



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO

FACULTAD: QUIMICOFARMACOBIOLOGÍA.

TESINA

DETERMINACIÓN DE CONGÉNERES EN EL
TEQUILA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE: QUÍMICO FARMACOBIOLOGO.

PRESENTA: GORDILLO ESPIRITU KAREN.

ASESOR: QFB MUÑOS LOPES OSCAR ANTONIO.

Morelia, Mich.



JUNIO 2013

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD: QUIMICOFARMACOBIOLOGÍA.

TESINA

DETERMINACIÓN DE CONGÉNERES EN EL
TEQUILA POR CROMATOGRFÍA DE GASES.

AUTOR:

GORDILLO ESPIRITU KAREN.

ASESOR:

QFB MUÑOS LOPES OSCAR ANTONIO.

Detrás de cada sueño siempre hay personas que nos apoyan y creen en nosotros. Son seres especiales que nos animan a seguir adelante en nuestros proyectos brindándonos, de diferentes maneras, su solidaridad.

En primer lugar agradezco a Dios, que en silencio me ha acompañado a lo largo de mi vida y sin pedirme nada a cambio hoy me regala la alegría de ver realizado uno de mis sueños. También agradezco a Dios, por darme los padres que tengo.

Principalmente agradezco a mis padres, ya que ellos se encargaron de guiarme por un buen camino, creyeron en mí y nunca han dejado de motivarme día a día. Gracias porque por su apoyo y consejos he llegado a cumplir una de mis tantas metas. La cual constituye la herencia más valiosa que pudiese recibir. Nunca encontraré la forma de agradecer, sólo espero que comprendan que mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos e inspirados en ustedes.

Gracias mami, porque por su apoyo, esfuerzo y comprensión; me han inspirado confianza impulsándome a obtener uno de mis principales objetivos.

Gracias papi, por todos los sacrificios que hicieron a lo largo de mi carrera y por haber confiado en mí.

A mis hermanos, por ser uno de mis ejemplos a seguir. Gracias Sonia, por todo tu cariño y por ayudarme cuando te necesito. Gracias Richard, por el apoyo moral y porque sé que siempre puedo contar contigo. Gracias por ser mis hermanos mayores, por escucharme, por su cariño y sobre todo por ser mis hermanos.

En este largo trayecto he conocido gente maravillosa, mis amigos. Gracias Antonio, por tantos momentos que pasamos juntos y por demostrarme que siempre podía contar contigo. Gracias Ernesto, por brindarme tu ayuda cuando en ocasiones me sentía perdida. Gracias Medrano, por haber estado presente siempre para dar ánimos en los momentos que lo necesitaba. Gracias Emy, porque siempre has creído y por todos estos años de amistad.

Gracias a mi asesor y revisores, por el tiempo que se tomaron y el apoyo que me brindaron para culminar este trabajo con éxito.

Agradezco a todas aquellas personas los que colaboraron directa e indirectamente con este trabajo, ya que sin su ayuda no hubiese podido lograrlo.

También le agradezco a una persona que es muy especial para mí, muchas gracias por ser una parte importante de mi vida, por darme palabras de aliento y por aguantarme en todo momento.

Y por último, agradezco a mí misma, por no dejarme vencer, ya que en ocasiones el principal obstáculo se encuentra dentro de uno mismo.

Muchas gracias a todos...

ÍNDICE

Índice de figuras y tablas por orden de aparición.....	1
Abreviaturas.....	2
Resumen.....	4
I. Introducción.....	5
II. Marco teórico.....	8
CAPÍTULO 1. TEQUILA.....	10
1.1.- Agave tequilana weber variedad azul.....	11
1.2.- Origen de la bebida llamada tequila.....	13
1.3.- Significado de la palabra tequila.....	16
1.4.- El término tequila según la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM 006-SCFI-2005.....	16
1.5.- Bebidas obtenidas según la región y agave.....	17
1.6.- Denominación de Origen.....	18
CAPÍTULO 2. OPERACIONES UNITARIAS.....	19
2. Operaciones Unitarias.....	20
2.1.- Jima.....	20
2.2.- Hidrólisis.....	20
2.2.1.- Autoclave.....	21
2.2.2.- Hornos de mampostería.....	22
2.2.3.- Mieles amargas y mieles dulces.....	23
2.3.- Extracción.....	24
2.4.- Formulación.....	26
2.5.- Fermentación.....	27
2.5.1.- Compuestos generados en la fermentación.....	29

2.6.- Destilación.....	30
2.7.- Maduración.....	32
CAPÍTULO 3. CATEGORÍAS Y CLASES DE TEQUILA.....	34
3. Categorías y clases de tequila.....	35
3.1.- Categorías.....	35
3.1.1.- Tequila 100% de Agave.....	35
3.1.2.- Tequila.....	35
3.2.- Clases de tequila.....	36
3.2.1.- Tequila blanco o plata.....	36
3.2.2.- Tequila joven u oro.....	37
3.2.3.- Tequila reposado.....	37
3.2.4.- Tequila añejo.....	37
3.2.5.- Tequila extra añejo.....	38
3.3.- Especificaciones Fisicoquímicas del tequila.....	39
CAPÍTULO 4. CATADO.....	40
4. Catado.....	41
4.1.- Cata.....	41
4.2.- Examen visual.....	41
4.3.- Examen olfativo.....	42
4.4.- Examen gustativo.....	43
4.5.- Aromas primarios.....	43
4.6.- Aromas secundarios.....	44
4.7.- Aromas terciarios.....	44

CAPÍTULO 5. TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	45
5.- Técnicas Analíticas.....	46
5.1.- Análisis fisicoquímicos.....	46
5.1.1.- Determinación de azúcares reductores.....	46
5.1.2.- Determinación del porcentaje de fibra.....	50
5.1.3.- Determinación porcentaje de humedad en agave crudo.....	51
5.1.4.- Determinación de cenizas.....	51
5.1.5.- Determinación de pureza en mieles.....	52
5.1.6.- Acidez total.....	53
5.1.7.- Determinación de la riqueza alcohólica.....	53
5.2.- Análisis microbiológicos.....	55
5.2.1.- Contaminación microbiana.....	55
5.2.2.- Recuento de levaduras.....	56
5.3.- Análisis instrumental.....	58
5.3.1.- Determinación de la temperatura.....	58
5.3.2.- Determinación del grado Brix.....	59
5.3.3.- Determinación del grado alcohólico (%A.V.).....	59
5.3.4.- Determinación de pH.....	61
5.3.5.- Determinación de congéneres	61
5.3.6.- Cromatografía.....	62
5.3.7.- Cromatografía de gases.....	64
5.3.8.- Gas portador.....	71
5.3.9.- Sistema de inyección de muestra.....	72

CAPÍTULO 6. AUTENTIFICACIÓN DEL TEQUILA.....	77
6. Autenticación del tequila.....	78
6.1.- Adulteración del tequila.....	78
6.2.- Autenticidad utilizando isótopos radioactivos.....	81
III. Conclusiones.....	82
IV. Glosario.....	85
V. Anexo.....	94
VI. Bibliografía.....	119

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS POR ORDEN DE APARICIÓN.

Tabla 1. Composición general de la planta de agave.....	12
Tabla 2. Bebidas obtenidas según la región y agave utilizado.....	17
Figura 1. Autoclave.....	21
Figura 2. Horno de mampostería.....	22
Figura 3. Tahona.....	25
Tabla 3. Compuestos generados en la fermentación.....	29
Tabla 4. Especificaciones fisicoquímicas del tequila.....	39
Tabla 5. Relación de °Bx y volumen de muestra en muestras líquidas.....	47
Tabla 6. Relación de tipo de muestra a manejar.....	47
Figura 4. Cromatografía de gases.....	66
Figura 5. Técnica de inyección “Sándwich”.....	72
Tabla 7. Comparación de columnas usadas en cromatografía de gases.....	77

ABREVIATURAS.

AC	Cromatografía de afinidad.
Ae	Estándar interno.
Alc	Alcohol.
AV	Alcohol en volumen.
BPC	Cromatografía de fases enlazadas.
Cd.	Ciudad
CRT	Consejo Regulador del Tequila.
g	Gramo.
GC	Cromatografía de Gases.
Gral.	General.
HTLC	Cromatografía en capa fina de alta resolución.
IEC	Cromatografía de Intercambio Iónico.
IR	Infrarrojo.
L	Litro.
LC	Cromatografía de Líquidos.
LLC	Cromatografía Líquido – Líquido.
LSC	Cromatografía Líquido – Sólido.
m ²	Metro cuadrado.
m ³	Metro cúbico.
ml	Mililitro.
mm	Milímetro.
nm	Nanómetro.
NOM	Norma Oficial Mexicana.
ppb	Partes por billón.
ppm	Partes por millón.
SEC	Cromatografía de Exclusión por Tamaños.
SFC	Cromatografía de Fluidos supercríticos.
SPE	Extracción en fase sólida.
TLC	Cromatografía en Capa Fina.
Ton.	Tonelada.
UV	Ultravioleta.
Var	Variedad.
VIS	Visible.
Vmta	Volumen de muestra.
Vol.	Volumen.
°C	Grados Centígrados.

°GL	Grados Gay-Lussac.
μL	Microlitros.

RESUMEN.

En este trabajo se muestran de forma clara y detallada aspectos acerca del tequila como su cultura, proceso de elaboración, orígenes, historia y evaluación sensorial. También se aborda la secuencia de una evaluación sensorial (catado) y se hace referencia a las pruebas necesarias para que ésta se lleve a cabo.

Ahora que en México se han dado casos de tequila adulterado, el cual causa daños a la salud, resulta muy conveniente y de gran utilidad la presente tesina que tiene por objetivo primordial la recopilación de información acerca de la “Determinación de congéneres en el tequila por cromatografía de gases”, ya que esta técnica permite proteger al tequila de la piratería, beneficiando con ello a la industria tequilera y a la sociedad en general al salvarlos de consumir una bebida pirata (adulterada).

Uno de los procesos de la elaboración del tequila es la fermentación, y es el paso más importante en la producción, ya que es en esta etapa en donde los sabores y aromas (congéneres) del tequila se generan, después se separan para lograr una combinación de más de 400 diferentes elementos que le dan características diferentes en cada planta de producción de tequila.

Los congéneres del tequila son los compuestos que componen el producto. Mediante una nueva técnica desarrollada por Científicos del Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados (Cinvestav) de Irapuato se pueden identificar y así comprobar la autenticidad del tequila, además de combatir la piratería. La nueva técnica consiste en realizar una cromatografía de gases mediante un olfatómetro, instrumento que tiene integrados 10 mil sensores capaces de identificar el olor y aroma de la bebida, y de esta manera se puede determinar si fue elaborado con Agave Tequilana Weber Variedad Azul.

Dicha técnica es importante, ya que hoy en día hay un notable incremento en la venta de bebidas adulteradas. La adulteración de las bebidas alcohólicas constituye una práctica ilegal, clandestina y fraudulenta que tiene como objetivo engañar al comprador. Con la técnica ya mencionada se pretende combatir la informalidad y evitar que el público consumidor sea engañado con la venta de bebidas de apariencia y precio similar a las certificadas.

Las bebidas adulteradas pueden ser muy peligrosas ya que se elaboran con tipos de alcohol que no son aptos para el consumo humano, provocando severos daños a la salud.

I. INTRODUCCIÓN.

Para cumplir los objetivos de la presente tesina, se recopiló la información necesaria, haciendo énfasis en la cromatografía de gases, lo cual es particularmente útil para la correcta comprensión del tema “Determinación de congéneres en el tequila por cromatografía de gases”.

El tequila es, sin lugar a duda una de las bebidas alcohólicas más conocidas y representativas de México. Es producido a partir del agave Tequilana Weber Variedad Azul.

De acuerdo con la norma mexicana NOM-006-SCFI-2005, el tequila se define como sigue:

Bebida alcohólica regional obtenida por destilación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído, en las instalaciones de la fábrica de un productor autorizado la cual debe estar ubicada en el territorio comprendido en la Declaración, derivados de las cabezas de Agave tequilana Weber Variedad azul, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidos 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, en los términos establecidos por esta NOM y en la inteligencia que no están permitidas las mezclas en frío. El tequila es un líquido que, de acuerdo a su clase, es incoloro o coloreado cuando es madurado o cuando es abocado sin madurarlo.

Al tequila se puede añadir edulcorantes, colorantes, aromatizantes y/o saborizantes permitidos por la Secretaría de Salud, con objeto de proporcionar o intensificar su color, aroma y/o sabor²⁵.

²⁵NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES. Disponible en: <http://www.cft.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf> [2012, Octubre].

Acorde a la Norma Oficial Mexicana (NOM) hay dos tipos de tequilas: tequila y tequila 100% de agave.

- TEQUILA:

Es el producto, en el que los mostos son susceptibles 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. Este enriquecimiento máximo de hasta 49% de azúcares reductores, no se puede realizar con azúcares provenientes de cualquier especie de agave. Sólo se podrá incrementar el 51% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa como azúcares reductores provenientes de Agave tequilana weber variedad azul cultivado en el territorio comprendido en la Declaración²⁵.

Este producto puede ser envasado en plantas ajenas a un Productor Autorizado, siempre y cuando los envasadores cumplan con las condiciones de la NOM-006-SCFI-2005.

- TEQUILA 100% DE AGAVE:

No es susceptible de ser enriquecido con otros azúcares distintos a los obtenidos del Agave tequilana variedad azul cultivado en el territorio comprendido de la declaración.

Este producto debe ser denominado únicamente a través de alguna de las siguientes leyendas: “100% de agave”, “100% agave”, o “100% puro agave”, al final de las cuales se puede añadir la palabra “azul”.

²⁵ NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES. Disponible en: <http://www.cft.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf> [2012, Octubre].

A su vez, el tequila y el tequila 100% de agave, se dividen en las siguientes categorías:

- Tequila blanco.
- Tequila Joven u oro.
- Tequila reposado.
- Tequila añejo.
- Tequila Extra añejo.

La industria tequilera hoy en día tiene gran importancia en nuestro país debido al incremento de producción y ventas de tequila en la última década a nivel nacional e internacional. El tequila debe ser sometido a estrictas pruebas de control de calidad, ya que es un producto de consumo humano, por lo cual las empresas tequileras han implementado metodologías para garantizar su inocuidad.

Científicos del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav) Unidad Irapuato idearon nuevos procedimientos para determinar no sólo si la bebida fue elaborada con agave variedad azul Tequilana weber, sino incluso el lugar de procedencia de la planta, dato esencial para corroborar si cumple con las especificaciones legales para la denominación de origen.

El método que se expone en esta tesina se basa en la determinación de los componentes principales en cada tipo de tequila a través de un dispositivo llamado **cromatógrafo de gases**, acoplado a un olfatómetro. Lo esencial es encontrar compuestos con olor característico que estén en el tequila y no en otras bebidas (alcohólicas)⁸.

La cromatografía de gases (CG) es la técnica analítica de separación que ha experimentado un desarrollo espectacular, desde sus inicios en los años cincuenta. Se ha utilizado para desarrollar numerosos problemas en la industria, medicina, biología y análisis ambiental. Actualmente se utiliza como técnica de rutina y control en una gran variedad de áreas. Además, sus posibilidades han ido ampliándose a medida que se ha mejorado la instrumentación disponible (columnas capilares, integradores computarizados, sistemas de gradiente de temperatura, nuevos detectores, etc.). Esta técnica cromatográfica, es la que ofrece mejor poder de resolución para compuestos orgánicos volátiles. Su principal limitación se encuentra en la labilidad térmica de los solutos, los cuales deben ser estables a la temperatura requerida para su volatilización²¹.

²¹ M. Valcárcel Cases y A. Gómez Hens. (1988). Técnicas Analíticas de separación. [En línea]. Barcelona: Reverté. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=WPYYF75dejsC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false> [2012, noviembre].

II. MARCO TEÓRICO.

Casi todos hemos oído hablar de las bebidas adulteradas, sin embargo lo vemos más como una leyenda urbana que como una realidad que convive con nosotros todos los días. Las bebidas adulteradas pueden ser muy peligrosas ya que se elaboran con tipos de alcohol que no son aptos para el consumo humano, provocando severos daños a la salud³¹.

Tan solo en el 2010 se han realizado ocho operativos en todo el país, en los que se han decomisado 85 mil litros de pseudo tequila, pero a lo largo de los últimos cuatro años se han destruido 3 millones de litros, lo que se traduce en protección al consumidor, ya que pueden provocar severos trastornos de salud que van desde la ceguera hasta la muerte⁹.

La adulteración es el proceso mediante el cual un producto sufre una alteración. Esta alteración puede ser de la privación, sustitución, sustracción o disimulación de alguno o algunos de los componentes característicos de ese producto.

Hay cuatro tipos de adulteración de bebidas alcohólicas:

- Disminución u omisión: En ella se agrega a un producto legítimo cantidades de una sustancia de características similares (que pasan desapercibidas) a fin de aumentar o disminuir su volumen, generalmente de menor valor.
- Sustitución: Reemplazo de algunos componentes con otros de características físicas y químicas similares, por ejemplo el metanol por los alcoholes etílicos permitidos.
- Disimulación: Reacondicionamiento de un producto a fin de eliminar los aparentes defectos de los productos. Es decir, cuando se les agrega cosas como jarabes y caramelos para disimular el sabor de un producto defectuoso.

³¹ Ray Foley. (2003). Los mejores cocteles para preparar en casa, PARA DUMMIES. [En línea]. Bogotá, Colombia: Norma. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=qZLjKW-o7EUC&pg=PA80&dq=tequila:+destilacion+en+alambique&hl=es&sa=X&ei=HACwUJOYMZHqiQLY6oG4Dw&ved=0CEQQ6AEwCA#v=onepage&q=tequila%3A%20destilacion%20en%20alambique&f=false> [2012, octubre].

⁹Destruyen tequilas apócrifos y adulterados. Disponible en: <http://nuestrotequila.com/verSeccion.php?tipo=noticia&idElemento=40> [2012, noviembre].

- No cumplimiento de Buenas Prácticas de Control de Calidad en Producción: Significa que no está cumpliendo con ciertos requisitos mínimos (como los de higiene) lo cual es privar al producto de las mínimas medidas de seguridad en la producción y el control de calidad⁶.

Certificar a un auténtico tequila no sólo está en el paladar de un buen catador, sino en el ámbito de interés de la ciencia, como lo muestra el trabajo de un grupo de investigadores en Guanajuato, quienes desarrollaron métodos para analizar la composición y origen de esa bebida tradicional.

Ante la proliferación de tequila adulterado y la piratería en esta bebida, científicos del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), han desarrollado una técnica para identificar la autenticidad de este producto, que permite no sólo determinar si fue en realidad elaborado con el Agave Tequilana Weber Variedad Azul, sino que permite conocer la región donde fue sembrado, dato esencial por la Denominación de Origen del tequila. La técnica usada para determinar con certeza si la bebida alcohólica ha sido o no adulterada es la cromatografía de gases²⁶.

También se puede usar un cromatógrafo capaz de medir la presencia de diferentes isótopos estables que contiene y proporcionar información sobre la ruta fotosintética de la planta, y las condiciones geoclimáticas donde esta fue cultivada, es decir, puede determinar en que lugar se cultivó el agave²².

⁶ Bebidas adulteradas en México: ¿Cómo detectarlas? Disponible en: <http://ciudadanosenred.com.mx/articulos/bebidas-adulteradas-en-mexico-c-mo-detectarlas> [2012, noviembre].

²⁶ Nuestro Tequila. Disponible en: <http://nuestrotequila.blogspot.mx/> [2012, noviembre].

²² Método para Identificar Tequila Adulterado o Pirata. Disponible en: <http://journalmex.wordpress.com/2009/06/18/metodo-para-identificar-tequila-adulterado-o-pirata/> [2012, noviembre].

CAPÍTULO 1

TEQUILA



1. TEQUILA.

1.1. AGAVE TEQUILANA WEBER VARIEDAD AZUL.

El agave tequilana weber variedad azul pertenece a la familia de las agaváceas, sus principales características son: hojas largas fibrosas, forma lanceolada, color azulado; la parte aprovechable para la elaboración de tequila es la piña o cabeza. Este agave es la única variedad admitida para la elaboración de tequila y debe ser cultivado dentro del territorio comprendido en la declaración²⁵ y estar inscrito en el registro de plantación de predios, inscripción que debe hacerse como máximo durante el año siguiente a su siembra.

Los meses cálidos son ideales para la siembra del agave variedad azul (marzo, abril, mayo y mitad de junio), después de estas temporadas llegan las lluvias que permiten enraizar el agave. Y con las temporadas de calor, empieza el desarrollo normal y la mayor concentración de azúcares.

El ciclo biológico del cultivo oscila entre 6 y 8 años. Durante este tiempo, el crecimiento de la piña o cabeza, la cual puede llegar a pesar entre 35 y 120 Kg, depende del cuidado dado por el agricultor: quitar parásitos, malezas y agregar abonos, además del control de las precipitaciones que se presenten en la zona de cultivo, puesto que las lluvias excesivas no permiten el buen desarrollo de la especie.

El agave tarda de 6 a 8 años para llegar a su estado de madurez, contando los dos años que permanece con la madre antes del desarrollo como una planta sola²⁰. En una plantación, para ofrecer un buen manejo, la condición ideal es mantener en el cultivo una distancia de un metro entre planta y planta de una misma hilera y tres metros como mínimo entre hileras.

En promedio se ha encontrado que la edad de la piña, en donde existe mayor cantidad de azúcares concentrados, es a los siete años y no depende del tamaño y peso de ésta.

²⁵ NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES. Disponible en: <http://www.crt.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf> [2012, Octubre].

²⁰ Louise Coté., Louis Tardivel., Denis Vaugeois. (2003). La generosidad del indígena, dones de las Américas al mundo. [En línea]. México, D.F.: Fondo de la Cultura Económica. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=dmC7HwwxQb4C&pg=PA241&dq=destilacion+en+alambique+de+tequila&hl=es&sa=X&ei=l_vvUPSIE4XrrQGSooFA&ved=0CEMQ6AEwBQ#v=onepage&q=destilacion%20en%20alambique%20de%20tequila&f=false [2012, octubre].

La madurez de la planta se manifiesta con la aparición del llamado quiote, el cual debe ser cortado rápidamente ya que su permanencia en la planta consume los azúcares que se acumulan durante años, esta operación de corte es llamada “desquiote”.

El polisacárido predominante en la planta de agave es la inulina, que está compuesta principalmente de cadenas moleculares de fructosa (85 a 92%); está fructosa es obtenida de la inulina mediante hidrólisis, en la mayoría de los casos por medios térmicos. La composición general en porcentaje de la planta de agave es:

Tabla 1. Composición general de la planta de agave.

COMPOSICIÓN	PORCENTAJE (%)
Humedad	60
Carbohidratos	25
Fibra y médula	10
Sales minerales	2,5
Otros (Proteínas, saponinas, etc.)	2,5

Durante el proceso de crecimiento las raíces salen de la tierra con lo que generan hijuelos. En toda la vida de la planta se generan aproximadamente 25 de estos, que son aprovechados para sembrar en otras tierras¹¹.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SytHZWErOv8C&pg=PA43&pg=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=qJ-uUNiSG5DuuQHJ4IHwCq&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

1.2. ORIGEN DE LA BEBIDA LLAMADA TEQUILA.

El tequila es el resultado de un proceso de mestizaje entre las culturas americana y europea, producto de la mezcla de conocimientos, cultura y tradiciones ancestrales de ambos pueblos, producto a su vez del propio mestizaje mexicano.

