

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
NEGOCIADO DE TESIS

Queda registrado este Título de Doctor al
folio 83 número 119 del libro
correspondiente.

Sevilla, 04 ABR. 2000

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

El Jefe del Negociado.

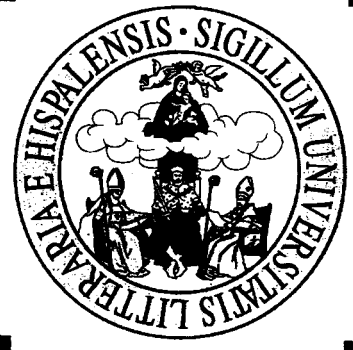
[Handwritten signature]

FACULTAD DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

600030767

IT/809



DISCRIMINACIÓN Y AUTENTICACIÓN DE WHISKEY
IRLANDÉS A PARTIR DE SU COMPOSICIÓN QUÍMICA
MEDIANTE TÉCNICAS DE RECONOCIMIENTO DE
PATRONES

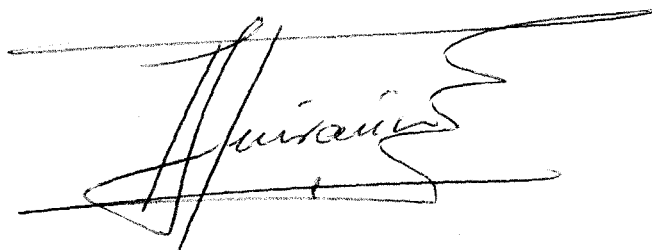
TESIS DOCTORAL

Víctor M. González Gallero
Sevilla, Septiembre, 1999

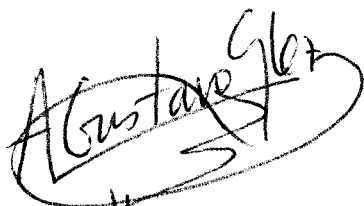
D. Alfonso Guiraúm Pérez, Catedrático Director del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICA: Que el presente trabajo de investigación ha sido realizado íntegramente en los laboratorios de los Departamentos de Química Analítica y Química Física de la Universidad de Sevilla, y reúne las condiciones exigidas a los trabajos de tesis doctoral.

Y para que conste, expido y firmo el presente certificado en Sevilla a 10 de Septiembre de 1999.



Fdo. D. Alfonso Guiraúm Pérez



Fdo. D. Gustavo A. González González

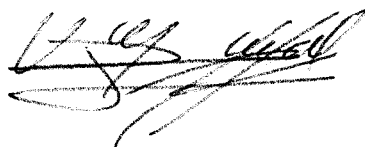
DIRECTORES



Fdo. D. Domingo González Arjona

Profesores Titulares del Departamento de Química Analítica y Química Física de la Universidad de Sevilla, respectivamente.

Memoria presentada para aspirar al grado de Doctor en Ciencias Químicas.



Fdo. Víctor M. González Gallero

Lcdo. en Ciencias Químicas

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento:

Al doctor D. Alfonso Guiraúm Pérez por haberme ofrecido la oportunidad de llevar a cabo esta memoria.

A los doctores D. Gustavo A. González González y D. Domingo González Arjona por su dirección, apoyo y paciencia en la realización del presente trabajo y por su amistad.

Al doctor D. Fernando de Pablos Pons por su ayuda, amistad y consejo en los momentos más oportunos.

A mis padres y a Rosa por el gran apoyo prestado para hacer posible esta memoria.

A mis compañeros y al personal docente y auxiliar del Departamento de Química Analítica y Química Física por su apoyo.

A mis padres y a Rosa

ÍNDICE

CAPÍTULO 0

OBJETIVOS	1
INTRODUCCIÓN	2
RESEÑA HISTORICA DEL WHISKY	6
Historia del whisky escocés	6
Historia del whiskey irlandés	11
Historia del whiskey estadounidense	12
ELABORACIÓN DEL WHISKY	14
Maltas puros escoceses	18
Whisky de grano	27
Blended whisky	29
Whiskey irlandés	30
Bourbon whiskey	31
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL WHISKY	35
Materia prima y turbeado	35
Fermentación	36
Destilación	37
Maduración	38
ANTECEDENTES	41
Aceites de fusel	41
Metales	41
Otros congéneres volátiles	42
SELECCIÓN DE LOS DESCRIPTORES QUÍMICOS	42
Aceites de fusel	42
Metales	42
Otros congéneres volátiles	43
SELECCIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS	44
Aceites de fusel	44
Metales	44
Otros congéneres volátiles	45
APLICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES	45
OBJETIVOS PORMENORIZADOS	46
REFERENCIAS	48

CAPÍTULO I

I. PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA	49
I.1. DISOLUCIONES Y REACTIVOS	49
I.2. INSTRUMENTACIÓN Y MATERIAL	50
I.3. SOPORTE INFORMÁTICO	51
I.4. MUESTRAS DE WHISKY	53
I.5. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS	55
I.5.1. Sondeo de nitrosaminas en whiskies por cromatografía de gases-espectrometría de masas	55
I.5.2. Determinación de metales en whiskies por técnicas de emisión y absorción atómicas	56
I.5.3. Determinación de aceites de fusel en whiskies por cromatografía de gases-espectrometría de masas	57
I.5.4. Estudio del perfil menos volátil mediante inyección directa	58
REFERENCIAS	60

CAPÍTULO II

II. INTRODUCCIÓN A LOS MÉTODOS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES	61
II.1. IDEAS FUNDAMENTALES EN RECONOCIMIENTO DE PATRONES	62
II.2. PREPROCESADO DE LOS DATOS	65
II.3. MÉTODOS DE VISUALIZACIÓN DE DATOS. ANÁLISIS EN COMPONENTES PRINCIPALES	67
II.4. TÉCNICAS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES CON APRENDIZAJE NO SUPERVISADO. ANÁLISIS "CLUSTER"	72
II.5. RECONOCIMIENTO DE PATRONES CON APRENDIZAJE SUPERVISADO	75

II.6. MÉTODOS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES CON APRENDIZAJE SUPERVISADO UTILIZADOS EN ESTA MEMORIA	77
II.6.1. Método de los K vecinos más próximos (KNN)	77
II.6.2. Análisis discriminante lineal <i>suavizado</i> (CMLDA)	78
II.6.3. Análisis discriminante mediante transformaciones procrústeas (PDA)	81
II.7. RECONOCIMIENTO DE PATRONES MEDIANTE ALGORITMOS BASADOS EN REDES NEURONALES ARTIFICIALES	82
II.7.1. Neuronas y redes	84
II.7.2. Aprendizaje supervisado	91
II.7.3. Aprendizaje por Retropropagación	91
REFERENCIAS	95
CAPÍTULO III	
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	97
III.1. SONDEO DE NITROSAMINAS	97
III.2. ESTUDIO DEL PERFIL OBTENIDO POR INYECCIÓN DEL ESPACIO DE CABEZA	98
III.2.1. Determinación analítica	98
III.2.2. Análisis en componentes principales (PCA), representaciones variable-variable y análisis "clusters" (CA)	104
III.3. ESTUDIO DEL PERFIL METÁLICO	107
III.3.1. Determinación analítica	107
III.3.2. Análisis en componentes principales (PCA) y análisis "cluster" (CA)	113
III.3.3. Métodos supervisados de reconocimiento de patrones	116
III.4. ESTUDIO DEL PERFIL OBTENIDO POR INYECCIÓN DIRECTA	120
III.4.1. Reconocimiento y estimación de la abundancia relativa de los congéneres mediante inyección directa	120
III.4.2. Análisis en componentes principales (PCA) y análisis "cluster" (CA)	131
III.4.3. Métodos supervisados de reconocimiento de patrones	135
III.4.4. Estructura intraclásica de segundo orden	140
REFERENCIAS	146

