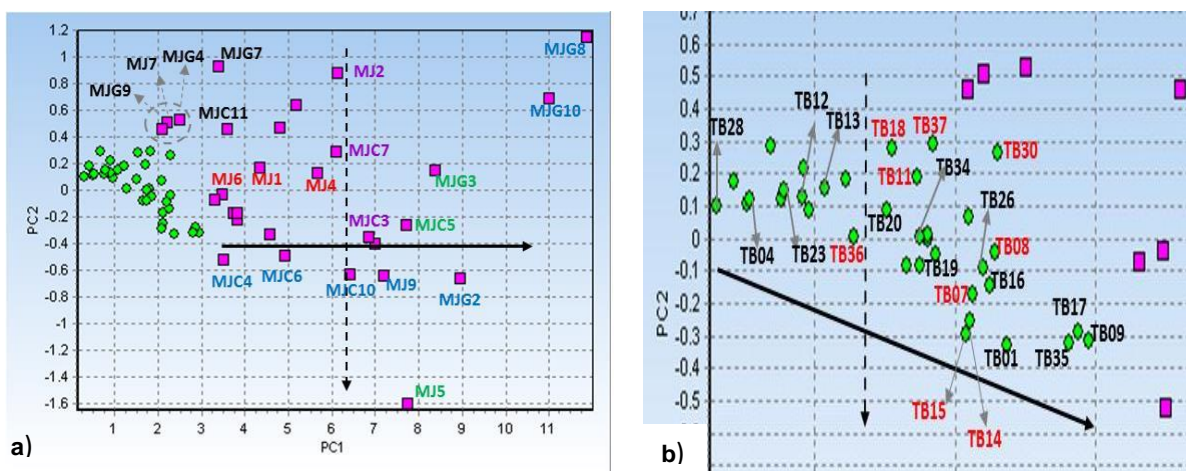
Los diagramas de scores de los modelos óptimos se representan en la Figura 5.40. Los scores de color verde son las muestras de tequilas blancos y los scores de color rosa son los mezcales jóvenes. En este modelo tres PCs explican el 99.8595% de la varianza total (PC1: 98.6727%, PC2: 0.9574% y PC3:0.2294%). La diferenciación se realiza a lo largo de PC1 (Figura 5.40(a) y (b)). En estos gráficos se aprecia la formación de un grupo compacto conformado por los tequilas blancos, mientras que los mezcales jóvenes se encuentran dispersos a lo largo de PC2 y PC3. Esta dispersión podría deberse a la gran variedad de métodos de elaboración que existen en el caso de los mezcales. Por otra parte, en el modelo de la Figura 5.40(b) se aprecia que tres muestras de mezcales (MJG04, MJG09 y MJ07) están ubicadas próximas al grupo de los tequilas blancos. Sus correspondientes espectros poseen valores de absorbancia máxima similares a los tequilas blancos y por tanto de menor intensidad a la de un mezcal típico; por esta razón se agrupan con ellos lo que indica que su grado de fermentación es menor.



a) **Figura 5.40. Gráfica de scores para los datos brutos de tequilas blancos y mezcales jóvenes, ningún escalado, intervalo número de onda: 220 a 380 nm.**  
 a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC3, c) Subespacio PC1-PC2-PC3.

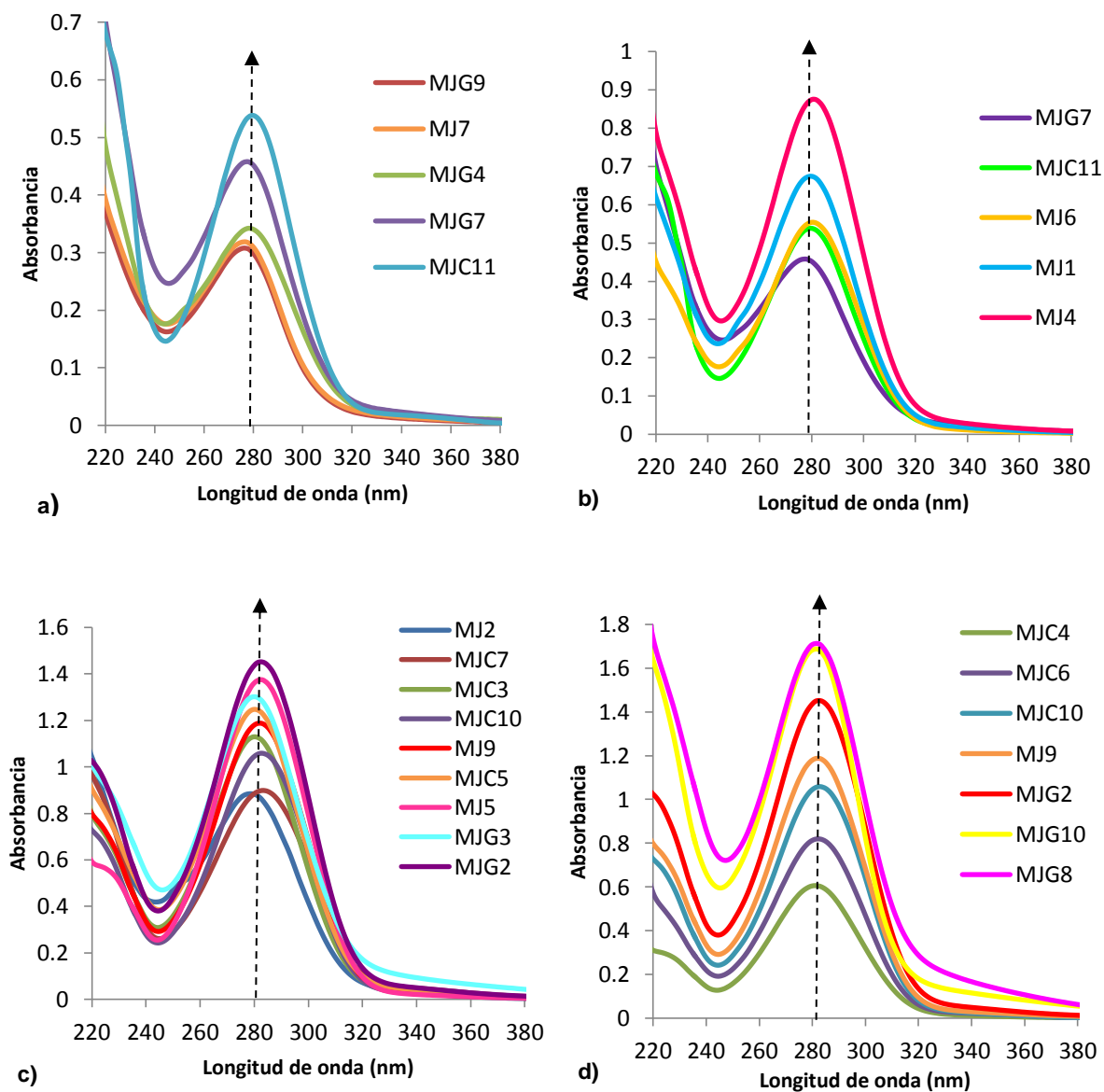
5.3.2.2. Pautas Internas del modelo.

En el modelo anterior se constató que los máximos (entre 276 a 283 nm) aumentan en el sentido de las flechas representadas en la Figura 5.41, es decir, que el grado de fermentación de las muestras de tequilas y mezcales se incrementan a valores mayores de PC1 y menores de PC2. A estas tendencias se les conocen como pautas internas del modelo de PCA. En la Figura 5.41 las pautas más importantes se representaron mediante flechas continuas y las menos importantes por flechas discontinuas.



a) **Figura 5.41. Gráfica de scores con pautas internas para los datos brutos de tequilas blancos y mezcales jóvenes, ningún escalado, intervalo número de onda: 220 a 380 nm. Subespacio PC1-PC2. Flecha negra continua pauta más importante, flecha negra discontinua pauta menos importante.** a) Pautas de los mezcales, b) Pautas de los tequilas.

En la Figura 5.41(a) y (b) se presentan las claves por colores de algunas muestras de mezcales jóvenes y tequilas blancos, respectivamente. Las Figuras 5.42 y 5.43 presentan los diferentes espectros de estas claves, a fin de constatar las pautas internas en el modelo de PCA.



**Figura 5.42. Espectros de diferentes conjuntos de muestras de mezcales jóvenes para confirmar las pautas internas en el modelo de PCA para los datos brutos.**

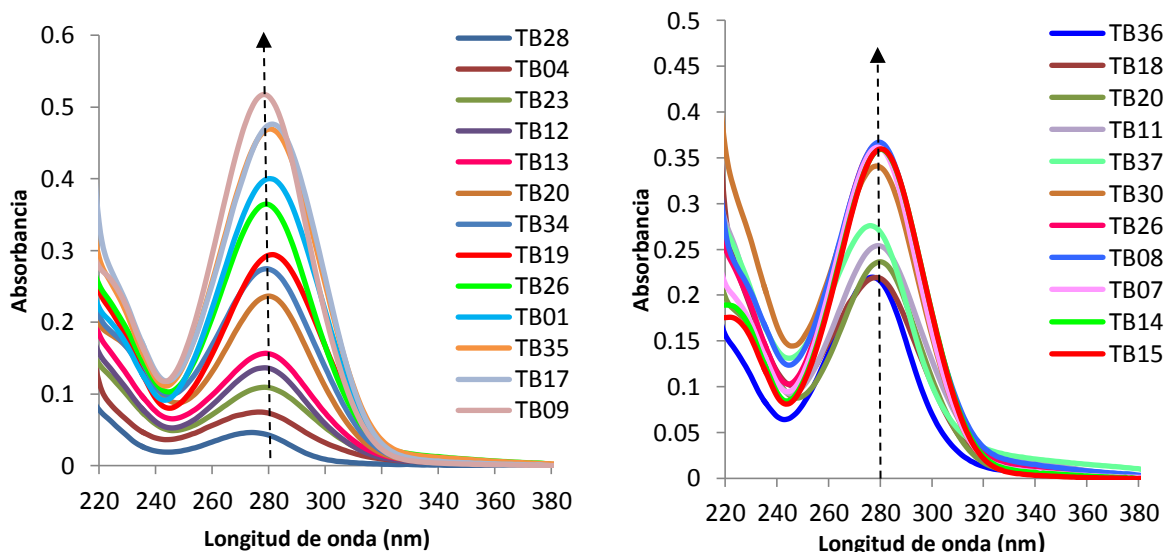


Figura 5.43. Espectros de diferentes conjuntos de muestras de tequilas blancos para confirmar las pautas internas en el modelo de PCA para los datos brutos.

