

# APLICACIÓN DE LA POLARIMETRÍA LÁSER EN EL PROCESO DE CONTROL DE LA PRODUCCIÓN DE LA INDUSTRIA TEQUILERA

Fajer V.\*, Rodríguez C.\*\* , Flores R.\*\*\*, Naranjo S.\*\* , Cossío G.\* y López J.\*

\*Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear (CEADEN).

5ta. y 30. Miramar. La Habana. Cuba.

Tel: (537) 22 14 22 Fax: (537) 22 15 85 buzón: vfajer@ceaden.edu.cu,vfajer@ff.oc.uh.cu

\*\*Facultad de Biología . Laboratorio de Biología Vegetal. Universidad de La Habana.

25 y J. La Habana. Cuba.Tel: (537) 784152

\*\*\*Centro de Investigaciones en Óptica. León, Guanajuato (CIO),.

Loma del Bosque No. 115, Col. Lomas del Campestre, 37150 León, Gto.

Tel.: (47) 73-1023 Fax: (47) 17-5000 buzón: rflores@foton.cio.mx

**Resumen:** Se presenta el desarrollo del método polarimétrico para la medición de jugos de agave crudos y cocidos tanto en mediciones de polarimetría directa como utilizando el polarímetro láser LP101M como detector de cromatografía líquida. Se demuestra la factibilidad de empleo del mencionado método para el control de la materia prima y el proceso de producción en la industria tequilera, indicando las ventajas de precisión y confiabilidad que aporta el referido método.

## INTRODUCCIÓN

El agave azul tequilano Weber sin duda es hoy el ejemplo más conocido de la familia agavaceae, originaria de México. Esta popularidad se debe a dos aspectos fundamentales: es la planta de cultivo más redituable en México y es muy bella, de hoja recta azul verdoso o glauca de 1.25m de largo por 8 a 10cm de ancho; la espina terminal es de color rojo oscuro de 20mm, los dientes son rojizos triangulares de 3 a 4 mm y separados 10 a 15 mm uno de otro. (1). El agave es una planta semélpara con un período de desarrollo que va de 7 a 10 años. Los terrenos más propicios para su cultivo se encuentran en el estado de Jalisco y algunas zonas de los estados circunvecinos: Nayarit, Michoacán y Guanajuato, ésta ha sido reconocida internacionalmente como la zona de "denominación de origen" del tequila.

Esto garantiza la autenticidad del producto, asegura el mercado y establece el marco regulatorio que define todo el proceso. El Consejo Regulador del Tequila (CRT) es el organismo oficial encargado de vigilar y certificar todo el proceso, desde la siembra de los hijuelos de agave, hasta el añejamiento y envase del tequila.

El agave azul se cultiva desde tiempos prehispánicos, indígenas de la región idearon hornearlo para extraer más azúcares y así lograr una fermentación más rica, pero lo comían cortado en

pedazos, más como golosina que como bebida alcohólica. Son los españoles, durante la colonia, los que introducen el proceso de destilación de los jugos de agave previamente horneado, exprimido en molinos de piedra y fermentado en barricas. Nace así en el pueblo de Tequila, Jalisco, una bebida que desde entonces no ha cesado de crecer en popularidad. La primera industria tequilera formal, se establece en ese mismo pueblo casi veinte años antes del inicio de la guerra de independencia de México.

Durante los últimos seis años la popularidad del tequila se ha incrementado significativamente, tanto en México como internacionalmente, la demanda ha propiciado el surgimiento de muchas nuevas industrias. La regulación estricta por una parte y la exigencia de calidad por la otra fueron algunos de los motivos que propiciaron el financiamiento del primer programa de investigación científica y desarrollo tecnológico en apoyo a la cadena productiva agave-tequila. Este programa fue financiado a partes iguales por el CRT, el CONACYT y el Gobierno del Estado de Jalisco. El énfasis de la primera etapa se centró en los problemas fitosanitarios(1), metabólicos y ecológicos del agave azul tequilano Weber

El trabajo de investigación que se presenta constituye una primera experiencia tendiente a introducir nuevos métodos rápidos, confiables,

precisos y económicos que ayuden al control de calidad de la industria tequilera, tomando como punto de partida la experiencia cubana en el análisis de los jugos de caña de azúcar y del proceso fermentativo.