RESUMEN	147
CONCLUSIONES	149
APÉNDICE A	A0-A7
APÉNDICE B	B0-B15

OBJETIVOS

OBJETIVOS

El objetivo fundamental que nos propusimos al comenzar este trabajo fue la caracterización, diferenciación y autenticación de los tres principales tipos de whisky que se consumen en Europa, a saber, el whisky escocés (malta puro), el whiskey estadounidense (bourbon) y el whiskey irlandés a partir de su composición química comprendida en tres niveles: su perfil metálico, su perfil más volátil (aceites de fusel) y su perfil menos volátil (ésteres, ácidos, alcoholes, ...).

La mayor parte de los trabajos descritos en la bibliografía estudian los whiskies escoceses (malta puros ó/y mezclados "blendeds") y americanos, pero no hacían mención alguna al whiskey irlandés. Por lo tanto, nos dedicamos al estudio de la diferenciación de los whiskeys irlandeses aplicando métodos de reconocimiento de patrones a cada uno de los perfiles señalados. Como se verá posteriormente, estos métodos permitieron descubrir clasificaciones dentro de los tipos fundamentales de whisky considerados.

Para el estudio de la autenticación, seleccionamos como parámetros clave las probabilidades de falsos positivos y falsos negativos en la predicción de un conjunto de validación. La consecución de estos objetivos ha sido la guía directriz del desarrollo de la presente memoria, que comienza a continuación.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCION

Las bebidas alcohólicas obtenidas por fermentación se conocen desde muy antiguo. Del vino por ejemplo, encontramos acotaciones en la Biblia tanto de algunas de sus propiedades como de su uso en las celebraciones y actos sociales. Aparte del relato sobre Noé (Génesis, 10, 20-21) y la boda de Caná (Juan, 2, 1-12) hay interesantes advertencias en el Eclesiástico. Las bebidas alcohólicas llamadas *espirituosas* por el contrario, tuvieron que esperar al desarrollo de los métodos destilatorios por parte de los alquimistas. El resultado de la destilación de sustancias fermentadas ya era llamado *aqua vitae* por Arnau de Vilanova y *aqua ardens* por Raimond Llull (A.J. Liebman, 1956). Otros nombres genéricos son agua de vida, aguardiente, “eau de vie”, “akuavit”,... La sutileza de tales denominaciones procede en parte del efecto de vitalidad que estos líquidos procuran en el ánimo de quienes los prueban, lo que legendariamente fue relacionado con los poderes de transformación de los brebajes y las facultades mágicas de los elixires (J. Muñoz Ramos, 1996). Así pues, el origen de la destilación está directamente vinculado con la Alquimia. En los primeros tiempos del cristianismo se produjo en Alejandría un considerable avance en los procesos de destilación. Siglos más tarde, las conquistas árabes acabaron con el poder intelectual alejandrino y la cultura islámica trajo la destilación a Europa. A principios de la Edad Media los árabes destilaban vinos para obtener alcoholes. En Córdoba, la ciudad más ilustre y cultural de la época, destilaban el agua de nardos, rosas y flores para obtener perfumes. De los árabes aprendieron sus secretos dos personajes españoles en la historia de la destilación: Arnau de Vilanova y Raimond Llull, de origen valenciano y mallorquín respectivamente. Durante la Edad Media la destilación había seguido su curso sobre todo en los monasterios, pero aquellos alcoholes eran rudos y de mal sabor, que se empleaban fundamentalmente con fines terapéuticos y como perfumes, y que para que pudieran ser usados, se aromatizaban o maceraban con flores, frutas y plantas. Con la Ilustración y el Racionalismo aparece la química propiamente dicha. A finales del siglo XVIII, la destilación se enriqueció con el procedimiento de rectificación inventado por Edouard Adam, que sometía los alcoholes a una segunda destilación que eliminaba los malos sabores. Era el nacimiento de la llamada destilación discontinua y el origen de lo que hoy es el rico universo de las bebidas alcohólicas.

Dentro de este universo, los aguardientes son bebidas de gran riqueza alcohólica que se obtienen mediante la destilación de materias previamente fermentadas. Esencialmente los aguardientes se dividen en (J. Muñoz Ramos, 1996):

Aguardientes de vino y sus residuos (Brandy, Coñac, Armagnac, ...)

Aguardientes de residuos de uva/ vino (Orujos, Marc, Grappa, ...)

Aguardientes anisados (Anís, Raki, ...)

Aguardientes de sidra (Calvados, Colloto, Aplejack, ...)

Aguardientes de tubérculos y cereales (Akvavit, Snap, Ginebra, Vodka, Whisky, Sake, ...)

Otros aguardientes (Ron, Tequila, Mezcal, ...)

Quizás, de esta clasificación, las bebidas que más conocemos sean las enmarcadas dentro de los aguardientes de vino y de tubérculos y cereales como el brandy y el coñac, así como la ginebra, el vodka y el whisky. En general y hasta fecha reciente, el whisky en Escocia, el coñac en Francia, el brandy y los anisados en España eran considerados como bebidas de invierno o de horas matinales, y por tanto se tomaban a temperatura ambiente antes del inicio de la jornada, rural en la mayor parte de los casos. Los cambios sociales con evolución a costumbres urbanas han adaptado a fines más bien ociosos y epicúreos. Así, los norteamericanos, después de la segunda guerra mundial, extendieron el hábito de enfriar el whisky y otras bebidas con hielo, "on the rocks". La moda americana sustituyó del mismo modo los antiguos cafés y tabernas por pubs y coctelerías.

El whisky, uno de los aguardientes con mayor auge en el mundo y originalmente es consumido como trago corto, se promociona hoy en la propia Escocia mezclado con agua u otras bebidas gaseosas. Sin embargo, y por fortuna, la existencia de los diferentes tipos de malta puro escocés sigue procurando al whisky un puesto de honor como copa en la sobremesa.

La palabra whisky refleja la imagen de un líquido de color ámbar impregnado de una variada gama de sabores y aromas. Si además se le añade el calificativo "Scotch" (escocés), que es quizá el más conocido, cobra prestigio y pedigrí y adquiere vida propia. En 1995 la producción de whisky escocés llegó casi a 1408 millones de botellas de 70 cl. Las ventas de malta puro representan un 5% de este total. En cuanto a las exportaciones, la cifra ascendió a 30 millones de dólares en 1995, un 85% de la producción total (Helen Arthur, 1998). Pero no todo el whisky es escocés. En Europa los principales tipos de whisky son el escocés (de grano, malta puro y "blended"), el whiskey irlandés y el español, este último con Denominación de Origen Comunitaria y cuyo representante más típico es el whisky DYC (Destilerías Y Crianza) que se produce en Segovia. En América del Norte, cabe destacar la producción de diferentes bourbons al estilo de Kentucky o de Tennessee. Otros productores importantes de whisky son Canadá, Australia y Japón, siendo Japón y los Estados Unidos los mayores consumidores.