### 5.3.2.3. Análisis de Loadings.

Los loadings se obtuvieron a partir del modelo óptimo de PCA de la Figura 5.40, para los datos brutos de los mezcales jóvenes y tequilas blancos. Los loadings, un espectro de tequila blanco (TB01) y uno de mezcal joven (MJC01) representativos se muestran en la Figura 5.44.

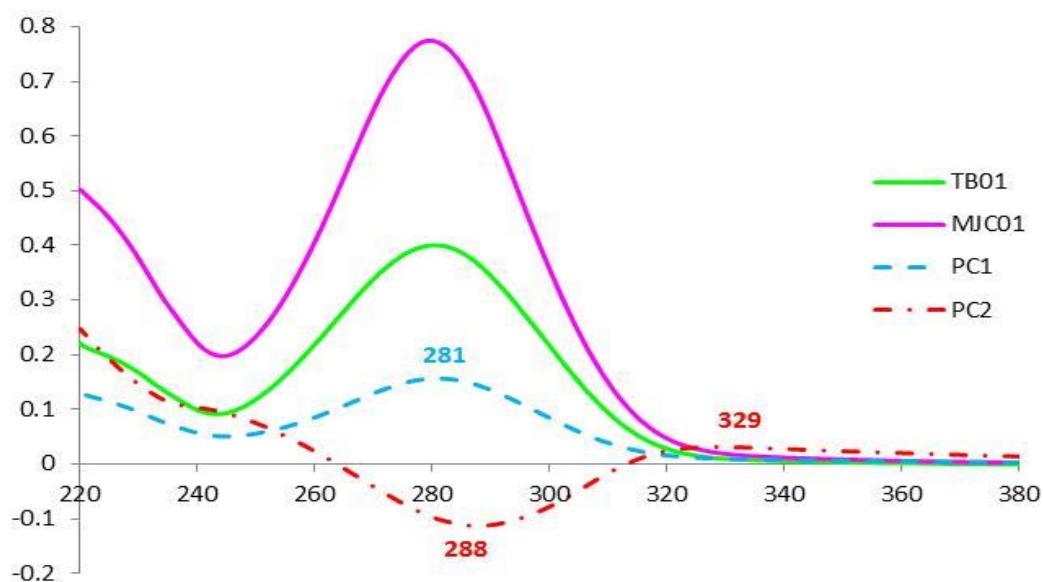


Figura 5.44. Gráfica de *loadings* para los datos brutos de tequilas blancos y mezcales jóvenes, con ningún escalado, intervalo número de onda: 220 a 380 nm.

En la Figura 5.44 se pueden observar los loadings; estas variables son las que consideran los PCs como importantes para diferenciar a los tequilas blancos y los mezcales jóvenes.

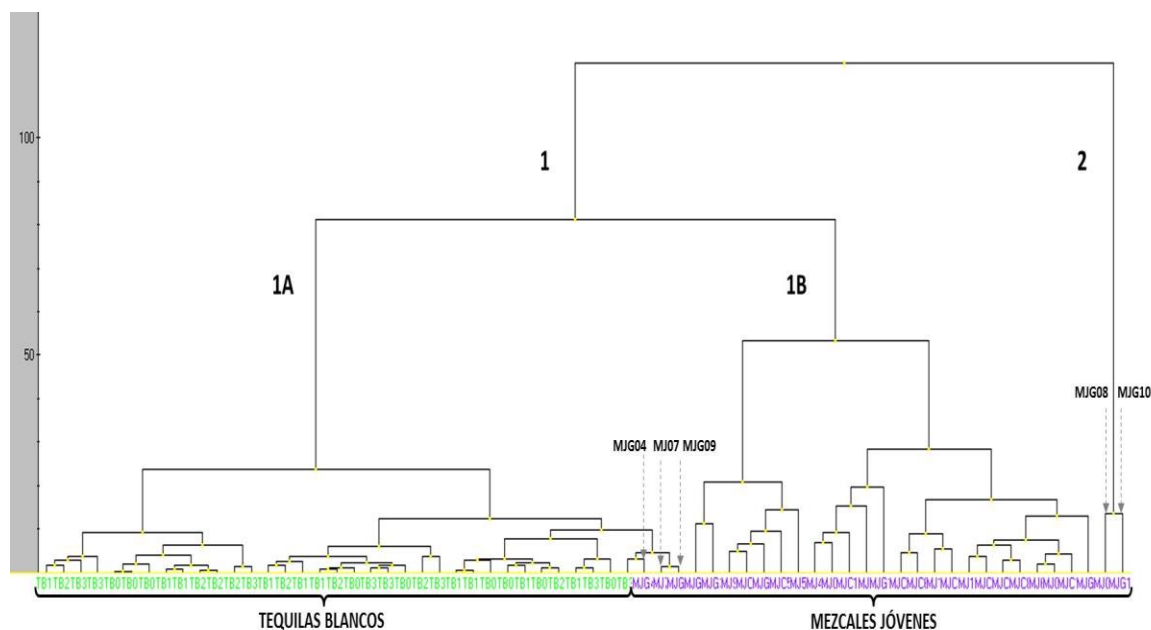
Como podemos apreciar PC1 y PC2 están definidos en forma mayoritaria por las variables 281 y 288 nm, respectivamente. La primera variable posiblemente pueda atribuirse a compuestos como son los aldehídos furánicos (Muñoz et al; 2010). Mientras que la variable de 288 nm, debe estar relacionada con otro tipo de compuestos, ya que los componentes principales son ortogonales por definición, lo que indica que PC1 y PC2 están definidos por variables diferentes. Por lo que cada PC tiene en cuenta compuestos de estructura química diferente que son importantes en la diferenciación entre tequilas blancos y mezcales jóvenes.

Los mezcales, como se mencionó anteriormente, posiblemente contienen una mayor proporción de los compuestos aldehídos furánicos que contribuyen a aumentar la intensidad de la banda espectral (245 a 400 nm), por lo que estos compuestos son muy importantes para diferenciar entre mezcales jóvenes y tequilas blancos.

Por otra parte, la variable de 329 nm de PC2 no fue posible relacionarla con algún compuesto orgánico debido a la baja especificidad de las bandas de la región UV-VIS. Posiblemente, esté relacionada con algunos compuestos empleados para abocar tequilas y mezcales.

### ***5.3.3.3. Análisis Cluster (CA).***

Se llevaron a cabo distintos análisis cluster (CA) utilizando las condiciones del modelo óptimo representado en la Figura 5.40. El mejor resultado se muestra en la Figura 5.45, el cual se obtuvo con el método Complete Linkage y la distancia Manhattan, con ningún escalado y en un intervalo de 220 a 380 nm. En la Figura 5.45 se aprecia la separación de los tequilas blancos (verde) y mezcales jóvenes (fucsia).



**Figura 5.45. Dendrograma para el conjunto de datos brutos de tequilas blancos y mezcales jóvenes, ningún escalado, intervalo de 220 a 380 nm. Método Complete Linkage y distancia Manhattan.**

El dendrograma de la Figura 5.45 muestra dos agrupaciones, el grupo 1 está representado por la mayoría de las muestras de tequilas blancos y mezcales jóvenes mientras que el grupo 2 está formado por dos muestras de mezcales con gusano (MJG08 y MJG10). Es posible que estas dos muestras de mezcales con gusano sean las más alejadas de todas la demás, ya que presentan los dos más altos valores de absorbancia máxima (ver tabla 4.2). El grupo 1 se encuentra dividido por dos subgrupos (1A y 1B). En el subgrupo 1A se encuentran todos los tequilas blancos. Sin embargo, en un pequeño grupo hacia la derecha cerca de estos, se encuentran tres muestras de mezcales (MJG04, MJG07, MJG09). Estas muestras de mezcales posiblemente no se agruparon con los mezcales jóvenes del grupo 1B debido a que presentan bandas anchas de menor intensidad (ver tabla 4.2), comportamiento que concuerda con lo obtenido por PCA. Por otra parte, en el subgrupo 1B se aprecia que está formado por la mayoría de la muestras de mezcales jóvenes.

En resumen, el presente análisis permitió corroborar los resultados obtenidos por PCA y comprobar el grado de fermentación de los tequilas blancos y mezcales jóvenes.