## MÉTODOS E INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

En el presente trabajo se plantea desarrollar el método polarimétrico con 3 fines principales: el control de la calidad del agave que entra como materia prima a la industria tequilera, la determinación del contenido de azúcares del jugo de agave horneado previo a la fermentación y el control del proceso de fermentación del jugo de agave y por tanto el control de la producción en la mencionada industria.

Para estos fines se tomó como referencia las experiencias en el desarrollo de los métodos sacarimétricos en la industria azucarera que emplea los polarímetros automáticos como instrumento fundamental del laboratorio de análisis y experiencias en el control de la fermentación de la industria vinícola.

Las muestras objeto de estudio fueron 6, proporcionadas por la empresa tequilera Corralejo. Estas muestras comprenden jugos obtenidos de piñas de agaves jóvenes (cuatro a cinco años), medianos (seis a siete años) y maduros (ocho y más años), tres de ellas crudas, dos cocidas y una muestra de mosto con un día y medio de fermentación.

Jugos de Agave	Brix grados	Giro (°) (0.5dm)	% Reductores	viscosidad Relativa (°Euler)
1. Joven (sin cocer) Jalisco	5.0	-0.36	0.53	1.00
2. Maduro (sin cocer) Guanajuato	7.5	-0.95	0.15	1.76
3. Maduro (sin cocer) Jalisco	8.0	-0.78	0.15	1.30
4. Maduro (cocido) Jalisco	7.0	-1.77	4.50	0.97
5. Mediano (cocido) Jalisco	7.0	-1.68	4.50	1.87
6. Jugo con 1 y 1/2 día fermentado	4.5	-0.08	0.48	0.94

**Tabla 1.** Datos de mediciones polarimétricas, utilizando el polarímetro LP 101M

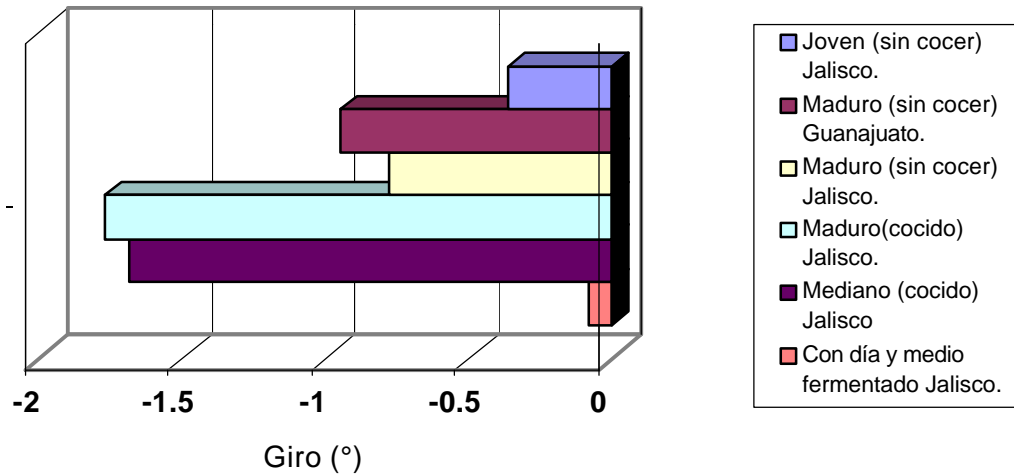
Específicamente para este fin se escogió el polarímetro automático LASERPOL 101M que utiliza el láser de He-Ne como fuente luminosa y alcanza una exactitud de  $\pm 0.01^\circ$  en la escala angular. Este instrumento totalmente automático tiene la ventaja de su alta sensibilidad y la posibilidad de empleo de pequeños volúmenes de muestras (de 1 a 5 ml) dada las pequeñas dimensiones del haz del láser. Este polarímetro utiliza tubos polarimétricos de 50 mm de longitud aunque dispone de un dispositivo que emplea cubetas fotométricas de la misma longitud que son más fáciles de manipular que los mencionados tubos.