De los países que fabrican sus propios whiskies, sin importación extranjera de maltas

podemos citar; Argentina, España, Nueva Zelanda, Austria y Polonia. Entre los países que producen whisky a base de maltas escoceses podemos mencionar; Austria, Brasil, Costa Rica, Finlandia, Holanda, Méjico, Noruega, Suiza, Tanzania y Zambia.

La información publicada sobre el consumo y la producción de whiskies esta muy desarrollada y actualizada en países como Escocia (Informes Estadísticos de la Asociación del Whisky Escocés en Edimburgo), Estados Unidos (Instituto del Bourbon en Nueva York), Irlanda (Irish Distillers en Eire e Irlanda del Norte) y Canadá (Asociación de Canadian Distillers en Montréal) mientras que sobre la producción y consumo de whiskies en España existe un escaso número de referencias. No obstante, podemos señalar como figura en el Estudio sobre el Consumo Alimentario en España (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1988) que dentro de las bebidas espirituosas, el whisky ocupa el tercer lugar de consumo en España. La lista comienza con el brandy (26%), la ginebra (20%), el whisky (16%), los anisados (9%), el ron (8%), y el resto del consumo se lo reparten otros licores como el vodka, licores de frutas, etc...

Se aprecia una tendencia hacia la supremacía del whisky, pues ciertas bebidas como el brandy y los anisados son cada vez menos apreciados mientras que el whisky, que hace 20 años era una bebida restringida a determinados sectores de elevado nivel se ha introducido en todas las capas sociales.

La producción nacional del whisky es relativamente baja con respecto a otros aguardientes en el período 1977-1981 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1988) como se observa en la Tabla 1, aunque en continuo crecimiento como puede comprobarse en la Tabla 2.

Tabla 1.- Producción nacional media de aguardientes en toneladas para el período 1977-1981

Aguardientes	Producción	Porcentaje sobre total
Brandy	135000	43
Ron	25000	8
Ginebra	55000	17
Whisky	10000	3
Anisados	40000	13
Otros aguardientes y licores	50000	16
Total	315000	100

Tabla 2.- Producción de nacional de aguardientes, en toneladas para los años 1977, 1978, 1979 y 1980.

Productos	1977	1978	1979	1980
Brandy	166085	133085	191607	--
Ginebra	51692	59169	74332	--
Anisados	42706	39327	46719	--
Whisky	8973	9352	12115	12200
Ron	23786	24236	32863	--
Otros	49511	51242	63006	--

Hay que reconocer que la producción nacional de whisky resulta muy baja en relación a su consumo, por lo que alrededor del 85% de las importaciones españolas de aguardientes corresponden al whisky.

Después de la adhesión de España a la CEE se liberalizó el comercio, eliminándose las licencias de importación y exportación, lo que ha supuesto la duplicación de las importaciones.

Desde cualquier punto de vista tradicional, comercial, de calidad, etc..., los principales tipos de whiskies son los escoceses, estadounidenses e irlandeses y su difusión ha caminado ligada profundamente a la historia del país. Por ello hemos considerado oportuno presentar un bosquejo histórico de estos tres tipos de whisky, para mejor comprensión del encuadre de esta bebida en el marco socio-económico y legal (Casamayor y Colombani, 1985).

RESEÑA HISTORICA DEL WHISKY

Historia del whisky escocés

El whisky es un aguardiente que se obtiene por la destilación de un mosto de cereales, previa fermentación. La cebada, la cebada malteada, el centeno y el maíz son las gramíneas utilizadas con mayor frecuencia.

El origen celta de esta bebida se deriva de la ascendencia lingüística de la denominación whisky, producto típicamente escocés o whiskey, forma que adopta en Irlanda y los Estados Unidos, y que provienen del término *uisgebeatha* y *usquebaugh*, palabras de origen gaélico (dialecto céltico de las Highlands de Escocia e Irlanda) que literalmente significa agua de vida.

Existen tres teorías que establecen el origen del whisky. La primera remonta su origen al 287 a. de C., en que este agua de vida sería elaborada por los Pictos, misteriosos guerreros y primeros habitantes del Norte de Escocia. La segunda establece como descubridores del whisky a los Scots, una tribu irlandesa que hablaba la lengua gaélica y emigró en el siglo V a Europa Occidental. Por último, los monjes irlandeses podrían haber sido los descubridores del agua de vida. Se supone que fueron estos monjes quienes llevaron el *usquebaugh* a los escoceses, en primera instancia como loción terapéutica.

La destilación de la malta no tiene una ubicación temporal muy precisa. La Enciclopedia Británica declara que "las maltas de cebada y de avena se destilan en Escocia en el siglo XII".

Parece ser que en un principio, fueron los campesinos y los granjeros los que elaboraron el whisky mediante destilaciones caseras y rudimentarias. Pero en 1506, las autoridades de Edimburgo prohibieron su venta "a cualquier persona que no sea barbero o cirujano" ya que el alcohol no debía servir más que a la farmacopea. Privilegio médico o no, las gentes, a escondidas, continuaron destilando más que nunca.

En los siglos XVI y XVII, los países anglosajones, y en particular Escocia, ocuparon la escena privilegiada en la historia del whisky. Tras la disolución de los monasterios de Inglaterra y Escocia, la técnica de elaboración del whisky se perfeccionó. Los monjes se dispersaron por el campo diseminando su habilidad, ciencia y talento por los cuatro rincones del país.

Desde 1555, en el catálogo de exportaciones del Parlamento escocés, el agua de vida cambió de categoría. Ya no tenía un sitio en el rango de medicamentos sino en el cuadro de los productos alimenticios de uso corriente. Ante algunos desordenes alcohólicos intempestivos y la proliferación de destilerías que arrebataron el grano al uso esencial del pan, el Parlamento

escocés llegó a prohibir en 1579 la fabricación de agua de vida, con la excepción de los Lords y gentilhombres, quienes conservaron el derecho a destilar para su propio uso y de sus huéspedes.

El decreto de 1579 no llegó a aplicarse de hecho, y en el siglo XVII, tanto en Inglaterra como en Escocia, las destilerías florecieron y vendieron su producción sin reparos legales. Inglaterra se interesó exclusivamente por la destilación a base de vino para transformarlo en brandy, mientras que Escocia se especializó fundamentalmente en la destilación de la malta. Escocia se esforzó en respetar unos ciertos criterios de calidad mientras que Inglaterra no, y sus prácticas se convirtieron en fuentes de graves perjuicios para la salud. Al comienzo del siglo XVIII, la decadencia continuó avanzando, la supresión de poderes de la Sociedad de Destiladores aseguró la impunidad a los destiladores deshonestos y agravó la situación.