Historia o leyenda... Nadie lo sabe con seguridad, pero en las tierras de Tequila se cuenta que varios siglos atrás, indígenas de Jalisco debieron refugiarse en una cueva a consecuencia de una tormenta que caía sobre un campo de agaves. Algunos rayos cayeron en el corazón de estas plantas quemándolas, lo que provocó que por el cocimiento de los almidones, se convirtieran en una forma de miel. Cuando la tormenta cesó, el viento llevó hacia los habitantes de ese lugar un aroma agradable. Uno de ellos tomó un pedazo del agave quemado y al probarlo lo sintió dulce ofreciéndolo a los demás, descubriendo así la utilidad de la planta.

Un indígena olvidó el jugo, durante varios días y, al regresar a su choza, descubrió un nuevo aroma que envolvía el ambiente. Después observó que del jugo salían pequeñas burbujas que formaban una espuma blanca y espesa. Al probarlo se encontró con un sabor enriquecido y diferente. Luego separó el líquido de la espuma para su consumo.

La bebida provocó en él un cambio de personalidad, de ahí que el líquido se considerara regalo de los Dioses.

En realidad el tequila tal como lo conocemos hoy, se debe al proceso de destilación que introdujeron los españoles a su llegada. Estos decidieron destilar la bebida original para purificarla y obtener un producto más fuerte, dando paso al llamado vino de mezcal o aguardiente¹³.

Los códices prehispánicos como el Nuttal, el Laud, el Florentino y el Mendocino, documentan la herencia prehispánica sobre el cultivo de agave y técnicas de cocción y tatemado. En los mismos códices se señala que los mexicas habían aprendido a recoger los corazones o piñas de los mezcales (Mezontle o meyolote) para cocerlos en hornos contruidos bajo tierra y así obtener al mezcalli, considerado como un magnífico alimento por la transformación de la inulina en azúcares. También descubrieron que el mezcalli macerado con agua, fermentaba y se obtenía una bebida fuerte y muy apreciada.

¹³ Historia del tequila. Disponible en: <http://www.tequila-z.com/historia.html> [2012, octubre].

A mediados del siglo XVI en plena etapa de la conquista y sometimiento de la región, los españoles conocieron el jugo fermentado del agave y por lo menos alguno de ellos tenía conocimientos sobre el proceso de destilación. La necesidad de disponer de alguna bebida alcohólica para mitigar sus cansancios en las difíciles jornadas, la curiosidad y la audacia de estos hombres los llevaron a habilitar alguna rústica cocina y utensilios y por medios improvisados, hacer el experimento de hervir y destilar ese jugo fermentado de lo cual obtuvieron una bebida alcohólica destilada. Estos héroes anónimos habrían descubierto el tequila.

Diversas fuentes mencionan al hacendado español don Pedro Sánchez de Tagle como el que montó la primera destilería o taberna, como se le llamaba a la incipiente agroindustria en la Hacienda Cuisillos de su propiedad, en la región de Tequila, durante el primer cuarto de siglo XVIII; se le menciona además como el que introdujo el cultivo de agave. Hasta entonces las tabernas se establecían en el fondo de las barrancas en donde podían tener agua disponible, indispensable para el proceso y de paso escapaban un poco a la vista de las autoridades; utilizaban como materia prima agaves silvestres por la vía de recolección.

Fuentes historiográficas señalan al Sr. Sánchez de Tagle como “El padre del tequila” ya que tuvo la visión de concebir el cambio de una actividad artesanal a un negocio floreciente con la producción a mayor escala de vino mezcal.

Otras tabernas de que se tiene registro y que se establecieron en el siglo XVIII fueron la del Sr Nicolás Rojas (posteriormente conocida como la Rojeña); la familia Cuervo y Montañó fundaron una taberna en la hacienda de Arriba y en la hacienda de Chorrera fundó otra el Sr Malaquias Cuervo.

La agroindustria del tequila despegaba por un camino de vicisitudes y altibajos pero siempre creciendo y moviéndose entre nuevos escenarios político-sociales y con nuevos personajes visionarios y emprendedores.

En el transcurso de los siglos XVIII y XIX, las plantas de agaves fueron creciendo en terrenos de las haciendas que era la unidad económica predominante en el medio rural.

La elaboración del tequila comprende dos fases o etapas básicas: el proceso agrícola del cultivo del agave y su transformación industrial; la vinculación de estas dos etapas han sido clave en el desarrollo y desempeño del sector a lo largo de su historia.

En pleno Porfiriato la industria tequilera se desarrolla en una economía de plantación - industrialización con impulso básicamente local, ajeno al capitalismo extranjero y al mercado mundial.

Nuevos elementos aparecieron en esa época que impactaron en el impulso a la industria tequilera, fundamentalmente conocimientos técnicos y medios de comunicación más eficientes. En 1888 se inauguró el Ferrocarril Central que comunicó la Cd. De Guadalajara con la capital del país y otras ciudades, lo que vino a dinamizar el movimiento de mercancías.

La industria tequilera se vio decididamente alentada por la disminución de costos de transporte y la expansión de los mercados del vino mezcal. Se introdujeron nuevas tecnologías que vinieron a sustituir a las antiguas tabernas, ahora fábricas, y a hacer más eficiente la producción en el campo y el proceso industrial; se introdujo el uso de hornos de mampostería en sustitución de los ancestrales hornos de cocimiento bajo la tierra, se introdujo el vapor como fuerza motriz, equipos más tecnificados en el proceso de destilación, la energía eléctrica y mecánica aplicada en el campo y en los medios de transporte.

El reparto agrario de los años 30's derivó un cambio sustancial de las relaciones políticas y económicas en el sector rural; los cambios en la posesión usufructo de la tierra hicieron nuevos ajustes en las relaciones entre productores de agave e industriales del tequila. En 1940 las plantaciones registradas apenas alcanzaban los 4 millones de agaves y el volumen de producción apenas alcanzó alrededor de 1.6 millones de litros, más de seis veces inferior a lo logrado en 1902.

A partir de esa fecha se inició una lenta pero sostenida recuperación del sistema tequila-agave y que en las últimas tres décadas tomó un impulso sin precedentes no sin sortear, como siempre obstáculos, pero aprovechando otros factores que fueron apareciendo y espacios que se fueron abriendo para constituirse en un sector pujante, de amplias perspectivas, pero que también tiene asuntos estructurales pendientes de resolver.

Del vino mezcal al tequila...Una tradición cuenta que en una fiesta de promoción de productos mexicanos en San Antonio, Texas, al Gral. Porfirio Díaz se le ocurrió llevar vino mezcal y nombrarlo vino tequila por su procedencia regional; con el paso del tiempo ese nombre se redujo a tequila¹.

¹ Alejandro Chávez Cárdenas., Arlén Sánchez Valdés., Guillermo Sánchez Rodríguez. (2010). Competitividad del comité del sistema producto agave tequilero Michoacán A.C. Morelia, Michoacán: Fundación produce Michoacán.

1.3. SIGNIFICADO DE LA PALABRA TEQUILA.

En la ciudad de Tequila, la vox populi dice que la palabra tequila, significa “piedra que corta” (Del verbo, “tequi”: cortar y “tlán”: lugar); también dicen que proviene del náhuatl “tequitlán” que quiere decir “lugar de trabajo” (de “tequitl”: trabajo y “tlán”: lugar)²⁰.

1.4. EL TÉRMINO TEQUILA SEGÚN LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES:

Se define al tequila como: Bebida alcohólica regional obtenida por la destilación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído, en las instalaciones de la fábrica de un productor autorizado la cual debe estar ubicada en el territorio comprendido en la Declaración, derivados de las cabezas de Agave tequilana weber variedad azul, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidos 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 una proporción no mayor al 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa, en los términos establecidos por esta NOM y en la inteligencia que no están permitidas las mezclas en frío. El tequila es un líquido que, de acuerdo a su clase, es incoloro o coloreado cuando es madurado o cuando es abocado sin madurarlo.

El tequila puede ser añadido de edulcorantes, colorantes, aromatizantes y/o saborizantes permitidos por la Secretaría de Salud, con objeto de proporcionar o intensificar su color, aroma y/o sabor²⁵.

²⁰ Louise Coté., Louis Tardivel., Denis Vaugeois. (2003). La generosidad del indígena, dones de las Américas al mundo. [En línea]. México, D.F.: Fondo de la Cultura Económica. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=dmC7HwwwQb4C&pg=PA241&dq=destilacion+en+alambique+de+tequila&hl=es&sa=X&ei=l_vvUPSIE4XrrQGSoofA&ved=0CEMQ6AEwBQ#v=onepage&q=destilacion%20en%20alambique%20de%20tequila&f=false [2012, octubre].

²⁵ NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES. Disponible en: <http://www.crt.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf> [2012, Octubre].

1.5. BEBIDAS OBTENIDAS SEGÚN LA REGIÓN Y AGAVE.

Tabla 2. Bebidas obtenidas según la región y agave utilizado.

NOMBRE DE LA BEBIDA	REGIÓN	AGAVE
BACANORA.	SONORA.	YAQUIANA.
SOTOL.	CHIHUAHUA.	SEREQUE O SOTOL.
COMITECO.	CHIAPAS.	ATROVIRENS HAW.
RAICILLA.	COSTA Y ALTOS DE JALISCO Y REGIÓN OESTE DE MICHOACÁN.	LECHUGUILLA MAXIMILIANA
TEQUILA	*JALISCO, MICHOACÁN, GUANAJUATO, NAYARIT Y TAMAULIPAS.	AGAVE TEQUILANA WEBER VARIEDAD AZUL.

Los agaves producen distinto tipo de bebida. El Bacanora, es la bebida tradicional del estado de Sonora, México.

El sotol, es una bebida típica del desierto chihuahuense. En los desiertos de Chihuahua crece el sotol (también conocido como sereque).

La bebida comiteco, es originaria de Chiapas. Hoy en día es bastante complicado y costoso adquirir una botella de esta bebida típica.

La raicilla, es la bebida alcohólica, producto del destilado del Agave Lechuguilla y Maximiliana.

El Tequila, es la bebida más conocida y representativa de México en el mundo, producida con el Agave Tequilana Weber Variedad Azul.

1.6. DENOMINACIÓN DE ORIGEN.

La Denominación de Origen, de acuerdo al artículo 156 de la ley de la Propiedad Industrial mexicana, es el nombre de una región geográfica del país que sirve para designar un producto originario de la misma y cuya calidad o características se deban exclusivamente al medio geográfico, comprendiendo en éste, los factores naturales y los humanos.

En 1949, con la emisión de la primera Norma Oficial Mexicana del Tequila se establecieron los límites de la región legal para la producción del tequila los cuales consideraban exclusivamente al estado de Jalisco. En 1968 se amplió la región legal a “zonas de estados colindantes” al de Jalisco sin especificar dichas zonas.

En el Diario Oficial de la Federación del 9 de diciembre de 1974 se publicó la primera Declaración General de protección a la Denominación de Origen Tequila. Ahí se establece como territorio de origen de esa denominación a todo el estado de Jalisco y municipios de Nayarit, Michoacán y Guanajuato. En 1977, en el Diario Oficial de la Federación del 13 de octubre de ese año se publica una segunda Declaración General a la Denominación de Origen Tequila que anula la anterior de 1974; aquí se amplía el territorio de protección de la Denominación de Origen Tequila a varios municipios del estado de Tamaulipas. En 1978, se definió la zona protegida para la Denominación de Origen Tequila quedando comprendida en todo el estado de Jalisco y 53 municipios de los estados de Guanajuato, Michoacán, Nayarit y Tamaulipas.

El 13 de Abril de 1978 se obtiene el certificado del registro del Tequila en el "Registre International des appellations D' origine" de la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual.

A manera de sintetizar las condiciones que asocian al concepto de Denominación de Origen Tequila y la normativa para su cumplimiento, en el numeral 6.2 de la NOM-006-SCFI-2005 se establece: “El agave que se utilice como materia prima para la elaboración de tequila debe ser de la especie *Agave tequilana* Weber variedad azul, haber sido cultivado en el territorio comprendido en la Declaración y de Plantación de Predios instalado para tal efecto por el Organismo Evaluador de la Conformidad)¹.

CAPÍTULO 2

OPERACIONES

UNITARIAS



2. OPERACIONES UNITARIAS.

A continuación se presentan las principales operaciones unitarias para la elaboración completa de la bebida tequila.

2.1. JIMA.

Consiste en separar las piñas de las pencas del agave, labor que realiza un experto que recibe el nombre de jimador, utilizando su conocimiento, experiencia y una llamada Coa. Una vez finalizada la Jima, transcurridos unos dos meses la tierra se vuelve a sembrar.

Las piñas son levantadas a los camiones para transportarlas hacia las plantas de producción de tequila; en este punto se tiene una piña con un grado Brix de 42, en promedio, algunas veces deben ser cortadas para acomodarlas, ahorrar espacio y costos de transporte.

Una vez en la planta de producción los agaves son reducidos a un tamaño adecuado para iniciar la operación de hidrólisis. El tiempo transcurrido entre la Jima y la hidrólisis no puede ser muy prolongado, ya que las piñas inician un proceso de descomposición y producción de hongos que afectarían la operación de fermentación y por ende la calidad del producto final¹¹.

2.2. HIDRÓLISIS.

El agave, por su naturaleza tiene un polisacárido de reserva llamado inulina. La inulina es la unión de fructosa con algunas ramificaciones dentro de la molécula de glucosa. La inulina es similar al almidón con la diferencia que ésta es muy sensible a los ácidos con los cuales se hidroliza dando D (-) fructosa y es similar a los almidones por su estabilidad en álcalis.

La hidrólisis (hidro=agua, lisis=ruptura) según la normatividad existente puede ser realizada mediante procedimientos químicos, enzimáticos, térmicos, o una combinación de éstos; el proceso más utilizado es el térmico por medio de la cocción en hornos de mampostería o autoclaves, cuya finalidad es la transformación de la inulina en azúcares susceptibles de ser fermentados utilizando vapor de agua a presión¹¹.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SvtHZWErOv8C&pg=PA43&pg=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hi=es-419&sa=X&ei=qj-uUNiSG5DuqQHJ4IHwCg&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

2.2.1. AUTOCLAVE.

Estos equipos pueden compararse con ollas exprés de forma cilíndrica donde por la parte superior es inyectado vapor de agua, la parte inferior dispone de unas parrillas que permiten el drenaje de los jugos y el soporte de las piñas. Las autoclaves poseen una capacidad de 15 a 40 toneladas.

Las piñas antes de ser cargadas a las autoclaves son partidas entre dos y cuatro partes con le objeto de dar mayor uniformidad a la cocción y disminuir el tiempo requerido, de estas piñas se extrae una muestra que es llevada al laboratorio donde se analiza la cantidad de polisacáridos para determinar la eficiencia de la hidrólisis, el método utilizado en el laboratorio es el de Fehling Soxhlet o gravimétrico, aunque algunas compañías lo realizan utilizando HPLC (High performance liquid chromatography, cromatografía líquida de alta eficiencia).

El tiempo de cocción en la autoclave es de 14 horas, seguido de 12 horas de reposo, tiempo en el cual continúa la cocción y el desdoblamiento de azúcares, la presión de trabajo está entre 0.8 a 1 kgf/cm², la temperatura es de 105 °C; la cocción de los agaves en autoclave, brinda organolépticamente al tequila como producto final, aromas a agave crudo¹¹.



Figura 1. Autoclave.

2.2.2. HORNOS DE MAMPOSTERÍA.

Estos hornos construidos internamente de ladrillos, son alimentados con las piñas del agave por medio de bandas transportadoras y se les alimenta vapor a una temperatura de 95°C y presión de 1 kgf/cm².

El tiempo de residencia es de 24 horas, con un reposo de 24 horas; el paso de los agaves para la cocción en estos hornos, brinda organolépticamente al tequila como producto final, aromas a agave cocido; se considera que estos aromas proporcionan al producto final mejores condiciones organolépticas que los aromas de agave crudo originados por el cocimiento en autoclaves¹¹.



Figura 2. Horno de mampostería.

2.2.3. MIELES AMARGAS Y MIELES DULCES.

En los dos sistemas de cocción de la piña de agave, autoclaves y hornos de mampostería, se desprenden las llamadas mieles amargas y mieles dulces, y se realiza seguimiento a la cocción en cuanto a la cantidad de azúcares, en algunos casos, por medio de cromatografía líquida (HPLC), para determinar la eficiencia de esta operación por el desdoblamiento de la inulina.

Las mieles amargas se consideran el primer lavado para retirar impurezas del agave, no son aprovechables durante el proceso de elaboración por el alto contenido de impurezas, principalmente ceras y resinas presentes en la cutícula del agave; las mieles son llevadas al sistema de tratamiento de aguas residuales para ser vertidas, previo el cumplimiento de la normatividad sobre residuos líquidos.

Las mieles dulces son de interés en el proceso, ya que contienen gran cantidad de azúcares, su promedio es de 24 grados Brix y sirven para ajustar los jugos obtenidos en la extracción.

El resultado de esta operación son fragmentos de piña de agave cocidas con azúcares reductores susceptibles de ser fermentados, con un jugo de entre 10 a 12 Brix, los cuales deben extraerse separándolos de la fibra¹¹.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SytHZWErOv8C&pg=PA43&lpq=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=qJ-uUNiSG5DuqQHJ4IHwCq&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

2.3. EXTRACCIÓN.

Es la operación por medio de la cual se separan los azúcares de las fibras de las piñas de los agaves, una vez concluida la operación de la hidrólisis, utilizando para ello procedimientos mecánicos, físicos, químicos, biológicos o combinación de éstos.

Antiguamente se realizaba en la tahona, formada por una gran roca en forma de rueda que iba exprimiendo las fibras en su desplazamiento, labor que se caracterizaba por ser ineficiente; sin embargo, para aquel tiempo no se contaba con mayor tecnología.

Actualmente se cuenta en la industria del tequila con molinos del tipo cañero, con un tren de hasta 8 pasos, donde las piñas cocidas, en su desplazamiento por los pasos se desgarran, desmenuzan, exprimen y se lavan con agua a una temperatura de 32°C, temperatura a la cual se ve favorecida la extracción de azúcares, para obtener sus jugos ricos en fructosa. Al final del proceso, se obtiene como residuo sólido el bagazo, el cual se utiliza como composta, abono, relleno en la industria del ladrillo y en la fabricación de algunas líneas económicas de colchones.

El jugo resultante de la molienda se mezcla con las mieles dulces de la hidrólisis, en el caso que se realice por cocción, para ser llevadas a la formulación y posterior fermentación.

Una nueva tecnología para la extracción de los jugos del agave y posterior hidrólisis es el uso de difusores.

En principio, ha tenido grandes contradictores ya que según expertos cambia la forma tradicional de tratamiento de las piñas del agave, la extracción de los azúcares y porque afecta la identidad y características sensoriales del tequila.

En esta tecnología la piña del agave es colocada en una banda transportadora y a su paso es lavada con agua a 60°C, temperatura a la cual la inulina es soluble. El caldo es pasado a cocción para la hidrólisis; estos equipos continuos pueden procesar de 200 a 400 ton/día de agave, convirtiéndose en un proceso que disminuye ostensiblemente los costos de producción y aumenta la eficiencia de extracción.

El jugo extraído de las piñas de agave es analizado en el laboratorio para determinar azúcares reductores, practicándosele la prueba de Fehling-Soxhlet y el bagazo se le hace prueba de azúcares residuales, con lo cual, en comparación con los azúcares presentes en la piña cocida, se halla la eficiencia de la molienda.

Normalmente, en la industria del tequila la eficiencia de extracción va del 78 al 82% en los molinos cañeros y entre 92 al 97% en los difusores¹¹.



Figura 3. Tahona.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SythZWErOv8C&pg=PA43&pg=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=qJ-uUNiSG5DuqQHJ4IHwCg&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

2.4. FORMULACIÓN.

Antes de llevar el jugo a fermentación es necesario fijar sus parámetros de entrada, tales como tipo y procedencia de los azúcares, concentración de azúcares reductores totales, grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$), temperatura, pH y nutrientes.

En esta etapa se define si el tequila a producir será tequila o tequila 100% de agave. En caso de ser tequila, en esta operación se debe cumplir que los azúcares con origen en el agave Tequilana Weber Variedad Azul estén, como mínimo, en un 51% en masa, y máximo 49% en masa de azúcares reductores totales con origen en otras materias primas diferentes del Agave Tequilana Weber Variedad azul u otras variedades de agave.

En este punto los jugos obtenidos de la extracción, las mieles dulces, y si es el caso, los azúcares reductores de otras materias primas diferentes del agave Tequilana Weber Variedad Azul, son mezclados hasta obtener el grado Brix requerido al inicio de la fermentación, que está entre 11,5 y 13 $^{\circ}\text{Bx}$, la concentración de azúcares reductores entre 10,5 y 11%.

El jugo es llevado a los tanques de fermentación, estos tanques pueden tener entre cinco mil a cien mil litros de capacidad. Sin embargo, se ha notado que las eficiencias de fermentación varían dependiendo del volumen, siendo menores a grandes volúmenes.

El requerimiento promedio de agave en Kg/L de tequila blanco (referenciado como alcohol rectificado a 55% Alc en Vol.) es de 6,2¹¹.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SytHZWErOv8C&pg=PA43&lpq=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=qJ-uUNiSG5DuuQHJ4IHwCq&ved=0CE0Q6AEWBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

2.5. FERMENTACIÓN.

En esta operación los azúcares reductores contenidos en el mosto son transformados por acción de las levaduras, mayoritariamente en alcohol etílico y dióxido de carbono; también se obtienen compuestos que participan en las características sensoriales del tequila.

La reacción que se lleva a cabo en forma general es:



Los parámetros a controlar en la fermentación son la población celular de levaduras, la carga microbiana, el porcentaje de inóculo, la temperatura, el pH, grados Brix y grado alcohólico.

En los fermentadores se lleva a cabo un monitoreo cada dos horas, generando un historial de agotamiento de azúcares. El tiempo que tarda la fermentación en concluir se encuentra entre las 22 y 24 horas.

La industria del tequila maneja los tanques de fermentación en sistema abierto, en su gran mayoría tipo batch. El sistema abierto facilita el ingreso de oxígeno al jugo en fermentación, que no es favorable, puesto que la presencia de oxígeno afecta la fermentación alcohólica. Por esta razón se hace preferible realizar la fermentación en tanques cerrados, lo que permitirá la formación de una capa de dióxido de carbono en la superficie del jugo, impidiendo el acceso al oxígeno.

El jugo cargado debe estar entre 11,5 y 13 °Brix, siendo estos valores en los que la levadura tiene mayor eficiencia. La industria tequilera maneja Brix bajos para reducir los tiempos de fermentación y porque no se ha encontrado una especie de levadura de mayor tolerancia a las altas concentraciones de alcohol y otras variables; esto es basado en múltiples ensayos, en donde se ha concluido que existe en el jugo del agave uno o varios compuestos que limitan la fermentación, aún con especies que se sabe que en otros jugos son altamente productoras de alcohol.

El medio debe tener carácter ácido, manejando pH de 3,8 a 4,0. Se ha llegado a pensar que esta acidez del jugo de la piña del agave tiene incidencia mayoritaria en la limitación de la levadura. El 85% de las casas tequileras utilizan levadura comercial.

