

USO DE UNA NARIZ ELECTRÓNICA PARA EL ANÁLISIS DE AGUARDIENTES DE CAÑA DE AZÚCAR

Jorge Pino^{1*}, M. Pilar Martí², Ricard Boqué³, Olga Busto² y Josep Guasch²

¹*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3 ½, La Habana CP 19200, Cuba.*

²*Departament de Química Analítica i Química Orgànica. Unitat d'Enologia CeRTA. Facultat d'Enologia. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, España.*

³*Departament de Química Analítica i Química Orgànica. Facultat de Química de Tarragona. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, España.*

E-mail: jpino@iia.edu.cu

RESUMEN

En este trabajo se presenta la aplicación de una nariz electrónica basada en la espectrometría de masas para el análisis de aguardientes de caña de azúcar elaborados en una destilería de Cuba. Con el empleo de la técnica de calibración multivariante PLS (*Partial Least Squares*), se construyó un modelo de calibración que permitió predecir los meses de añejamiento de los aguardientes en barricas de roble de una manera rápida (10 min/muestra), sencilla y con adecuada exactitud y precisión.

Palabras clave: aguardiente, añejamiento, nariz electrónica, CG-EM.

ABSTRACT

Use of an electronic nose for the analysis of sugar cane spirits

The application of an electronic nose is presented based on mass spectrometry for the analysis of sugar cane spirits elaborated in a Cuban still is discussed. With the use of the multivariate calibration technique PLS (*Partial Least Squares*), a calibration model was built that allowed to predict the months of aging of the spirits stored in oak casks in a simple and rapid way (10 min/sample), and with appropriate accuracy and precision.

Keywords: sugar cane spirit, aging, electronic nose, GC-MS.

INTRODUCCIÓN

El análisis sensorial, efectuado por un grupo de catadores expertos, es la técnica utilizada habitualmente para evaluar el aroma de alimentos y bebidas. Sin embargo, esta técnica conlleva algunos inconvenientes importantes como el disponer de un conjunto de personas entrenadas, la falta de repetibilidad entre catadores, la subjetividad de los mismos, etc. Estas limitaciones han desembocado en el desarrollo de instrumentos que permitan obtener, de forma rápida y objetiva, resultados parecidos a los obtenidos por el panel de catadores en el análisis del aroma. Aunque todos los instrumentos de este tipo son nombrados de forma genérica narices electrónicas, existen diferentes tipos que se diferencian básicamente en el sistema de detección (1-10).

***Jorge A. Pino:** Doctor en Ciencias Técnicas (CNIC, La Habana, 1980) y Doctor en Ciencias (IFAL, La Habana, 2011). Es investigador titular del Dpto. de Aromas del IIIA. Investiga en la química y tecnología del aroma de los alimentos y aceites esenciales.

La nariz electrónica utilizada en el trabajo que aquí se presenta está basada en la técnica de la espectrometría de masas y consiste en introducir el espacio de cabeza de la muestra, que es donde se hallan los compuestos volátiles y que, por lo tanto, son los susceptibles de participar en el aroma, en la cámara de ionización del espectrómetro de masas, sin separación previa de los compuestos. El espectro de masas obtenido al analizar una muestra viene a representar una huella digital de la misma. Cuando se analizan varias muestras, la matriz de datos que se genera se procesa mediante técnicas quimiométricas que permiten obtener información estadística sobre las posibles pautas de semejanza de las muestras de acuerdo con su composición aromática. Además, con el uso de técnicas de calibración multivariante también es posible realizar determinaciones de carácter cuantitativo.

El objetivo de este trabajo fue establecer un método para determinar el tiempo de envejecimiento de aguardientes de caña de azúcar en barriles de roble mediante una nariz electrónica basada en la espectrometría de masas para el análisis de las muestras y la técnica de calibración multivariante PLS (*Partial Least Squares*) para el tratamiento de los datos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras analizadas fueron aguardientes de caña de azúcar, elaborados en una destilería de Cuba, con diferentes tiempos de envejecimiento en barricas de roble (entre 3 y 21 meses). La toma de muestra se realizó por dos años (2001 y 2002). El contenido en etanol de las muestras fue del 70 %, aunque para el análisis se diluyeron a 40 %. Cada muestra se analizó por triplicado.