En 1644, Carlos V de Inglaterra estableció un impuesto sobre el agua de vida. Esta idea fue imitada por el Parlamento escocés, que promulgó una "Scottish Act", una ley fiscal que fijaba las tasaciones de los derechos sobre las bebidas espirituosas. Tras la abolición del Parlamento escocés y el tratado de la Unión de 1707, las tentativas por parte del gobierno de instaurar impuestos cada vez más obligatorios no hicieron sino exacerbar la mentalidad de los escoceses. El Reino Unido creó un "Board of Excise" (Departamento de recaudadores de impuestos), este departamento que dependía de la Administración de Finanzas, estaba compuesto por agentes especiales que eran enviados a Escocia. Sobre el terreno, estos recaudadores tenían por misión supervisar, fijar, controlar y detraer los impuestos sobre alambiques y la venta de alcoholes. A lo largo del siglo XVIII, se consumó la conquista inglesa de Escocia con la eliminación de los clanes, convirtiéndose el recaudador en un personaje terriblemente odiado. El fraude se mantuvo deliberadamente.

Poco a poco, los ingleses comenzaron a comprar, y a apreciar el whisky, pero éste venía gravado con una enorme tasa de importación, por lo que se inició el contrabando a gran escala. La administración respondió con la creación de los "Sassenadis" que tenían orden de recorrer y supervisar las carreteras frecuentadas por los contrabandistas.

En 1725, las destilerías legales que comenzaron a florecer fueron alcanzadas de lleno por el impuesto. Las destilerías de las Lowlands, para zafarse de la presión fiscal sacrificaron la calidad al mezclar la malta tasada con grano no malteado, de costo inferior y sin gravamen fiscal. También se inició la producción en masa, con lo que la calidad del whisky de las Lowlands decreció de manera alarmante. Por el contrario, el whisky de las Highlands escapando del impuesto y fabricado con maltas verdaderamente puros y agua de una pureza incomparable,

impusieron su supremacía.

En 1784 se votó la "Wash Act", estableciéndose una distinción fiscal entre Lowlands y Highlands. Debido a su debilidad económica las Highlands fueron menos cargadas fiscalmente y cayó una cascada de aumentos sobre la destilación. Los destiladores legales de las Lowlands no pudieron sostener semejante ritmo y muchos fueron a la bancarrota, mientras que la destilación clandestina se disparó.

Los alambiques ilegales vertieron oleadas de whisky a partir del cual el Estado no extrajo ningún beneficio, compitiendo de manera desleal con las destilerías legales que se asfixiaron agobiadas por los impuestos. El whisky ilícito fue perdiendo su calidad pues los productores clandestinos no tenían tiempo ni medios de perfeccionar su producto. Todos estos factores aconsejaron legalizar la destilación y fue votada otra "Wash Act" en 1823 que la legalizó, con lo que la industria del whisky pudo nacer y crecer. Los grandes propietarios animaron a sus arrendatarios a adquirir la licencia y las peticiones se multiplicaron. Menos rentable y atrayente, la destilación clandestina ya no pudo luchar por mucho tiempo contra la cantidad y calidad de la destilación legal.

La revolución industrial del whisky llegó con la introducción de un nuevo alambique, el "patent still". El alambique de siempre, "pot still", aminoraba el ritmo de productividad al tener que ser recargado continuamente. Roberto Stein fué el inventor del primer alambique de trabajo continuo para la destilación de whisky de grano. En la misma época, Alneas Coffey, un irlandés, se lanzó de lleno a trabajar en su procedimiento de destilación continua y en 1831 patentó su alambique que desplazó al de Stein. La patente still o "Coffey still" liberó al whisky de la casi totalidad de los constituyentes secundarios que se forman con el método del "pot still". En consecuencia, después de haber sido rebajado mediante la adición de agua y puesto en barril, el producto presentaba menos carácter pero el tiempo de maduración se acortaba. El procedimiento de fabricación era bastante menos oneroso, e independiente del lugar, necesitaba poca agua pura, nada de turba y podía aplicarse a una mezcla de cebada malteada, cebada sin maltear, y otros cereales como maíz. La introducción de este método revolucionario se generalizó lentamente en los años 1870 la patente still se extendió por casi todo el país.

Por otra parte, la historia atribuye el descubrimiento oficial del "blending" a un joven y brillante destilador, Andrew Usher, en 1853. Sería, pues, el primero en concebir la idea de hacer un "blend", una mezcla. Experimentó, afinó, perfeccionó su descubrimiento y, finalmente, lo comercializó. Los whiskies mezcla emprendieron entonces su era de seducción. La primera

marca en comercializarse fue Glenlivet en 1853 (una mezcla de whiskies de malta puro, que se denomina "Vatted"). Esta fue seguramente la primera tentativa antes de asociar granos y maltas para crear un "blend". Las mezclas "blended" y las mezclas de malta fueron aprobadas por el Tesoro Público y bendecidas oficialmente por la "Blended Act" de 1865, que autorizó a los comerciantes a embotellar ellos mismos, con lo que nació el concepto de marca.

En el negocio del whisky, la marca garante de la autenticidad se generalizó gracias al deseo de promoción de los comerciantes y la necesidad de protección contra las imitaciones. El desafío comercial exaltó a los más emprendedores en la búsqueda de lo que les diera la diferencia. En este sistema de competencia feroz, la excelencia del producto y la identificación por la etiqueta no eran suficientes. Con un agudo sentido de los negocios, se aferraron entonces a la idea del reclamo, que más tarde se llamaría publicidad.

La utilización masiva del método Coffey cambió los modos de producción. El whisky de grano adelantó al whisky de malta y relegó al destilador de malta a un plano secundario. El "blender" y el comerciante ocuparon la cresta de la ola.

En 1890, una comisión de la Cámara de los Comunes intentó atajar el enfrentamiento entre productores de maltas puros y "blenders" mediante la clarificación de la situación, pero tras muchas deliberaciones no dieron ninguna definición exacta de lo que debía ser un whisky de malta de las Highlands y un whisky de grano. De esta manera a fines del siglo XIX hubo una supremacía aplastante de los "patent still" de las Lowlands frente a los destiladores de las Highlands.

A comienzos del siglo XX, los encantos del "blend" invadieron Inglaterra y se embarcaron en una gira por el mundo. El triunfo de los "blenders" y de los comerciantes de grano parecía indiscutible hasta que en 1905 se llevó a cabo un juicio contra unos taberneros que comerciaban con whisky de malta mezclado con whisky de grano. El tribunal declaró que los "blends" no son whiskies y fueron condenados. Esto supuso un duro golpe a la industria del "blended" y se vieron obligados a recurrir a una Comisión Real que en 1909 declaró "se considera whisky a todo licor obtenido por destilación de un cocimiento de granos, de cereales sacarificados, y por la diastasa de la malta", de lo que se deducía que cereales no malteados pueden intervenir en su fabricación, que el nombre de whisky no constituye una exclusividad reservada al licor destilado por el procedimiento del "pot still" y que dicho nombre se aplica tanto a whiskies de granos y a los "blends" como a los whiskies de malta puro. En cuanto al origen, precisó que el whisky es, bien escocés, o bien, irlandés, según haya sido destilado en

Escocia o en Irlanda, y que no era imprescindible imponer un almacenamiento mínimo de la producción ya que la rapidez de maduración dependía de factores demasiado numerosos y diversos. Esta decisión constituyó una derrota legal para los productores de malta pura. Para intentar mejorar la calidad del producto se votó la "Inmature Spirit Act", una ley que estipulaba que ningún licor podía ser puesto en circulación para su consumo, en Gran Bretaña, sin haber sido almacenado en bodega durante un plazo mínimo de tres años.