### 5.3.3. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA PRIMERA DERIVADA.

#### 5.3.3.1. *Análisis de Componentes Principales (PCA).*

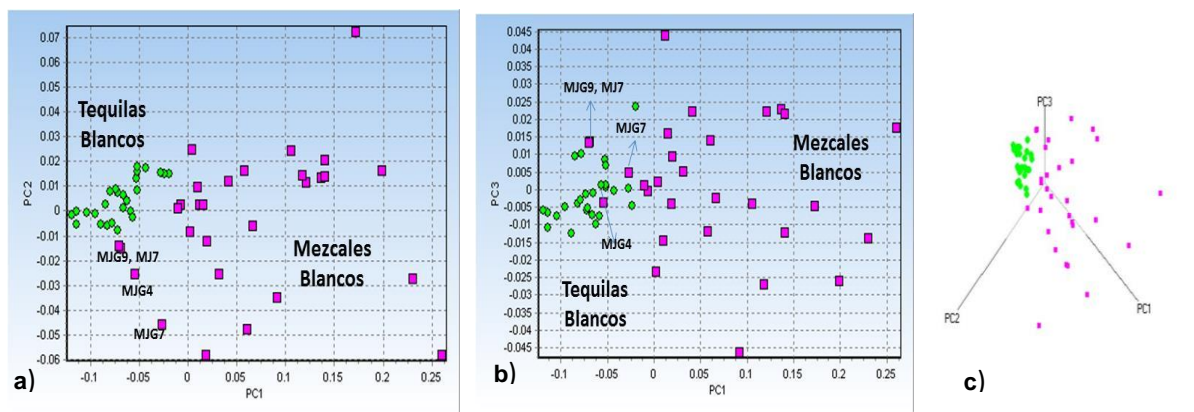
El análisis de los datos brutos mediante PCA resultó satisfactorio, ya que se obtuvo un modelo que diferenciaba entre tequilas blancos y mezcales jóvenes; sin embargo, se intentaron otros modelos utilizando la primera derivada y segunda derivada con la finalidad de encontrar el mejor modelo que describa estas diferencias.

La primera derivada de los datos espectrales se realizó mediante el algoritmo de Savitsky-Golay, con 5 puntos en la ventana. En la Figura 5.26 y en la Figura 5.10 se muestra la primera derivada para algunos espectros correspondientes a los mezcales jóvenes y tequilas blancos, respectivamente.

Se explicó que las diferencias más notorias en los espectros derivados de los mezcales y tequilas se encontraban en el intervalo de 200 a 350 nm. Se puede notar que en el caso de los mezcales jóvenes el perfil de estos espectros derivados es muy variable en comparación con los tequilas blancos. Además, a longitudes mayores de 400 nm la absorción es casi nula para las muestras de ambas bebidas.

Con la primera derivada, el mejor modelo de PCA fue obtenido con escalado centrado en la media, en un intervalo de 225 a 400 nm y retirando únicamente las muestras de tequilas blancos oro (TB 24, 25, 31, 38) y algunas muestras de mezcales jóvenes (MJ03, MJ08, MJG05) que también habían sido retiradas en el análisis de PCA para los datos brutos. Aplicando las condiciones antes mencionadas, se pueden observar los gráficos de scores del modelo en la Figura 5.46. Para este modelo tres PCs explican el 98.6935% de la varianza inicial (PC1:91.3773%, PC2:5.0416% y PC3:2.2746%). En la Figura 5.46(a) y (b) se aprecia la diferenciación entre tequilas blancos y mezcales jóvenes a lo largo de PC1. En el subespacio de *scores* PC1-PC2-PC3 también se observa esta diferenciación (ver figura 5.46(c)). En estos gráficos de scores se aprecia la formación de un grupo compacto de muestras de tequilas blancos, mientras que los mezcales jóvenes se encuentran dispersos a lo largo de PC2 y PC3. Esto podría explicarse a que el proceso de elaboración del tequila

es más estandarizado, en tanto que el proceso del mezcal depende de más variables, de acuerdo a la región de origen. Además, como lo menciona la NOM-070 y la NOM-006 para la producción del tequila únicamente se utiliza un sólo tipo de agave mientras que para el mezcal pueden ser utilizados diferentes especies de agaves.



**Figura 5.46.** Gráfica de scores para los datos de la 1ª derivada de tequilas blancos y mezcales jóvenes, escalado centrado en la media, intervalo de número onda: 225 a 400 nm.  
**a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC3, c) Subespacio PC1-PC2-PC3.**

En el modelo de la Figura 5.46 se observa que algunas muestras de mezcales (MJG04, MJG07, MJG09 y MJ07) se agrupan próximas al grupo de los tequilas blancos. Esto debido a que los espectros de estas muestras presentaban intensidades de absorción similares a los tequilas blancos. El modelo óptimo de la primera derivada presenta agrupaciones de las muestras de mezcales y tequilas similares al modelo obtenido con los datos brutos.

### 5.3.3.2. Pautas Internas.

Al examinar los espectros alrededor de sus máximos de absorbancia de las muestras en el modelo óptimo (Figura 5.46(a)), se constató que estos máximos aumentan en el sentido de las flechas representadas en la Figura 5.47. Estas flechas representan las pautas internas del modelo óptimo. Las flechas continuas son las pautas internas de mayor importancia y las discontinuas son de menor importancia. El grado de fermentación de las muestras de tequilas blancos y mezcales jóvenes aumenta en el sentido de las flechas, es decir, para los mezcales aumenta a valores mayores de PC1 y menores de PC2 y para los tequilas a valores mayores de PC1 y PC2.

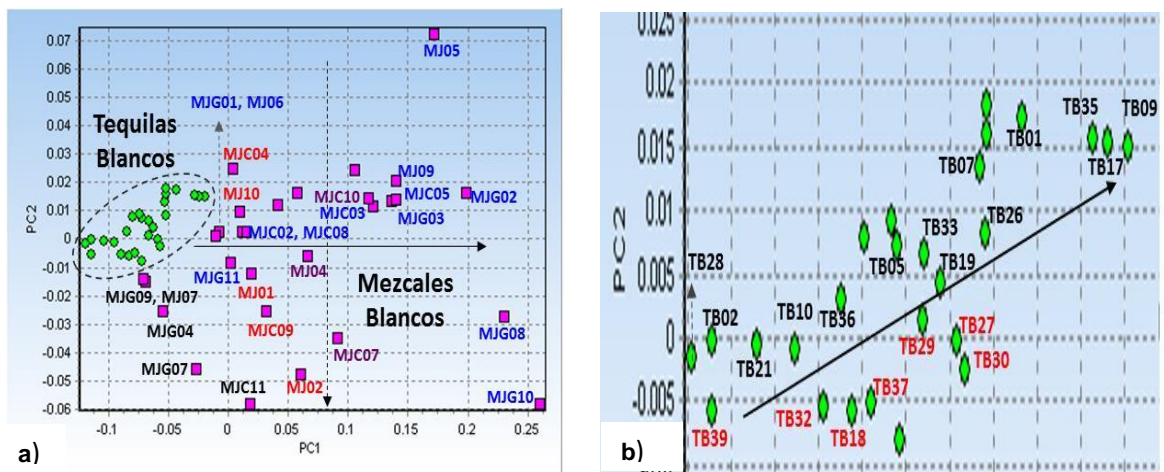


Figura 5.47. Gráfica de scores con pautas internas para datos de la 1ª derivada de tequilas y mezcales, escalado centrado en la media, intervalo número de onda: 225 a 400 nm. Subespacio PC1-PC2. Flecha negra continua pauta más importante, flecha negra discontinua pauta de menor importancia. a) Pautas de los mezcales jóvenes, b) Pautas de los tequilas blancos.

En la Figura 5.47 se presentan las claves de diferentes colores para algunas muestras de mezcales jóvenes y tequilas blancos, a fin de compararlos con sus respectivos espectros que se muestran en la Figura 5.48 para mezcales y Figura 5.49 para los tequilas. Esto permitió describir las pautas internas antes mencionadas.