Los análisis se hicieron con una nariz electrónica compuesta por un muestreador automático de espacio de cabeza Hewlett-Packard 7694, un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6890 y un detector de masas Hewlett-Packard 5973. Cabe destacar que la función de la columna cromatográfica fue servir solamente solo como línea de transferencia entre el muestreador y el detector.

En el procedimiento de análisis, 5 mL de muestra adicionados con 0,58 g de cloruro de sodio se dejaron equilibrar a 65 °C durante 1 h en un vial de 10 mL cerrado herméticamente con una membrana de PTFE/silicona.

Transcurrido este tiempo, se introdujo el espacio de cabeza de la muestra en el inyector del cromatógrafo de gases. Las temperaturas del lazo (*loop*) y de la línea de transferencia fueron 95 y 110 °C respectivamente, mientras que los tiempos de presurización e inyección fueron de 0,3 min y 0,6 min, respectivamente. La inyección cromatográfica fue en modo *splitless* durante 1,6 min a 200 °C. La columna cromatográfica utilizada fue del tipo HP-5MS de (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), con una programación de temperatura de 70 °C (1 min), 70 °C/min hasta 180 °C (2,5 min). El gas portador fue helio con un flujo de 1,8 mL/min.

Los espectros de masas se registraron mediante ionización por impacto electrónico a 70 eV y en un rango de m/z entre 50 y 250. Las temperaturas de la fuente de ionización y el cuadrupolo fueron 230 y 150 °C, respectivamente. El programa utilizado para el análisis multivariante fue Pirouette 2.6 de Infometrix (Woodinville, WA, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los datos obtenidos en el análisis de las muestras con la nariz electrónica se construyó un modelo de calibración multivariante PLS en el que las relaciones m/z monitorizadas fueron las variables independientes y el tiempo de envejecimiento la variable dependiente. Así pues, los datos de calibración estuvieron constituidos por una matriz de espectros (54 muestras x 200 variables) y un vector con 54 valores que correspondieron a los meses de envejecimiento de las muestras. El pretratamiento realizado a la matriz de datos antes de llevar a cabo el análisis multivariante fue un centrado de las variables y una normalización a 100 de las muestras.

En el primer modelo obtenido, la muestra con 13 meses de envejecimiento del 2001 y las muestras de 3 y 19 meses del 2002 se detectaron como *outliers*. Por tanto, volvieron a procesarse los datos pero, esta vez, eliminando los replicados correspondientes a estas tres muestras. El número óptimo de factores o componentes principales, se determinó a partir del error de predicción medio (SEP). El número de factores escogidos fue de cinco ya que, como puede observarse en la Fig. 1, donde se representa el SEP frente al número de factores del modelo, el gráfico presentó un mínimo en este valor.