Como métodos adicionales para caracterizar el jugo se utilizó la medición refractométrica empleando un refractómetro ABBE de la firma Carl Zeiss de una exactitud de  $\pm 0.5^\circ$  brix. La determinación de

reductores se realizó por el método volumétrico de Eynon y Lane (2).

Las muestras objeto de estudio fueron 6 obtenidas de la empresa tequilera Corralejo. Estas muestras comprenden jugos jóvenes, medianos y maduros obtenidos crudos y cocidos. Para la lectura directa polarimétrica se diluyó el jugo con agua y se añadió subacetato de Pb en polvo para lograr la clarificación.

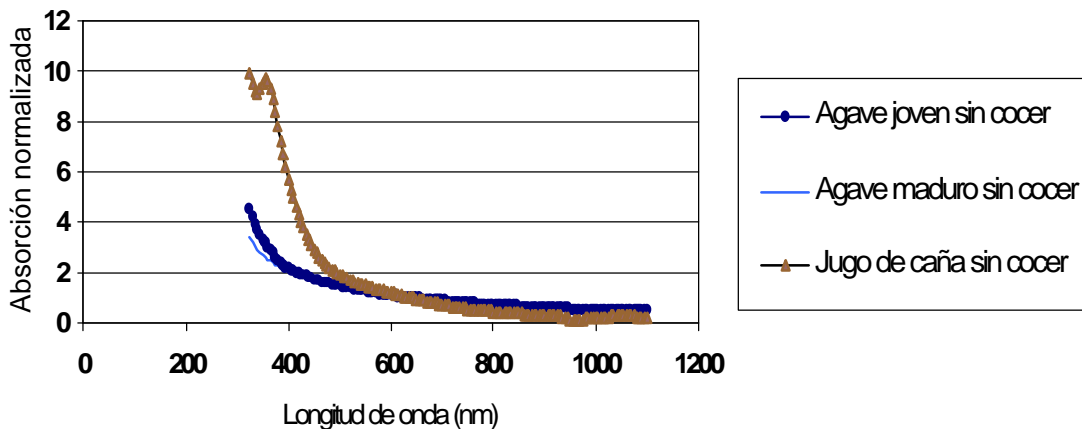
Las muestras de jugo para fines cromatográficos fueron acondicionadas con carbonato de amonio concentrado hasta pH8 y centrifugadas a 20 000 g durante 20 min, introducidas en la columna cromatográfica y fraccionadas en gel Sephadex G-10 con altura y lecho 15 cm y velocidad de flujo de 4ml/min. El fraccionamiento se realizó a 2ml y las fracciones se leyeron en el polarímetro LP101M, el diámetro del haz luminoso del láser permite la medición de muestras de pequeño volumen.