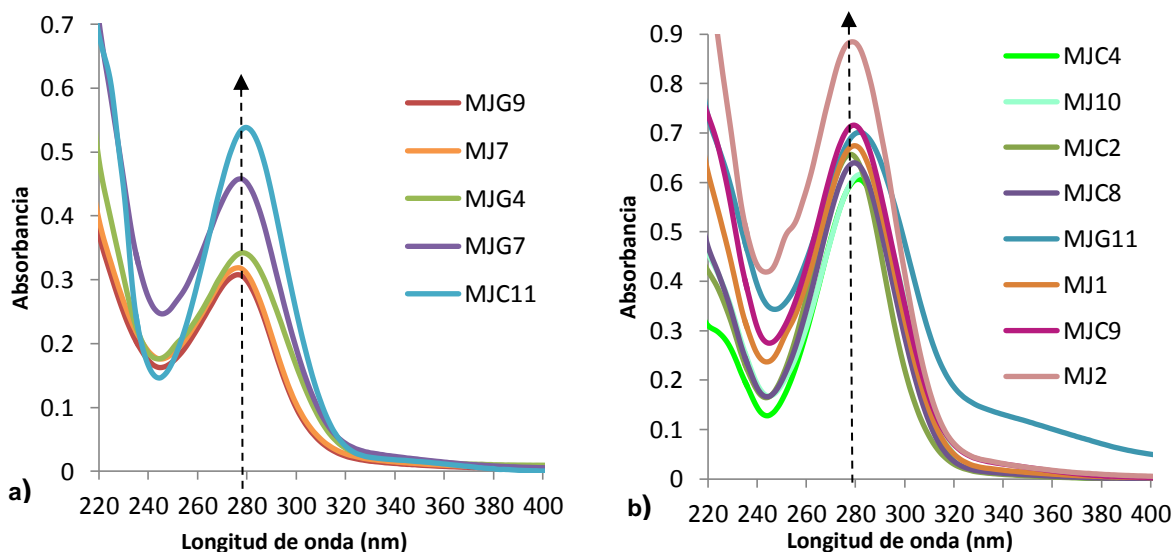
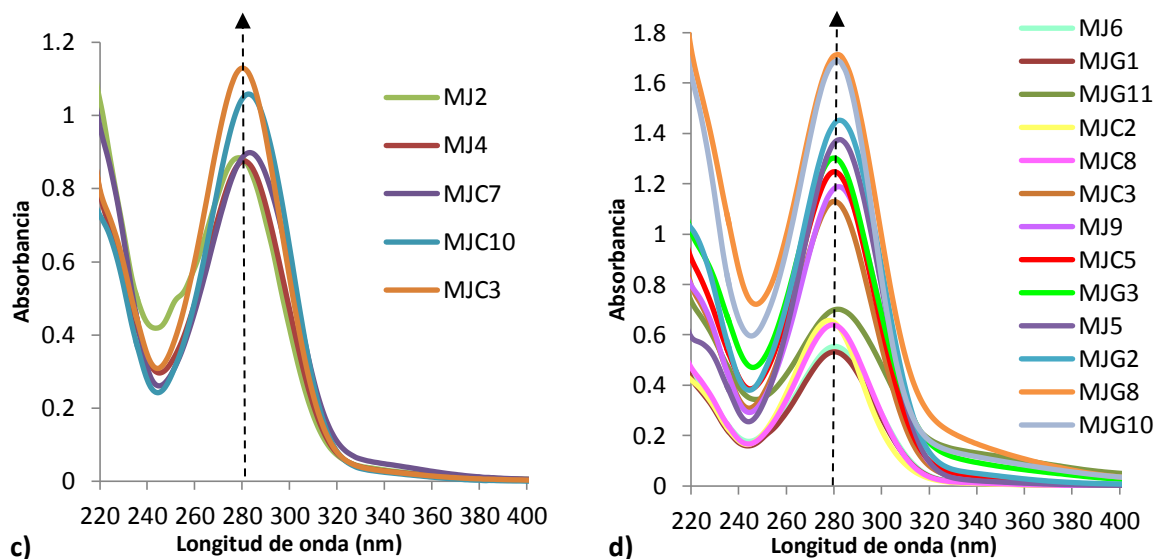
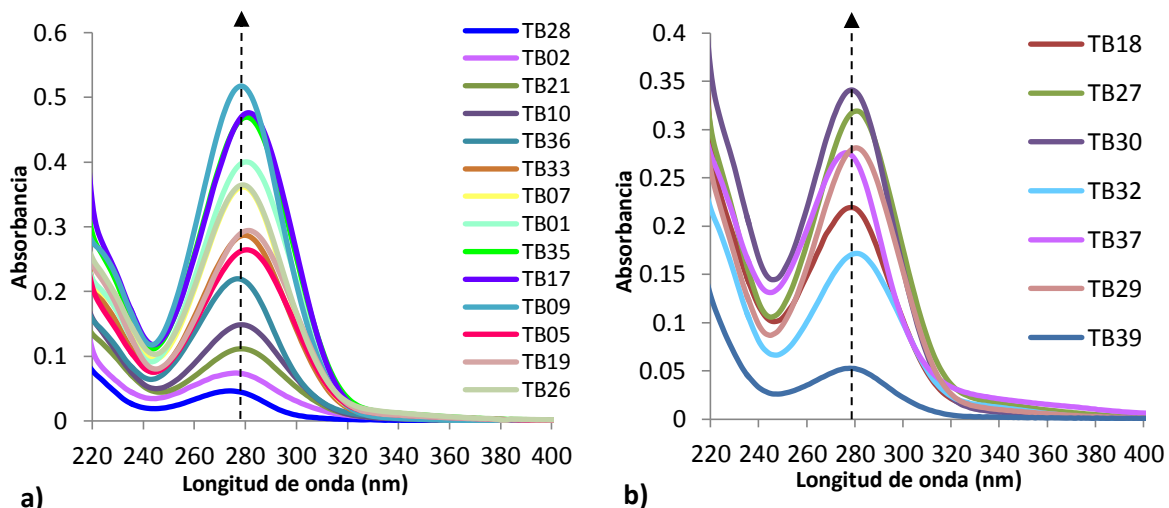


Figura 5.48. Espectros de diferentes conjuntos de muestras de mezcales para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 1ª derivada. a) Conjunto de mezcales con clave negra, b) Conjunto de mezcales con clave roja y algunas con clave azul.



**Figura 5.48 (cont.)** Espectros de diferentes conjuntos de muestras de mezcales para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 1ª derivada. c) Conjunto de mezcales Con clave morada y algunas con clave azul, d) Conjunto de mezcales con clave azul.

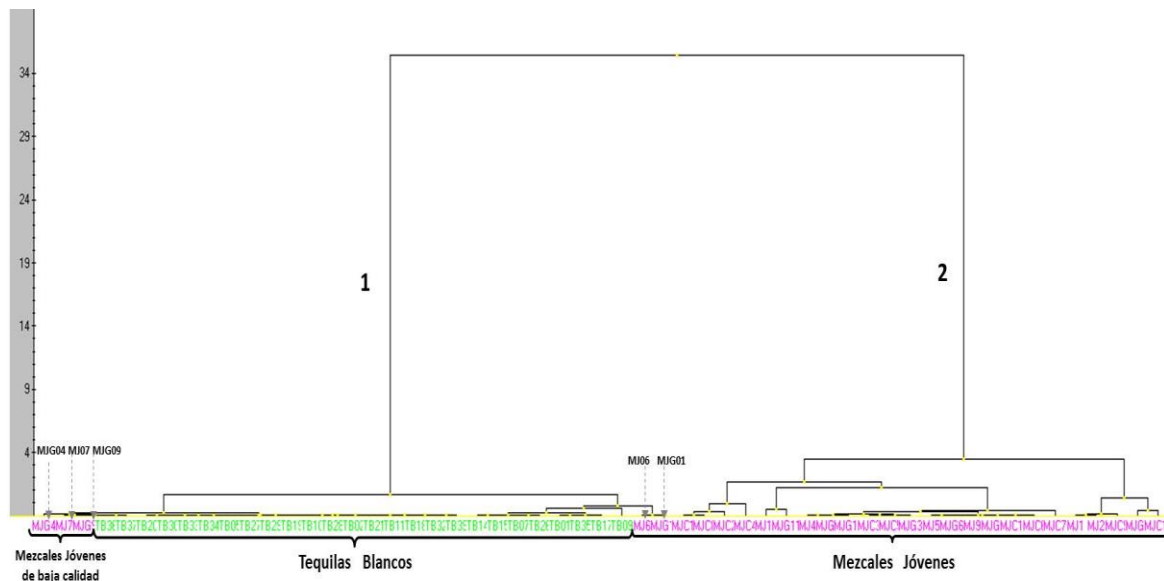


**Figura 5.49.** Espectros de diferentes conjuntos de muestras de tequilas para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 1ª derivada. a) Conjunto de tequilas con clave negra, b) Conjunto de tequilas con clave roja.

### 5.3.3.3. Análisis Cluster (CA).

Se llevaron a cabo diferentes análisis cluster (CA) con las condiciones del modelo óptimo de PCA representado en la Figura 5.46. El mejor resultado se muestra en la Figura 5.50, obtenido con el método Algoritmo de Ward y la distancia Correlación de Pearson.

En el dendograma se puede apreciar la separación de los tequilas blancos (verde) y mezcales jóvenes (fucsia).



**Figura 5.50.** Dendograma para los datos de la primera derivada para tequilas blancos y mezcales jóvenes, escalado centrado en la media, intervalo 225 a 400 nm. Método Algoritmo de Ward y distancia correlación de Pearson.

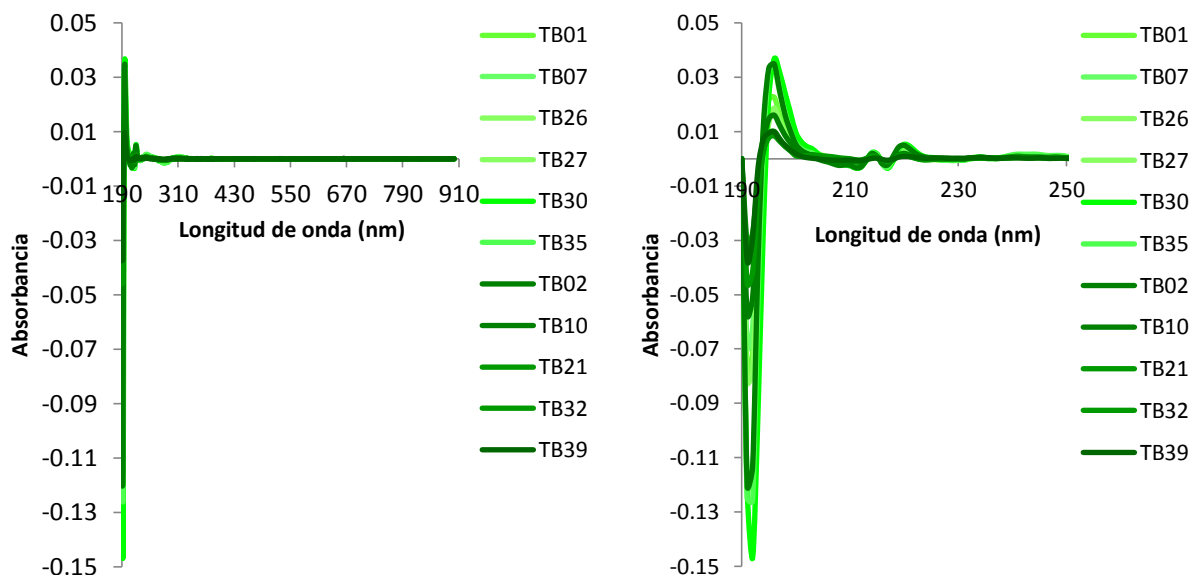
El dendograma de la Figura 5.50 está representado por dos agrupaciones. El grupo 1 está formado por todas las muestras de tequilas blancos y el grupo 2 por la mayoría de las muestras de mezcales jóvenes. Sin embargo, en la parte izquierda del grupo 1 se encuentran tres muestras de mezcales jóvenes (MJG04, MJ07 y MJG09). Al observar sus respectivos espectros, se constata que las intensidades de la banda principal son menores con respecto al resto de los mezcales, lo que indica un menor grado de fermentación, y es por esta razón que se encuentran alejadas de las muestras de mezcales del grupo 2. De igual manera, en el extremo derecho del grupo 1, se encuentran las muestras de mezcales MJ06 y MJG01, las cuales se agrupan con los tequilas debido a que presentan una banda de menor intensidad a la de los mezcales del grupo 2.