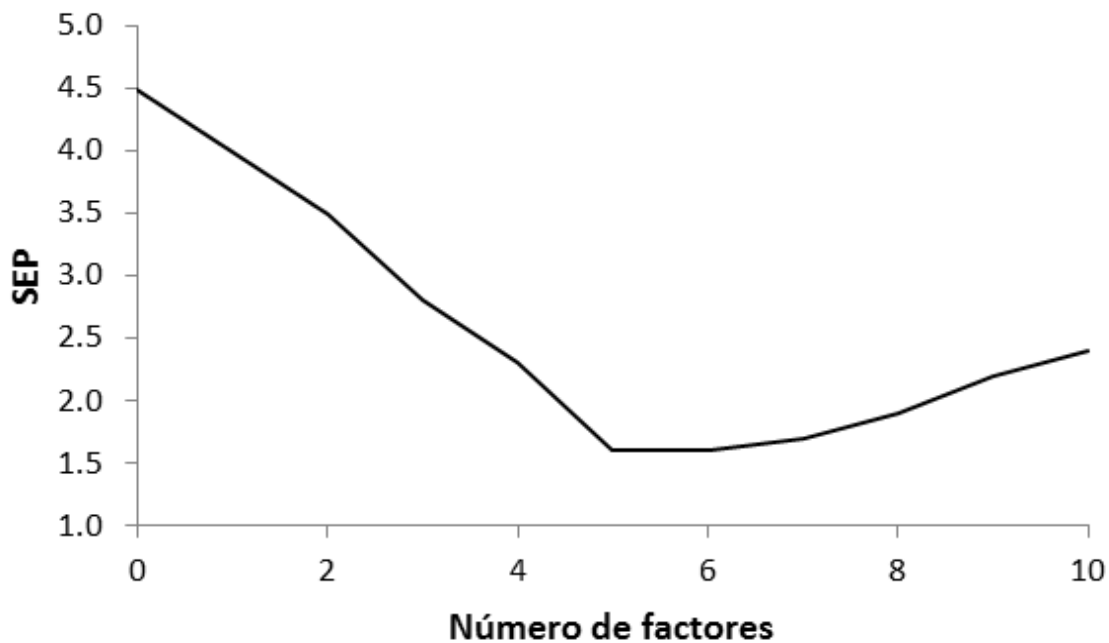


Fig. 1. Representación del error de predicción medio (SEP) frente al número de factores del modelo.

La validación del método se realizó mediante una validación cruzada debido a que no se dispuso de un conjunto independiente de muestras, es decir, un conjunto de muestras diferentes a las utilizadas para construir el modelo. La validación cruzada consistió en dejar sucesivamente todos los replicados de una misma muestra fuera del conjunto de calibración y predecir su valor mediante el modelo construido con las muestras restantes.

La Fig. 2 muestra que existió un buen ajuste entre los meses de envejecimiento de las muestras de calibración y los valores predichos por el modelo. La precisión del modelo, expresada en términos de raíz cuadrada del error medio de predicción (*root-mean-square error of prediction*, RMSEP) fue de 1,9 meses. La repetibilidad, que se calculó a partir de los valores de predicción, obtenidos en la validación cruzada, de los tres análisis realizados a cada muestra, fue del 10,9 %.

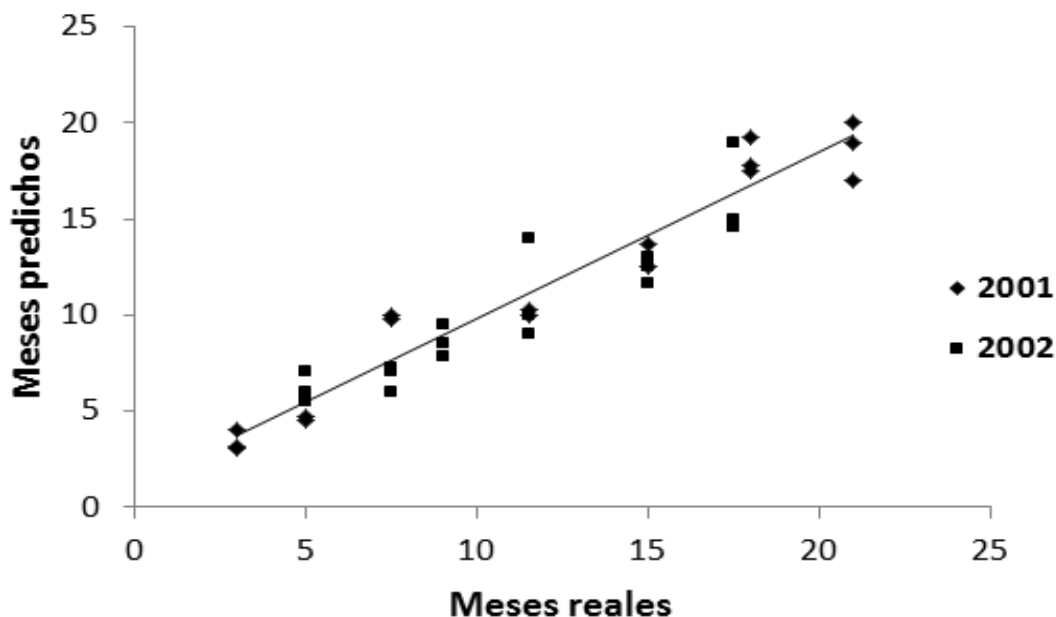


Fig. 2. Meses de envejecimiento predichos por el modelo frente a meses reales de las muestras.