La fermentación es la operación unitaria menos explorada por el tequilero, sin embargo, actualmente algunas industrias tequileras han promovido la investigación y desarrollo en el área bioquímica e ingeniería genética para optimizar esta operación.

El CO₂ producido en la fermentación no es recogido, ya que para recolectarlo y comprimirlo se requieren equipos muy costosos y su procesamiento resulta poco atractivo para el industrial tequilero.

La temperatura de la fermentación debe estar entre los 30 y los 38 °C; temperaturas mayores producen arrastre de alcohol por CO₂.

En la fermentación es necesario incluir nutrientes. La urea es la fuente de nitrógeno por excelencia y es bien aceptada por la levadura, pero tiene el problema que en reacción con el etanol produce el carbamato de etilo, compuesto que cuando sobrepasa los valores admitidos, puede llegar a ser cancerígeno, y por tanto en la UE es exigido su control y permitido un máximo de 50 ppb (partes por billón) en el tequila.

Comercialmente, se encuentran en el mercado, nutrientes para la fermentación, pero a un alto costo, por lo que el industrial prefiere comprar la urea. En los últimos años se ha trabajado en conjunto con el industrial tequilero en la preparación de una fuente de nitrógeno orgánico mayoritariamente, de tal forma que se reduzca el uso de la urea y de las fuentes de nitrógeno inorgánicas. El principal candidato para el reemplazo es el fosfato triamónico, excelente para procesos de fermentación y en ningún momento se genera carbamato de etilo.

Otros elementos que dan fuerza a la fermentación son; Magnesio, Zinc, Potasio, Hierro, algunas vitaminas como Tiamina, Complejo B, entre otros.

El grado alcohólico alcanzado por el mosto al finalizar la fermentación es del orden de 6% Alc. Vol¹¹.

2.5.1. COMPUESTOS GENERADOS EN LA FERMENTACIÓN.

En el proceso fermentativo se produce gran variedad de compuestos químicos, como son aldehídos, ésteres, alcoholes superiores, ácidos orgánicos, entre otros. Los listados a continuación son los compuestos controlados por el Consejo Regulador de Tequila.

Tabla 3. Compuestos generados en la fermentación.

ÉSTERES	ALDEHÍDO	ALCOHOLES SUPERIOES	ÁCIDOS ORGÁNICOS
Acetato de etilo	Acetaldehído	2-butanol	Acetato
Acetal		n-propanol	Maltato
Lactato de etilo		Iso-butanol	Succinato
		n-pentanol	Citrato
		2-pentanol	
		Iso-amílico	
		n-butanol.	

Los alcoholes superiores sobre los cuales se tiene mayor control cuantitativo son 2-pentanol, n-propanol, alcohol isoamílico, n-butanol, iso-butanol, por su incidencia negativa a nivel sensorial; estos alcoholes para su formación dependen de la levadura, los nutrientes utilizados y la temperatura de trabajo, entre otras variables.

En el caso de los ésteres, el de mayor predominio dentro de los tequilas es el lactato de etilo, con una concentración aproximada de 20 a 25 mg/ml, y en el caso de los alcoholes superiores, el de mayor predominio es el isoamílico, el más aromático de todos.

La mezcla de estos compuestos químicos es lo que le da la característica única al tequila. Todos los tequilas las tienen pero en diferentes proporciones lo que marca la diferencia en el aroma y en el sabor de las diferentes marcas. Más del 85 por ciento de los aromas y sabores del tequila se forman en la fermentación, lo que se constituye en la huella digital del producto¹¹.

2.6. DESTILACIÓN.

Es la separación de los componentes de una mezcla compleja y líquida por vaporización parcial de ésta, recuperación de los vapores y el residuo, que depende de la distribución de las sustancias entre una fase de vapor y una fase líquida.

Para la destilación del tequila se utilizan en su mayoría alambiques de cobre y en su menor cantidad alambiques de acero inoxidable, también hace presencia la utilización de torres continuas. El cobre tiene la particularidad que actúa sobre compuestos sulfurosos, con lo cual elimina o disminuye su incidencia en el producto final considerada perjudicial.

La destilación se realiza en dos etapas: la primera se le llama destrozamiento y su objetivo es un producto llamado ordinario, el cual tiene unas características sensoriales a fusel y muy aromático debido a la elevada cantidad, entre otras sustancias, de alcoholes superiores producidas en la fermentación, su graduación alcohólica está entre los 25 y 45 % Alc. Vol., además se obtiene en esta misma etapa un corte de cabezas que corresponde a unos pocos litros que se retiran al inicio de la destilación antes de sacar el ordinario y corresponde en su mayoría a alcoholes superiores, por los fondos se extraen las vinazas, con un pH entre 3,2 y 3,5 y una DQO de 60.000 mg/L.

La cantidad de vinaza depende de la producción en litros de alcohol rectificado o tequila, así, la producción de estas vinazas están en orden de los 10 a 11 litros por litro de tequila; los sistemas utilizados en los tratamientos realizados a las vinazas, las colocan en un medio adecuado y se le dan las condiciones de vertimiento.

Cuando la primera destilación se realiza en torres continuas, no es necesario realizar el corte de cabezas, porque como es un proceso continuo, interesa obtener todos los alcoholes. Existen dos formas de llevar a cabo el destrozamiento: en torres continuas o alambiques, en acero inoxidable y cobre.

La segunda destilación es llamada rectificación y en ésta están más equilibrados los aromas. El producto del destrozamiento "ordinario" ingresa a la rectificación para refinar su composición, en donde se obtienen tres productos: cabezas, corazón y colas. Los primeros litros son llamados cabezas y cuando es realizado en alambique se retiran aproximadamente 40 litros (está cantidad varía entre las diferentes empresas tequileras), el destilado siguiente es el corazón.

El corazón es propiamente el tequila, puesto que es obtenido con un perfil estándar, 40 a 60% en volumen. El grado alcohólico se monitorea permanentemente, de tal forma que cuando es registrado 40% de alcohol en volumen, se corta el vapor y se interrumpe la separación de corazón y se da paso a la recolección de las colas; a partir de este punto son perceptibles las trazas de metanol y alcoholes superiores.

El corazón, que es el tequila, es diluido a una concentración del 55% en volumen para poder ingresar a maduración. La Norma Oficial Mexicana establece que para la maduración, el tequila debe ingresar a una concentración entre 35 y 55% en volumen de alcohol. La norma exige que el agua de dilución debe ser desmineralizada, potable o destilada; el agua potable puede traer consecuencias perjudiciales al tequila por el cloro y en caso de ser alcalina puede neutralizar el destilado con lo cual, al desaparecer o disminuir el ácido acético, afecta la producción de ésteres, importante en el producto madurado; el agua destilada tiene costos elevados, por lo cual es más recomendable utilizar agua desmineralizada¹¹.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SythZWErOv8C&pg=PA43&pg=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=qJ-uUNiSG5DuqQHJ4IHwCg&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

2.7. MADURACIÓN.

La maduración es la transformación fisicoquímica lenta del producto, que se realiza por el contacto del alcohol rectificado, producto de la segunda destilación, con la madera de roble o encino, la cual le adiciona características organolépticas especiales, en forma natural. Esta operación debe realizarse por el productor autorizado en el territorio que comprende la declaración.

Durante el tiempo que permanece el alcohol rectificado al interior del barril se dan cambios sensoriales, causados principalmente por tres fenómenos; oxidación, reacciones químicas, formación y liberación de compuestos del barril por su contacto con el alcohol. Este es el origen de los aromas terciarios

La norma mexicana especifica que la madera a utilizar en la maduración del tequila debe ser roble o encino; en la industria tequilera se utiliza el roble francés, americano y canadiense, y el encino.

Los robles americanos proporcionan notas a madera; el canadiense, notas amables; y el francés, notas a frutas secas (avainilladas). El encino aporta notas amaderadas, florales y frutales.

El tiempo de maduración depende de la clase de tequila que se esté produciendo, de la siguiente manera: para el caso de tequila reposado, mínimo dos meses; para un tequila añejo, mínimo un año; y para un tequila extra añejo, mínimo tres años¹¹.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SytHZWErOv8C&pg=PA43&lpg=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=gJ-uUNiSG5DugQHJ4IHwCg&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

El volumen del barril incide en las características sensoriales del producto final, por su mayor o menor relación área de contacto/volumen de alcohol rectificado; la norma mexicana especifica recipientes para tequilas añejos y extra añejos un volumen máximo de 600 litros. Un barril de 600 litros tiene un área de contacto por volumen cercano a $60 \text{ cm}^2/\text{litro}$, mientras que un barril de 200 litros tiene un área de contacto de $90 \text{ cm}^2/\text{litro}$; esa diferencia de $30 \text{ cm}^2/\text{litro}$ incide en la especificación organoléptica del producto.

La temperatura incide en la velocidad con que se presentan los cambios sensoriales en el tequila; cuando se realiza en climas cálidos, la maduración es rápida y cuando ocurre en climas templados, la maduración es lenta.

La humedad relativa incide en la maduración, al afectar el grado alcoholimétrico de la bebida; a una elevada humedad relativa se presenta pérdida de alcohol, y por tanto, baja la graduación alcoholimétrica durante la maduración; cuando se tiene una baja humedad relativa se pierde agua y la graduación alcoholimétrica durante la maduración aumenta¹¹.

CAPÍTULO 3

CATEGORÍAS

Y CLASES DE

TEQUILA



3. CATEGORÍAS Y CLASES DE TEQUILA.

3.1. CATEGORÍAS.

Los tequilas se clasifican de acuerdo al porcentaje de azúcares provenientes del agave que se utilicen en su elaboración; y se pueden agrupar en una de las siguientes categorías.

3.1.1. TEQUILA 100% DE AGAVE.

Es el producto, que no es susceptible de ser enriquecido con otros azúcares distintos a los obtenidos del agave tequilana weber variedad azul cultivado en el territorio comprendido en la declaración. Para que este producto sea considerado como “tequila 100% de agave” debe ser envasado en la planta que controle el propio productor autorizado, misma que debe estar ubicada dentro del territorio comprendido en la declaración²⁵.

3.1.2. TEQUILA.

Este es el producto en el que los mostos son susceptibles 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; ya que sólo se podrá incrementar el 51% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa con azúcares reductores totales provenientes de agave tequilana weber variedad azul cultivado en el territorio comprendido en la declaración.

Este producto puede ser envasado en plantas ajenas a un productor autorizado, siempre y cuando los envasadores cumplan con los siguientes requisitos:

a) El envasador debe obtener de la SE un certificado de aprobación, conforme a los procedimientos de evaluación de la conformidad que emita la misma, el cual no sustituirá a los demás certificados expedidos en términos de lo dispuesto por esta NOM y sus procedimientos de certificación.

b) El envasador que haya obtenido el certificado de aprobación por parte de la SE, debe reportar en forma trimestral al organismo evaluador de la conformidad, todos los movimientos de entrada y salida de tequila de sus instalaciones, sus inventarios iniciales y finales del periodo, así como las mermas del periodo reportado. Estos reportes deben ser detallados por marcas específicas en el caso de productos envasados

como tequila y en forma global con todas las marcas que maneje el envasador en el caso de productos envasados que contengan tequila.

- c) Los productores autorizados son responsables de:
- Tramitar el certificado de aprobación del envasador ante la SE.
 - Coadyuvar a la entrega en tiempo y forma de los reportes trimestrales señalados en el inciso b anterior.
 - Realizar los trámites correspondientes para que el organismo evaluador de la conformidad tenga las facilidades necesarias para realizar inspecciones, en caso de que existan elementos que a juicio del organismo evaluador de la conformidad ameriten una inspección en situ.

En caso que el organismo evaluador de la conformidad o la dependencia competente determinen un incumplimiento de las obligaciones contenidas, no emitirá el certificado de traslado nacional o de exportación de tequila según corresponda y la SE cancelará el certificado de aprobación del envasador correspondiente²⁵.

3.2. CLASES DE TEQUILA.

El tequila se vende en las siguientes categorías: tequila blanco o plata, tequila joven u oro, tequila reposado, tequila añejo y tequila extra añejo.

Existen cinco clases de tequila, que dependen de su tiempo de añejamiento.

3.2.1. TEQUILA BLANCO O PLATA.

Producto cuyo contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución²⁵. Este tequila se vende recién destilado y puede ser comercializado adicionándole agua mineral para conseguir la graduación alcohólica requerida³⁰. Pasa a las embotelladoras casi inmediatamente, es decir que solo está en barricas de encino unas horas o días por lo cual su sabor no varía.

En las botellas tiene una graduación mínima de 38°GL y hasta un máximo de 46°GL.

²⁵ NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES. Disponible en: <http://www.cft.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf> [2012, Octubre].

3.2.2. TEQUILA JOVEN U ORO.

Producto susceptible de ser abocado, su contenido alcohólico debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución²⁵. El resultado de las mezclas de tequila blanco con tequilas reposados y/o añejos y/o extra añejos, se considera como tequila joven u oro³⁰.

Reposa menos de 60 días en barricas de encino o roble. A veces es incoloro, pero frecuentemente es de un color dorado o ámbar. Su graduación es de 38°GL a 40°GL.

3.2.3. TEQUILA REPOSADO.

Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo mínimo dos meses hasta menos de un año en contacto directo con la madera de recipientes de roble o encino. Su contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución.

El resultado de las mezclas de tequila reposado con tequilas añejos o extra añejos, se considera como tequila reposado²⁵.

Se le puede añadir agentes aromatizantes y colorantes, así como agua desmineralizada para alcanzar la graduación alcohólica requerida³⁰.

Es más suave que el blanco, tiene un color natural dorado tenue hasta un ámbar claro, y su sabor tiene un dejo a madera. Su graduación al ser expedido al mercado también es de 35°GL y hasta un máximo de 55°GL.

3.2.4. TEQUILA AÑEJO.

Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos un año en contacto directo con la madera de recipientes de roble o encino, cuya capacidad máxima sea de 600 litros, su contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución²⁵.

El resultado de las mezclas de tequila añejo con tequila extra añejo se considera como tequila añejo³⁰.

Su color va de un dorado fuerte a un ámbar oscuro. Su sabor está fuertemente impregnado por la madera. Su graduación alcohólica es de 38 a 40°GL.

³⁰ Raicilla: La bebida espirituosa. Disponible en: <http://mx.vallartaonline.com/information/SpotLight/RaicillaLaBebidaEspirituosaPrimeradedospartes/> [2012, noviembre].

3.2.5. TEQUILA EXTRA AÑEJO.

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, en su caso, ajustarse con agua de dilución²⁵.

²⁵ NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES. Disponible en: <http://www.crt.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf> [2012, Octubre].

³⁰ Raicilla: La bebida espirituosa. Disponible en: <http://mx.vallartaonline.com/information/SpotLight/RaicillaLaBebidaespirituosaPrimeradedospartes/> [2012, noviembre].

3.3.- ESPECIFICACIONES FISICOQUÍMICAS DEL TEQUILA.

En la tabla 4 se señalan las especificaciones fisicoquímicas del tequila

Las cinco clases de tequila especificados presentan los mismo límites inferior y superior de graduación alcohólica, entre 35 y 55% Alc. Vol., así mismo, iguales límites para alcoholes superiores, entre 20 y 500 mL/100 mL de A.A.; e iguales niveles de metanol (entre 30 y 300 mL/100 mL de A.A.), iguales niveles de aldehídos (entre 0 y 40 mL/100 de A.A.), iguales niveles de furfural (entre 0 y 4 mg/100 mL de A.A). (Alcohol Anhidro).

Por otro lado, los ésteres tienen iguales niveles de exigencia para clases blanco y joven, entre 2 y 200 mg/100 mL de A.A.; Para las clases reposados, añejos y extra añejos los niveles van de 2 a 250 mg/100 mL de A.A.¹¹.

Tabla 4. Especificaciones fisicoquímicas del tequila.

Parámetros	Tequila Blanco		Tequila Joven u Oro		Tequila Reposado		Tequila Añejo		Tequila Extra añejo		Método de Ensayo (Prueba) (1)
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	
Contenido Alcohólico a 293 K (20°C) (%Alc. Vol.)	35	55	35	55	35	55	35	55	35	55	NMX-V-013-NORMEX
Extracto Seco (g/l)	0	0,30	0	5	0	5	0	5	0	5	NMX-V-017-NORMEX
Valores expresados en mg/100 ml de Alcohol Anhidro											
Alcoholes Superiores (alcoholes de peso molecular superior al alcohol etílico o aceite de fusel) (como Alcohol Amílico)	20	500	20	500	20	500	20	500	20	500	NMX-V-005-NORMEX
Metanol (2)	30	300	30	300	30	300	30	300	30	300	NMX-V-005-NORMEX
Aldehídos (como acetaldehído)	0	40	0	40	0	40	0	40	0	40	NMX-V-005-NORMEX
Esteres (como acetato de etilo)	2	200	2	200	2	250	2	250	2	250	NMX-V-005-NORMEX
Furfural	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	NMX-V-004-NORMEX

CAPÍTULO 4

CATADO



4. CATADO.

4.1. CATA.

La cata se realiza a través del análisis sensorial y tiene por objeto identificar las diferentes características organolépticas del tequila, analizarlas e interpretarlas.

En la cata, se revelan las características organolépticas del tequila, identificando los componentes que se encuentran.

Existen elementos importantes a considerar:

- Las copas deben ser tipo Riedel. La copa mide 19 centímetros de altura, tiene capacidad para doscientos diez mililitros y está hecha de cristal sin plomo.
- El mantel deberá ser blanco.
- Situar junto a las copas un plato con pan sin sabor y una botella de agua²⁸.

4.2. EXAMEN VISUAL.

La evaluación inicia a la vista, tomando la copa del tallo y levantándola a la altura de los ojos para observar la limpieza, es decir, que la bebida no contenga algún elemento extraño al tequila.

Posteriormente, se valora la intensidad y grado de color del líquido, pudiendo ir desde el color blanco, amarillo en sus diversas tonalidades hasta ámbar y cobrizos, dependiendo de la categoría del tequila que se evalúe.

A continuación, se acerca la copa hacia el mantel, con el fin de que ésta quede lo más horizontal posible a la mesa. Ahora, al observar la circunferencia del líquido al tocar la copa, se encuentran los matices, un delgado pero marcado anillo de color plateado, dorado, ámbar, etc.

Para finalizar esta etapa, se evalúa el cuerpo del tequila; para ello es necesario tomar la copa del tallo, levantándola nuevamente a la altura de los ojos, girándola en círculos para observar la corona que se forma alrededor de la misma, así como las gotas que se desprenden y caen hacia el fondo. A estas gotas se les llama “lágrimas” o “piernas”. Por lo que, entre más densas y anchas sean, y se deslicen lentamente, se habla de un gran cuerpo. Esto nos dice que la bebida ha tenido una perfecta destilación²⁸.

4.3. EXAMEN OLFATIVO.

En esta etapa, se identifican los aromas provenientes de nuestro tequila, conociendo a través de ellos, las materias primas y otros aspectos que influyeron en el proceso para obtener como resultado la bebida contenida en la copa.

Es así que, cuando nuestro agave creció en un terreno plano se pueden encontrar aromas cítricos y herbales; pero si fue en un terreno inclinado sus aromas serán frutales.

El olor a agave crudo o bien agave cocido, nos recuerda a las mieles de la calabaza cuando se está cociendo; olor a mantequilla o piña verde, dependerá del tiempo que tome el proceso de la fermentación; así como aromas de especias, flores, químicos y metales, son generados de acuerdo a como se haya llevado a cabo el proceso de destilación.

También están los más deliciosos aromas provenientes de la barrica, como la vainilla, chocolate, café, roble, encino, nuez, en el caso de tequila reposado y añejo.

Para ello, como primer paso, es necesario inclinar la copa hacia uno, colocando la nariz justo en la parte inferior interna de la boca de la misma, inhalar profundamente e identificar los aromas que se presentan.

Lo siguiente, es girar la copa y colocar la nariz en la parte central de la misma e identificar los componentes. Posteriormente en la parte superior interna de la copa y de igual manera, evaluar los aromas concentrados. Es muy importante tener en cuenta que en la parte superior se nota con mayor intensidad el alcohol, esto se debe a que aún le hace falta un poco de oxigenación.

El último paso en esta etapa, es verter unas gotas de tequila en la palma de la mano y frotar una con otra hasta que el líquido desaparezca. Y posteriormente, acercar la nariz a las manos para poder identificar el aroma que deja el tequila en la piel. Un buen tequila denotará agradables toques de agave, barrica o algún otro aroma parte del proceso²⁸.

²⁸ Pasos para realizar una evaluación sensorial de tequila (CATA). Disponible en: <http://ictpmexico.com/es/component/content/article/21.html> [2012, noviembre].

4.4. EXAMEN GUSTATIVO.

En la etapa gustativa, se da un pequeño trago al tequila, pasando el líquido por la lengua, el paladar, y las partes laterales de la boca, con el fin de impregnarse de los sabores del tequila. Se pasa el tequila al mismo tiempo que se toma aire por la boca y se exhala por la nariz, para poder reconocer los aromas que no se percibían tan fácilmente.

Es en esta fase en la que se puede apreciar si el tequila es ríspido, astringente, sedoso, amargo, dulce, generoso al paladar, entre otros. Es importante comer un trozo de pan y beber un poco de agua después de cada copa catada, para eliminar cualquier sabor y no afectar a la siguiente evaluación.

Una vez finalizadas las tres etapas del catado, se realiza un comparativo de los resultados, valorando si el líquido contenido en nuestra copa es coherente a la vista con respecto al olfato y al gusto. De ser así, entonces diremos que nuestro tequila es de un gran perfil²⁸.

4.5. AROMAS PRIMARIOS.

Estos son los que se desarrollan de la materia prima, agave cocido y agave crudo, el primero parecido al camote asado y el segundo nos recuerda a caña recién cortada.

Las características de clima influyen de manera considerable, en la región de los altos los agaves desarrollan más agua y menos fibra que en la zona de los valles; la primera es más fresca y la segunda es más cálida. En los altos los tequilas muestran tendencias frutales y en valles tendencias herbales¹¹.

Los aromas primarios, se forman por interacciones del suelo, clima y métodos de cultivo, y muchos de ellos son liberados por las levaduras durante la fermentación. Los aromas pre-fermentativos se producen durante la molienda de la piña, dando lugar a alcoholes y aldehídos¹².

²⁸ Pasos para realizar una evaluación sensorial de tequila (CATA). Disponible en: <http://ictpmexico.com/es/component/content/article/21.html> [2012, noviembre].

4.6. AROMAS SECUNDARIOS.

Estos son desarrollados durante el proceso industrial: cosecha, jima, molienda, fermentación, destilación y dilución. La jima alta desarrolla tequilas con tendencia al amargo; en las que sus piñas fueron jimadas a ras, eliminan ese tono¹¹.

4.7. AROMAS TERCIARIOS.

Generados por los aportes que les confiere el abrigo en barrica, tales como la vainilla, caramelo, maple, soya, entre otros¹¹.

¹¹ Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SytHZWErOv8C&pg=PA43&lpq=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=qJ-uUNiSG5DduqQHJ4IHwCq&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20%20tequila&f=true> [2012, noviembre].

¹² El tequila, su aroma y su sabor. Disponible en: http://www.revistaciencias.unam.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=276%3Ael-tequila-su-aroma-y-su-sabor&catid=48&Itemid=48 [2012, noviembre].