En resumen, se puede decir que en el dendograma de la Figura 5.50, las muestras se ubican de acuerdo a las intensidades de su banda principal, es decir, a la izquierda aparecen las muestras con bandas de menor intensidad y a la derecha las más intensas. Esta información está relacionada con el grado de fermentación de los tequilas blancos y mezcales jóvenes.

### 5.3.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON LA SEGUNDA DERIVADA.

#### 5.3.4.1. Análisis de Componentes Principales (PCA).

Con los datos espectrales brutos y primera derivada, se obtuvieron resultados satisfactorios para diferenciar entre tequilas blancos y mezcales jóvenes. Sin embargo, el análisis también se llevó a cabo con la segunda derivada. Las derivadas, como fue mencionado anteriormente, se realizó mediante el algoritmo de Savitsky-Golay, con 5 puntos en la ventana. Los espectros de la segunda derivada para algunos tequilas blancos se muestran en la Figura 5.51, y para algunos mezcales en la Figura 5.31.



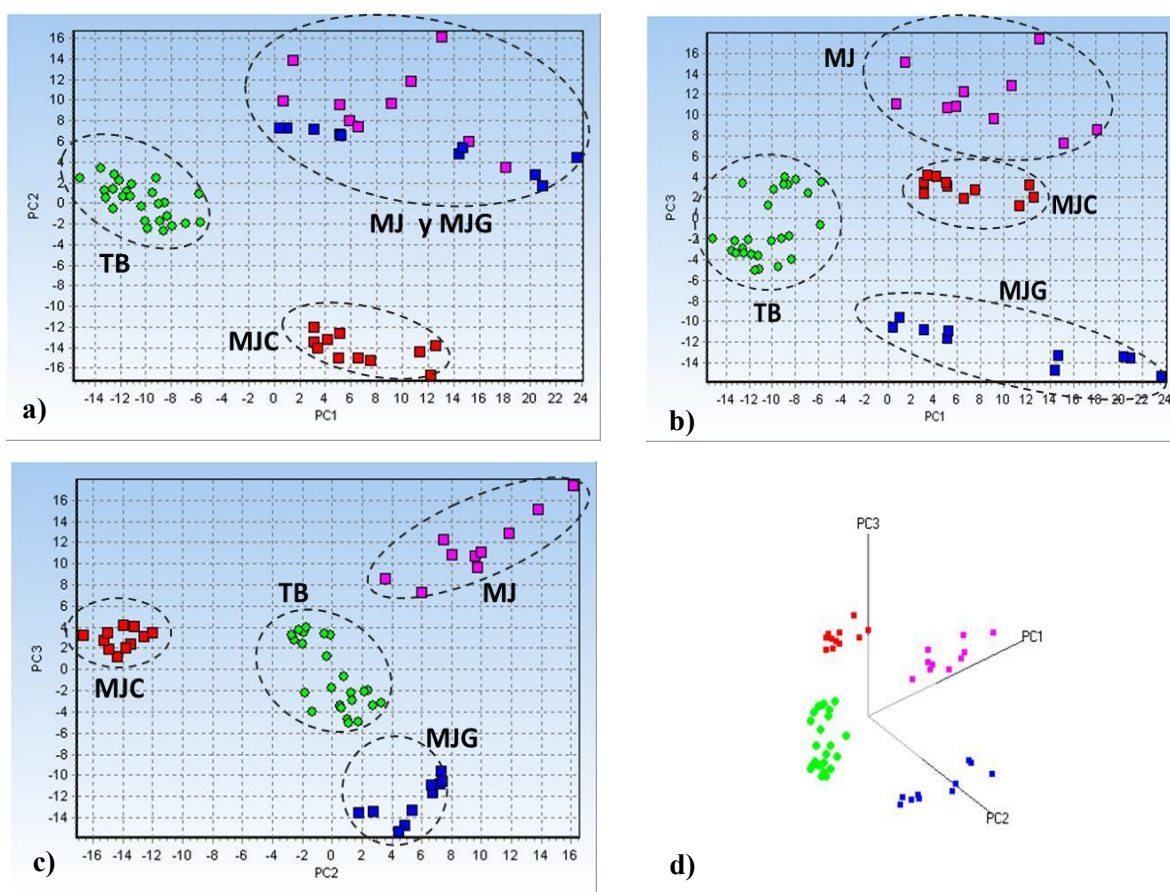
**Figura 5.51. Segunda derivada de los espectros de UV-VIS de tequilas blancos 100% agave y mixtos. a) Espectros UV-VIS (190-900 nm), b) Espectros UV-VIS (190-250 nm).**

Como se puede apreciar los espectros de la segunda derivada son muy variables. La absorción de estos espectros se encuentra aproximadamente entre 200 a 400 nm y a valores mayores de 400 nm la absorción es casi nula como se observa en la Figura 5.31(a) para los mezcales y en la Figura 5.51(a) para los tequilas.



### 5.3.4.1.1. Primer modelo: intervalo 200-900 nm.

Al aplicar PCA a los datos de la segunda derivada se obtuvieron dos modelos. Los resultados del primer modelo se muestra en la Figura 5.52 con autoescalado, intervalo de 200-900 nm y no se consideraron las muestras de tequilas blancos oro (TB 24, 25, 31, 38) y la muestra de mezcal joven MJG05, por presentar un ligero color amarillo. Tres PCs explican el 34.487% de la varianza inicial (PC1:16.5346%, PC2:9.3722% y PC3:8.5802%). Los PCAs bajo estas condiciones permitieron observar la separación entre tequilas blancos (TB) y los tres tipos de mezcales jóvenes sin gusano (MJ), con gusano (MJG) y COMERCAM (MJC).



**Figura 5.52.** Gráfica de scores para los datos con la 2ª derivada de tequilas blancos y mezcales jóvenes, con autoescalado, intervalo longitud de onda: 200 a 900 nm, a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC3, c) Subespacio PC2-PC3, d) Subespacio PC1-PC2-PC3.

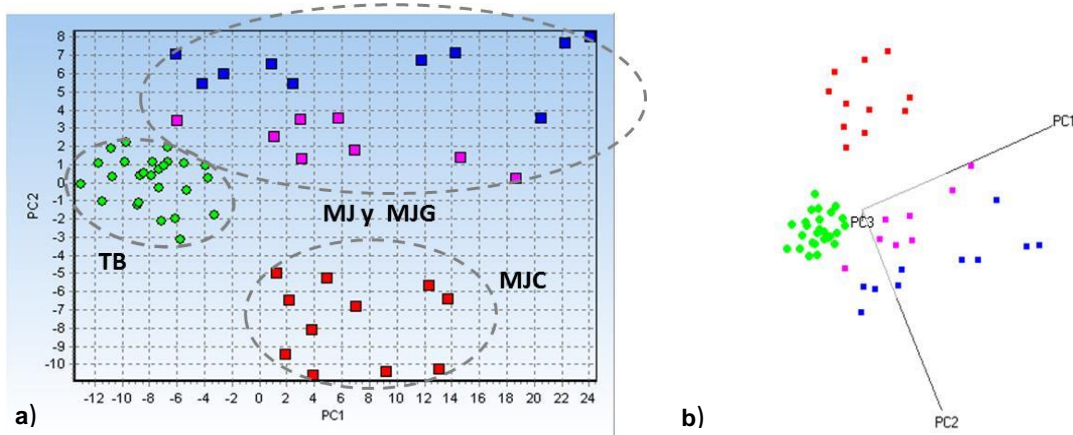
En el subespacio PC1-PC2 (ver Figura 5.52 (a)) se observan tres grupos: TB, MJC y MJ junto con MJG, siendo éste último grupo el más disperso a lo largo de PC1 y PC2. En el

subespacio PC1 y PC3 (ver Figura 5.52(b)) el grupo MJ con MJG se separan a lo largo de PC3, por lo que ahora se tienen 4 grupos. En el subespacio PC2-PC3 (ver Figura 5.52(c)) se observa nuevamente estos cuatro grupos, pero de forma más compacta. Esta separación a su vez se confirma en el subespacio PC1-PC2-PC3 (ver Figura 5.52(d)). La diferencia entre los mezcales y tequilas se debe a las diferentes especies de agaves utilizados en cada caso, así como a las diferencias en sus respectivos procesos de producción. Sin embargo, es interesante que el modelo sea capaz de diferenciar los tres tipos de mezcales, siendo que su origen es muy semejante. Por tanto, estos agrupamientos o diferencias nos indican que el proceso de elaboración en cada caso es diferente. El modelo es capaz de discriminar entre mezcales sin y con gusano, y entre los de COMERCAM. Estos últimos, menos dispersos, probablemente sean elaborados con procesos más estandarizados, es decir, no artesanales.

#### ***5.3.4.1.2. Segundo modelo: intervalo 210-500 nm.***

El segundo modelo se obtuvo con autoescalado, en un intervalo de 210 a 500 nm, no considerando las muestras de tequilas blancos oro (TB 24, 25, 31, 38) y las muestras de mezcales (MJG05, MJ03 y MJ08). La Figura 5.53 muestra las gráficas de scores. Tres PC's explican 45.8012% de la varianza inicial (PC1:32.0114%, PC2:6.9344% y PC3:6.8554%). Los PCAs bajo estas condiciones permitieron observar la diferenciación entre tequilas blancos (TB), los mezcales jóvenes de la COMERCAM (MJC) y el grupo de mezcales sin y con gusano (MJ con MJG). La separación entre tequilas y mezcales se puede observar a lo largo de PC1 y PC2, en tanto que la separación entre los dos tipos de mezcales sucede a lo largo de PC2. El grupo más compacto es el de los tequilas, en tanto que los grupos de mezcales se encuentran más dispersos, principalmente a lo largo de PC1.





