

APPLICATION OF FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPECTROSCOPY IN COMBINATION WITH ATTENUATED TOTAL REFLECTANCE (ATR) FOR THE DETERMINATION OF MATURATION INDEXES IN TEQUILAS.

(Aplicación de la técnica de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) en combinación con reflexión total atenuada (ATR) para la determinación de índices de maduración en tequilas)

Pedro Martín Mondragón Cortez^{a,*}, Julisa López Ramírez^a, María Guadalupe Guatemala Morales^a, Enrique Arriola Guevara^b

^a Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. (CIATEJ), Unidad de Tecnología Alimentaria, Av. Normalistas No. 800, Col. Colinas de la Normal, C. P. 44270, Guadalajara, Jalisco, México.

^b Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería (CUCEI), Universidad de Guadalajara, Departamento de Ingeniería Química, Blvd. Marcelino García Barragán No. 1412, Guadalajara, Jal., 44430, México.

*Pedro Martín Mondragón Cortez, Autor para correspondencia: pmondragon@ciatej.mx

Área del Conocimiento: Q. Alimentos.

ABSTRACT

Tequila is a traditional beverage of Mexico and different types are available on the market, mainly, white, rested and aged, these last two are stored in oak or encino barrels for a specific time with the objective of change color and flavor. Currently, the tequila has the worldwide recognition for their sensory properties. However, one of its main problems has been its adulteration. In this work, by using Fourier transform infrared-attenuated total reflectance (FTIR-ATR) spectroscopy were obtained infrared spectra of different types of tequila (white, rested and aged) with the objective of to observe spectral changes that allow a rapid identification according to the type of tequila. The spectra were obtained carrying out an innovative method, which was based on the evaporation of a sample tequila onto the crystal surface of the ATR device and, immediately after, the spectrum of the sample adhered to the crystal was obtained in the interval between 1200 and 850 cm⁻¹. The results showed spectral differences between the tequilas. However, white tequila showed no spectral signal. Therefore, it can be concluded that spectral signals found were due to compounds generated during the interaction tequila-barrel in the rested and aging process. According to the results obtained, the FTIR-ATR method of obtaining spectra can be useful to discriminate types of tequila by using a small amounts of sample and can also be used to establish better control in the quality of tequila during barrel maturation.

Keywords: Tequila, FTIR, ATR, quality.

RESUMEN

El Tequila es una bebida tradicional de México y diferentes tipos se encuentran disponibles, principalmente blanco, reposado o añejado, estos dos últimos madurados en barricas de roble o encino



durante un tiempo dado con el objetivo de cambiar su color y aroma. Actualmente, el tequila tiene el reconocimiento alrededor del mundo debido a sus propiedades sensoriales. Sin embargo, su adulteración es uno de sus principales problemas. En este trabajo, aplicando la técnica de espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier-reflexión total atenuada (FTIR-ATR) se obtuvieron espectros de infrarrojo de diferentes tipos de tequila (blanco, reposado y añejado) con el propósito de investigar los cambios espectrales que permitan identificar rápido y en forma precisa al tequila de acuerdo con su tipo. Los espectros fueron obtenidos utilizando un método innovador, el cual estuvo basado en la eliminación por evaporación de la muestra de tequila sobre la superficie del cristal del accesorio de ATR, e inmediatamente se obtuvo el espectro del residuo adherido al cristal en el intervalo de 1200 a 850 cm⁻¹. Los resultados obtenidos mostraron diferencias espectrales entre los tequilas seleccionados. Sin embargo, el tequila blanco no mostró ningún tipo de señal. Por lo tanto, es posible inferir que las señales espectrales encontradas tuvieron su origen en los compuestos generados durante la interacción tequila-barrica en el proceso de reposado y añejado. De acuerdo a los resultados obtenidos, el método de FTIR-ATR utilizado puede ser útil para discriminar tipos de tequila usando una mínima cantidad de muestra y también puede ser utilizado para controlar la calidad del tequila durante el tiempo de maduración en barricas.

Palabras Clave: Tequila, FTIR, ATR, calidad.