CAPÍTULO 5

TÉCNICAS

ANALÍTICAS



5. TÉCNICAS ANALÍTICAS.

5.1. ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS.

Los análisis fisicoquímicos suelen estar apoyados en el empleo de instrumentos que responden a los más variados principios físicos y químicos. Entre ellos cabe destacar las técnicas espectrofotométricas, turbidimétricas, de absorción atómica, cromatográficas (tanto en fase líquida como en fase gas líquido), electroforéticas, analítica térmico diferencial y reológicas.

En el análisis fisicoquímico se utilizan las interacciones energía materia para efectuar la cuantificación o cualificación del analito (valoraciones instrumentales). A los métodos fisicoquímicos se les suele llamar métodos instrumentales de análisis¹⁷.

5.1.1. DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES.

Normalmente se utiliza el método de Lane - Eynon.

Los azúcares reductores son, monosacáridos o disacáridos que pueden ceder electrones a otras moléculas y puede, por tanto, actuar como agente reductor. La presencia de un grupo cetona (-CO-) o aldehído (-CHO) libre permite a la mayoría de los monosacáridos y polisacáridos actuar como azúcares reductores¹⁴.

FUNDAMENTO: Se llaman azúcares reductores a los que tienen la capacidad de reducir soluciones alcalinas de cobre, bismuto o mercurio. El más utilizado es el cobre. Para la determinación analítica, su medio alcalino lo proporciona una solución de tartrato de sodio y potasio.

Se aplica para la determinación de azúcares invertidos o reductores totales contenidos en las materias primas utilizadas para elaborar tequila o materiales en proceso previo a la fermentación.

¹⁴ Inmaculada Julián., Regino Sáez., Susana Martínez. (Marzo 2003). Diccionarios Oxford – Química. [En línea]. Madrid: Complutense. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=VmdvQfFbg9UC&pg=PA66&dq=azucare+reductores&hl=es-419&sa=X&ei=IDe0UITRE4yo8QTimIDICw&ved=0CDIQ6AEwAg#v=onepage&q=azucare%20reductores&f=false> [2012, noviembre].

¹⁷ José Bello Gutiérrez. (2000). CIENCIA BROMATOLÓGICA principios generales de los alimentos. [En línea]. Madrid, España: Díaz de Santos. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=94BiLLKBJ6UC&pg=PA268&dq=analisis+fisicoquimicos&hl=es-419&sa=X&ei=eBK0UP6OLYSvyqGpnICICg&sqj=2&ved=0CC8Q6AEwAQ#v=onepage&q=analisis%20fisicoquimicos&f=true> [2012, noviembre].

PROCEDIMIENTO: Debido a la diversidad de muestras para la determinación de azúcares reductores, se hace uso de tablas y procedimientos generales.

En la tabla 5 se muestra la relación entre la concentración de °Brix y el volumen de muestra que se debe manejar en muestras líquidas; y en la tabla 6 se muestra la dilución de trabajo dependiendo del tipo de muestra.

Tabla 5. Relación de °Bx y volumen de muestra en muestras líquidas.

Intervalo de concentración (Grados Brix)	Volumen de muestra (ml)	Volumen total de la dilución (ml)
0,0-1,2	50	200
1,3-1,9	50	250
2,0-3,9	50	250
4,0-8,0	25	1000
8,1-14,0	20	1000
14,1-18,0	20	1000
18,1-25,0	10	1000
25,1-40,0	5	2000

Tabla 6. Relación de tipo de muestra a manejar.

Muestra	Peso de muestra (gr)	Dilución total (ml)
Agave crudo	100	5:600
Agave cocido	100	5:600
Bagazo	500	5:80
Azúcar granular	2,0	2:1000

TOMA DE MUESTRAS.

- Muestreo de agave crudo y cocido:

Se toman tres piñas representativas del lote a analizar.

Tomar 100 gr de muestra en aserrín de cada una de ellas, homogenizando perfectamente las tres porciones. De la muestra total, tomar exactamente 100 gr, pesarlos en balanza granataria y colocarlos en una licuadora industrial. Licuar la muestra tres veces con un litro de agua cada una por dos minutos, filtrar los licuados y hacer un solo extracto con los tres. Tomar 50 ml del extracto representativo y colocarlo en un matraz volumétrico de 200 ml. Hidrolizar.

- Muestreo de bagazo:

Tomar muestra representativa de fibra del último molino a diferentes puntos. Pesar 500 gr de esta muestra previamente homogenizada. En licuadora industrial, licuar en cuatro litros de agua por espacio de dos minutos. Filtrar por malla fina y, del extracto, colocar 100 ml en un matraz volumétrico de 200 ml. Hidrolizar¹.

HIDRÓLISIS DE MUESTRAS PARA DETERMINACIÓN DE ART.

La hidrólisis de una muestra se hace cuando:

- a) El requerimiento de la determinación sea de ART. De lo contrario, no se hace hidrólisis, y la muestra se titula directamente con su respectiva dilución.
- b) Cuando la muestra sea de azúcar granular, jarabe de azúcar granular o algún azúcar que esté en forma de polisacárido.

Si la muestra es líquida, hidrolizar directamente. Si la muestra es granular o pastosa, diluir con un poco de agua destilada. Agregar al matraz con la muestra 5 ml de HCL 6.34 N.

Colocar el matraz en baño maría a temperatura controlada de 68 - 70°C durante 5 minutos, introduciendo un termómetro al interior del matraz para saber el momento exacto cuando la solución llegue a la temperatura deseada.

Enfriar a temperatura ambiente y neutralizar con NaOH 2N usando fenolftaleína como indicador. Aforar con agua destilada enjuagando el termómetro y homogenizar. Titular.

TITULACIÓN.

Llenar una bureta con la solución azucarada a valorar. En un matraz Erlenmeyer de 250 ml colocar 5 ml de la solución "A" y 5 ml de la solución "B" del reactivo de Fehling. Agregar 10 ml de agua destilada y unas cuantas perlas de vidrio; poner el matraz a calentamiento.

Una vez que comience a bullir la solución de Fehling, empezar la titulación. Cuando se observe un ligero cambio de color azul a rojizo, agregar unas gotas de azul de metileno. La titulación termina cuando el color azul desaparezca y se observe una total coloración rojo ladrillo. Leer en la bureta el gasto de solución azucarada para el cálculo¹.

CÁLCULOS.

a) Para agave crudo, cocido, jugos de agave y bagazo:

$$\% \text{ A. R.} = \frac{(0.05128)(100)}{(\text{FD})(\text{Vg})}$$

Donde:

*Lectura en tabla.

FD: Factor de Dilución.

Vg: Volumen gastado en la titulación.

b) Para azúcar granular y jarabes:

$$\% \text{ A. R.} = \frac{(0.05128)(100)}{(\text{Wm})(\text{Vg})}$$

○

$$\% \text{ A. R.} = \frac{* \text{ Lectura en la tabla según Vg en titulación.}}{(\text{FD})}$$

Donde:

*Lectura en tabla.

FD: Factor de Dilución.

Vg: Volumen gastado.

Wm: Peso de la muestra.

Por lo tanto,

$$\% \text{ A. R.} = \left(\text{g de } \frac{\text{ART}}{\text{L}} \text{ de solución} \right) = (\% \text{ A. R.})(\text{densidad})$$

5.1.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE FIBRA.

MÉTODO GRAVIMÉTRICO.

FUNDAMENTO: Se basa en la diferencia de pesos de una muestra después de someterla a una extracción de inulina y su respectiva deshidratación. Para cualquier tipo de agave.

PROCEDIMIENTO: En una balanza analítica se pesan 100 gramos de muestra, se transfieren a un vaso de precipitados de un litro y se agregan 500 ml de agua destilada. Se calienta durante 30 minutos a unos 80-85 °C, se filtra con papel filtro y se desecha el filtrado, la fibra se regresa al vaso de precipitado y se repite esta operación dos veces más.

A la fibra de la tercera extracción se le transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada (la cápsula de porcelana debe presentar peso constante). El papel filtro se enjuaga con agua destilada haciendo que ésta caiga también en la cápsula.

La cápsula con la fibra y el agua se llevan a un horno a 80 °C hasta que se consiga el peso constante¹.

CÁLCULOS:

Peso de fibra = peso total – peso de la cápsula

Peso total = peso de fibra con agua – peso de la cápsula

$$\% \text{ de Fibra} = \frac{\text{peso de fibra}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

5.1.3. DETERMINACIÓN PORCENTAJE DE HUMEDAD EN AGAVE CRUDO.

MÉTODO GRAVIMÉTRICO

FUNDAMENTO: Se basa en la diferencia de pesos de una muestra deshidratada. Aplica para cualquier parte del agave y para cualquier otra materia prima en la producción del tequila.

PROCEDIMIENTO: En una cápsula de porcelana que esté a peso constante, adicionar la cantidad de muestra necesaria para su análisis. Evaporar en baño de agua hasta completa sequedad. Pasar la cápsula a una estufa con una temperatura de 100-105 °C durante 2 horas. Una vez que nos de peso constante por dos ocasiones como mínimo, anotar el resultado¹.

CÁLCULOS:

$$Es = \frac{(Me - Mv)(1,000)}{V}$$

Donde:

Es= Extracto seco, expresado en g/L.

Me= Peso de la cápsula + Extracto seco (g).

Mv= Peso de la cápsula vacía (g)

V= Volumen de la muestra (L)

1000= Para expresión en litros.

5.1.4. DETERMINACIÓN DE CENIZAS.

FUNDAMENTO: Se basa en la separación del material inorgánico no combustible por medio de la carbonización del material orgánico combustible de una muestra de agave.

PROCEDIMIENTO: La cápsula de porcelana que contiene el residuo del extracto seco, se coloca en la mufla a temperatura ambiente y se programa para que llegue a 525 °C. Se mantiene a esa temperatura hasta obtener cenizas blancas (aproximadamente 20 minutos). Una vez que tome estas características, se apaga la mufla y se deja hasta que llegue a 200 °C. Meter a desecador a enfriar a temperatura ambiente. Llevar la cápsula a peso constante¹.

CÁLCULOS:

$$C = \frac{(M_c - M_v)(1 \times 10^6)}{V}$$

Donde:

C = Cenizas expresadas en mg/L.

M_c = Peso de la cápsula + cenizas (mg)

M_v = Peso de la cápsula vacía (mg)

V = Volumen de la muestra (L)

5.1.5. DETERMINACIÓN DE PUREZA EN MIELES.

FUNDAMENTO: Se fundamenta en la separación de las sustancias no azucaradas de la mezcla de mieles por precipitación mediante una reacción química. Se realiza en mieles incristalizables, melaza y meladura.

PROCEDIMIENTO: Pesar un kilo de mieles en la balanza granataria. Llevar esta miel a 25 °Bx con agua destilada. Agregar 10 ml de H₂SO₄ concentrado y llevarlo a 68-70 °C por espacio de 15 minutos. Dejarlo reposar durante 2 horas y leer el volumen de sólidos¹.

CÁLCULOS:

$$\% \text{ de Pureza} = \frac{(1,000 - V_s)(\text{Dilución})(100)}{1,000}$$

Donde:

V_s = Volumen del sedimento (L).

Dilución = Volumen total obtenido llevando la miel a 25 °Bx.

5.1.6. ACIDEZ TOTAL.

FUNDAMENTO: Determina los compuestos que trabajan al rango de un pH determinado. Para cualquier tipo de muestras con pH ácido.

Determinación de los ácidos valorables en gramos: es la acidez total presente en la muestra, expresada en miligramos de ácido acético por 100 cm³ de muestra y referidos a alcohol anhidro²⁴.

PROCEDIMIENTO: Tomar 100 ml de muestra en un matraz de 250 ml. Agregar 5 gotas de fenolftaleína como indicador. Titular con NaOH al 0,1% hasta aparición de color rosado¹.

CÁLCULOS:

$$g/L = \frac{(Vg)(6)}{Vmta}$$

Donde:

Vg= Volumen gastado (L).

Vmta= Volumen de muestra (L).

5.1.7. DETERMINACIÓN DE LA RIQUEZA ALCOHÓLICA.

FUNDAMENTO: Separar por destilación el alcohol contenido en una sustancia sólida o líquida. En ebulometría se aprovechan las diferentes temperaturas de evaporación de los líquidos contenidos en una muestra para determinar su concentración alcohólica.

Aplica para jugos, mostos muertos, vinazas, flemaza y producto terminado¹.

¹ Alejandro Chávez Cárdenas., Arlén Sánchez Valdés., Guillermo Sánchez Rodríguez. (2010). Competitividad del comité del sistema producto agave tequilero Michoacán A.C. Morelia, Michoacán: Fundación produce Michoacán.

A. PROCEDIMIENTO POR DESTILACIÓN.

Llenar con muestra hasta la línea de aforo un matraz balón de 250 o 500 ml, medir la temperatura y pasarlo al matraz de destilación del equipo ya instalado, enjuagar el matraz balón dos veces con un poco de agua, pasando las aguas de lavado a dicho matraz, abrir el agua del condensador y encender el mechero para iniciar la destilación.

La destilación termina cuando el destilado llegue poco antes de la línea de aforo del matraz de recolección que debe ser el mismo con el que se midió la muestra. Llevar el destilado recolectado a la temperatura que tenía inicialmente la muestra para poder medir su contenido alcohólico. Una vez atemperado el destilado, se afora con agua destilada y se vierte en una probeta con capacidad suficiente.

Se introduce un alcoholímetro con rango del que se suponga el destilado.

CÁLCULOS:

Se toma la lectura y se corrige con temperatura, sí es necesario, de acuerdo a la técnica de determinación del % A.V¹.

B. PROCEDIMIENTO POR EBULLICIÓN.

Esta técnica se realiza con un ebullómetro Dujardin Salleron en el que se debe hacer una calibración previa debida a la presión barométrica de acuerdo al lugar, de la siguiente forma:

Montar el ebullómetro. Medir 25 ml de agua destilada y colocarlos en la cámara del ebullómetro, cerrarlo con el tapón que contiene el termómetro, encender el mechero de alcohol. Esperar a que la temperatura que marque el termómetro sea constante, registrar la temperatura. Esta temperatura es la calibración en ese lugar.

Una vez calibrado se vacía el ebullómetro y se enfría al chorro de agua. Medir 25 ml de muestra, colocarlos en la cámara del ebullómetro y cerrarlo con el tapón que contiene el termómetro, encender el mechero de alcohol. Esperar a que la temperatura que marque el termómetro sea constante, registrar la temperatura.

Obtener el grado alcohólico haciendo coincidir el cero de la tabla giratoria con la lectura de ebullición del agua; la lectura que marque los 100 °C de ebullición en la misma tabla será la riqueza alcohólica que contenga la muestra¹.

5.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.

En todas las bebidas alcohólicas, el alcohol es elaborado por el mismo proceso bioquímico, la fermentación: el azúcar presente en las frutas o vegetales es mezclado con agua y levadura, la mezcla genera alcohol y gas carbónico. Las bebidas destiladas, como el tequila, son muy estables.

El análisis microbiológico no mejora la calidad, sino que permite valorar la carga microbiana, señalando los posibles puntos de riesgo de contaminación o multiplicación microbiana.

Principalmente se usan para³:

- Seguridad higiénica del producto.
- Ejecución de prácticas adecuadas de producción.
- Generar calidad comercial y mantenerla en los productos.

5.2.1. CONTAMINACIÓN MICROBIANA.

La contaminación microbiana de las materias primas empleadas en la elaboración del producto alimenticio puede tener orígenes más diversos: agua, suelo, aire, polvo, etc. Influida por el ambiente¹⁷.

FUNDAMENTO: Los microorganismos unicelulares tienden a teñirse en contacto con ciertos compuestos químicos cuando dejan de ejercer sus funciones; se aprovecha el azul de metileno, ya que tiene la capacidad de ejercer esta acción. Aplica para todos los productos del proceso.

PROCEDIMIENTO: En un tubo de ensayo esterilizado, se coloca 1 ml de muestra y se le agrega una pizca de papaína. Dejar reposar por espacio de 5 minutos. Enseguida agregar 1 ml de azul de metileno al 0,1%. De esta solución se toma 3 microlitros, se colocan en un portaobjetos, tapar con un cubreobjetos y en el microscopio se observan 50 campos a inmersión con el objeto 100X¹.

³ Alicia Hernández. Microbiología Industrial. [En línea]. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=KFq4oEQQjdEC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false> [2012, noviembre].

CÁLCULOS:

$$\text{No. Bacilos/}_{\text{mL}} = \frac{(\text{No. Bacilos contados})(31\ 441,23)(2)}{\frac{\text{No. de campos}}{0,003}}$$

Donde:

31 441,23: es el volumen que se encuentra entre el portaobjetos y el cubreobjetos.

2: es el volumen total de la preparación. Es decir, la suma del volumen de la muestra y el volumen de azul de metileno agregado.

0,003: son los tres microlitros colocados en el portaobjetos expresado en ml.

5.2.2. RECuento DE LEVADURAS.

Las levaduras son hongos unicelulares de forma esférica, alargada, ovoide, piriforme y a veces en formas de micelios. Su tamaño supera a las bacterias. Pueden producir alteraciones de los productos alimenticios, sobre todo en aquellos con pH bajo y presión atmosférica elevada.

FUNDAMENTO: Los microorganismos unicelulares tienden a teñirse en contacto con ciertos compuestos químicos cuando dejan de ejercer sus funciones. Para esto se aprovecha la eritrosina, la cual tiñe las levaduras muertas de rojo pero no puede penetrar en las levaduras vivas. Aplica para todo tipo de levaduras y cualquier caldo que las contenga¹⁸.

PROCEDIMIENTO: En un matraz volumétrico de 100 ml se colocan 5 ml de muestra y se aforan con agua destilada. De esta solución se toma 1 ml y se lleva a un tubo de ensaye, al cual se le adiciona una pizca de papaína y se deja reposar por 5 minutos. Al término de este tiempo se agrega 1 ml de eritrosina al 1%. Enseguida, con pipeta Pasteur, se coloca una gota en el hematímetro, se deja reposar por 2 minutos en cámara de Neubauer y se cuentan las levaduras de 10 campos con el objetivo 40X.

Las levaduras vivas en cualquier estado (solas o en gemación) se ven transparentes y las levaduras muertas (solas o en gemación) aparecen teñidas de rojo¹.

CÁLCULOS:

$$\text{Población} = \frac{(\text{No. Total de levaduras contadas})(4,000)(\text{F. D.})(100)}{160}$$

Donde:

Población: expresado $\times 10^6$ por ml.

4000: es el volumen entre el hematímetro y el cubrehematímetro.

F.D.: Factor de Dilución.

160: es el volumen total de los cuadrantes observados.

Número total de levaduras contadas en los diez campos = levaduras vivas + levaduras muertas + levaduras en gemación.

Expresadas exponencialmente $\times 10^6$.

$$\% \text{ de Viabilidad} = \frac{(\text{Número total de levaduras vivas})(100)}{\text{población}}$$

Donde:

Número de levaduras vivas = Levaduras vivas + levaduras en gemación vivas.

$$\% \text{ de Gemación} = \frac{(\text{Número de levaduras vivas en gemación})(100)}{\text{Número total de levaduras vivas}}$$

5.3. ANÁLISIS INSTRUMENTAL.

A principios de siglo XX, los científicos comenzaron a explotar fenómenos distintos de los usados en los métodos clásicos para resolver problemas analíticos. Por tanto, la medición de propiedades físicas del analito, tales como conductividad, potencial de electrodo, absorción de la luz o emisión de la luz, relación masa carga y fluorescencia empezaron a usarse en el análisis cuantitativo.

Además técnicas cromatográficas y electroforéticas muy efectivas empezaron a reemplazar la destilación, la extracción y la precipitación para la separación de componentes de mezclas complejas antes de su determinación cualitativa o cuantitativa. Estos métodos más recientes para separar y determinar especies químicas se conocen como métodos instrumentales de análisis.

Muchos de los fenómenos sobre los que se apoyan los métodos instrumentales se han conocido desde hace un siglo o más. Sin embargo, su aplicación por parte de la mayoría de los científicos se retrasó por la carencia de instrumentos confiables y sencillos. De hecho, el desarrollo de los modernos métodos instrumentales de análisis es paralelo al desarrollo de la electrónica y la industria de computación¹⁰.

5.3.1. DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA.

Método físico. Uso del termómetro de alcohol o mercurio.

FUNDAMENTO: Se aprovecha la propiedad que tiene el mercurio y el alcohol de expandirse con el calor y de contraerse con el frío. Aplica para cualquier sustancia líquida.

PROCEDIMIENTO: Se agita la muestra perfectamente para que la temperatura sea homogénea. Sin que el bulbo del termómetro toque las paredes del recipiente, se introduce en la muestra hasta más o menos el centro. Se mantiene el termómetro en esta posición aproximadamente 15 segundos o hasta que la lectura se estabilice. Anotar la lectura. Sacar el termómetro de la muestra y enjuagarlo al chorro de agua¹.

¹⁰ Douglas A. Skoog., F. James Holler., Stanley R. Crouch. (2008). Principios de análisis Instrumental. [En línea]. México, D.F.: Learning. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=7FOyZbb7q8UC&printsec=frontcover&dq=el+análisis+instrumental&hl=en&sa=X&ei=uVy1UOaDItOogwHkmoGoAg&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q=el%20análisis%20instrumental&f=false> [2012, noviembre].

5.3.2. DETERMINACIÓN DEL GRADO BRIX.

Los grados Brix proporcionan una medida objetiva de la concentración de azúcar disuelto en un producto y da la idea del nivel de dulzura del mismo. Los grados Brix se miden usando el refractómetro¹⁰.

FUNDAMENTO: El grado Brix, genéricamente es el porcentaje de sólidos disueltos en una muestra. Específicamente el sacarímetro Brix, se utiliza para determinar el porcentaje de azúcar disuelta que contiene una sustancia. Se aprovecha la capacidad que tienen los sólidos disueltos en una sustancia de sostener un determinado peso en su superficie.

Aplica para todas las muestras azucaradas que se generan en cualquier parte del proceso de la elaboración del tequila.

PROCEDIMIENTO: En una probeta de cualquier capacidad donde el refractómetro portátil entre perfectamente tanto en diámetro como en altura, colocar la cantidad necesaria de muestra para que no se derrame y se pueda leer el valor. Esperar unos segundos para que se estabilice y leer el valor por encima del menisco de la probeta. Una vez tomada la lectura sacar el refractómetro, e inmediatamente después, introducir el termómetro y anotar su temperatura. Si es posible, se pueden introducir el refractómetro y el termómetro juntos. Enjuagar tanto el refractómetro como el termómetro al chorro de agua¹.

En tablas correspondientes buscar el valor de corrección de la lectura de grados Brix (anexo 5).

5.3.3. DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO (% A.V.).

El grado alcohólico volumétrico es igual al número de litros de etanol contenidos en 100 litros de muestra, medidos ambos volúmenes a la temperatura de 20 °C. El etanol, sus homólogos y los ésteres de ambos están comprendidos en el grado alcohólico, por encontrarse en el destilado¹⁶.

El alcoholímetro, instrumento basado en el principio de Arquímedes utilizado para determinar el contenido en etanol (alcohol etílico) de una mezcla de etanol y agua. Los alcoholímetros de Gay-Lussac proporcionan directamente el grado alcohólico de la mezcla. Por ejemplo, una disolución que tiene 5 grados contiene 5 ml de etanol en 100 ml de la mezcla².