**Figura 5.53. Gráfica de scores para los datos con la 2ª derivada de tequilas blancos y mezcales jóvenes, con autoescalado, intervalo longitud de onda: 210 a 500 nm. a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC2-PC3.**

En el modelo de la Figura 5.53 se logró una diferenciación entre tequilas y mezcales; sin embargo, se consideró como modelo óptimo el de la Figura 5.52, ya que la diferenciación entre ambas bebidas es más clara. Los porcentajes de varianza para ambos modelos son bajos, pero se aprecian separaciones adecuadas pese a que el primer modelo involucró un intervalo de longitudes de onda más amplio donde no se apreciaban señales.

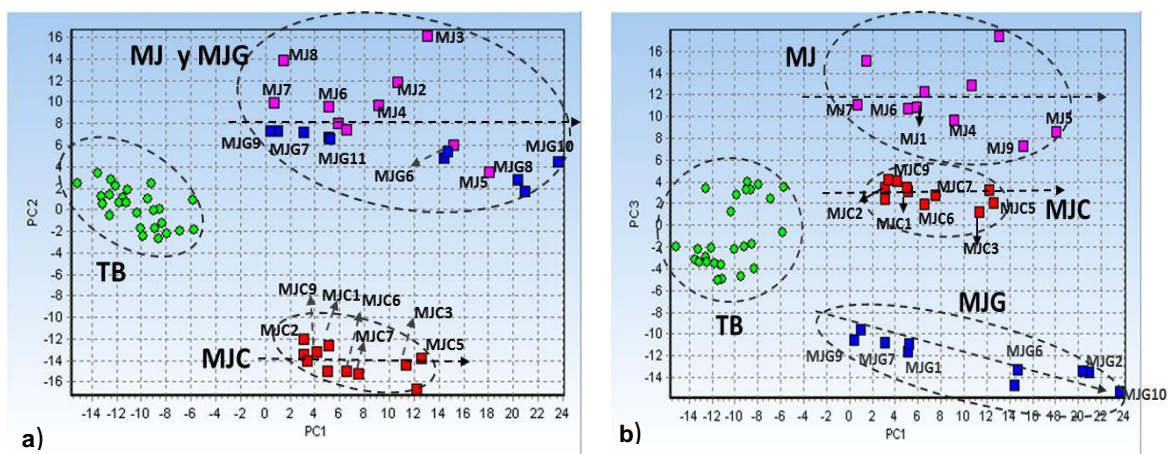
Por otra parte, con los modelos de la segunda derivada (Figuras 5.52 y 5.53), para el caso de los mezcales fue posible diferenciarlos en tres tipos, que en los modelos con los datos brutos y primera derivada no habían sido observados. Por lo que la segunda derivada puso de manifiesto diferencias que habían permanecido ocultas.

#### 5.3.4.2. Pautas Internas del modelo.

Las pautas internas que presenta el modelo óptimo (Figura 5.52), con los datos de la segunda derivada se trazaron mediante flechas discontinuas en la Figura 5.54. Cabe mencionar que no se encontraron pautas internas para el grupo de los tequilas blancos ni para el subespacio de la Figura 5.52(c).

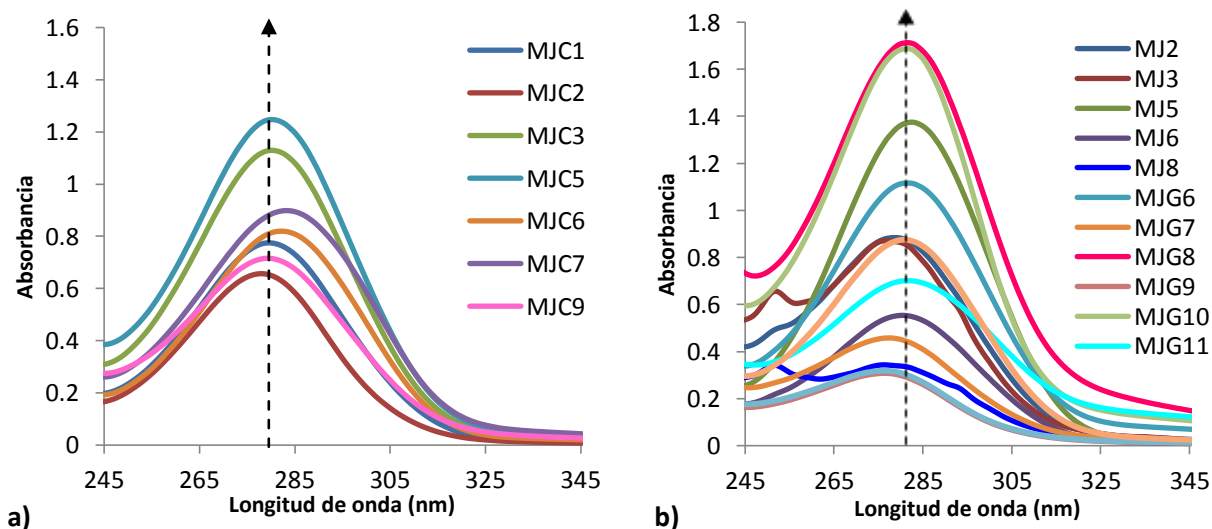
Las pautas internas del modelo representan la secuencia del aumento del máximo de absorción de la banda espectral cuyo valor oscila entre 276 a 283 nm. Se confirmó que estos máximos para cada grupo de mezcales en diferentes subespacios, aumenta de acuerdo

a la trayectoria de las flechas negras discontinuas de la Figura 5.54, es decir, que el grado de fermentación de los tres tipos de mezcales jóvenes se incrementa a valores mayores de PC1 en los dos subespacios (ver Figura 5.54(a) y (b)).

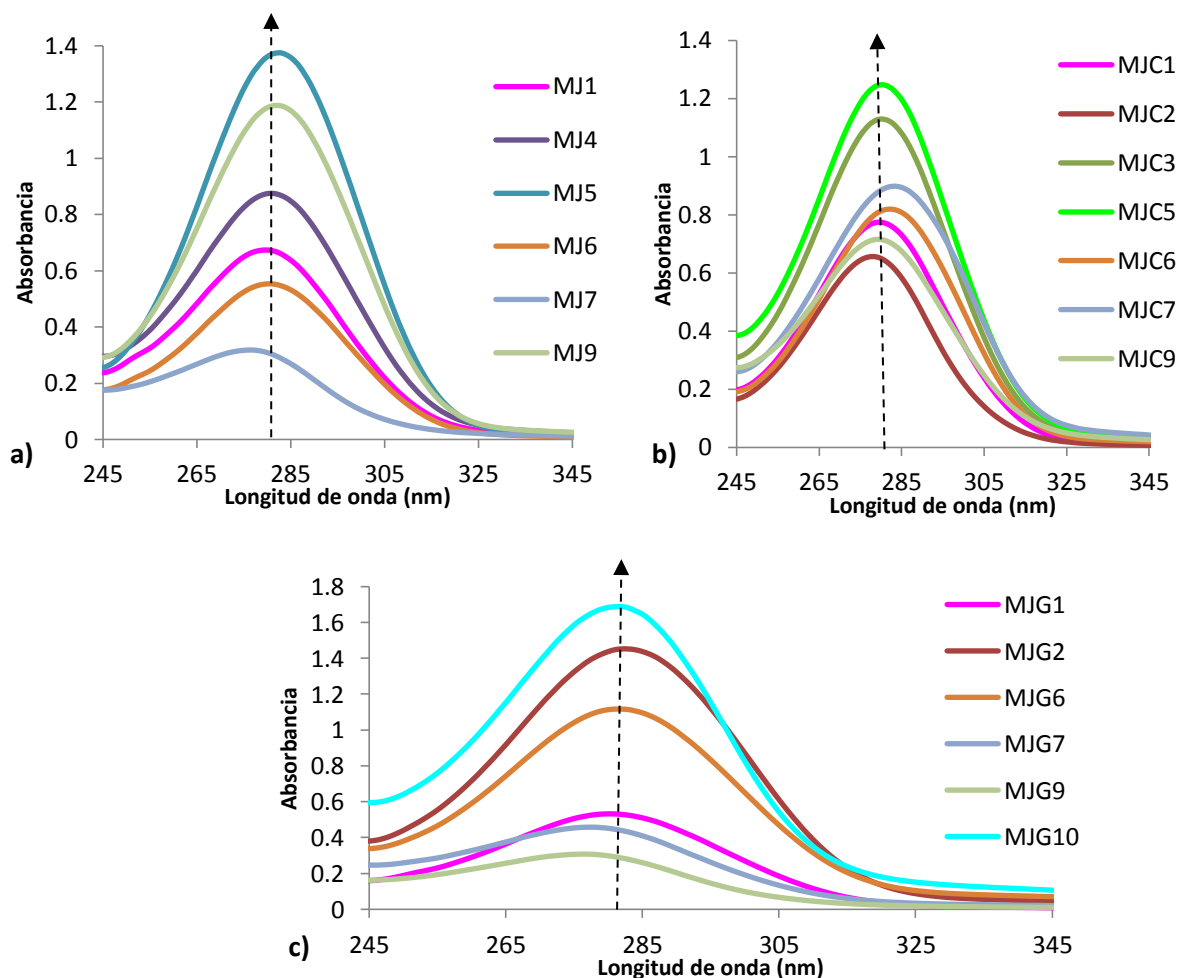


**Figura 5.54.** Gráfica de scores con pautas internas para los datos de la 2ª derivada para los tres tipos de mezcales jóvenes, autoescalado, intervalo de número onda: 200 a 900 nm. Flechas negras discontinuas pautas de mayor importancia. a) Subespacio PC1-PC2, b) Subespacio PC1-PC3.

En la Figura 5.54 se presentan las claves de algunas muestras de mezcales jóvenes, a fin de compararlos con sus correspondientes espectros que se muestran en la Figura 5.55(a) y (b) para los mezcales del subespacio PC1vs PC2 y en la Figura 5.56(a), (b) y (c) para los mezcales del subespacio PC1 vs PC3. Esto permitió describir las pautas internas antes mencionadas.