INTRODUCCIÓN

El Tequila es una bebida alcohólica originaria de México, la cual ostenta una denominación de origen. Esta bebida se elabora a partir de la fermentación y destilado de los jugos extraídos del agave, en particular del llamado agave azul (Agave tequilana Weber var. azul) [1]. Comercialmente hablando los tequilas del tipo blanco, reposado y añejo son muy populares entre el público consumidor. El tequila blanco es un producto que se envasa enseguida del proceso de destilación. El tequila reposado es un producto madurado entre dos y doce meses en barricas de roble blanco o encino, mientras que el tequila añejo adquiere este nombre ya que es madurado por más de un año y hasta tres años [1]. El tequila goza de la preferencia de muchos consumidores tanto a nivel nacional como internacional. Sin embargo, el tequila ha sido objeto de adulteraciones, además de aparecer el mercado producto con un origen de elaboración incierto y con información falsa o incompleta en la etiqueta, por ejemplo, el declarar que es un tequila añejo cuando no lo es. Por lo tanto, varias técnicas de análisis han sido propuestas para detectar las adulteraciones y para el aseguramiento del origen y calidad del tequila [2-6]. En este trabajo se propone el uso de una nueva metodología basada en la técnica de FTIR-ATR para la detección del tipo de tequila, principalmente entre la distinción de tequilas reposados y añejos. Si bien, la técnica de FTIR-ATR presenta algunas dificultades en la medición de bebidas alcohólicas, ya que se obtienen en sus espectros prácticamente las señales del alcohol y el agua, lo cual hace difícil su diferenciación. Sin embargo, hoy en día es posible eliminar de los espectros de infrarrojo las señales del agua y etanol, además los equipos actuales poseen una mejor resolución espectral (incremento de la relación señal/ruido). La técnica de FTIR tiene la ventaja de ser rápida, utiliza poca cantidad de muestra y generalmente no utiliza solventes contaminantes [7].

METODOLOGÍA

Para realizar este trabajo se adquirieron en vinaterías de la ciudad muestras de diferentes marcas comerciales de tequila blanco, reposado y añejo. El espectrómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) utilizado fue el modelo CARY 360 marca Agilent. El equipo se operó a una resolución de 4



cm⁻¹ y se realizaron 8 barridos. Antes de la obtención de cada uno de los espectros, se determinó la señal de fondo (*background*) del aire, Además, se utilizó un accesorio de interacción de reflexión total atenuada (ATR) con un cristal de ZnSe/diamante con un diámetro de 1.8 mm. En este accesorio, se colocaron, directamente de la botella, cada una de las muestra de tequila a estudiar (~18 mg) y enseguida, para cada una de las muestra, se dejaron evaporar (el alcohol y el agua) a la temperatura del laboratorio (~20 °C) aproximadamente durante un tiempo de 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo de evaporación se comenzó con la adquisición del espectro de infrarrojo correspondiente.

RESULTADOS

En la Figura 1 se muestra un espectro de infrarrojo de un tequila reposado obtenido de una muestra tomada directamente de la botella.

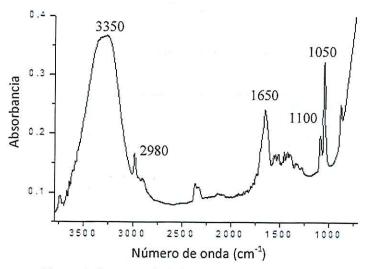


Figura 1. Espectro de infrarrojo de un Tequila reposado

Por otro lado, en la Figura 2 se puede observar una secuencia de espectros de infrarrojo (1250-700 cm⁻¹) en función del tiempo, esta secuencia representa la eliminación paulatina de señales espectrales provenientes del etanol y agua de una muestra de tequila, debido a la evaporación que sufrieron estos dos componentes durante el tiempo de permanencia sobre el cristal del accesorio de ATR. En las Figuras 3 y 4 se muestran, en el intervalo de 1250 a 900 cm⁻¹, los espectros de infrarrojo de la muestras de tequila (reposados y añejos), medidos posterior a su evaporación sobre la superficie del cristal del accesorio de ATR acoplado al espectrómetro de FTIR.