FUNDAMENTO: Para esta determinación se aprovechan las diferentes densidades que tienen el agua y el alcohol. El alcohol, por ser un gas en estado líquido a la presión atmosférica normal, tiene la capacidad de empujar el alcoholímetro hacia la superficie. Este empuje depende de la concentración de alcohol que haya en la solución alcohólica.

Aplica para cualquier sustancia que contenga alcohol pero que no contenga sólidos suspendidos o sólidos disueltos. En estos casos la muestra debe destilarse conforme a la técnica de la determinación de la riqueza alcohólica.

PROCEDIMIENTO: El alcoholímetro a utilizar debe ser el que corresponda al rango que se presume tiene la muestra. El alcoholímetro se introduce en una forma ligeramente rotatoria. Esperar unos segundos para que las dos lecturas se estabilicen. El termómetro debe ser certificado y se lee de una forma normal. El alcoholímetro se lee en la parte baja del menisco de la solución¹. Anotar lectura y, en las tablas correspondientes, buscar su valor corregido (anexo 6).

² Alejandro Ibarra Sixto. (Febrero, 2007). Diccionarios Oxford – Física. [En línea]. Madrid: Complutense. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=6sCJtvevqu8C&pg=PA557&dq=alcoholimetro+gay+lussac&hl=es-419&sa=X&ei=dnC1UIDME4q1qQGD4oH4Cg&ved=0CDqQ6AEwAg#v=onepage&q=alcoholimetro%20gay%20lussac&f=false> [2012, noviembre].

5.3.4. DETERMINACIÓN DE pH.

FUNDAMENTO: Para la determinación del pH se utiliza el potenciómetro. El potenciómetro consiste en dos electrodos, uno de los cuales tiene una membrana sensible al ion hidronio $[H_3O^+]$. Estos electrodos miden al ion hidronio como una diferencia de potencia eléctrica entre ellos. Esta diferencia de potencial es indicada como valores de pH en una pantalla o escala que posee el potenciómetro. El aparato debe calibrarse antes de usarlo, con soluciones de pH conocido. Este instrumento proporciona valores muy precisos¹⁹.

PROCEDIMIENTO: Enjuagar el electrodo con agua bidestilada antes de introducirlo a la muestra. Introducir el electrodo a la solución muestra y esperar unos segundos para que la lectura se estabilice. Anotar la lectura. Enjuagar el electrodo con agua bidestilada e introducirlo a su medio acuoso¹.

5.3.5. DETERMINACIÓN DE CONGÉNERES.

El característico aroma y sabor del tequila se debe a una gran variedad de compuestos volátiles, entre los que figuran alcoholes superiores, aldehídos, ácidos grasos, ésteres, compuestos azufrados y algunos compuestos fenólicos. Los cuales son percibidos por los nervios olfatorios ubicados al final de la nariz.

Los aromas volátiles livianos (de bajo peso molecular, polares y compuestos hidrofílicos) son percibidos en un primer momento y, generalmente, tienen mayor impacto en la percepción humana.

La serie de compuestos emanados por los tequilas son percibidos como notas caramelizadas, florales y frutales con diferentes intensidades, y otros como purgantes, dulces y frescos.

La gran mayoría de estos compuestos volátiles son derivados de ácidos grasos, carbohidratos y aminoácidos producidos por medio de diversas rutas biosintéticas que ocurren a lo largo del proceso de elaboración, esto es, el cocimiento, la fermentación, almacenamiento. Algunos resultan de la combinación de varios compuestos. Otros compuestos son derivados de la destrucción celular que se produce al reaccionar ciertas enzimas con sustrato en el proceso de elaboración.

Para caracterizar aquellos compuestos odoríficos impactantes generados se usa actualmente la cromatografía de gases y el método químico¹².

5.3.6. CROMATOGRAFÍA.

El origen de la cromatografía se atribuye al botánico ruso Tswett quien empleo esta técnica a principios del siglo XX para separar una mezcla de pigmentos vegetales, haciendo pasar estos compuestos a través de una columna de vidrio rellena de un sólido adsorbente. Puesto que las especies separadas aparecían como bandas coloreadas en la columna, el nombre que dio a esta técnica fue **cromatografía** de las palabras griegas *chromatos* que significa “color” y *graphein* que quiere decir “escribir”.

Existen diversos tipos de cromatografía y para su clasificación se puede atender a diversos criterios. Uno de éstos es según la forma en que las fases, móvil y estacionaria, se ponen en contacto, de modo que podemos distinguir dos tipos de cromatografía, plana, cuando la fase estacionaria se deposita sobre una superficie abierta (papel, lámina de plástico, vidrio o metal) y en columna, cuando la fase estacionaria se deposita en el interior de un tubo estrecho o columna (vidrio, acero, sílice fundida, etc.).

En función de la naturaleza de las fases existen distintos tipos de cromatografía. En general, nos encontramos tres tipos:

- Cromatografía de gases (GC).
- Cromatografía de fluidos supercríticos (SFC).
- Cromatografía de líquidos (LC).

¹² El tequila, su aroma y su sabor. Disponible en:
http://www.revistaciencias.unam.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=276%3Ael-tequila-su-aroma-y-su-sabor&catid=48&Itemid=48 [2012, noviembre].

En función de que la naturaleza de la fase móvil sea gas, fluido supercrítico o líquido, respectivamente. A su vez, en función del tipo de fase estacionaria y de las interacciones que se establecen entre los componentes a separar y ambas fases, nos encontramos una variedad de modalidades que incluyen cromatografía líquido-líquido (LLC), cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquido-sólido (LSC), cromatografía de intercambio iónico (IEC), cromatografía de exclusión (EC), cromatografía de afinidad (AC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Además, la cromatografía puede clasificarse también de acuerdo al modo en que se desarrolla el proceso cromatográfico. Según este criterio, la cromatografía puede ser en discontinuo o continuo, dependiendo de si la fase móvil pasa de manera continua o no a través de la fase estacionaria durante el proceso de separación. La cromatografía en discontinuo, por lo general, se utiliza para purificar y preconcentrar muestras (un ejemplo es la extracción en fase sólida, SPE). Por su parte, la cromatografía en continuo se utiliza para la separación y cuantificación de analitos. Esta última, a su vez, puede ser: frontal, de desplazamiento o de elución, siendo esta última la más común¹⁵.

A. TEORÍA CROMATOGRÁFICA.

La elución cromatográfica es el proceso mediante el cual la fase móvil pasa continuamente a través de la fase estacionaria, en la cual se introduce la muestra en una cantidad conocida. Los diferentes componentes de la muestra, en función de las diferentes afinidades que presentan por ambas fases, se mueven a diferentes velocidades y eluyen, por tanto, a distintos tiempos. Así, los componentes con mayor afinidad por la fase estacionaria quedarán retenidos durante más tiempo, por lo que tardarán en eluir más que aquellos componentes que presenten menor afinidad por dicha fase. Como consecuencia de esta diferencia de afinidad, los componentes se separan en bandas diferentes que, al pasar por el detector, darán una señal que se registrará en forma de bandas o picos.

La representación gráfica de la señal obtenida en función del tiempo (o volumen) de elución se denomina **cromatograma**¹⁵.

5.3.7. CROMATOGRAFÍA DE GASES.

(ALDEHÍDOS, ÉSTERES, METANOL Y ALCOHOLES SUPERIORES).

La **cromatografía de gases (CG)** se empleó inicialmente para compuestos volátiles que no se descompusieran al calentarse, pero ahora se ha extendido a polímeros que al calentarse producen monómeros volátiles.

Se podría generalizar diciendo que las columnas y detectores en cromatografía de gases son más específicos que en cromatografía líquida, siendo también los volúmenes de muestra empleados menores debido a la capacidad de las columnas, sin embargo se debe recordar que las columnas capilares en cromatografía de gases tienen mayor número de platos teóricos por lo que la separación es más eficiente.

Para una exitosa separación en el menor tiempo, se debe seleccionar la columna, pero ésta debe servir muchas veces para realizar la misma operación, por lo que debe ser guardada y manejada con conocimiento de sus limitaciones de carga de la fase estacionaria y los límites de temperatura. Además selección y tratamiento apropiado de las muestras que van a ser separadas en ella²³.

A. FUNDAMENTO.

Se basa en los principios de la cromatografía de gases y consiste en la inyección de una pequeña cantidad de muestra constituida por una pequeña cantidad de sustancias volátiles en el inyector de un cromatógrafo de gases, en el que son vaporizadas y transportadas por un gas inerte a través de una columna empacada o capilar, con un líquido de partición que presenta solubilidad selectiva con los componentes de la muestra, ocasionando su separación.

Los componentes que eluyen de la columna pasan una a una por el detector, el cual genera una señal eléctrica proporcional a su concentración, la que es transformada por el sistema registrador integrador o sistema de manejo de datos, en una gráfica de concentración contra tiempo llamada cromatograma.

¹⁵ Isabel Sierra Alonso., Damián Pérez Quintanilla., Santiago Gómez Ruiz., Sonia Morante Zarcero. (2010). Análisis Instrumental. [En línea]. España: Netbiblo. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=7kqf47xB1cC&pg=PA140&dq=tipos+de+Cromatografia&hl=en&sa=X&ei=4AK4UPCW18Ha2AWQk4DoCQ&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q=tipos%20de%20Cromatografia&f=false> [2012, diciembre].

²³ Miriam Barquero Quirós. (2006). Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de Gases. [En línea]. San José, Costa Rica: UCR. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=g3o_PUTmr3wC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false [2012, diciembre].

La identificación de cada componente registrado como un pico en el cromatograma, se realiza por inyección del o los componentes que se sospecha contiene la muestra en forma pura y en las mismas condiciones de la muestra, midiendo el tiempo de retención en esas condiciones. También se puede comprobar por adición del componente a la muestra e inyectándola nuevamente para apreciar el incremento de altura o área del pico correspondiente.

La cuantificación se puede efectuar por cualquiera de estos tres métodos: normalización, estandarización externa y estandarización interna.

La cuantificación por estandarización interna consiste en obtener el cromatograma de la muestra estandarizada, es decir, adicionada de una sustancia llamada estándar interno que debe aparecer en un sitio específico del cromatograma libre de traslapes y, sobre todo, no debe ser uno de los componentes naturales de la muestra, aunque es recomendable que sea de la misma naturaleza química de la muestra y del mismo rango de concentración que el componente de la muestra por cuantificar.

Deben obtenerse cromatogramas paralelos con soluciones de concentración conocida de cada componente por cuantificar y del estándar interno que sea adecuado al tipo de la muestra (2-pentanol, n-butanol, sec-butil-acetato o hexanol en este caso), y trazar una curva de calibración que tenga por ordenadas la relación de concentraciones correspondientes al componente por cuantificar y al estándar interno. Esta curva, sirve para situar en sus ordenadas la relación de áreas correspondientes al componente por cuantificar y el estándar interno del cromatograma de la muestra estandarizada y así ubicar la relación correspondiente de concentraciones.

Aplica para todos los productos alcohólicos del proceso de elaboración del tequila y para cualquier tipo de producto terminado¹.

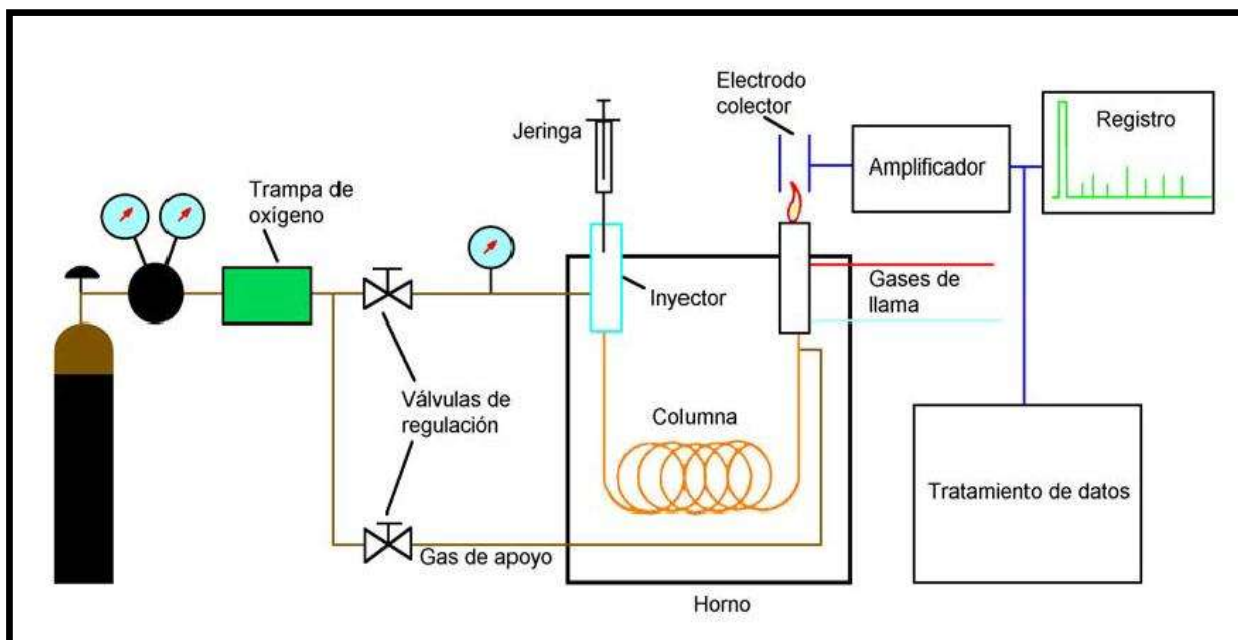


Figura 4.- Cromatografía de gases.

B. PROCEDIMIENTO.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN PATRÓN DE ACETALDEHÍDO.

En un matraz aforado de 100 ml, se coloca, aproximadamente hasta la mitad, etanol al 40% A.V. se tapa el matraz, se pesa y se toma nota. En una campana de extracción se miden 5 ml de acetaldehído con pipeta o bien se transfiere el contenido de una ampolla sellada de acetaldehído de 5ml. Se tapa el matraz y se pesa nuevamente, anotar peso. Llevar al afore con etanol al 40% de A.V., se homogeniza agitando.

Colocar el matraz con esta solución en un baño de agua a temperatura constante de 20 °C durante 30 minutos, remover y ajustar el afore nuevamente. Esta solución se guarda en refrigeración y debe verificarse antes de volver a usarse. Para la medición de acetaldehído, la pipeta debe refrigerarse con anterioridad y el reactivo llevarse a 20 °C a fin de que pueda medirse a ésta temperatura sin proyectarse.

La concentración de acetaldehído en el estándar se calcula de la siguiente manera:

$$[\text{Acetaldehído (g/100 mL)}] = P_1 - P_2$$

Donde:

P_1 , es la masa de matraz con etanol al 40% A.V. y acetaldehído.

P_2 , es la masa del matraz con etanol al 40% A.V.

En caso de efectuarse con volumen, hacer el ajuste de la masa tomando en cuenta la densidad del compuesto.

a) Preparación de la solución estándar interno (solución preparada con 2-pentanol): en un matraz aforado de 100 ml, llenar aproximadamente la mitad con etanol al 40% A.V., tapar el matraz y en una campana de extracción determinar la masa o medir la cantidad requerida de estándar interno 2-pentanol al 0,6% (m/v).

b) Preparación de la solución patrón: La solución se puede preparar de dos formas: individual o en forma concentrada.

- Si se prepara en forma individual, determinar la masa o medir la cantidad requerida de cada componente en un matraz y llevar a volumen con alcohol etílico a 40% A.V.

- Si se prepara en forma concentrada, determinar la masa o medir la cantidad requerida de cada componente en un solo matraz y llevar a volumen con alcohol etílico al 40% A.V.

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE CALIBRACIÓN.

Para preparar las soluciones de calibración, medir a 20°C en un matraz aforado de 100 ml las cantidades necesarias de solución patrón para obtener las concentraciones aproximadas establecidas en la tabla correspondiente (anexo 7).

Antes de llevar a volumen con alcohol etílico al 40% A.V., adicionar el volumen requerido de solución patrón estándar interno. Estas soluciones deben guardarse bien tapadas en refrigeración.

La concentración de las diluciones de calibración depende de la concentración que se espera determinar en la muestra por analizar y debe ser lo más aproximada a ésta (anexo 8).

NOTA: Las condiciones de operación varían de acuerdo a la columna e instrumentos utilizados y deben ser optimizados por cada laboratorio, los cuales, son determinados por medio de soluciones estándar y curvas de número de platos teóricos (N) contra velocidad lineal del flujo de gas. Los parámetros deben ser ajustados para obtener la resolución óptima de todos los componentes de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$R = \frac{2D_t}{ac + cs}$$

Donde:

R: es la resolución.

Dt: es la diferencia de tiempos de retención.

ac: es la amplitud del pico en la base correspondiente al componente por cuantificar.

cs: es la amplitud del pico en la base correspondiente al componente más cercano.

Nota: las unidades de Dt, ac y cs deben ser las mismas.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

A todas las muestras se les debe determinar el % A.V. a 20 °C.

Cuando el extracto seco de la muestra excede de 5g/L, destilar la muestra según la técnica antes descrita para la obtención de riqueza alcohólica. Para tener resultados confiables es conveniente preparar las muestras a volúmenes exactos, utilizando matraces aforados y temperaturas a 20 °C. Con pipeta volumétrica, adicionar la misma concentración de la solución patrón de estándar interno que fue agregado a las soluciones patrón de calibración, tomando en cuenta que en el cromatograma el pico del estándar interno, debe tener una altura mínima del 50% de la escala y esta señal no debe saturarla.

Inyectar al cromatógrafo la cantidad adecuada de estándar o estándares para obtener los cromatogramas respectivos. Enseguida, inyectar al cromatógrafo la cantidad adecuada de muestra para obtener el cromatograma correspondiente.

EXPRESIÓN DE RESULTADOS.

Los resultados se expresan en miligramos de analito/ 100 ml de alcohol anhidro.

CÁLCULOS.

Cálculos de áreas y relaciones de áreas:

Calcular el área correspondiente al componente "i" (A_{ib}) y al estándar interno (A_e) en cada cromatograma de acuerdo a la tabla correspondiente, dividiendo el área del componente "i" entre el área del estándar interno y con los valores obtenidos; trazar la curva de relación de concentraciones contra la relación de áreas que corresponden a las concentraciones esperadas.

- A_{ib} , es el área del pico del componente "i" en el estándar de calibración.
- A_e , es el área del pico estándar interno en el estándar de calibración.
- C_{ib} , es la concentración del componente "i" en el estándar de calibración.
- C_e , es la concentración del estándar interno en el estándar de calibración.

Calcular las áreas del componente "i" y del estándar interno en el cromatograma de la muestra estandarizada y obtener el valor del Aib/Ae con el cual se localiza en la curva de calibración el valor Cib/Ce.

Con el valor de Cib/Ce obtenido para la muestra en la curva de calibración y conociendo la cantidad de estándar interno (Ce) agregado a la solución de muestra estandarizada, podemos calcular la concentración del componente "i" en la muestra (Cib) con la siguiente fórmula:

$$Cib = (Ce)(Rg)$$

Donde:

Cib: es el componente "i" expresado en mg/100 de muestra directa.

Ce: son los miligramos del estándar interno agregado a la solución de muestra estandarizada.

Rg: es la relación de Cib/Ce obtenida en la curva de calibración.

$$B = \frac{(Cib)(Fd)(100)}{\% A.V.}$$

Donde:

B: es el componente "i".

% A.V.: es el porcentaje de alcohol en volumen a 20 °C.

Fd: es el factor de dilución = volumen total de la muestra diluida en la estandarización.

Nota: Los cálculos anteriores pueden hacerse utilizando alturas de pico en lugares de áreas.

REPETITIVIDAD DEL MÉTODO.

La diferencia entre resultados sucesivos obtenidos en las mismas condiciones para una sola muestra por un mismo analista, no debe exceder del 5% del promedio de éstas; en caso contrario, repetir las mediciones.

REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO.

La diferencia entre dos resultados obtenidos por laboratorios diferentes no debe exceder del 15% del promedio de las mismas; en caso contrario, repetir las determinaciones¹.

Nota: Es importante hacer la medición de volúmenes siempre a 20 °C a fin de evitar el error por volúmenes en dos pruebas de una misma muestra.

5.3.8. GAS PORTADOR.

El helio es el gas portador más común y es compatible con la mayoría de los detectores. Si se usa un detector de ionización de llama, el nitrógeno (N₂) da un límite de detección menor que el Helio (He). Las separaciones más rápidas se consiguen usando H₂ como gas portador, pudiéndose alcanzar mayor rapidez trabajando por encima de su velocidad óptima, aunque perdiendo un poco de resolución.

Hay inconvenientes cuando se usa hidrógeno (H₂), ya que puede reaccionar catalíticamente con compuestos no saturados sobre superficies metálicas, y no puede ser usado con un detector de espectrometría de masas, porque el H₂ descompone el aceite de la bomba de vacío del detector. La principal razón por la cual no se usa H₂ más a menudo es porque forma mezclas explosivas con el aire cuando la proporción de H₂ es mayor del 4% vol. Los generadores electrolíticos comerciales producen H₂ de gran pureza, y eliminan la necesidad de balas de hidrógeno comprimido.

El hidrógeno y el helio proporcionan mejor solución (menor altura de plato) que el nitrógeno, caudales altos, porque los solutos se difunden más rápidamente a través del hidrógeno y del helio que del nitrógeno.

Las impurezas que pueden existir en el gas portador degradan la fase estacionaria. Se deben usar gases de una gran calidad, y aún éstos se deben pasar a través de purificadores para eliminar el oxígeno (O₂), el agua o trazas de compuestos orgánicos, antes de entrar en la columna⁷.

5.3.9. SISTEMA DE INYECCIÓN DE MUESTRA.

Después de limpiar la jeringa varias veces con el disolvente, se aspira aire, después disolvente, luego aire, a continuación la muestra, y finalmente más aire.

Cuando se introduce la aguja a través del septo de silicona en el inyector caliente del cromatógrafo, la muestra no se evapora inmediatamente, porque en la aguja no hay muestra. Si hubiera muestra en la aguja, los componentes más volátiles comenzarían a evaporarse, y desaparecerían antes de inyectar la muestra. La burbuja de aire detrás de la porción de muestra impide que se mezclen la muestra y el disolvente. La porción siguiente de disolvente lava la aguja, eliminando restos de muestra, y la última porción de aire elimina los restos de disolvente en la aguja. Muchos automuestreadores son capaces de realizar este tipo de inyección “sándwich”⁷.

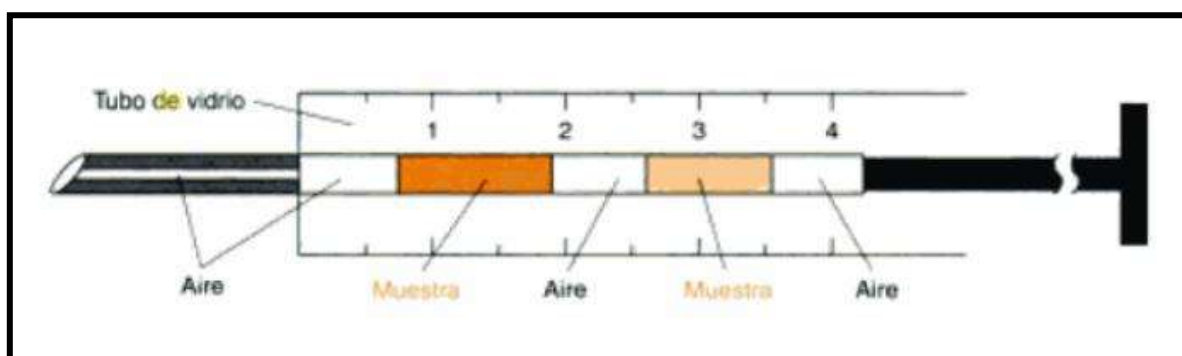


Figura 5. Técnica de inyección “Sándwich”.