En 1917, la destilación se ralentizó por falta de materia prima, con excepción de las grandes firmas de destilación de granos, autorizados a fabricar alcohol industrial. Las destilerías de malta cerraron sus puertas, así como las fábricas de "blended" independientes. Terminada la guerra, estas fábricas se encontraron en una difícil situación por falta de existencias y de capitales. En esta situación la D.C.L. (Distillers Company Limited) absorbió a una gran cantidad de destilerías de granos y "blended". Después de las privaciones de la primera guerra mundial, el whisky escocés emprendió un penoso ascenso. La euforia de la paz y los criterios de calidad que en adelante le fueron conferidos a pesar de su elevado precio, no le impidieron tomar alientos nuevos para la siguiente expansión, que duró muy poco pues llegó la época de la depresión, disminuyendo las exportaciones a los Estados Unidos. La prohibición que se decretó vedaba toda la venta de alcohol.

Embriagados por esta pequeña explosión de los años 1920, se pusieron a producir con frenesí un licor de mala calidad, muy poco envejecido, con el cual inundaron el mercado americano. A las puertas de sustanciales ganancias, el crack de 1929 les arrastró en su caída. En 1930 no quedaban en pie más de seis destilerías y luego, solo dos.

Con el fin de la prohibición en 1933, las compañías americanas lucharon por asegurarse la exclusividad de las sociedades de whisky escocés. Las exportaciones se convirtieron en una de las principales fuentes de ingresos de Escocia. Sin embargo, la demanda interior siguió siendo muy superior. Esta prosperidad acabó con la llegada de la 2ª Guerra Mundial, cuando todo el whisky se almacenó y fue utilizado como moneda de cambio en el comercio exterior.

Con severas restricciones que no desaparecieron hasta 1949 la fabricación del whisky se reanudó poco a poco. Las reservas, muy reducidas, se reconstituyeron lentamente. La situación comercial se invirtió: los estadounidenses bebían más whisky escocés que los ingleses, y esta desproporción se acrecentó de modo que en los años 70, se bebía tres veces más whisky escocés en Estados Unidos que en Inglaterra. En los años ochenta ya se produjo la invasión del mercado francés por parte del whisky escocés. Numerosos importadores de whisky en Escocia se

convirtieron en "blenders" e incluso en exportadores. El descenso del poder adquisitivo indiscutible de la crisis económica no ayudó a los productos de lujo como el whisky, y fueron las capas sociales más elevadas las que impulsaron la industria del whisky al preferir los puros maltas escoceses a los recién llegados, que eran los whiskies canadienses, irlandeses y estadounidenses.

En los últimos años, como producto de lujo, el whisky hubo de afrontar impuestos en sus países de origen y derechos de aduanas con frecuencia prohibitivos en la exportación con el fin de proteger los licores locales y aumentar la contribución fiscal nacional, los países consumidores tasaron el whisky tan duramente que pusieron en peligro su supremacía.

Historia del whiskey irlandés

El alambique se trata de una invención egipcia que los celtas perfeccionan para la destilación de licores. Irlanda se encontraba poblada por una serie de pueblos celtas que se convirtieron ardientemente al cristianismo, siendo los monjes los que se dedicaban al perfeccionamiento de las técnicas de destilación y a repartir su ciencia por toda Europa.

Cuando en 1170 los soldados normandos de Enrique II hacen sus tumultuosas incursiones en Irlanda, descubren allí una verdadera industria artesanal de *uisgebeatha*. Tras muchas libaciones del poderoso brebaje, los invasores pronuncian tan mal el nombre que acortan la escritura fonética y la transcriben en whiskey.

En el siglo XVII, se ha ganado el control de Irlanda. Con la ayuda de pequeños alambiques domésticos, los "potheens", cada hogar destila un licor tosco y pesado.

Poco a poco, las destilerías van brotando. En 1780, John Jameson instala una destilería en el centro de Dublín. Diez años más tarde, James Power hace lo propio. En 1829, es Tumallore y en 1825 es fundada Middleton en pleno centro de Irlanda.

En el siglo XIX, caldeadas a toda marcha, pequeñas o grandes, se pueden contar más de mil destilerías. La mayoría de ellas, de capacidad restringida, escapan al impuesto. Hasta que el gobierno se decide a dar el gran golpe, no concediendo licencias más que a los alambiques de cierta capacidad mínima y apresurándose a mandar sobre el terreno a sus controladores, los "excisemen". Ya en 1887, no quedan más de 28 destilerías oficiales en Irlanda. Sólo algunos destiladores grandes van a sobrevivir a la costosa legalidad y a garantizar la calidad indispensable para la exportación.

La dominación inglesa apartará a Irlanda de la prosperidad económica del siglo XIX.

Incapaces de adaptarse al mercado moderno del "blend" que disfruta de la adoración del público, el asolado país se enquistaba. Las pobres cosechas de cereales resultan insuficientes para una producción industrial de envergadura. Se quedan pues sin su parte de ese fantástico boom de la bebida nacional. Resueltamente independientes, se consuelan y destilan en una arriesgada ilegalidad.

Sin embargo, poco a poco, las multas cada vez más elevadas, el número creciente de alambiques requisados y la superioridad del whiskey legal, desempeñan un papel disuasivo con lo que la destilación ilícita muere lentamente.

En 1966, resultado de la fusión de cuatro destilerías, el Grupo Irish Distillers se ancla en Middleton, donde una moderna destilería es construida por Jameson, Power, la Cork Distillery Company y Tullamore. Desde esa fecha, Irish Distillers queda como la sola y única productora de whiskey irlandés, al margen de Old Bushmills ubicada en Irlanda del Norte.

Historia del whiskey estadounidense

Los inmigrantes procedentes de Europa llevan sus alambiques al nuevo mundo. Cada uno destila con los métodos de su país natal divididos por nacionalidades. Es el pastor baptista, Elías Graig, quien posee el honor de ser el primero en destilar whiskey en tierra americana en 1789. Puesto que habita en el Bourbon, región así bautizada en honor a Luis XV, él lo llama bourbon. El bourbon pasa alegremente de estado a estado. Hacia 1800, existen cerca de 1000 destilerías. Los whiskeys estadounidenses de esta época no subsisten una maduración y son bebidos casi tal cual, sin refinamiento ninguno.

El presidente George Washington, que se debate en problemas financieros, evalúa los beneficios fiscales que se pueden obtener con el whiskey. Pese a la oposición de los liberales, en particular Jefferson, la ley es votada en 1791. Se envían controladores y recaudadores por todos los estados; se trata de los siniestros "revenooers", encargados de hacer observar el impuesto.