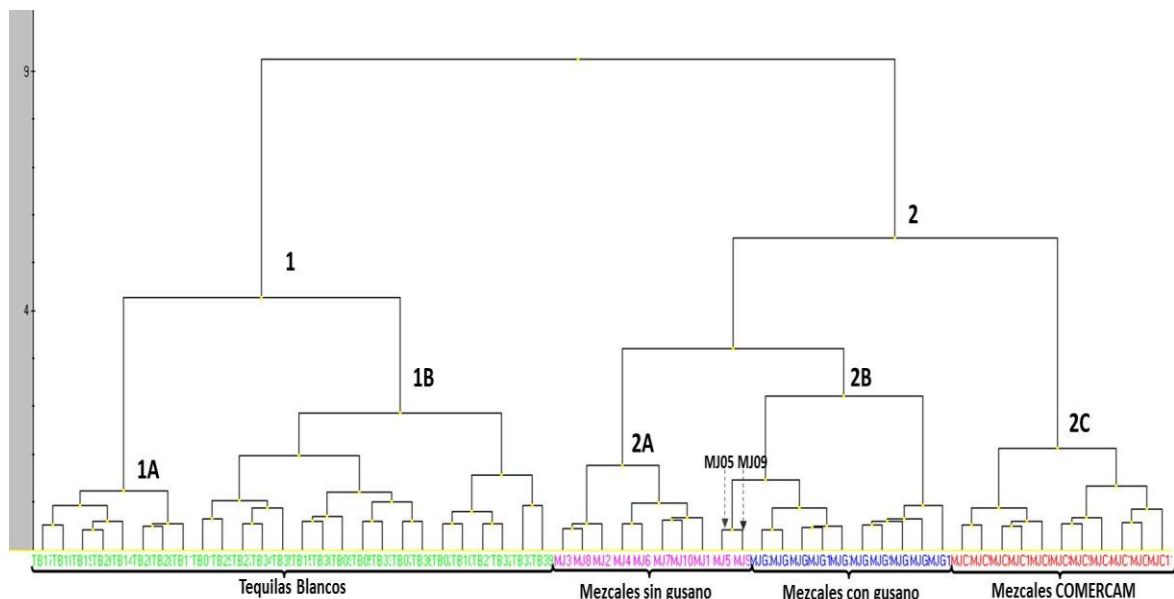
**Figura 5.55.** Espectros de diferentes conjuntos de muestras de mezcales para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 2ª derivada, subespacio PC1 vs PC2. a) Conjunto de mezcales MJC, b) Conjunto de mezcales MJG.



**Figura 5.56.** Espectros de diferentes conjuntos de muestras de mezcales para confirmar las pautas en el modelo de PCA para la 2ª derivada, subespacio PC1 vs PC3. a) Conjunto de mezcales MJ, b) Conjunto de mezcales MJC, c) Conjunto de mezcales MJG.

### 5.3.4.3. Análisis Cluster (CA).

El análisis cluster (CA) para la segunda derivada se llevó a cabo utilizando las condiciones del modelo óptimo representado en la Figura 5.52. El mejor resultado se muestra en la Figura 5.57. Éste se obtuvo con el método Algoritmo de Ward y la distancia Correlación de Pearson, con autoescado y en un intervalo de 200 a 900 nm. En la Figura 5.57 se puede apreciar la diferenciación de los tequilas blancos y los tres tipos de mezcales jóvenes.



**Figura 5.57. Dendrograma para los datos de la segunda derivada para tequilas blancos y mezcales jóvenes, autoescado, intervalo de 200 a 900 nm. Método Algoritmo de Ward y distancia Correlación de Pearson.**

El dendrograma de la Figura 5.57 muestra dos agrupaciones. El grupo 1 representado por las muestras de tequilas blancos y el grupo 2 por las muestras de mezcales jóvenes.

El grupo 1 se encuentra dividido por dos subgrupos (1A y 1B). Al observar los espectros de las muestras de tequilas se puede decir que en el subgrupo 1B algunas muestras presentan valores altos de absorbancia máxima lo cual puede indicar un mayor grado de fermentación. El grupo 2 está formado por tres subgrupos. El grupo 2A representa a los mezcales jóvenes sin gusano (MJ), el grupo 2B a los mezcales con gusano (MJG); sin embargo, en este grupo se encuentran dos muestras de mezcales sin gusano (MJ05, MJ09), debido a que éstas presentan valores altos de absorbancia máxima en su banda principal (ver figura 5.56(a)), agrupándose por lo tanto, con los MJG que presentan similares características. Por último el grupo 2C está formado por los mezcales del COMERCAM.

Por lo tanto, el cluster de la Figura 5.57 representa la diferenciación entre tequilas blancos y los tres tipos de mezcales jóvenes, lo que indica que con los datos de la segunda derivada el análisis cluster fue más específico al formar los grupos. También este análisis permitió corroborar los resultados obtenidos por PCA y discernir acerca del grado de fermentación de ambas bebidas.

### 5.3.5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR PCA.

Los resultados obtenidos al aplicar componentes principales a los datos espectrales brutos y derivadas de las muestras de tequilas blancos y mezcales jóvenes, se resumen en la tabla 5.4:

**Tabla 5.4.** Resultados obtenidos con PCA para los tequilas blancos y mezcales jóvenes.

Datos	Intervalo (nm)	Escalado	Muestras anómalas	PC responsable de la diferencia	% Varianza			Gráficos de scores
					PC1	PC2	PC3	
Brutos	220-380	Ninguno	TB 100% agave: 31, 38 TB mixtos: 24, 25 MJG: 05. MJ: 03, 08.	PC1	98.67	0.95	0.22	Figura 5.40
1 <sup>a</sup> derivada	225-400	Centrado en la media	TB 100% agave: 31,38 TB mixtos: 24, 25 MJ : 03, 08 MJG : 02, 05, 08, 11	PC1	91.37	5.04	2.27	Figura 5.46
2 <sup>a</sup> derivada	200-900	Autoescalado	TB 100% agave: 31,38 TB mixtos: 24, 25 MJG: 05	PC2 y PC3	16.53	9.37	8.58	Figura 5.52
2 <sup>a</sup> derivada	210-500	Autoescalado	TB 100% agave: 31,38 TB mixtos: 24, 25 MJG: 05 MJ: 03,08	PC2	32.01	6.93	6.85	Figura 5.53

En resumen, los modelos obtenidos con los datos brutos y la primera derivada presentan valores mayores de varianza y son modelos que muestran la diferenciación entre tequilas blancos y mezcales jóvenes. Por otra parte, en el modelo de la Figura 5.52 con la segunda derivada se pueden apreciar mejor las diferencias entre tequilas blancos y los tres tipos de mezcales jóvenes.

## 6. CONCLUSIONES.

- La combinación de los datos brutos, primera y segunda derivada de los espectros UV-VIS y los métodos quimiométricos no supervisados (análisis de componentes principales y análisis cluster), permitieron construir modelos óptimos para diferenciar entre Tequilas Blancos 100% agave y mixtos; tipos de Mezcales Jóvenes (sin gusano, con gusano y COMERCAM); y entre Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes.
- En particular los mejores modelos de PCA se lograron con los datos de la segunda derivada para diferenciar entre tipos de Mezcales Jóvenes (sin gusano, con gusano y COMERCAM) y entre Tequilas Blancos y Tipos de Mezcales Jóvenes.
- A través de los estudios de las pautas internas en los modelos obtenidos, se logró discernir sobre el grado de fermentación de los Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes. Este grado de fermentación tiene una variabilidad menor para los Tequilas Blancos en comparación con los Mezcales Jóvenes.
- El análisis de los *loadings* para cada estudio permitió identificar las relaciones existentes entre las variables y las estructuras de varios compuestos que intervienen en el grado de fermentación de los Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes.
- Los análisis cluster permitieron confirmar las diferencias de los Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes predichas por PCA en cada caso, así como corroborar su grado de fermentación.
- Los modelos construidos mediante PCA y Cluster, se aplicaron de manera sencilla y confirmaron las diferencias entre categorías de Tequilas 100% agave y mixtos, tipos de Mezcales Jóvenes (sin gusano, con gusano y COMERCAM) y entre Tequilas Blancos y Tipos de Mezcales Jóvenes.
- Los métodos quimiométricos desarrollados podrían ser utilizados por entidades involucradas en la calidad y comercialización de los Tequilas Blancos y Mezcales Jóvenes, tales como el Consejo Regulador del Tequila (CRT) y el Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal (COMERCAM) con la finalidad de obtener un mejor control de calidad de estas bebidas alcohólicas.

## 7. REFERENCIAS.

- Ávila Reyes, J. A. (2010). Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del mezcal de durango para el desarrollo de un índice de calidad. *Tesis Doctoral* . Instituto Politécnico Nacional .
- Barbosa García, O., Ramos Ortíz, G., Maldonado, J., Pichardo Molina, J., Meneses Nava, M., Landgrave, J., & Cervantes Martínez, J. (2007). UV-vis absorption spectroscopy and multivariate analysis as a method to discriminate tequila. *Spectrochimica Acta Part A(66)*, 129-134.
- Bautista Justo, M., García Oropeza, L., Barboza Corona, J. E., & Parra Negrete, L. A. (2001). EL Agave tequilana Weber y la producción de tequila. *Acta Universitaria*, *11*, 26-34.
- Belarra, M. Á., & Resano, M. (2011). *Introducción a la Química Analítica* (Primera ed.). España: Prensas Universitarias de Zaragoza. pp. 215-220.
- Benn, S. M., & Peppard, T. L. (1996). Characterization of tequila flavor by instrumental and sensory analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *44*, 557-566.
- Blanco, M., & Cerda, V. (2007). *Temas Avanzados de Quimiometría*. Universitat de les Illes Balears. pp. 250-251, 477-480.
- Botello Pozos, J.C. (s.f.). *Conceptos Básicos de Espectrofotometría Ultravioleta-Visible*. pp. 22.
- Castañeda Ponce, L. M. (2013). Determinación de azúcares reductores en mostos de agave y tequilas por FIA. *Tesis de Licenciatura en Química de Alimentos*. México, D.F. : Universidad Nacional Autónoma de México .
- Castells, J., & Camps, F. (1977). *Elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscopicos* (Vol. I). España: Alhambra.
- Castillo M. M. (2007). Aplicación de la espectroscopia NIR al control analítico de procesos de la industria química. *Tesis de Doctorado*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Consejo Regulador del Tequila (CRT). Consultado el 17 de Mayo de 2015 en <https://www.crt.org.mx/index.php/es/denominacion-de-origen/semblanza>
- Contreras-Loera, U., Barbosa-García, O., Ramos-Ortíz, G., Pichardo-Molina, J. L., Meneses-Nava, M. A., & Maldonado, J. L. (2009). Identificación y discriminación de Tequilas reposados in situ para la protección de marca. *Revista Electrónica Nova Scientia*, *1(2)*, 22-32.