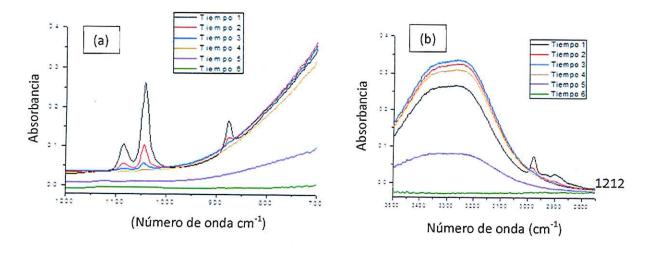




Figura 2 Secuencia de espectros de infrarrojo de una muestra de tequila donde se observa la evolución de la desaparición de picos durante su evaporación sobre la superficie del cristal de ATR: a) etanol y b) agua.

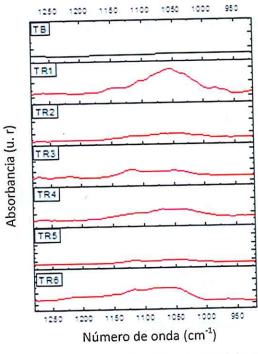


Figura 3. Espectros de infrarrojo de las muestras adheridas al cristal de ATR después de la evaporación de tequilas reposados

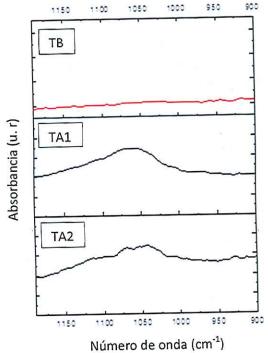




Figura 4. Espectros de infrarrojo de las muestras adheridas al cristal de ATR después de la evaporación de tequilas añejos.

DISCUSIONES

Composicionalmente hablando el tequila es una mezcla mayoritariamente de etanol y agua, además de contar con pequeñas cantidades (en el orden de ppm o ppb) de minerales y de cientos de compuestos volátiles y semi-volátiles que le confieren sus propiedades aromáticas y de sabor. Por lo tanto, en un espectro de infrarrojo de una muestra de tequila, de cualquier tipo, las bandas dominantes estarán asociadas a las moléculas de etanol y agua, tal y como se puede observar en la Figura 1, para el caso de un tequila reposado. En este espectro alrededor de los 3350 cm⁻¹ se observó un pico que está asociado a una vibración de estiramiento de los enlaces O-H, pertenecientes tanto al agua como al etanol. Aproximadamente a 2980 cm⁻¹ se encuentra un pico que está asignado a una vibración de estiramiento en el enlace C-H proveniente del etanol del tequila [7]. Alrededor de 1650 cm⁻¹ se observa un pico que está atribuido a una vibración de bandeo del enlace H-O-H (agua) [7]. También, se observaron entre 1100 y 1050 cm⁻¹ dos picos asociados con vibraciones de estiramiento de los enlaces C-O procedentes de la molécula del etanol [7]. Por último, de acuerdo a la Figura 1, en el espectro de infrarrojo del tequila no fue factible observar bandas de absorción asociadas con algún otro tipo de compuesto. Sin embargo, al dejar evaporar el tequila (etanol y agua) durante un intervalo aproximadamente entre 3 y 15 minutos sobre la superficie del cristal del accesorio de ATR, se observó, tal y como se muestra en la Figura 2, la desaparición paulatina de los picos del etanol (1100, 1050 y 875 cm⁻¹) y del agua, respectivamente. Una vez observada la desaparición por completo del tequila, se apreció que una tenue cantidad de muestra (en forma de mancha) se encontraba adherida al cristal del ATR. Este hecho fue solamente observado en las muestras de tequila reposado y añejo, mientras que en el tequila blanco no fue apreciada ninguna señal espectral, por lo tanto se infirió que la muestra adherida al cristal fue producto de sustancias originadas por la interacción química entre el tequila y la barrica de roble blanco o encino, donde se lleva a cabo tradicionalmente el reposado o añejamiento del tequila. En las Figuras 3 y 4 se muestra una serie de espectros de infrarrojo en el intervalo comprendido entre 1250 y 900 cm⁻¹, los cuales fueron obtenidos del residuo adherido al cristal de ATR producto de la evaporación de tequila reposado y añejo. Los espectros de infrarrojo de los residuos de tequila reposado son similares entre ellos (Figura 3), es decir mostraron un pico ancho y con relativamente poca altura (absorbancia), lo cual es lógico debido a la poca cantidad de muestra que interaccionó con el haz de infrarrojo durante la medición. La variabilidad mostrada por los espectros de los tequilas reposados comerciales podría considerarse como normal, ya que puede ser debido a los diferentes tiempos de almacenamiento en la barrica y/o al tipo barrica utilizada (roble o encino) a lo que fueron sometidos los tequilas e incluso al tipo de preparación de la barrica (grado de quemado en la pared de la barrica). El origen de estas señales espectrales, por la posición mostrada (región conocida como de huella digital), es probable que procedan de una serie de enlaces del tipo C-H, C-O, C-C, entre otros originados en moléculas orgánicas de las siguientes familias: ácidos, ésteres y aldehídos de cadena larga, furanos, terpenos, fenoles, etc. Además, también estas señales espectrales pueden tener su origen en sustancias como color caramelo, extracto de roble o