Entonces, para huir de la acuciante avaricia de los recaudadores de impuestos, comienza la marcha de los destiladores hacia el Oeste, impulsados a la vez por la fiebre del oro.

Los destiladores buscan las condiciones propicias para la confección de un buen licor. El agua, la encuentran purificada por el subsuelo calcáreo, descendiendo los vastos roquedales desde el oeste de Pensilvania hasta Kentucky, desde el sur de Indiana hasta Illinois y, un poco más lejos, en Maryland. Dado que el maíz prospera en estas regiones, mejor que el centeno del

que se hicieran los primeros whiskies, se concede privilegio a su cultivo. La industria evoluciona y los bravos indígenas ofrecen un mercado tan inesperado como lucrativo.

El producto bruto del alambique se refina, mejorándose la técnica. Las destilerías adoptan el procedimiento Coffey que depura los depósitos secundarios y superfluos, un procedimiento revolucionario para los EE.UU. En Kentucky, se experimenta el envejecimiento en barril de roble ennegrecido al humo, obteniéndose un whiskey de color más ambarino y un sabor más dulce. El concepto de marca aparece al mismo tiempo que las nociones de calidad y rentabilidad. Con la llegada de Ulyses S. Grant al poder después de la guerra civil, se deja sentir una especie de boom.

Los años del crecimiento del whiskey están bien lejos de ser apacibles. Se dan diversos escándalos y la publicidad bullangera de ciertos destiladores que no garantizan sus productos vierte el descrédito sobre la profesión.

Las grandes compañías que acaparan el mercado a fines del siglo XIX, solicitan al gobierno en 1909 una definición de las grandes categorías del whiskey, y la obtienen. Con lo que el estado se interesa muy de cerca por la producción y el comercio se ha vuelto respetable.

A comienzos del siglo XX, el mercado del whiskey es muy respetable y en plena expansión. Pero existen una serie de grupos sociales que se agrupan bajo la idea prohibicionista. Con lo que las campañas antialcohólicas están en pleno auge y en 1881 Kansas se declara "dry", es decir, que la producción y el consumo de alcohol dentro de las fronteras del estado están oficialmente prohibidos. Georgia la sigue en 1907.

Un hecho capital va a precipitar la prohibición, el tronco alemán domina el comercio de bebidas espirituosas y cerveza, de modo que cuando en 1917, los EE.UU. entran en guerra contra Alemania las vociferaciones y la absoluta convicción de los partidarios de la ley seca en contra del alcohol reemprende su acoso con nuevos bríos.

El 16 de enero de 1920, la votación de la XVIII enmienda a la Constitución americana prohíbe la producción, distribución y comercio del alcohol. La prohibición se convierte en la política de estado. Esto constituyó el desencadenamiento de los trece años más sangrientos y violentos de la historia de los EE.UU.

Decenas de millares de alambiques ilícitos, exentos de control y, aún más, de etiqueta de calidad vierten centenares de millones de litros de dudosa mezcla. El contrabando se establece. A pesar de los aduaneros, el whisky canadiense pasa la frontera a un ritmo récord. El whisky escocés llega por mar y aborda los límites costeros. La cantidad alucinante de alcohol extranjero

que afluye en auxilio de esta América en escasez puede cifrarse en varios millones de galones al año. El número de infracciones es desconcertante.

La postura prohibicionista ya no se sostiene. El candidato a la presidencia por el partido demócrata, Roosevelt, hace campaña en pro de la abrogación de la XVIII enmienda. El 8 de noviembre de 1932, es elegido. Y en 1933, se da oficialmente por terminada la prohibición.

Salvado el paréntesis de la 2ª Guerra Mundial, los Estados Unidos se convierten en el mayor consumidor de whisky del mundo; tanto de whiskey de producción propia como de importaciones de whisky escocés, llegándose a consumir mayor cantidad de whisky escocés en EE.UU. que en el propio Reino Unido.

ELABORACION DEL WHISKY

Una vez que nos hemos adentrado en su historia, vamos a continuar con el proceso de elaboración del whisky, que será distinto dependiendo de su origen escocés, irlandés o estadounidense.

Según la Unión Europea, el whisky es una bebida espirituosa que se obtiene por destilación de un mosto de cereales sacificado por la diastasa de la malta que se produce, con o sin otros enzimas naturales; fermentado por acción de la levadura; destilado a menos de 98.4% V/V, de forma que el producto de la destilación tenga aroma y sabor procedentes de las materias primas utilizadas, y envejecido al menos tres años en toneles de madera de capacidad menor o igual de 700 litros. Dentro de esta definición caben los tres grandes tipos de whisky: el escocés, el irlandés y el estadounidense.

El *whisky escocés* es un producto de Escocia, donde debe ser elaborado con arreglo a las leyes de Gran Bretaña. Se elabora con malta de cebada y debe ser envejecido durante más de tres años. Pueden distinguirse tres clases de whisky escocés: (a) "Malt whisky", (b) "Grain whisky" y (c) "Blended whisky".

(a) El "malt whisky" esta producido sólo a partir de cebada malteada y dentro del él existen dos categorías; los "single malts", que puede traducirse como maltas puros, elaborados por una única destilería (aunque pueden provenir de diferentes barriles de varias edades) y los "vatted malts", puros maltas, en los cuales entran varios "single malts" pero jamás whisky de grano. Los dos tipos de whiskies se agrupan bajo la definición común de "pure malt". La destilación se efectúa en dos fases utilizando dos alambiques "pot still" como se muestra en la Figura 1. Los pormenores de este tipo de destilación se indicarán cuando se trate la elaboración del whisky de malta.

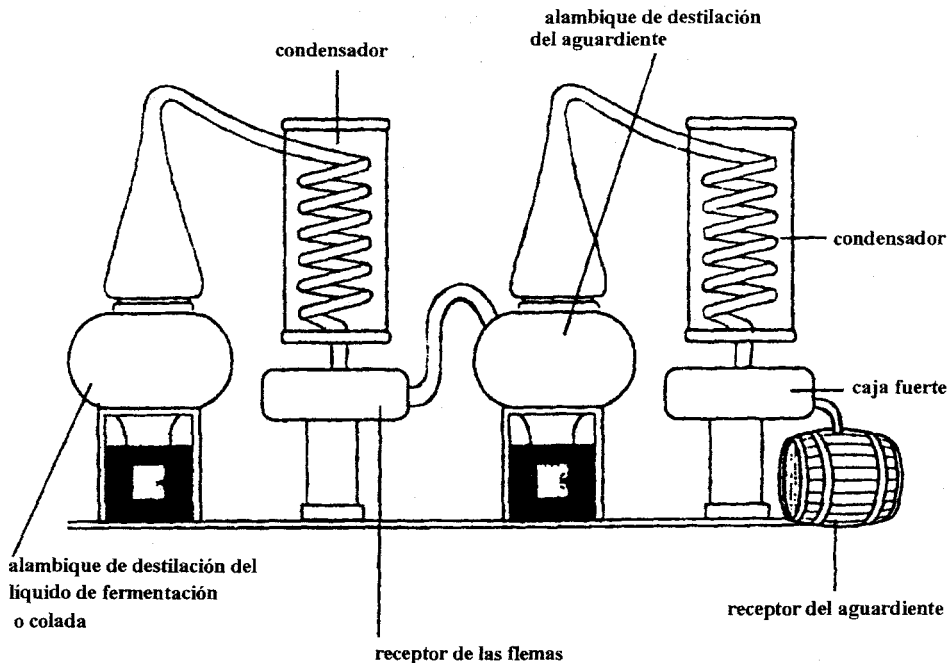


Figura 1.- Proceso de doble destilación para el whisky de malta

(b) El "grain whisky" se produce a partir de una gran variedad de cereales donde se puede o no incluir la cebada malteada. Se produce en un alambique "patent still" en un proceso de destilación continua que se esquematiza en la Figura 2. El producto resultante contiene pocas sustancias secundarias y pocos alcoholes superiores. Se envejece durante cuatro años. En general estos whiskies se utilizan para mezclarlos con maltas puros, pero algunos como BlackBarrel o Cameron Brig, se embotellan y comercializan.