- Cruz Ruiz, E. (2011). Identificación y cuantificación de los principales compuestos presentes en diferentes tipos de tequilas por cromatografía de gases capilar y técnicas quimiométricas. *Tesis de Licenciatura en Química Industrial*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Creswell, C., Runquist, O., & Campbell, M. (1972). *Análisis espectral de compuestos orgánicos* (Segunda ed.). Mexico: Diana. pp.31-38.
- De León Rodríguez, A., Escalante Minakata, P., Jiménez García, M. I., Ordoñez Acevedo, L., Flores Flores, J., & Barba de la Rosa, A. (2008). Characterization of Volatile Compounds from Ethnic Agave Alcoholic Beverages by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Technol. Biototechnol.*, 46(4), 448-455.
- Díaz Montaña, D., Marie Line, D., Estarrón Espinosa, M., & Pierre Strehaiano. (2008). Fermentative capability and aroma compound production by yeast strains isolated from Agave Tequilana Weber juice. *Enzyme and Microbial*(42), 608-616.
- Field, L. D., Sternhell, S., & Kalman, J. R. (2008). *Organic Structures from Spectra* (Fourth ed.). Wiley. pp. 7-14.
- García Mendoza, A. J. (2012). *México, país de magueyes*. Obtenido de Periódico la Jornada: <http://www.jornada.unam.mx/2012/02/18/cam-pais.html>
- Lachenmeier W., D., Sohnius, E. M., Rainer Attig, & López, M. G. (2006). Quantification of Selected Volatile Constituents and Anions in Mexican Agave Spirits (Tequila, Mezcal, Sotol, Bacanora). *J. Agric. Food Chem.*, 54(11), 3911-3915.
- Llamas Borrajo, J. F., De Miguel García, E., & Canoira López, L. (1998). *Quimiometría y Métodos Instrumentales de análisis*. Madrid: Universidad Politecnica de Madrid. pp. 75-79.
- Lucio Gutiérrez, J. R. (2012). Aplicación de Métodos Quimiométricos para la Caracterización y Control de Calidad de Plantas Medicinales. *Tesis Doctoral*. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Mancilla-Margalli, N. A., & López, M. G. (2002). Generation of Maillard Compounds from Inulin during the Thermal Processing of Agave Tequilana Weber Var. azul. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 806-812.
- Medina Valtierra, M. G. (2008). Microextracción en fase sólida seguido de cromatografía de gases. *Tesis de Licenciatura*. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.

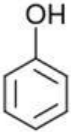
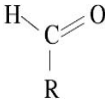
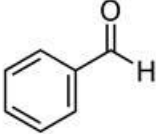

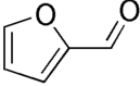
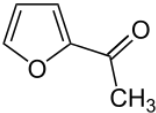


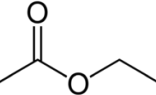


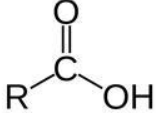
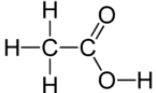
- Mezcales de Oaxaca. Consultado el 18 de Junio de 2015, en <http://www.mezcalesdeoxaca.com/acercadelgusano.html#.VYJc2prbLIU>
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Madrid: Prentice Hall.
- Molina Guerrero, J. A., Botello Álvarez, J. E., Estrada Baltazar, A., Navarrete Bolaños, J. L., Jiménez Islas, H., Cárdenas Manríquez, M., & Rico Martínez, R. (2007). Compuestos volátiles en el mezcal. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(1), 41-50.
- Mongay Fernández, C. (2005). *Quimiometría*. Educació Materials 82. Universitat de València.
- Muñoz-Muñoz, A. C., Pichardo-Molina, J. L., Ramos-Ortíz, G., Barbosa-García, O., Maldonado, J. L., Meneses-Nava, M. A., Ornelas-Soto, N.E., Escobedo, A., López-de-Alba, P. L. (2010). Identification and Quantification of Furanic Compounds in Tequila and Mezcal using Spectroscopy and Chemometric Methods. *J. Braz. Chem. Soc.*, 21(6), 1077-1087
- Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2012, Bebidas Alcohólicas-Tequila-Especificaciones.
- Norma Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-1994, Bebidas Alcohólicas-Mezcal-Especificaciones.
- Norma Oficial Mexicana NOM-142-SSA1/SCFI-2014, Bebidas Alcohólicas. Especificaciones Sanitarias. Etiquetado Sanitario y Comercial.
- Pretesch, E., Bühlmann, P., Affolter, C., Herrera, A., & Martínez, R. (2002). *Determinación estructural de compuestos orgánicos*. (Primera ed.). Barcelona: Masson.
- Ramis Ramos, G., & García Álvarez-Coque, M. C. (2001). *Quimiometría*. Madrid: Síntesis.
- Revista del Consumidor en Línea. (Septiembre de 2013). “El nuevo ciudadano del mundo: El Mezcal”. Consultado el 27 de mayo de 2015, en [http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2013/10/RC439\\_Laboratorio-Mezcalbaja.pdf](http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2013/10/RC439_Laboratorio-Mezcalbaja.pdf)
- Salgado, E. P. (2005). Manual de Espectroscopia, Fundamentos y Resolución de Espectros de Ultravioleta-Visible e Infrarrojo. *Tesis de Licenciatura en Química Industrial*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.: Universidad Nacional Autónoma de México.

- Silverstein, R. M., Clayton Bassler, G., & Morrill, T. (s.f.). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (Fifth ed.). New York: John Wiley and Sons. pp. 289-294.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2005). *Fundamentos de Química Analítica* (Octava ed.). México: Thomson. pp. 719-720, 722-738, 753-785.
- Vallejo-Córdoba, B., González Córdoba, A. F., & Estrada-Montoya, M. D. (2004). Tequila volatile characterization and ethyl ester determination by solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*(52), 5567-5571.
- Vera Guzmán , A. M., Santiago García , P. A., & López, M. G. (2009). Compuestos volátiles aromáticos generados durante la elaboración de mezcal de agave angustifolia y agave potatorum. *Fitotecnia Mexicana*, 32(4), 273-279.

## 8. ANEXOS.

### Anexo I. Tabla de compuestos orgánicos presentes en el Tequila Blanco y Mezcal Joven.

Compuesto orgánico	Estructura	Transición	$\lambda_{\max}$ [nm]	Observaciones
Alcoholes	R-OH	$n \rightarrow \sigma^*$	< 210	Sin absorción por encima de 210nm [1].
Metanol [2,3]	CH <sub>3</sub> -OH	$n \rightarrow \sigma^*$ $n \rightarrow \sigma^*$	205 183	En este caso se reporta la $\lambda_{\text{lim}}$ de este disolvente. La absorción límite, $\lambda_{\text{lim}}$ , de una serie de disolventes de uso frecuente en UV, se define como la longitud de onda a la cual el disolvente absorbe el 80% de la luz irradiada [3].
Fenol		$\pi \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	210 270	Por la banda E <sub>2</sub> (etilenico). Por la banda B (benzenoide). Solvente Agua [2].
Aldehídos		$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$	<200 270- 300	[1].
Aldehídos aromáticos mononucleares			250 280	La mayoría de las veces enmascarada por la banda aprox. de 250 nm [1].
Benzaldehído [1,2]			244, 278, 280, 320, 328	Solvente etanol.
Furanos [1,2]		$n \rightarrow \pi^*$	<210 200 [2] 252 [2]	Solvente etanol [1]. Solvente ciclohexano [2].
Furfural		$n \rightarrow \pi^*$	200 272	[2].
2-acetilfurano		$n \rightarrow \pi^*$	225 270	[2].
Cetonas		$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$	<200 260- 300	[3].
Esteres etílicos [1,3]		$n \rightarrow \pi^*$	~200- 210	Sin absorción por encima de 210 nm.
Acetato de etilo		$n \rightarrow \pi^*$	205	En este caso se reporta la $\lambda_{\text{lim}}$ de este disolvente. La absorción límite, $\lambda_{\text{lim}}$ , de una serie de disolventes de uso frecuente en UV, se define como la longitud de onda a la cual el disolvente absorbe el 80% de la luz irradiada [3].

<p><b>Ácidos orgánicos o ácidos carboxílicos</b> [1,2]</p>		<p><math>n \rightarrow \pi^*</math></p>	<p>~200-210</p>	<p>Sin absorción por encima de 210 nm . Los ácidos carboxílicos saturados muestran una banda de absorción débil cerca de 200 nm por la transición <math>n \rightarrow \pi^*</math>. La posición de la banda se somete a un pequeño desplazamiento batocrómico.</p>
<p>Ácido acético o ácido etanoico</p>		<p><math>n \rightarrow \pi^*</math></p>	<p>204</p>	<p>Solvente etanol [2].</p>
<p>[1] Castells y Camps (1977). [2] Silverstein et al. [3] Pretesch et al. (2002).</p>				