⁷ Daniel C. Harris. (2003). Análisis Químico Cuantitativo. [En línea]. New York: Reverté. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=H_8vZYdL70C&pg=PA579&dq=cromatografia+de+gases&hl=en&sa=X&ei=4v28UOeVKKeO2AX0n4HQCw&ved=0CDMQ6AEwAQ#v=onepage&q=cromatografia%20de%20gases&f=false [2012, diciembre].

A. INYECCIÓN EN COLUMNA.

La inyección en columna se usa con muestras que se descomponen por encima de su punto de ebullición, y es la forma preferida en análisis cuantitativo.

La disolución se inyecta directamente en la columna, sin pasar por un inyector caliente. La temperatura inicial de la columna es suficientemente baja para que condensen los solutos en una banda estrecha. La cromatografía se inicia calentando la columna. De este modo se somete la muestra a la temperatura más baja posible, y se pierde poco soluto. La aguja de una jeringa estándar, de microlitros, se acopla directamente dentro de una columna, típicamente, de 0,53 mm de diámetro, aunque ésta no da una resolución óptima. Se obtiene una mejor resolución con columnas de 0,25 a 0,30 mm de diámetro, pero necesitan jeringas especiales de sílice⁷.

B. DETECTORES.

Para análisis cualitativo, dos detectores que pueden identificar compuestos son el espectrómetro de masas, y el espectrómetro de infrarrojos con transformada de Fourier.

Un pico se puede identificar comparando su espectro con los de una librería de espectros guardados en un ordenador. Un método menos sofisticado de identificar un pico es comparar su tiempo de retención con el de una muestra auténtica del compuesto que se sospecha.

El modo más fiable de comparar tiempos de retención es por co-cromatografía, es decir, añadiendo una muestra auténtica a la muestra desconocida. Si el compuesto añadido es idéntico a un componente de la muestra desconocida, el área del pico correspondiente aumentará. La identificación es sólo aceptable cuando se hace la prueba con una sola columna, pero es más segura si se utilizan varias columnas con diferentes clases de fases estacionarias.

El análisis cuantitativo se basa en el área del pico cromatográfico. Se suelen escoger condiciones en las que la respuesta es lineal, es decir, cuando el área de pico es proporcional a la cantidad de ese componente; para picos muy estrechos, el área puede ser sustituida por la altura.

En la mayoría de los equipos un ordenador mide automáticamente el área del pico. Se requiere criterio para dibujar la línea base debajo de los picos, y decidir entre qué límites se mide el área. Si hay que medir a mano el área, y el pico tiene forma gaussiana, el área vale:

$$\text{Área Pico Gaussiano} = (1.064)(\text{Altura del Pico})(W_{1/2})$$

Donde:

$W_{1/2}$, es la anchura a mitad de altura.

El análisis cuantitativo en cromatografía casi siempre se hace añadiendo una cantidad de patrón interno a la muestra desconocida. Después de medir el factor de respuesta con muestras estándar, se usa la siguiente ecuación, para medir el contenido en la muestra desconocida⁷.

$$A_x/[X] = F(A_s/[S])$$

Donde:

A_x = Área de la señal de analito.

A_s = Área del patrón interno.

$[X]$ = Concentración del analito.

$[S]$ = Concentración del patrón.

F = Factor de respuesta.

C. SELECCIÓN DEL DETECTOR.

El detector de aplicación más general para una cromatografía con columna tubular abierta es un espectrómetro de masas. La ionización de llama es probablemente el detector más popular, pero responde sobre todo a hidrocarburos y no es tan sensible como el detector de captura electrónica, el de nitrógeno – fósforo, o los de quimiluminiscencia.

El detector de ionización de llama exige que la muestra contenga ≥ 10 ppm de cada analito, si la inyección se hace con división. El detector de conductividad térmica es la forma más general de detectar toda clase de compuestos, pero no es bastante sensible en columnas tubulares de pequeño calibre de alta resolución.

Los detectores sensibles para análisis de ultratrazas responden a una clase limitada de analitos. El detector de captura electrónica es específico de moléculas que contienen halógenos, carbonilos conjugados, nitrilos y nitrocompuestos. Cuando se usa inyección con división, la muestra debe contener ≥ 100 ppb de cada analito, si se usa un detector de captura electrónica.

El detector de fotoionización puede ser específico de compuestos aromáticos y compuestos no saturados. El grupo más largo de productos químicos que el detector de fotoionización puede medir son los orgánicos, los compuestos que contiene el átomo de carbono. Estos incluyen:

- Compuestos aromáticos, compuestos que contienen el anillo benceno, como el bencino, tolueno, etil bencino y xileno.

- Cetonas y Aldehídos, compuestos con un enlace C=O, incluyendo acetona, metil etil cetona.

El detector de nitrógeno – fósforo da mayor respuesta a compuestos que contienen alguno de estos elementos, pero también responde a los hidrocarburos.

Los detectores de fotometría de llama son específicos para algunos elementos, como azufre (S), fósforo (P), plomo (Pb), o estaño (Sn). Se puede elegir alguno de estos detectores específicos para simplificar el cromatograma, porque no responden a todo lo que se eluye⁷.

D. PREPARACIÓN DE MUESTRA.

La clave del éxito para analizar por cromatografía una muestra compleja es su purificación antes de introducirla en la columna.

El método de purga y trampa sirve para separar analitos volátiles de líquidos o sólidos (como agua subterránea o suelos), concentrarlos e introducirlos en un cromatógrafo de gases. A diferencia de la microextracción, que sólo aísla una porción del analito que hay en la muestra, el objetivo de este método es aislar el 100% del analito de la muestra. La separación total de analitos polares de matrices polares puede ser muy difícil.

La técnica de purga y trampa, aíslan los analitos de interés de las sustancias interferentes, y pueden concentrar analitos hasta valores detectables.

Si no se purifican las muestras, los cromatogramas podrían estar constituidos por “bosques” de picos sin resolver, y las sustancias no volátiles inutilizarían la columna cromatográfica, que es cara⁷.

E. COLUMNA CROMATOGRÁFICA.

Una columna para cromatografía de gases, está formada por un tubo, que puede ser de diversos materiales (preferiblemente inertes), dentro del cual se encuentra la fase estacionaria. Esta puede ser un sólido activo (cromatografía gas – sólido), o con mayor frecuencia un líquido depositado sobre las partículas de un sólido portador (Columnas empaquetadas o de relleno) o sobre las propias paredes del tubo (columnas tubulares abiertas).

- Columnas empaquetadas.
Las columnas empaquetadas consisten, como ya se ha mencionado, en un tubo (normalmente de vidrio o acero inoxidable) con un diámetro interno que varía entre 2 - 5 mm y de una longitud que oscila entre 1 - 15 m.
- Columnas tubulares abiertas.
Las columnas tubulares abiertas (conocidas normalmente como columnas capilares), se encuentran entre las más ampliamente utilizadas debido a la gran eficiencia de separación que proporcionan.

Básicamente, una columna tubular está formada por un tubo (normalmente de vidrio o sílice fundida) de un diámetro comprendido entre 0,2 – 0,8 mm, en cuya pared interna se dispone la fase estacionaria. Según sea la forma en que se dispone la fase estacionaria sobre la pared del tubo, se distinguen básicamente dos tipos de columnas.

1. Columnas WCOT (columna capilar de pared recubierta).
En este tipo de columnas, que son las de uso más frecuente, la fase estacionaria se encuentra depositada formando una película líquida directamente sobre las paredes del tubo.
2. Columnas PLOT (columna capilar de capa porosa tubular abierta).
En estas columnas la pared interna del tubo está recubierta por una capa de un soporte adsorbente; si a su vez el soporte está impregnado con una fase estacionaria líquida, las columnas son denominadas SCOT (columna tubular abierta recubierta de soporte).

CAPÍTULO 6

AUTENTIFICACIÓN DEL TEQUILA



6. AUTENTIFICACIÓN DEL TEQUILA.

6.1. ADULTERACIÓN DEL TEQUILA.

La producción del tequila, al igual que el resto de la industria de bebidas alcohólicas, enfrenta un grave problema: la adulteración. La Procuraduría Federal del Consumidor (Profeco) asegura que 30% de las bebidas alcohólicas que se venden en el país son adulteradas. Económicamente hablando, este porcentaje implica ventas aproximadas de seis a nueve mil millones de pesos y una evasión fiscal de dos a tres mil millones de pesos, según publicó la comisión para industria de Vinos y Licores.

El jefe de la sección de química experimental de la UNAM, Benjamín Ruíz, informó que consumir bebidas adulteradas con etanol o alcohol neutro provoca reacciones entre los 30 minutos y 72 horas, que van desde el dolor de cabeza intenso, vértigo, desmayos y vómito, hasta el paro respiratorio. Las reacciones pueden confundirse con los síntomas de la borrachera, pero en casos más extremos se presenta un intenso dolor abdominal y notoria dificultad para respirar, así como la pérdida temporal o hasta permanente de la vista.

Estudios de la Procuraduría Federal del Consumidor (Profeco) validan datos del CRT: cuatro de cada diez botellas de tequila son adulteradas.

Las bebidas adulteradas son un grave problema para la industria y un grave peligro para el consumidor, pues no sólo representan pérdidas económicas para los fabricantes, sino que pueden provocar serias complicaciones en la salud de quienes la consumen.

Una bebida adulterada no asegura calidad ni higiene en su elaboración y, al no existir un control en su proceso de producción, pueden generarse riesgos para la salud de los consumidores. Hay diferentes formas de adulteración; entre las más comunes podemos citar la sustitución del líquido original por otro de menor calidad o su dilución con agua. También existe el caso en que la bebida se elabora con alcohol saborizado y color artificial. Otra muy común es la mezcla de cabezas y colas con alcohol de caña y algunas cantidades de esencias de tequila junto con colorantes y aromatizantes, todos ellos artificiales.

Actualmente, la técnica que más se usa para determinar con certeza si una bebida alcohólica ha sido o no adulterada es la **cromatografía**, la cual consiste en la separación de los componentes del líquido para detectar el elemento ajeno a la fórmula original. Con este método se ha analizado la composición del tequila que, de acuerdo con reportes científicos recientes, puede tener más de 200 componentes. Sin embargo, para realizar una prueba objetiva de adulteración

mediante la cromatografía, se requiere de instrumentos sofisticados y personal especializado, sin contar con que el estudio demanda la preparación de la muestra. En este sentido, existe la necesidad de buscar métodos alternativos que permitan determinar in situ y en un tiempo razonable, si un tequila obtenido directamente de la botella ha sido adulterado.

En el grupo de propiedades ópticas de la materia, del centro de investigaciones en óptica, desarrollan una prueba alternativa, la cual debería ser rápida, confiable y susceptible de realizarse in situ. Para ello, llevaron a cabo una serie de experimentos con diversas técnicas espectroscópicas, las cuales les permitieron conocer de qué manera se modifica la composición de la luz cuando a ésta se le hace interaccionar con la materia, en este caso, el líquido en la botella de tequila.

Usaron una fuente de luz cuyo espectro incluía tres regiones: ultravioleta, visible e infrarrojo (UV, VIS e IR). La luz de esta fuente se hizo incidir en una celda de cuarzo fundido (ya que el cuarzo, a diferencia del vidrio, no absorbe la luz ultravioleta) donde se vertieron 2 ml de tequila directamente de la botella. Como resultado, obtuvieron el espectro de absorción del material (una serie de líneas o bandas oscuras), el cual muestra la proporción de luz que la sustancia absorbe en cada longitud de onda de la fuente. Se observó que los tequilas reposados y añejos absorbieron más luz que el blanco, ya que los dos primeros presentan una coloración, mientras que el último es incoloro¹.

¹ Alejandro Chávez Cárdenas., Arlén Sánchez Valdés., Guillermo Sánchez Rodríguez. (2010). Competitividad del comité del sistema producto agave tequilero Michoacán A.C. Morelia, Michoacán: Fundación produce Michoacán.

6.2. AUTENTICIDAD UTILIZANDO ISÓTOPOS RADIATIVOS.

El tequila ha sido caracterizado por la composición de sus constituyentes del sabor por el análisis instrumental y técnicas sensoriales complementados por la cromatografía de gases. Esto es aprovechado para determinar la procedencia de los alcoholes por espectrometría de masas utilizando los isótopos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ y $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ en complementación con la cromatografía de gases.

El espectrómetro radio-isotópico de masas está acoplado a una interface split-abierto de combustión de un cromatógrafo de gases. Así mismo, el cromatógrafo de gases está equipado con una columna HP PLOT_Q de 30 metros de longitud y 0.32 mm de diámetro interno.

Este método analítico de autenticación sería muy poco usado por sus altos costos de aplicación, ya que tanto los reactivos como los instrumentos son excesivamente caros.

El tema de la autenticación del tequila, como una respuesta contra la adulteración del mismo, ha sido desde hace más de cincuenta años muy preocupante para la industria tequilera. Como es sabido, también en el extranjero ha habido quienes han querido producir y adulterar el tequila sintéticamente y, no conformes con eso, hasta con los nombres de las marcas de esos productos han querido confundir al mercado nacional e internacional. El logro de la denominación de origen vino a enterrar en buena medida estas prácticas ilícitas en el extranjero; pero aún queda lucha por hacer¹.

¹ Alejandro Chávez Cárdenas., Arlén Sánchez Valdés., Guillermo Sánchez Rodríguez. (2010). Competitividad del comité del sistema producto agave tequilero Michoacán A.C. Morelia, Michoacán: Fundación produce Michoacán.

CONCLUSIONES

III. CONCLUSIONES.

El tequila, es un legado de México para todo el mundo. Es la bebida nacional famosa por excelencia a nivel mundial³³. Su fama es relativamente nueva, pues a pesar de que se exporta desde hace años, su auge internacional es un fenómeno de fin de siglo XX. En los últimos años ha alcanzado tales proporciones que, a diferencia de otras épocas, cuando su consumo se reducía exclusivamente a las cantinas, hoy en día es una de las bebidas alcohólicas de más éxito en diversos lugares.

Se obtiene de la planta agave tequilana weber variedad azul, que al cabo de seis u ocho años adquiere la madurez. En los tiempos prehispánicos esta planta también se utilizó para producir bebidas fermentadas. Sin embargo, es hasta la llegada de los españoles, cuando se logra inventar el tequila utilizando el alambique, instrumento usado para la destilación de licores.

Cabe señalar que son pocas las bebidas destiladas genuinas de un país y que trascienden sus fronteras; el tequila ha alcanzado tanta fama mundial que los japoneses importaron agave para fabricarlo. Por tal motivo se luchó por la denominación de origen de esta bebida que fascina a los consumidores. El territorio que comprende la denominación de origen del tequila abarca cinco estados del país: Guanajuato, Michoacán, Nayarit, Tamaulipas y Jalisco, aunque sólo en este último puede producirse en la totalidad de sus municipios, siendo los poblados jaliscienses de Tequila y Amatitán la cuna tradicional de esta bebida.

Existen dos categorías de tequila que se definen según el porcentaje de azúcares de agave que se empleó para producirlas: 100% agave (cuando sólo se utilizan azúcares del agave) y tequila (cuando incluyen al menos 51% de azúcares de agave y 49% de azúcares de otras fuentes). Estas categorías a su vez se clasifican en cinco clases de tequila, las cuales se definen de acuerdo al tiempo que se les ha dejado madurar en barricas: tequila clase blanco o plata, tequila clase joven u oro, tequila clase reposado, tequila clase añejo y tequila clase extra añejo.

Dicha variedad de tequilas, se encuentran en el mercado, en diferentes marcas y presentaciones. El Consejo Regulador del tequila, detectó 400 marcas piratas de esta bebida distribuidos por el mundo sin cumplir con la denominación de origen. Y estima que ocho de cada diez botellas que se venden como tequila en el mundo no cumplen las normas de calidad impuestas por éste⁵.

III. CONCLUSIONES

Las bebidas adulteradas son un grave problema para la industria tequilera y para el consumidor, pues no sólo representan pérdidas económicas para los fabricantes, sino que pueden provocar serias complicaciones en la salud de quienes la consumen³⁴. La adulteración del tequila se debe principalmente a la adición de alcohol (etanol) provenientes de otras fuentes más baratas. Habitualmente caña de azúcar para aumentar su volumen.

La detección de bebidas adulteradas es de vital importancia. Las investigaciones al respecto realizadas en el Cinvestav-Irapuato permitirán defender en el mundo la denominación de origen. Mercedes Guadalupe López Pérez, del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Irapuato, desarrolló dos métodos originales para autentificar más allá de toda duda la constitución y proceso de elaboración de tequila⁴.

Un método consiste en la cromatografía de gases acoplada a un olfatómetro, un medidor de olores que tiene diez mil sensores capaces de identificar el olor y aroma del tequila capaz de diferenciarlos de los que no corresponden a esta bebida.

La segunda verificación, también usa un cromatógrafo, pero en este caso hecho para medir la presencia de isótopos estables en la muestra analizada. El análisis es tan fino que puede dar información sobre la fotosíntesis en el agave usado, así como las condiciones de suelo y clima donde se cultivó el agave⁴.

Así para demostrar la autenticidad del tequila, el Cinvestav-Irapuato, desarrolló estos métodos. Ambos brindan una técnica confiable para confirmar que el tequila sea de buena calidad y no un producto adulterado.



IV. GLOSARIO

- 100% Agave.

Tequila elaborado y envasado de origen exclusivamente de Agave Tequilana Weber Variedad Azul. También puede clasificarse “100% Puro de Agave”.

A

- Abocado.

La NOM del tequila señala que es el procedimiento para suavizar el sabor de esta bebida, mediante la adición de uno o más de los siguientes ingredientes: Color caramelo, extracto de roble o encino naturales, glicerina y jarabe a base de azúcar. El empleo de estos ingredientes no debe ser mayor al 1% en relación al peso total del tequila antes de envasarse.

- Agave.

Planta de la familia de las agaváceas, pertenece al género Agave (del griego Agavos, “noble” o “admirable”). Existen más de 400 variedades de esta planta entre las que se cuenta la Tequilana Weber Variedad Azul, única variedad con la que debe producirse el tequila.

- Agave Tequilana Weber Variedad Azul.

De acuerdo con la NOM (Norma Oficial Mexicana), ésta es la única variedad de Agave permitida en la elaboración de tequila, siempre que sea cultivada y procesada en la zona de la Denominación de Origen.

- Aguardiente.

Destilado de cualquier producto. Más frecuentemente así se le llama al destilado de caña de azúcar.

- Alambique.

Aparato o máquina para realizar la destilación de mostos fermentados.

IV. GLOSARIO

- Autoclave.

Aparato que semeja una olla express en el que se realiza a base de presión y vapor la cocción de piñas del agave. Mecanismo con el que se ha sustituido a los tradicionales hornos de mampostería, acelerando el cocimiento del agave.

B

- Bacanora.

Destilado de agave de la variedad agave pacífica oyaquiana (*angustifolia*) que se produce en el estado de Sonora.

- Bagazo.

Residuo fibroso que se da como desecho después de la molienda del agave una vez que se le ha extraído el jugo.

- Barrica.

Recipiente de madera, más frecuentemente construido de roble o encino.

- Blanco, tequila.

Tequila que se obtiene de la segunda destilación de los mostos fermentados del Agave Tequilana Weber Variedad Azul; generalmente de 55% de alcohol volumen que se lleva a dilución para conseguir la graduación deseada, embotellarlo y colocarlo en el mercado.

C

- Cabeza.

Piña o corazón del agave.

- Cabezas.

Primera parte de la destilación que se desecha, ya que con ella se eliminan congéneres dañinos.

- Coa.

Herramienta que se utiliza en la jima (cosecha) del agave para despencarlo.

IV. GLOSARIO

- Códice.

Se denomina códice (del latín codex, -icis, “tablilla de madera encerada para escribir” y posteriormente “libro”) a un documento con el formato de los libros modernos, de páginas separadas, unidas juntas por una encuadernada.

- Colas.

Parte final del destilado. En tequilas de alta calidad las colas se eliminan igual que las cabezas de la destilación. Para otras calidades de tequila las colas vuelven a destilarse.

- Condensador.

Serpentín, enfriado por agua, donde se condensan los vapores del alcohol y se convierten en aguardiente.

- Cuerpo.

Dícese de los litros de tequila intermedios en la destilación.

D

- Denominación de Origen.

Reconocimiento del nombre tequila como propiedad de la nación mexicana y para su uso exclusivo en la denominación del destilado producido con agave tequilana weber variedad azul en el área de la declaración.

- Destilación.

Proceso para extraer del mosto fermentado del agave el alcohol producido por este.

- Difusor.

Maquinaria o línea de producción que algunos destiladores han implementado en la elaboración de tequila, realizando molienda y precocimiento del agave.

IV. GLOSARIO

E

- Extra añejo, tequila.

Tequila que se ha mantenido en maduración por un mínimo de tres años en barricas de roble o encino de una capacidad no mayor a 600 litros.

F

- Fermentación.

Proceso por el cual los azúcares contenidos en el mosto del tequila se convierten en alcohol.

G

- Granel.

Tequila que se transporta en grandes volúmenes, regularmente en carros tanque, sin envasar.

H

- Hidrólisis.

Es una reacción química entre una molécula de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua se divide y sus átomos pasan a formar parte de otra especie química. Esta reacción es importante por el gran número de contextos en los que el agua actúa como disolvente.

- Horno.

Espacio donde se realiza la cocción de las piñas del agave. El horno tradicional está construido de mampostería y en él se inyecta vapor para efectuar esta cocción de las cabezas de agave.

IV. GLOSARIO

I

- Inulina.

Cuerpo parecido al almidón que se encuentra en algunas plantas. Azúcar del agave. Es el nombre que se designa a una familia de glúcidos complejos (polisacáridos), compuestos de cadenas moleculares de fructosa.

- Isótopo.

Se denomina isótopo a los átomos de un mismo elemento, cuyos núcleos tienen una cantidad diferentes de neutrones, y por lo tanto, diferente masa atómica.

J

- Jima.

Proceso de eliminación de las pencas del agave y desprendimiento de la raíz.

- Jimador.

Persona que realiza la jima de agaves.

M

- Maduración.

Proceso de reposo o añejamiento del tequila en recipientes de madera (roble o encino).

- Madurado.

Tequila reposado o añejo.

- Mezcal.

Parte de la piña del agave cocido que se mastica y se le extrae el jugo dulce. Regularmente de venta en los mercados de los pueblos y algunas ciudades.

IV. GLOSARIO

- Mixto, tequila.

Tequila elaborado con el 51% de azúcares de agave y el 49% de otros azúcares.

- Mosto.

Jugo o sumo que se extrae del agave cocido que una vez fermentado produce alcohol.

N

- NOM.

Norma Oficial Mexicana.

O

- Ordinario, tequila.