cebada se seca sobre el fuego de turba y esto hace que los whiskeys irlandeses carezcan de sabores ahumados.

La destilación del whiskey irlandés es un proceso muy cuidadoso y mucho más complejo que el del whisky escocés. Se utilizan tres "pot still" en vez de dos. Por eso al whiskey irlandés se le conoce como "triple distilled irish whiskey".

El *whiskey estadounidense* presenta tres clases fundamentales: el whiskey bourbons, el whiskey de maíz o "corn whiskey" y el de centeno o "rye whiskey".

El whiskey bourbons se elabora con mosto fermentado de grano que consta de no menos de 51% de maíz y es envejecido en barricas de roble nuevas previamente quemadas, durante un período no inferior a dos años. En la elaboración del whiskey bourbons intervienen, además del maíz, la cebada malteada y el centeno. La destilación es continua y se realiza mediante un "patent still". Podemos distinguir dos tipos de bourbons:

(a) "Sour mash bourbon whiskey", que designa a un procedimiento de fabricación particular, donde el residuo de la destilación, la *cerveza perdida* o "spent beer", que es un líquido privado de su alcohol y con sabor *agrio*, es añadida al mosto siguiente antes de la fermentación. Esta adición refuerza los sabores y los aromas y participa en la continuidad del tipo de licor producido.

(b) "Straight bourbon whiskey", este licor proviene de una destilación única y de una misma destilería, debe ser obtenido con un grado inferior a 160° proof (80% V/V).

Debemos establecer una distinción entre los whiskeys de Kentucky y de Tennessee: El primero incorpora a la mezcla más maíz, centeno y cebada que el segundo. Se emplean diferentes tipos y calidades de agua para uno u otra clase. El carbón que se utiliza en el caso del Tennessee es el de arce de azúcar. Mientras que algunos whiskeys de Kentucky son productos de una "sour mash", los de Tennessee están siempre fermentados con esta clase de mezcla.

Para el whiskey de maíz se debe poner al menos un 80% de maíz y el resto de malta. Este whiskey no se hace envejecer generalmente, pero en tal caso puede madurarse tanto en barricas de roble nuevo y quemado como usadas y sin quemar. Es un producto muy rudimentario que se consume principalmente en las zonas rurales.

El whiskey de centeno no debe contener menos del 51% de centeno, el resto será maíz y la necesaria proporción de malta. Con más del 60% de centeno el sabor del whiskey obtenido es excesivamente fuerte y no se bebe puro sino como saborizante para preparar blended whiskies

mediante adición de alcohol neutro.

A continuación se describen los diferentes aspectos en la fabricación del whisky de malta puro escocés, whisky de grano, whiskey irlandés y bourbon estadounidense.

Maltas puros escoceses

Existen 117 “single malts” que se clasifican atendiendo a criterios geográficos tradicionales en: maltas de las Highlands, maltas de las Islas, maltas de Campbeltown y maltas de las Lowlands. La región de las Highlands puede ser subdividida en Speyside, Northern Highland, Eastern Highland y Perthshire.

Dentro de los whiskies de las Highlands podemos distinguir:

- (1) “Northern Highland malt”: Son maltas dulces, con mas cuerpo y carácter que los Lowlands. Poseen una gran madurez, están llenos de sabor y pueden tener una fragancia delicada o un gran *turbaje*.
- (2) “Speyside malt”: Son los whiskies más dulces. Aunque no tienen tanto cuerpo como otros maltas de Highland son más ricos y complejos con sabores afrutados y delicados aromas.
- (3) “Eastern Highland malt”: Se trata del área comprendida entre la costa del Mar del Norte y Speyside. A menudo tienen mucho cuerpo, tendiendo a ser secos, con fragancia, sabor afrutado y con un toque de turba.
- (4) “Perthshire malt”: Son del área que bordea las Lowlands. Tienden a tener un dulzor medio, son ligeros y afrutados. Su carácter puede ser considerado intermedio entre los Lowlands y los maltas de Speyside.

Los maltas de las Islas o “Island malts” son los más perfumados, más robustos y a veces, los más violentos de toda Escocia. Son whiskies con olores *turbeados* y marinos, ya que, en estas tierras la turba es el resultado de residuos vegetales terrestres y oceánicos, de musgos olorosos y de algas secas. Adquieren un gusto yodado y un carácter fenólico. Trataremos en conjunto los maltas de las islas Hébridas o “Hebrides”, Islay, Mull, Jura, Skye y las Orcadas u “Orkney”.

Los maltas de las Lowlands son secos, comparados con los maltas de las Highlands. Son whiskies ligeros y delicados con escasas diferencias entre ellos y ligeramente perfumados.

Los maltas de Campbeltown se encuentran entre los maltas de las Lowland y de las Highland por su sequedad y presentan un sabor ahumado característico con gran cuerpo.

En las Figuras 3a y 3b se indica las ubicacion de las destilerías escocesas más importantes.