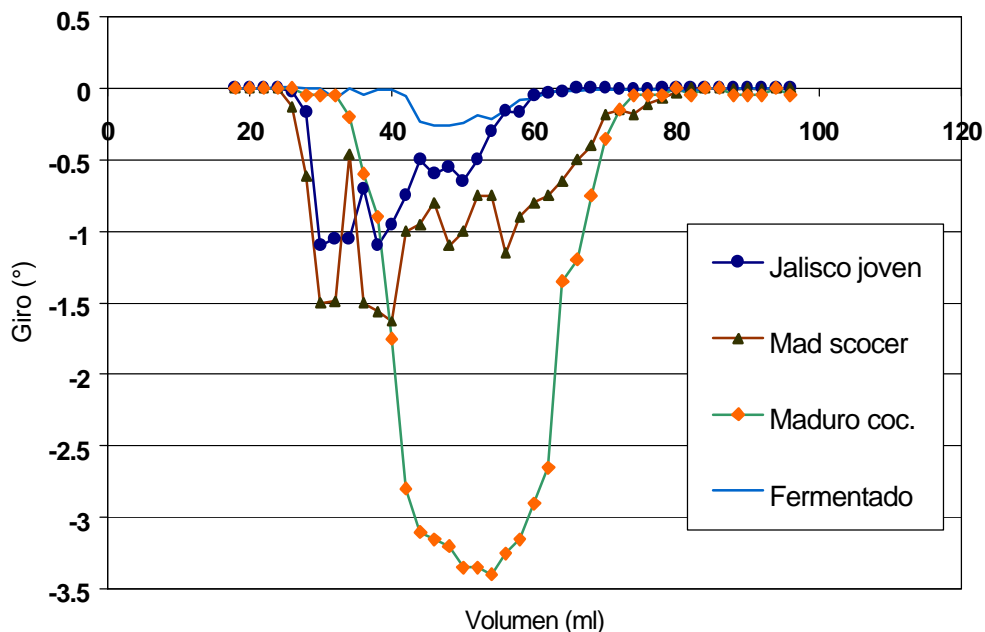
**Fig. 1** Comparación de la actividad óptica de los distintos tipos de jugos de agave

Se realizaron mediciones de absorción en el intervalo espectral entre 300 y 1100 nm, con el espectrofotómetro UNICAM 5675 de una resolución de 1 nm para jugos crudos de agave joven y maduro y se compararon con el espectro obtenido de jugos de caña cubanos., los resultados

se muestran en la Fig.2. Los resultados fueron normalizados a 633 nm para observar claramente la coincidencia entre la absorbancia de los jugos por encima de esta longitud de onda y evidenciar las diferencias que se presentan para longitudes menores que la de referencia.



**Fig. 2** Comparación de los espectros de absorción de los jugos de caña de azúcar y agave



**Fig. 3** Cromatograma de los distintos tipos de jugos de agave

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa que de todos los indicadores analizados, el que mejor permite una comparación entre muestras es la medición polarimétrica. El % de reductores, que nos indica el contenido de sustancias reductoras, crece de los jugos sin cocer a los jugos cocidos, marca la diferencia entre jugo joven y maduro y entre jugo cocido y fermentado.

Los °Brix no expresan la acumulación de carbohidratos susceptible de ser transformada en alcoholes, no marca la diferencia entre jugos sin cocer y cocidos ni destaca, como la polarimetría la cantidad de carbohidratos transformados en alcohol.

La viscosidad relativa no guarda relación entre jugos sin cocer y cocidos, establece diferencias entre éstos que no se corresponden con el contenido de carbohidratos y no puede discriminar entre jugos cocidos y fermentados.

Las determinaciones polarimétricas establecen claras diferencias entre jugos jóvenes y maduros sin cocer, muy marcadas diferencias entre jugos sin cocer y cocidos, así como en la transformación de carbohidratos en alcohol cuando comparamos jugos cocidos y el jugo fermentado.

En el caso del jugo cocido se observa como en el proceso de fermentación ocurre una disminución del valor absoluto de la polarización lo cual se manifiesta en el hecho de que el jugo que presenta día y medio de fermentación tiene un valor de polarización muy pequeño. Este hecho coincide con los resultados obtenidos por los autores en trabajos precedentes (3), (4), (5) relativos a estudios de la fermentación de azúcar crudo para la producción de vino seco, donde se produce una progresiva disminución del valor absoluto de la polarización hasta valores próximos a cero cuando culmina el proceso.

Se muestra en la Fig. 1 como el método polarimétrico permite seguir la secuencia de acumulación de azúcares de joven a maduro, de maduro a cocido y de cocido a fermentado.

En la Fig. 2 se muestra la gran similitud entre los espectros de absorción de los jugos crudos de agave y de caña a partir de los 500 nm.