Tequila resultante de la primera destilación sin cabezas y sin colas.

P

- Pedúnculo.

En Botánica, se llama pedúnculo, pedículo o pedicelo, a la ramita o rabillo que sostiene una inflorescencia o un fruto tras su fecundación.

- Perenne.

Una planta perenne, (del latín per, “por”, annus, “año”) es una planta que vive durante más de dos años. Se les dice también vivaz.

- Piña.

Cabeza o bulbo del agave que contiene los almidones que se convertirán en azúcares después de su cocción.

IV. GLOSARIO

Q

- Quiote.
Vástago y flor del agave.

R

- Roseta.
En Botánica, una roseta es una disposición circular de hojas en las que todas se encuentran a la misma altura.

S

- Sotol.
Destilado regional elaborado en Chihuahua con una de las variedades de agave.

T

- Taberna.
Nombre con el que se denominaba, en la antigüedad, a las destilerías o fábricas de tequila.
- Tahona.
Molino formado por una gran piedra redonda movida por tracción animal en el que se estrujaba o molía el agave cocido para extraerle las mieles y convertirse en el mosto para fermentación.

IV. GLOSARIO

- Tequila.

Bebida alcohólica regional obtenida por la destilación y rectificación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído, dentro de las instalaciones de la fábrica, derivado de las moliendas de las cabezas maduras de agave, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidos a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no, siendo susceptible de ser enriquecido por otros azúcares hasta en una proporción no mayor del 49%. Para llamarse tequila, esta bebida debe ser elaborada con agaves de la especie tequilana weber variedad azul, cultivados en las entidades federativas y municipios de la denominación de origen.

W

- Weber.

Clasificación de un tipo de agave.

V. ANEXOS

V. ANEXOS.

ANEXOS

MECÁNISMO DE ACCIÓN DEL ALCOHOL.

El alcohol tiene un efecto bifásico sobre el cuerpo, lo que quiere decir que sus efectos cambian con el tiempo. Inicialmente, produce sensaciones de relajación y alegría, pero el consumo posterior puede llevar a tener visión borrosa y problemas de coordinación. Las membranas celulares son altamente permeables al alcohol, así que una vez que el alcohol está en el torrente sanguíneo, se puede esparcir en casi todos los tejidos del cuerpo.

Tras el consumo excesivo puede aparecer la inconsciencia, y niveles extremos de consumo pueden llevar a un envenenamiento por alcohol y a la muerte, una concentración en la sangre de 0,55% (aproximadamente 5 gr de alcohol por litro de sangre) podría matar a la mitad de los afectados por parada cardiorespiratoria tras afección bulbar. La muerte puede también ser causada por asfixia si el vómito, obstruye la tráquea y el individuo está demasiado ebrio para responder. Una respuesta apropiada de primeros auxilios a una persona inconsciente y ebria es ponerla en posición de recuperación.

Cuando el alcohol llega a la sangre entre 30 y 90 minutos después de ser ingerido) se produce una disminución de los azúcares presentes en la circulación sanguínea, lo que provoca una sensación de debilidad y agotamiento físico. Lo anterior es debido a que el alcohol acelera la transformación de glucógeno (una sustancia que se encarga de almacenar azúcar en el hígado) en glucosa y ésta se elimina de forma más rápida.

Otra acción del alcohol es que inhibe a la vasopresina, una hormona sintetizada por el hipotálamo y luego liberada por la neurohipófisis. Esta hormona es la responsable de mantener el balance de los líquidos en el cuerpo, ordenando al riñón que reabsorba agua de la orina. Si la función de la vasopresina falla el riñón empieza a eliminar más agua de la que ingiere y provoca que el organismo busque el agua en otros órganos. Esto provoca que la meninges (membranas que cubren el cerebro) pierdan agua y por tanto aparezca el dolor de cabeza.

FASES DE LA INTOXICACIÓN ETÍLICA

Tras la ingesta de alcohol se producen a corto plazo una serie de efectos o síntomas, dependientes de la dosis ingerida (aunque afectan otros factores individuales).

1.- Fase de euforia y excitación.

Tasa de alcoholemia: 0,5 g/L.

Locuacidad, euforia, desinhibición y conducta impulsiva.

2.- Fase hipnótica o de confusión.

Tasa de alcoholemia: 2 g/L.

Irritabilidad, agitación, somnolencia, cefalea, disartria, ataxia, dismetría, náuseas y vómito.

3.- Fase anestésica o de estupor y coma.

Tasa de alcoholemia: 3 g/L.

Lenguaje incoherente. Disminución marcada del nivel de conciencia (obnubilación y coma) y del tono muscular. Incontinencia de esfínteres. Dificultad respiratoria.

4.- Fase bulbar o de muerte.

Tasa de alcoholemia: 5 g/L.

Shock cardiovascular, inhibición del centro respiratorio, paro cardiorespiratorio y muerte.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO TRADICIONAL.

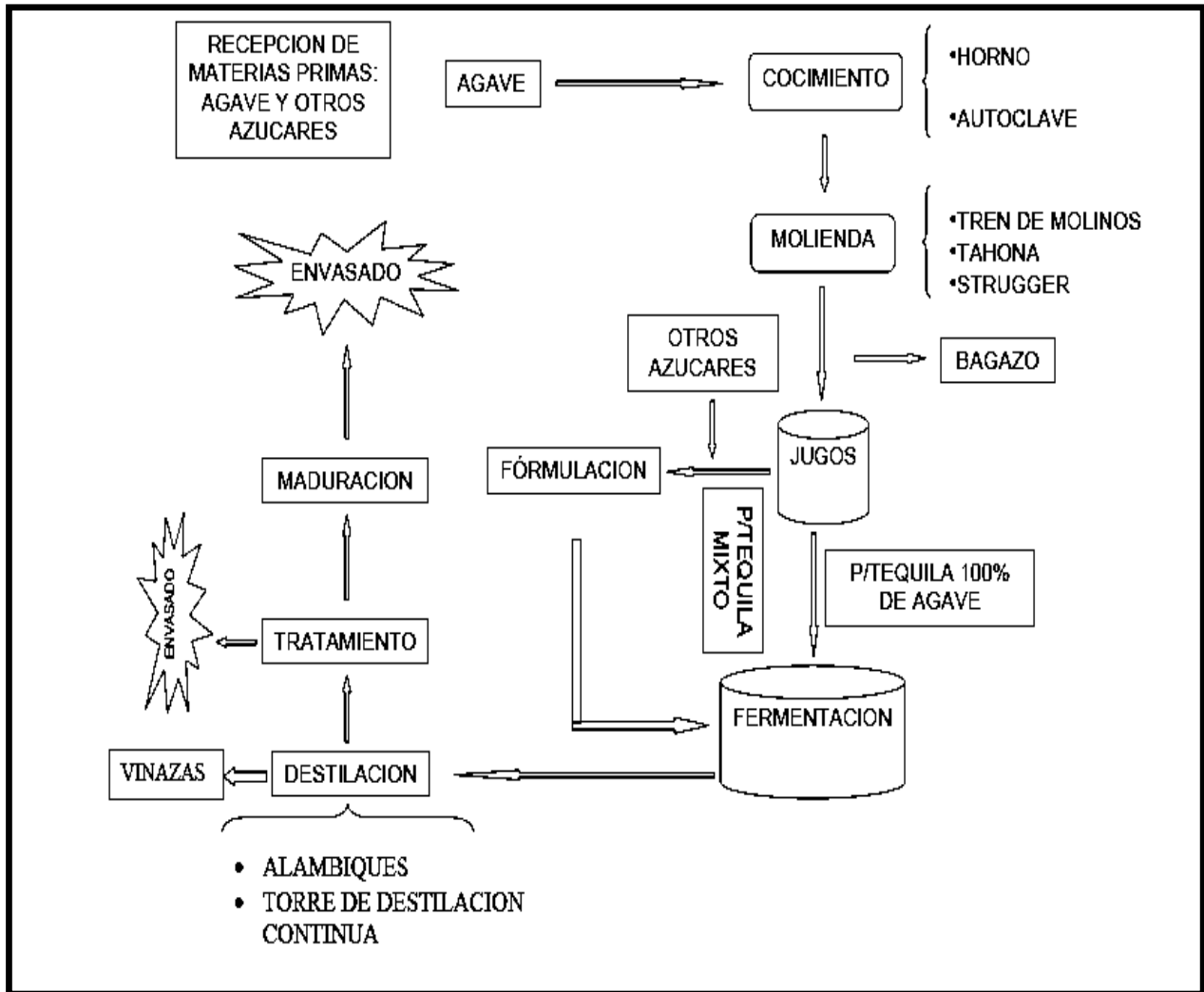


DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO CON DIFUSOR.

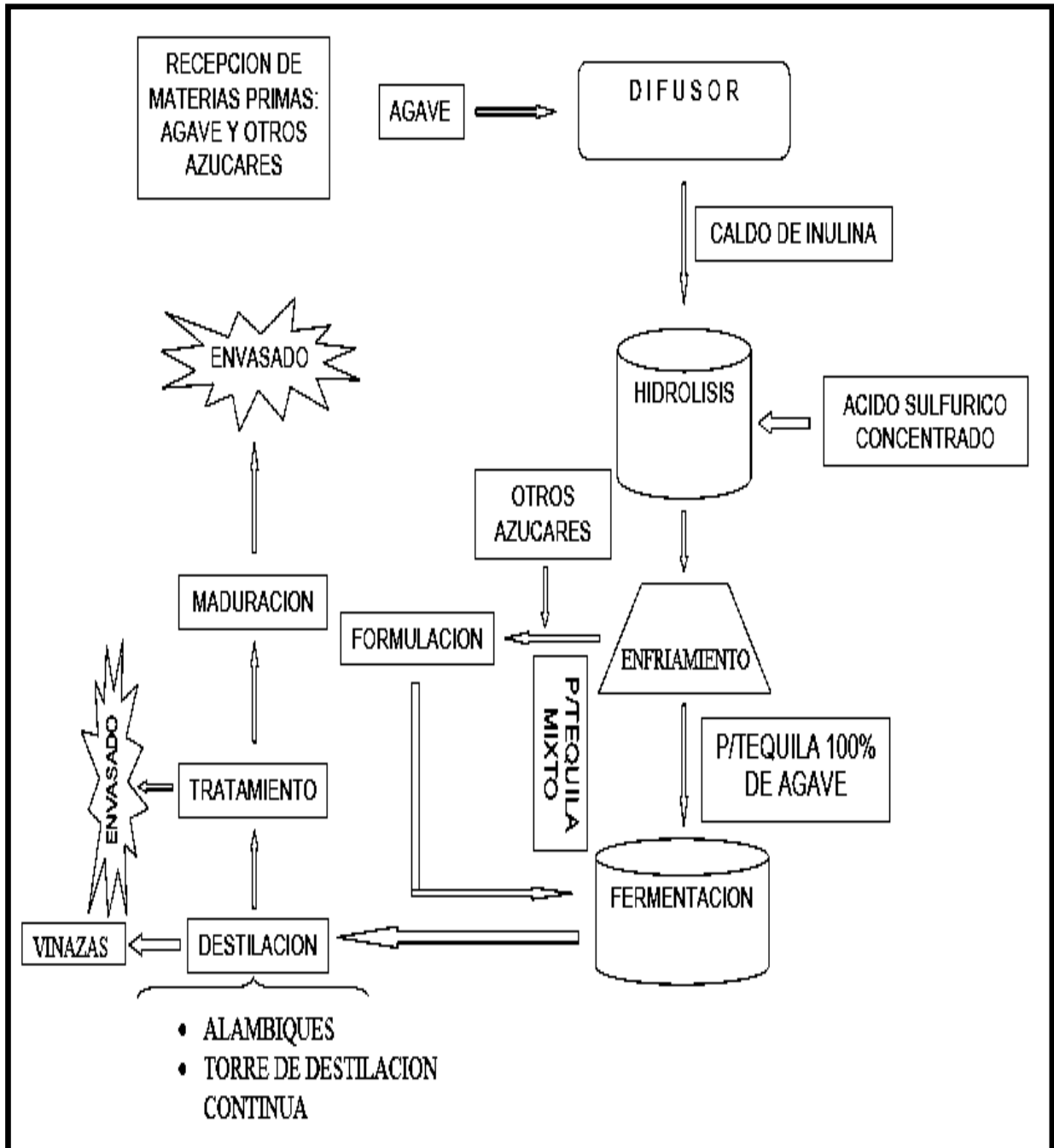


TABLA DE CORRECIÓN DE LECTURA DE SACARÍMETRO POR TEMPERATURA.

°C	LECTURA OBSERVADA EN SACARIMETRO BRIX													
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	70
	RESTAR A LA LECTURA OBSERVADA EN SACARIMETRO BRIX													
0	0.30	0.49	0.65	0.77	0.89	0.99	1.08	1.16	1.24	1.31	1.37	1.41	1.44	1.49
5	0.36	0.47	0.56	0.65	0.73	0.80	0.86	0.91	0.97	1.01	1.05	1.08	1.10	1.14
10	0.32	0.38	0.43	0.48	0.52	0.57	0.60	0.64	0.67	0.70	0.72	0.74	0.75	0.77
11	0.31	0.35	0.40	0.44	0.48	0.51	0.55	0.58	0.60	0.63	0.65	0.66	0.68	0.70
12	0.29	0.32	0.38	0.40	0.43	0.46	0.50	0.52	0.54	0.56	0.58	0.59	0.60	0.62
13	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.41	0.44	0.46	0.48	0.49	0.51	0.52	0.53	0.55
14	0.24	0.26	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38	0.40	0.41	0.42	0.44	0.45	0.46	0.47
15	0.20	0.22	0.24	0.26	0.28	0.30	0.32	0.33	0.34	0.36	0.36	0.37	0.38	0.39
15.56	0.18	0.20	0.22	0.24	0.26	0.28	0.29	0.30	0.30	0.32	0.33	0.33	0.34	0.34
16	0.17	0.18	0.20	0.22	0.23	0.25	0.26	0.27	0.28	0.28	0.29	0.30	0.31	0.32
17	0.13	0.14	0.15	0.16	0.18	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.23	0.23	0.24
17.5	0.11	0.12	0.12	0.14	0.15	0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19	0.20
18	0.09	0.10	0.10	0.11	0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.16
19	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08
	SUMAR A LA LECTURA OBSERVADA EN SACARIMETRO BRIX													
21	0.04	0.05	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.09
22	0.1	0.1	0.11	0.12	0.12	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16
23	0.16	0.16	0.17	0.17	0.19	0.20	0.21	0.21	0.22	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24
24	0.21	0.22	0.23	0.24	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32
25	0.27	0.28	0.30	0.31	0.32	0.34	0.35	0.36	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.39
26	0.33	0.34	0.36	0.37	0.40	0.40	0.42	0.44	0.46	0.47	0.47	0.48	0.48	0.49
27	0.40	0.41	0.42	0.44	0.46	0.48	0.50	0.52	0.54	0.54	0.55	0.56	0.56	0.56
27.5	0.43	0.44	0.46	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.58	0.58	0.59	0.60	0.60	0.60
28	0.46	0.47	0.49	0.51	0.54	0.56	0.58	0.60	0.61	0.62	0.63	0.64	0.64	0.64
29	0.54	0.55	0.56	0.59	0.61	0.63	0.66	0.68	0.70	0.70	0.71	0.72	0.72	0.72
30	0.61	0.62	0.63	0.66	0.68	0.71	0.73	0.76	0.78	0.78	0.79	0.80	0.80	0.81
35	0.99	1.01	1.02	1.06	1.10	1.13	1.16	1.18	1.20	1.21	1.22	1.23	1.23	1.22
40	1.42	1.45	1.47	1.51	1.54	1.57	1.60	1.62	1.64	1.65	1.65	1.65	1.66	1.65
45	1.91	1.94	1.96	2.00	2.03	2.05	2.07	2.09	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.08
50	2.46	2.48	2.80	2.53	2.56	2.57	2.58	2.59	2.59	2.58	2.58	2.57	2.56	2.58
55	3.05	3.07	3.09	3.12	3.12	3.12	3.12	3.11	3.10	3.08	3.07	3.05	3.03	2.97
60	3.69	3.72	3.73	3.73	3.72	3.70	3.67	3.65	3.62	3.60	3.57	3.54	3.50	3.43

TABLA CORREGIDA DEL GRADO ALCOHÓLICO (% A.V.).

TABLAS DE CORRECCION ALCOHOLICA										
35	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9
15.0	30.9	31.0	31.1	31.2	31.3	31.4	31.5	31.6	31.7	31.8
15.5	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
16.0	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5
16.5	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3
17.0	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1
17.5	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9
18.0	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7
18.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5
19.0	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3
19.5	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1
20.0	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9
20.5	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7
21.0	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5
21.5	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3
22.0	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1
22.5	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9
23.0	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7
23.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5
24.0	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3
24.5	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1
25.0	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9
25.5	32.8	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7
26.0	32.6	32.7	32.8	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5
26.5	32.4	32.5	32.6	32.7	32.8	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3
27.0	32.2	32.3	32.4	32.5	32.6	32.7	32.8	32.9	33.0	33.1
27.5	32.0	32.1	32.2	32.3	32.4	32.5	32.6	32.7	32.8	32.9
28.0	31.7	31.8	31.9	32.0	32.1	32.2	32.3	32.4	32.5	32.6
28.5	31.5	31.6	31.7	31.8	31.9	32.0	32.1	32.2	32.3	32.4
29.0	31.3	31.4	31.5	31.6	31.7	31.8	31.9	32.0	32.1	32.2
29.5	31.1	31.2	31.3	31.4	31.5	31.6	31.7	31.8	31.9	32.0
30.0	30.9	31.0	31.1	31.2	31.3	31.4	31.5	31.6	31.7	31.8

ANEXO 6

36	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9
15.0	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9
15.5	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7
16.0	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5
16.5	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3
17.0	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1
17.5	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9
18.0	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
18.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5
19.0	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3
19.5	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1
20.0	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9
20.5	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7
21.0	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5
21.5	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3
22.0	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1
22.5	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9
23.0	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7
23.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5
24.0	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3
24.5	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1
25.0	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9
25.5	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7
26.0	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5
26.5	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3
27.0	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1
27.5	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9
28.0	32.8	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7
28.5	32.6	32.7	32.8	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5
29.0	32.4	32.5	32.6	32.7	32.8	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3
29.5	32.2	32.3	32.4	32.5	32.6	32.7	32.8	32.9	33.0	33.1
30.0	32.0	32.1	32.2	32.3	32.4	32.5	32.6	32.7	32.8	32.9

ANEXO 6

37	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9
15.0	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9
15.5	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7
16.0	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5
16.5	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3
17.0	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1
17.5	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9
18.0	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7
18.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5
19.0	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3
19.5	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1
20.0	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9
20.5	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
21.0	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5
21.5	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3
22.0	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1
22.5	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9
23.0	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7
23.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5
24.0	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3
24.5	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1
25.0	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9
25.5	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7
26.0	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5
26.5	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3
27.0	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1
27.5	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9
28.0	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7
28.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5
29.0	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1	34.2	34.3
29.5	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8	33.9	34.0	34.1
30.0	32.9	33.0	33.1	33.2	33.3	33.4	33.5	33.6	33.7	33.8

ANEXO 6

38	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9
15.0	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9
15.5	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7
16.0	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5
16.5	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3
17.0	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1
17.5	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9
18.0	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7
18.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5
19.0	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3
19.5	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1
20.0	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9
20.5	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7
21.0	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5
21.5	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3
22.0	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1
22.5	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9
23.0	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
23.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5
24.0	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3
24.5	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1
25.0	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9
25.5	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7
26.0	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5
26.5	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3
27.0	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1
27.5	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9
28.0	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7
28.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5
29.0	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1	35.2	35.3
29.5	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9	35.0	35.1
30.0	34.0	34.1	34.2	34.3	34.4	34.5	34.6	34.7	34.8	34.9

ANEXO 6

39	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9
15.0	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9
15.5	40.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
16.0	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5
16.5	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3
17.0	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1
17.5	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9
18.0	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7
18.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5
19.0	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3
19.5	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1
20.0	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9
20.5	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7
21.0	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5
21.5	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3
22.0	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1
22.5	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9
23.0	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7
23.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5
24.0	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3
24.5	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1
25.0	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9
25.5	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
26.0	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5
26.5	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3
27.0	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1
27.5	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9
28.0	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7
28.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5
29.0	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1	36.2	36.3
29.5	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9	36.0	36.1
30.0	35.0	35.1	35.2	35.3	35.4	35.5	35.6	35.7	35.8	35.9

ANEXO 6

40	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9
15.0	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9
15.5	41.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
16.0	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5
16.5	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3
17.0	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1
17.5	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9
18.0	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7
18.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5
19.0	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3
19.5	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1
20.0	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9
20.5	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7
21.0	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5
21.5	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3
22.0	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1
22.5	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9
23.0	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7
23.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5
24.0	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3
24.5	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1
25.0	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9
25.5	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7
26.0	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5
26.5	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3
27.0	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1
27.5	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9
28.0	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
28.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5
29.0	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3
29.5	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9	37.0	37.1
30.0	36.0	36.1	36.2	36.3	36.4	36.5	36.6	36.7	36.8	36.9

ANEXO 6

41	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9
15.0	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9
15.5	42.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
16.0	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5
16.5	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3
17.0	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1
17.5	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9
18.0	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7
18.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5
19.0	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3
19.5	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1
20.0	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9
20.5	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7
21.0	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5
21.5	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3
22.0	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1
22.5	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9
23.0	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7
23.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5
24.0	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3
24.5	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1
25.0	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9
25.5	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7
26.0	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5
26.5	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3
27.0	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1
27.5	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9
28.0	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7
28.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5
29.0	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1	38.2	38.3
29.5	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9	38.0	38.1
30.0	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7	37.8	37.9

ANEXO 6

42	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9
15.0	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9
15.5	43.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
16.0	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5
16.5	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3
17.0	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1
17.5	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9
18.0	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7
18.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5
19.0	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3
19.5	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1
20.0	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9
20.5	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7
21.0	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5
21.5	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3
22.0	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1
22.5	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9
23.0	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7
23.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5
24.0	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3
24.5	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1
25.0	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9
25.5	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7
26.0	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5
26.5	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3
27.0	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1
27.5	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9
28.0	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7
28.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5
29.0	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1	39.2	39.3
29.5	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9	39.0	39.1
30.0	38.0	38.1	38.2	38.3	38.4	38.5	38.6	38.7	38.8	38.9

ANEXO 6

43	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9
15.0	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9
15.5	44.8	36.9	37.0	37.1	37.2	37.3	37.4	37.5	37.6	37.7
16.0	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5
16.5	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3
17.0	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1
17.5	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9
18.0	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7
18.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5
19.0	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3
19.5	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1
20.0	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9
20.5	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7
21.0	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5
21.5	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3
22.0	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1
22.5	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9
23.0	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7
23.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5
24.0	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3
24.5	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1
25.0	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9
25.5	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7
26.0	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5
26.5	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3
27.0	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1
27.5	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9
28.0	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7
28.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5
29.0	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1	40.2	40.3
29.5	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9	40.0	40.1
30.0	39.0	39.1	39.2	39.3	39.4	39.5	39.6	39.7	39.8	39.9