La Tabla 1 presenta, además de los parámetros del modelo construido con todo el conjunto de muestras (modelo 1), los parámetros obtenidos en la construcción de un modelo para cada año. Si se comparan los modelos de los dos años, puede observarse que el error de predicción medio estimado en el proceso de validación fue menor en el modelo construido con las muestras del segundo año. Sin embargo, de forma general, los parámetros de los modelos 2 y 3 fueron mejores que los del modelo 1. Este resultado era de esperar ya que la variabilidad entre las muestras de un solo año normalmente siempre es menor. No obstante, el modelo que contiene muestras de años diferentes tendrá mayor robustez.

Una de las características más importantes a destacar del método que aquí se presenta es la rapidez de los análisis. El tiempo necesario para registrar el espectro de masas de una muestra fue de tan solo 5 min y, aunque en la etapa de pretratamiento se requiera 1 h para alcanzar el equilibrio de todos los compuestos volátiles entre el líquido y el espacio de cabeza, se pueden

secuenciar los análisis de tal manera que el tiempo real de análisis para cada muestra sea de 10 min. Por otro lado, el método es muy sencillo, ya que solamente es necesario diluir la muestra y añadirle cloruro de sodio.

CONCLUSIONES

El método obtenido permite de una manera rápida, sencilla y con unos parámetros de calidad adecuados, predecir una variable difícil de determinar instrumentalmente con un solo parámetro, como es el tiempo de añejamiento de los aguardientes. Además, los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la nariz electrónica basada en la espectrometría de masas es una técnica con un gran potencial en el control de calidad de bebidas alcohólicas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universitat Rovira i Virgili (Tarragona, España) y al Ministerio de Ciencia y Tecnología/INIA (España) por el financiamiento del estudio.

Tabla 1. Parámetros de calidad de los diferentes modelos construidos

| Modelo | Muestra | Factores | Calibración | | | Validación | | |
|--------|-------------|----------|-------------|-----|-------|------------|-----|-------|
| | | | R | SEC | RMSEC | R | SEP | RMSEP |
| 1 | 2001 y 2002 | 5 | 0,974 | 1,3 | 1,3 | 0,939 | 2,0 | 1,9 |
| 2 | 2001 | 5 | 0,986 | 1,1 | 1,1 | 0,944 | 2,1 | 2,0 |
| 3 | 2002 | 3 | 0,959 | 1,2 | 1,2 | 0,915 | 1,8 | 1,7 |

SEC: error de calibración medio, RMSEC: raíz cuadrada del error medio de predicción, RMSEP: raíz cuadrada del error medio de predicción.

REFERENCIAS

1. Fallik, F.; Alkali-Tuvia, S.; Horev, B.; Copel, A.; Rodov, V.; Aharoni, Y.; Ulrich, D. y Schulz, H. *Postharvest Biol. Technol.* 22:85-91, 2001.
2. Martí, M.P.; Boqué, R.; Riu, M.; Busto, O. y Guasch, J. *Anal. Bioanal. Chem.* 376(4):497-501, 2003.
3. Fenaille, F.; Visani, P.; Fumeaux, R.; Milo, C. y Guy, P.A. *J. Agric. Food Chem.* 51:2790-2796, 2003.
4. Dirinck, I.; van Leuven, I. y Dirinck P. *Application of a mass spectrometry-based aroma characterisation of coffee*. En: *The Proceedings of the 7th Wartburg Symposium on Flavour Chemistry & Biology*. Eisenach, Germany, 21-23 April 2004.
5. Shilbayeh, N.F. y Iskandarani, M.Z. *American J. Applied Sci.* 1 (2):129-135, 2004.
6. Martí, M.P.; Boqué, R.; Busto, O. y Guasch, J. *Trends Anal. Chem.* 24 (1):57-66, 2005.
7. Sikorska, E.; Chmielewski, J.; Górecki, T.; Khmelinskii, I.; Sikorski, M. y De Keukeleire, D. *J. Inst. Brew.* 113 (1):110-116, 2007.
8. Arroyo, T.; Lozano, J.; Cabellos, J.M.; Gil-Díaz, M.; Santos, J.P. y Horrillo, C. *J. Agric. Food Chem.* 57:11543-11549, 2009.
9. Baldwin, E.A.; Bai, J.; Plotto, A. y Dea, S. *Sensors* 11:4744-4766, 2011.
10. Brattoli, M.; de Gennaro, G.; de Pinto, V.; Loiotile, A.D.; Lovascio, S. y Penza, M. *Sensors* 11:5290-5322, 2011.