La Fig. 3 muestra los cromatogramas correspondientes a jugos joven sin cocer, maduro sin cocer, maduro cocido y uno de día y medio de fermentación, todos procedente de Jalisco.

El cromatograma del agave joven sin cocer define dos picos de sustancias excluidas de G-10, la primera, correspondiente por su volumen de elución, a sustancias coloidales; la segunda a sustancias de mediana masa molecular y define dos picos de un hombro en la zona de elución de sustancias de baja masa molecular. Todas ellas caracterizadas por un comportamiento resultante levógiro.

El cromatograma de agave maduro cocido muestra la desaparición de las fracciones coloidales y de mediana masa molecular, un incremento sustancial de la fracción de baja masa molecular y mantiene la insinuación de un hombro al final.

El jugo de 1 día y medio de fermentación muestra la desaparición de las sustancias de baja masa molecular y los residuos de sustancias coloidales y de mediana masa molecular.

Estos cromatogramas demuestran la acumulación de sustancias ópticamente activas, fundamentalmente carbohidratos que tienen un fuerte componente levógiro, cuando la planta pasa de joven a madura; una posible transformación por cocción de la fracción coloidal y de mediana molecular de agave maduro en compuestos de baja masa molecular y finalmente, la reducción prácticamente total de los carbohidratos de baja masa molecular que pasan a alcohol.

El uso de la cromatografía líquida de baja presión ha sido utilizada con éxito en el estudio de patrones de carbohidratos y jugos de caña de azúcar donde se han separado los carbohidratos coloides y los de mediano y baja masa molecular cuyas resultantes de giro son dextrógiras (6). Todo indica que sean levógiras o dextrógiras las componentes de carbohidratos presentes en extractos vegetales, son susceptibles de separar en grupos los carbohidratos de alta, mediana y baja masa molecular, utilizando la metodología descrita en esta cita.

## CONCLUSIONES

- La medición polarimétrica de los jugos de agave es factible y existe una relación directa entre el grado de maduración de la planta y el valor absoluto de la lectura angular.
- El control de la fermentación del jugo del agave se puede realizar mediante polarimetría y constituye un método de mayor precisión para el control del proceso productivo y la determinación .

- La cromatografía empleada permite separar las componentes de carbohidratos presentes y demostrar el proceso de acumulación de carbohidratos hacia la maduración, la transformación de carbohidratos de alta y mediana masa molecular en carbohidratos de baja masa molecular y la conversión de estos últimos en alcohol.

## REFERENCIAS

- [1] Luna G. Tesis de doctorado "Hacia un manejo integrado de plagas". Fundamentos y recomendaciones prácticas. Agave tequilana. 1999, pp. 21.
- [2] Spencer A. y Meade M. Manual de fabricantes de azúcar de caña y químicos azucareros. 1932, pp. 287-289.
- [3] Bravo O.L., López J.C., González R., y Fajer V. Informe preliminar sobre la utilización de la polarimetría en el proceso de control y caracterización de vinos y cervezas. Memorias de la 2. Jornada Científica del CEDEIC. 1993, pp. 38-46.
- [4] Fajer V., Rodríguez C., Martínez M., Bravo O.L., and Cossío G., Polarimeter LP 101M and its applications in liquid chromatography. Proceedings SPIE . Second Iberoamerican Meeting of Optics. Guanajuato. México. Vol. 27.30. 1995, pp. 234-237.
- [5] Fajer V.: Laser polarimeters: Overview of recent developments, design and applications. Journal of laser applications No. 8. 1996, pp. 43-53.
- [6] Rodríguez C., Cossío G., Martínez M., Ávila N., Fajer V., Naranjo S., Bravo O., Armas R., Mora L., Ravelo J y González R. Evaluación de patrones de carbohidratos para la caracterización de azúcares técnicos y jugos mediante cromatografía líquida, detección polarimétrica y colorimétrica. Soporte magnético, 5ta. Convención Metánica 2000.