ANEXO 6

44	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9
15.0	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8
15.5	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6
16.0	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5
16.5	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3
17.0	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1
17.5	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9
18.0	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7
18.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5
19.0	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3
19.5	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1
20.0	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9
20.5	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7
21.0	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5
21.5	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3
22.0	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1
22.5	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9
23.0	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7
23.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5
24.0	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3
24.5	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1
25.0	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.8	42.9	43.0
25.5	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8
26.0	41.6	41.7	41.8	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6
26.5	41.4	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4
27.0	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2
27.5	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0
28.0	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8
28.5	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6
29.0	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2	41.3	41.4
29.5	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0	41.1	41.2
30.0	40.1	40.2	40.3	40.4	40.5	40.6	40.7	40.8	40.9	41.0

ANEXO 6

45	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9
15.0	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8
15.5	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6
16.0	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4
16.5	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2
17.0	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1
17.5	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9
18.0	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7
18.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5
19.0	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3
19.5	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1
20.0	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9
20.5	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7
21.0	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5
21.5	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3
22.0	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1
22.5	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9
23.0	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7
23.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5
24.0	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3
24.5	43.2	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2
25.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0
25.5	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8
26.0	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6
26.5	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4
27.0	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2
27.5	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0
28.0	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8
28.5	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6
29.0	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2	42.3	42.4
29.5	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0	42.1	42.2
30.0	41.1	41.2	41.3	41.4	41.5	41.6	41.7	41.8	41.9	42.0

ANEXO 6

46	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9
15.0	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8
15.5	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6
16.0	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4
16.5	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2
17.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0
17.5	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9
18.0	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7
18.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5
19.0	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3
19.5	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1
20.0	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9
20.5	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7
21.0	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5
21.5	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3
22.0	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1
22.5	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9
23.0	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7
23.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5
24.0	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4
24.5	44.3	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3
25.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0
25.5	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8
26.0	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6
26.5	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4
27.0	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2
27.5	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0
28.0	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8
28.5	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6
29.0	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2	43.3	43.4
29.5	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0	43.1	43.2
30.0	42.1	42.2	42.3	42.4	42.5	42.6	42.7	42.8	42.9	43.0

ANEXO 6

47	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9
15.0	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8
15.5	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6
16.0	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4
16.5	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2
17.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0
17.5	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9
18.0	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7
18.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5
19.0	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3
19.5	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1
20.0	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9
20.5	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7
21.0	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5
21.5	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3
22.0	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1
22.5	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9
23.0	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7
23.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5
24.0	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4
24.5	45.3	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3
25.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0
25.5	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8
26.0	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6
26.5	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4
27.0	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2
27.5	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0
28.0	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8
28.5	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6
29.0	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.2	44.3	44.5
29.5	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.0	44.1	44.3
30.0	43.1	43.2	43.3	43.4	43.5	43.6	43.7	43.8	43.9	44.1

ANEXO 6

48	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9
15.0	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8
15.5	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6
16.0	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4
16.5	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2
17.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0
17.5	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9
18.0	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7
18.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5
19.0	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3
19.5	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1
20.0	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9
20.5	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7
21.0	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5
21.5	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3
22.0	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1
22.5	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0
23.0	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8
23.5	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6
24.0	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4
24.5	46.3	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3
25.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0
25.5	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8
26.0	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6
26.5	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4
27.0	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2
27.5	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.1
28.0	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.9
28.5	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5	45.7
29.0	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3	45.4	45.5
29.5	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1	45.2	45.3
30.0	44.2	44.3	44.4	44.5	44.6	44.7	44.8	44.9	45.0	45.1

ANEXO 6

49	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9
15.0	50.9	51.0	51.1	51.2	51.3	51.4	51.5	51.6	51.7	51.8
15.5	50.7	50.8	50.9	51.0	51.1	51.2	51.3	51.4	51.5	51.6
16.0	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9	51.0	51.1	51.2	51.3	51.4
16.5	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9	51.0	51.1	51.2
17.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9	51.0
17.5	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8
18.0	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6
18.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5
19.0	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3
19.5	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1
20.0	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9
20.5	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7
21.0	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5
21.5	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3
22.0	48.2	48.4	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.2
22.5	48.1	48.2	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	49.0
23.0	47.9	48.0	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.8
23.5	47.7	47.8	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.6
24.0	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4
24.5	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2
25.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0
25.5	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8
26.0	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6
26.5	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.5
27.0	46.3	46.4	46.5	46.6	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3
27.5	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1
28.0	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9
28.5	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7
29.0	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3	46.4	46.5
29.5	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1	46.2	46.3
30.0	45.2	45.3	45.4	45.5	45.6	45.7	45.8	45.9	46.0	46.1

ANEXO 6

50	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9
15.0	51.9	52.0	52.1	52.2	52.3	52.4	52.5	52.6	52.7	52.8
15.5	51.7	51.8	51.9	52.0	52.1	52.2	52.3	52.4	52.5	52.6
16.0	51.5	51.6	51.7	51.8	51.9	52.0	52.1	52.2	52.3	52.4
16.5	51.3	51.4	51.5	51.6	51.7	51.8	51.9	52.0	52.1	52.2
17.0	51.1	51.2	51.3	51.4	51.5	51.6	51.7	51.8	51.9	52.0
17.5	50.9	51.0	51.1	51.2	51.3	51.4	51.5	51.6	51.7	51.8
18.0	50.7	50.8	50.9	51.0	51.1	51.2	51.3	51.4	51.5	51.6
18.5	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9	51.0	51.1	51.2	51.3	51.5
19.0	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9	51.0	51.1	51.3
19.5	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9	51.1
20.0	49.9	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7	50.8	50.9
20.5	49.7	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5	50.6	50.7
21.0	49.5	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3	50.4	50.5
21.5	49.3	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0	50.1	50.2	50.3
22.0	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	49.9	50.0	50.2
22.5	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.7	49.8	50.0
23.0	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.5	49.6	49.8
23.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.3	49.4	49.6
24.0	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.1	49.2	49.4
24.5	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	48.9	49.0	49.2
25.0	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.7	48.8	49.0
25.5	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.5	48.6	48.8
26.0	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.3	48.4	48.7
26.5	47.5	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.1	48.2	48.5
27.0	47.3	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	47.9	48.0	48.3
27.5	47.1	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.7	47.8	48.1
28.0	46.9	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.5	47.6	47.9
28.5	46.7	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.3	47.4	47.7
29.0	46.5	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1	47.2	47.5
29.5	46.3	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.3
30.0	46.2	46.3	46.4	46.5	46.6	46.7	46.8	46.9	47.0	47.1

ANEXO 7

**DILUCIONES DEL ESTÁNDAR CONCENTRADO RECOMENDADAS
PARA PREPARAR EL ESTÁNDAR DE CALIBRACIÓN.**

CONCENTRACIONES EN mg/mL

ESTANDAR CONC.EN ml	ESTANDAR INTERNO	ACETAL- DEHIDO	METANOL	S-BUTANOL	n-PROPANOL	i-BUTANOL	n-BUTANOL	i-AMILICO	n-AMILICO	ACETATO DE ETILO
1	30.00	1.60	12.00	2.00	6.00	6.00	2.00	6.00	6.00	3.00
2	30.00	30.20	24.00	4.00	12.00	12.00	4.00	12.00	12.00	6.00
3	30.00	4.80	36.00	6.00	18.00	18.00	6.00	18.00	18.00	9.00
4	30.00	6.40	48.00	8.00	24.00	24.00	8.00	24.00	24.00	12.00
5	30.00	8.00	60.00	10.00	30.00	30.00	10.00	30.00	30.00	15.00
6	30.00	9.60	72.00	12.00	36.00	36.00	12.00	36.00	36.00	18.00
7	30.00	11.20	84.00	14.00	42.00	42.00	14.00	42.00	42.00	21.00
8	30.00	12.80	96.00	16.00	48.00	48.00	15.00	48.00	48.00	24.00
9	30.00	14.40	108.00	18.00	54.00	54.00	18.00	54.00	54.00	27.00
10	30.00	16.00	120.00	20.00	60.00	60.00	20.00	60.00	60.00	30.00

ANEXO 8

mg DE COMPONENTE EN 100 ml DE ALCOHOL ANHIDRO.

ESTANDAR CONC. EN ml	ESTANDAR INTERNO	ACETAL- DEHIDO	METANOL	S-BUTANO	n-PROPANO	i-BUTANO	n-BUTANO	i-AMILICO	n-AMILICO	ACETATO DE ETILO
1	75.00	4.00	30.00	5.00	15.00	15.00	5.00	15.00	15.00	7.50
2	75.00	8.00	60.00	10.00	30.00	30.00	10.00	30.00	30.00	15.00
3	75.00	12.00	90.00	15.00	45.00	45.00	15.00	45.00	45.00	22.50
4	75.00	16.00	120.00	20.00	60.00	60.00	20.00	60.00	60.00	30.00
5	75.00	20.00	150.00	25.00	75.00	75.00	25.00	75.00	75.00	37.50
6	75.00	24.00	180.00	30.00	90.00	90.00	30.00	90.00	90.00	45.00
7	75.00	28.00	210.00	35.00	105.00	105.00	35.00	105.00	105.00	52.50
8	75.00	32.00	240.00	40.00	120.00	120.00	40.00	120.00	120.00	60.00
9	75.00	36.00	270.00	45.00	135.00	135.00	45.00	135.00	135.00	67.50
10	75.00	40.00	300.00	50.00	150.00	150.00	50.00	150.00	150.00	75.00

PARA DETECTAR UNA BEBIDA ADULTERADA, AL MOMENTO DE COMPRARLA, SE PUEDE HACER LO SIGUIENTE.

Voltear la botella y regresar a su posición para ver si en el líquido no hay impurezas, pues a veces usan fierro oxidado para dar color.

La tapa al estar cerrada no debe dar vueltas y se debe verificar que el sello de seguridad no haya sido violado.

El marbete, que es el sello de seguridad, está en el cuello de la botella y en algunos casos se aprecia un holograma.

Las bebidas originales tienen en la parte de atrás una etiqueta que impide que puedan estar chuecas o mal pegadas.

Además las etiquetas deben llevar un relieve (en letras o formas) y en algunos casos les colocan filamentos dorados.

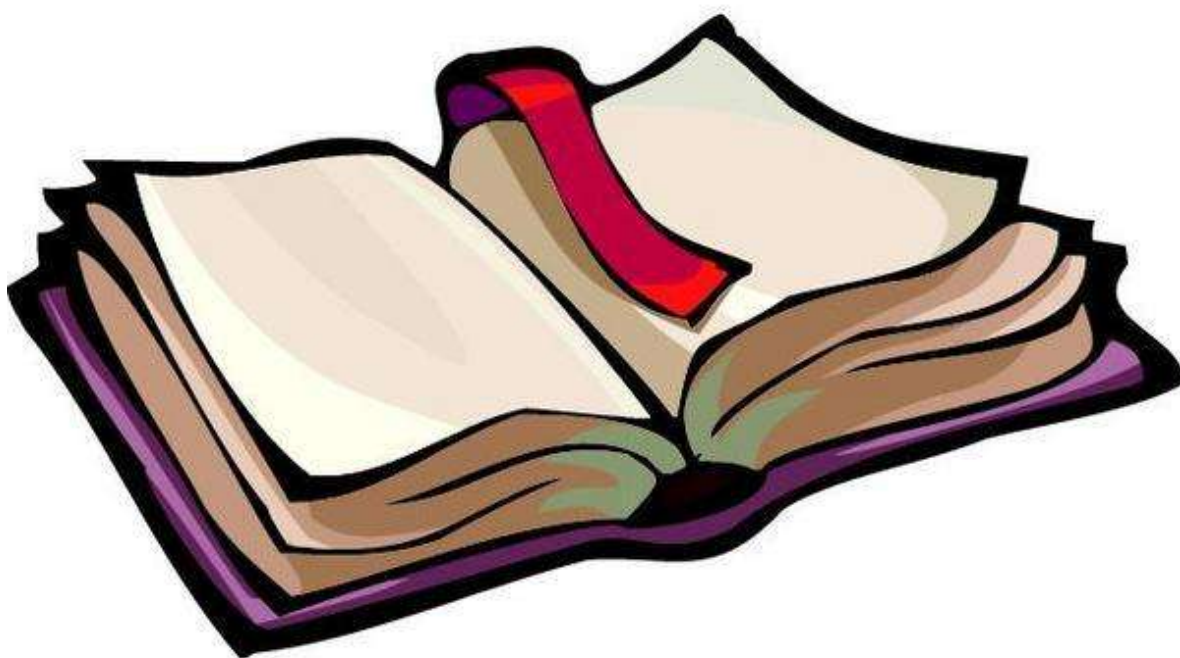
El pegamento de la etiqueta del nombre de la bebida es lineal, para que al ser desprendida se rompa y no pueda rehusarse.

Debe verificar que la botella no tenga un reetiquetado del número de lote, donde se indica el nombre del producto.

Algunas botellas tienen en su base el tipo de bebidas que pueden ser.

VI. BIBLIOGRAFÍA.

BIBLIOGRAFÍA



VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Alejandro Chávez Cárdenas., Arlén Sánchez Valdés., Guillermo Sánchez Rodríguez. (2010). Competitividad del comité del sistema producto agave tequilero Michoacán A.C. Morelia, Michoacán: Fundación produce Michoacán.
2. Alejandro Ibarra Sixto. (Febrero, 2007). Diccionarios Oxford – Física. [En línea]. Madrid: Complutense. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=6sCJtviewgu8C&pg=PA557&dq=alcoholimetro+gay+lussac&hl=es-419&sa=X&ei=dnC1UIDME4q1qQGD4oH4Cg&ved=0CDgQ6AEwAg#v=onepage&q=alcoholimetro%20gay%20lussac&f=false> [2012, noviembre].
3. Alicia Hernández. Microbiología Industrial. [En línea]. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=KFq4oEQQjdEC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false> [2012, noviembre].
4. Antimio Cruz. (Lunes 10 de diciembre de 2012). Usan olfatómetro para identificar el verdadero tequila. [En línea]. México: MILENIO. Disponible en:
<http://www.milenio.com/cdb/doc/impreso/8597092> [2012, diciembre].
5. Axel Sánchez. (Lunes 10 de diciembre de 2012). Hallan 400 marcas de tequila pirata. [En línea]. México: MILENIO. Disponible en:
<http://www.milenio.com/cdb/doc/impreso/9134306> [2012, diciembre].
6. Bebidas adulteradas en México: ¿Cómo detectarlas? Disponible en:
<http://ciudadanosenred.com.mx/articulos/bebidas-adulteradas-en-m-xico-c-mo-detectarlas> [2012, noviembre].
7. Daniel C. Harris. (2003). Análisis Químico Cuantitativo. [En línea]. New York: Reverté. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=H-8vZYdL70C&pg=PA579&dq=cromatografia+de+gases&hl=en&sa=X&ei=4v28UOeVKKKeO2AX0n4HQCw&ved=0CDMQ6AEwAQ#v=onepage&q=cromatografia%20de%20gases&f=false> [2012, diciembre].

VI. BIBLIOGRAFÍA

8. Desarrollan una "cata" científica para el tequila. Disponible en:
<http://www.eluniversal.com.mx/sociedad/4063.html> [2012, noviembre].
9. Destruyen tequilas apócrifos y adulterados. Disponible en:
<http://nuestrotequila.com/verSeccion.php?tipo=noticia&idElemento=40>
[2012, noviembre].
10. Douglas A. Skoog., F. James Holler., Stanley R. Crouch. (2008). Principios de análisis Instrumental. [En línea]. México, D.F.: Learning. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=7FOyZbb7q8UC&printsec=frontcover&dq=el+analisis+instrumental&hl=en&sa=X&ei=uVy1UOaDltOoqwHkmooAg&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q=el%20analisis%20instrumental&f=false> [2012, noviembre].
11. Eduardo Benjamín Ibarra., José Fernando Botero González., Carlos Cortés Amador. (29 de julio 2010). Ingeniería de Tequilas. [En línea]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=SytHZWErOv8C&pg=PA43&lpg=PA43&dq=evaluacion+sensorial++tequila&source=bl&ots=VKnWLyN5kP&sig=BE0oeBfBoPp1qCmZwhVUbjGS-oY&hl=es-419&sa=X&ei=qJ-uUNiSG5DuqQHJ4IHwCg&ved=0CE0Q6AEwBg#v=onepage&q=evaluacion%20sensorial%20%20tequila&f=true> [2012, noviembre].
12. El tequila, su aroma y su sabor. Disponible en:
http://www.revistaciencias.unam.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=276%3Ael-tequila-su-aroma-y-su-sabor&catid=48&Itemid=48
[2012, noviembre].
13. Historia del tequila. Disponible en: <http://www.tequila-z.com/historia.html> [2012, octubre].

VI. BIBLIOGRAFÍA

14. Inmaculada Julián., Regino Sáez., Susana Martínez. (Marzo 2003).
Diccionarios Oxford – Química. [En línea]. Madrid: Complutense. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=VmdvQfFbq9UC&pg=PA66&dq=azuc+ares+reductores&hl=es-419&sa=X&ei=IDe0UITRE4yo8QTimIDICw&ved=0CDIQ6AEwAg#v=onepage&q=azucares%20reductores&f=false> [2012, noviembre].
15. Isabel Sierra Alonso., Damián Pérez Quintanilla., Santiago Gómez Ruiz., Sonia Morante Zarcero. (2010). Análisis Instrumental. [En línea]. España: Netbiblo. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=7kqqf47xB1cC&pg=PA140&dq=tipos+de+Cromatografia&hl=en&sa=X&ei=4AK4UPCWl8Ha2AWQk4DoCQ&ved=0CCCoQ6AEwAA#v=onepage&q=tipos%20de%20Cromatografia&f=false> [2012, diciembre].
16. Javier Madrid Cenzano., Antonio Madrid Vicente., Gema Moreno Tejero. (2003). Análisis de Vinos, Mostos y Alcoholes. [En línea]. Madrid, España: Mundi prensa. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=-6hV02_ilrIC&pg=PA54&dq=determinacion+del+grado+alcoholico&hl=en&sa=X&ei=EHK1UP_YNYnxqAGitIDQCA&ved=0CCcQ6AEwAA#v=onepage&q=determinacion%20del%20grado%20alcoholico&f=false [2012, noviembre].
17. José Bello Gutiérrez. (2000). CIENCIA BROMATOLÓGICA principios generales de los alimentos. [En línea]. Madrid, España: Díaz de Santos. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=94BiLLKBJ6UC&pg=PA268&dq=analisis+fisicoquimicos&hl=es-419&sa=X&ei=eBK0UP6OLYSvygGpnlCICq&sqi=2&ved=0CC8Q6AEwAQ#v=onepage&q=analisis%20fisicoquimicos&f=true> [2012, noviembre].

VI. BIBLIOGRAFÍA

18. José Luis Laneri., Roberto Casas. (Abril, 2001). Manual de procedimientos para el control microbiológico de alimentos. [En línea]. Asunción, Paraguay: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=HcsOAQAAIAAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false> [2012, noviembre].
19. Leticia Mendoza de Cid. (1995). Química General, Manual de Prácticas de Laboratorio. [En línea]. Santo Domingo: Búho. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=bDdooVJCD8oC&pg=PA43&dq=determinacion+de+ph+con+potenciometro&hl=es-419&sa=X&ei=iJu1UPj7NoaOrAHmiYCqCA&ved=0CDUQ6AEwAQ#v=onepage&q=determinacion%20de%20ph%20con%20potenciometro&f=false> [2012, noviembre].
20. Louise Coté., Louis Tardivel., Denis Vaugeois. (2003). La generosidad del indígena, dones de las Américas al mundo. [En línea]. México, D.F.: Fondo de la Cultura Económica. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=dmC7HwwxQb4C&pg=PA241&dq=destilacion+en+alambique+de+tequila&hl=es&sa=X&ei=l_yvUPSIE4XrrQGSooFA&ved=0CEMQ6AEwBQ#v=onepage&q=destilacion%20en%20alambique%20de%20tequila&f=false [2012, octubre].
21. M. Valcárcel Cases y A. Gómez Hens. (1988). Técnicas Analíticas de separación. [En línea]. Barcelona: Reverté. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=WPYYF75dejsC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false> [2012, noviembre].
22. Método para Identificar Tequila Adulterado o Pirata. Disponible en: <http://journalmex.wordpress.com/2009/06/18/metodo-para-identificar-tequila-adulterado-o-pirata/> [2012, noviembre].

VI. BIBLIOGRAFÍA

23. Miriam Barquero Quirós. (2006). Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de Gases. [En línea]. San José, Costa Rica: UCR. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=g3o_PUTmr3wC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false [2012, diciembre].
24. NMX-V-016-1980. BEBIDAS ALCOHÓLICAS DESTILADAS. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL. DISTILLED ALCOHOLIC BEVERAGES. DETERMINATION OF TOTAL ACIDITY. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-V-016-1980.PDF> [2012, noviembre].
25. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-2005, BEBIDAS ALCOHÓLICAS-TEQUILA ESPECIFICACIONES. Disponible en: <http://www.crt.org.mx/images/Documentos/NOM-006-SCFI-2005.pdf> [2012, Octubre].
26. Nuestro Tequila. Disponible en: <http://nuestrotequila.blogspot.mx/> [2012, noviembre].
27. Origen del Bacanora. Disponible en: <http://www.haciendalosmaqueyes.com/bacanoradesonora.html> [2012, noviembre].
28. Pasos para realizar una evaluación sensorial de tequila (CATA). Disponible en: <http://ictpmexico.com/es/component/content/article/21.html> [2012, noviembre].
29. Pruebas colorimétricas para asegurar la calidad del tequila. Disponible en: http://www.metas.com.mx/guiametas/La-Guia-MetAs-11-01-Colorimetria_Tequila.pdf [2012, noviembre].

VI. BIBLIOGRAFÍA

30. Raicilla: La bebida espirituosa. Disponible en:
<http://mx.vallartaonline.com/information/SpotLight/RaicillaLaBebidaEspirituosaPrimeradedospartes/> [2012, noviembre].
31. Ray Foley. (2003). Los mejores cocteles para preparar en casa, PARA DUMMIES. [En línea]. Bogotá, Colombia: Norma. Disponible en:
<http://books.google.com.mx/books?id=qZJjKW-o7EUC&pg=PA80&dq=tequila:+destilacion+en+alambique&hl=es&sa=X&ei=HACwUJOYMZHqiQLY6oG4Dw&ved=0CEQQ6AEwCA#v=onepage&q=tequila%3A%20destilacion%20en%20alambique&f=false> [2012, octubre].
32. Reportaje: Adulterado, el 50% del tequila. Disponible en:
<http://sipse.com/archivo/239-reportaje-adulterado-50-tequila.html> [2012, noviembre].
33. Tequila (Bebida Nacional). Disponible en: <http://www.turiguide.com/de-compras/tiendas/gourmet-vinos-tequila/241-bebida-tequila.html> [2012, noviembre].
34. Una opción para identificar tequila adulterado. Disponible en:
<http://www.conacyt.gob.mx/comunicacion/revista/196/Articulos/Luzytequila/Luzytequila00.htm> [noviembre, 2012].
35. 5 bebidas poco conocidas de México. Disponible en:
<http://www.mexicodesconocido.com.mx/5-bebidas-poco-conocidas-de-mexico.-sotol.html> [2012, noviembre].
36. 8 de cada 10 tequilas que se comercializan son falsos. Disponible en:
<http://es.infodrinks.com/noticias/8-de-cada-10-tequilas-que-se-comercializan-son-falsos/> [2012, noviembre].