encino, glicerina o jarabe a base de azúcar, las cuales pueden ser añadidas al tequila para ajustar la coloración del producto y que son permitidas por la norma oficial [1].

Por otro lado, los espectros de infrarrojo de los tequilas añejos (Figura 4) mostraron un parecido en la señal, la cual mostró un pico de absorción bien definido alrededor de los 1060 cm⁻¹, el cual no fue observado en los espectros de los tequilas reposados. Por la posición del pico de absorción es presumible que haya sido originado por la vibración del enlace C-O, el cual podría provenir de alguno de los compuestos ya mencionados con relación al caso del tequila reposado.

CONCLUSIONES

En este trabajo se llevó a cabo un novedoso sistema de medición del tequila por FTIR-ATR, el cual se basó en la eliminación del etanol y agua de la muestra de tequila sobre el cristal del accesorio de ATR, con el propósito de observar otras señales espectrales, las cuales se observan mayoritariamente en un espectro. En el intervalo entre 1250 y 850 cm⁻¹ se observó una señal espectral proveniente del residuo de tequilas reposados y añejos, la cual podría ser utilizada como un parámetro de diferenciación entre marcas y/o tiempos de maduración de los productos, así como detectar una potencial adulteración.

REFERENCIAS

- [1] Norma Oficial Mexicana NOM -006-SCFI-2012, Bebidas alcohólicas-tequila- especificaciones.
- [2] C. Bauer-Christoph, C., Christoph, N, Aguilar-Cisneros, B.O., López, M.G., Richling, E., Rossmann, A., Schreier, P. (2003). "Authentication of tequila by gas chromatography and stable isotope ratio analyses", European Food Research and Technology, 217(3): 438-443.
- [3] Lachenmeier, W., Richling, E., López, M. G., Frank, W., Scheier, P. (2005). "Multivariate analysis of FTIR and ion chromatographic data for the quality control of tequila", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 2151-2157.
- [4] Muñoz-Muñoz, A.C., Charles Grenier A., Gutiérrez-Pulido, H., Cervantes-Martínez, J. (2008). "Development and validation of a High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection method for the determination of aging markers in tequila". Journal of Chromatography A, 1213 (2): 218-223.
- [5] López-Ramírez, J. E., Martín-del-Campo, S.T., Escalona-Buendía, H., García-Fajardo, J.A., Estarrón-Espinosa, M. (2013). "Physicochemical quality of tequila during barrel maturation. A preliminary study". CyTA - Journal of Food, 11(3):223-233.
- [6] Alcázar- Magaña A., Wrobel K., Torres-Elguera J. C., Corrales-Escobosa A. R., Wrobel K. (2015). "Determination of Small Phenolic Compounds in Tequila by Liquid Chromatography with Ion Trap Mass Spectrometry Detection". Food Analytical Methods, 8(4): 864-872.
- [7] Stuart B. (2004). Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Chichester England, John Wiley and Sons Ltd,