MAPA DE LAS DESTILERÍAS ESCOCESAS

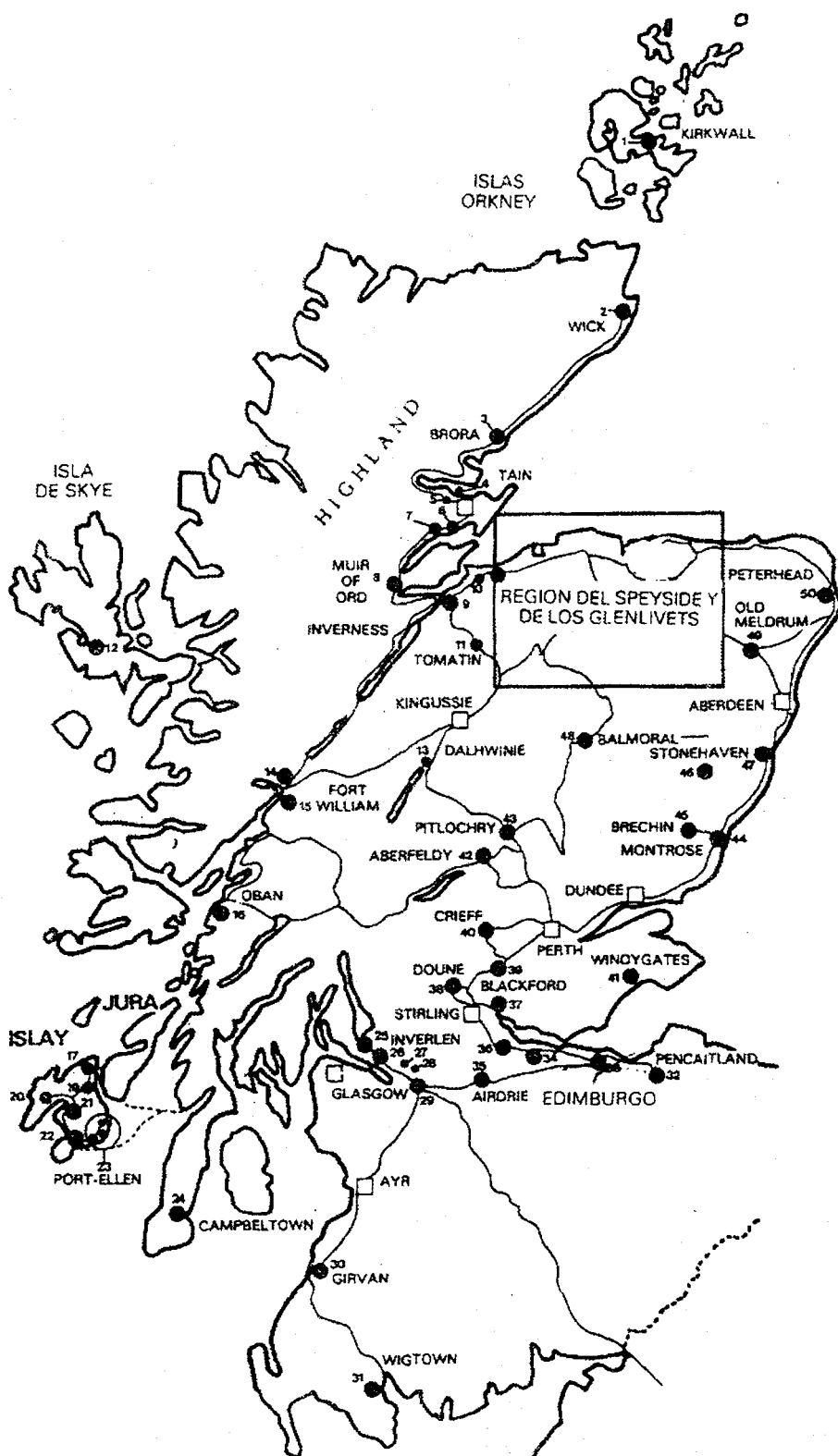


Figura 3a.- Distribución de las destilerías escocesas

GLENLIVETS

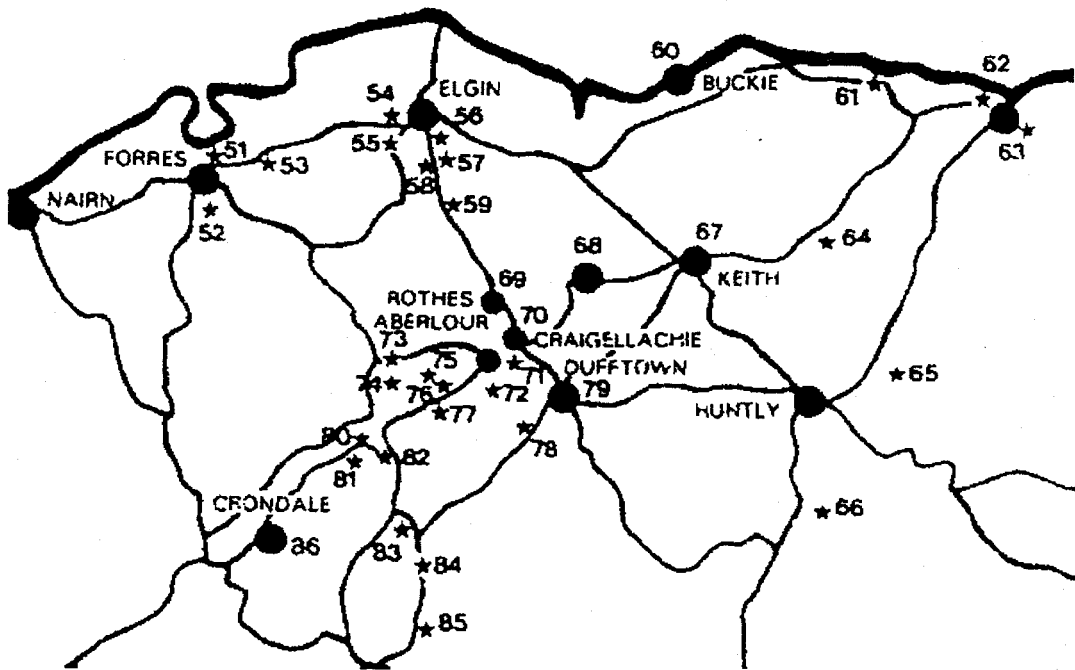


Figura 3b.- Ubicación de las destilerías de las Highlands en la zona del Glenlivet

El whisky escocés “single malt” tiene la característica única del malteado completo de toda la cebada para ser transformada en mosto azucarado y la utilización de la destilación discontinua mediante “pot still”.

En este proceso de fabricación del whisky “single malt”, la cebada previamente lavada y desembarazada de sus impurezas no puede ser fermentada en su estado original, ya que, es necesaria la transformación del almidón en maltosa. Para ello se hacen germinar los granos húmedos segregándose dos enzimas: citasa y diastasa. La citasa disuelve las membranas de celulosa y permite a la diastasa transformar el almidón, primero en dextrina y, después, en maltosa, azúcar fermentable. Este proceso de malteado puede realizarse de modo tradicional o por métodos mecánicos dependiendo de la destilería.

En el procedimiento tradicional, la cebada es vertida en grandes recipientes, los “steeps” o empapadoras, llenos de agua de río. Cada “steep” puede contener media tonelada de cebada que permanece en remojo durante 2 o 3 días hasta que el grano alcance una humedad de un 40 a 50%. El grado de humedad de la cebada ha de ser medido cuidadosamente, ya que de su valor exacto depende una buena germinación. Después se vacían las cubas y la cebada humedecida es transportada a unos extensos suelos de varios centenares de metros cuadrados, las eras de malteado.

El grano es extendido en capas de 30 a 60 cm de espesor y es preciso remover esta masa húmeda cada ocho horas con el fin de regularizar la humedad y el calor desprendido por la germinación, y evitar así el enmohecimiento y enmarañamiento de las raíces. Una buena germinación puede durar de 8 a 14 días. Cuando el joven brote alcanza los tres centímetros, esta malta verde, tiene el almidón del grano parcialmente transformado en azúcar y es preciso detener la germinación mediante el secado.

En el tratamiento mecánico, la cebada es introducida y esparcida en compartimentos de cemento. Una paletas mecánicas giran lentamente, con una velocidad regular, y remueven la cebada en germinación mientras que unos ventiladores envían aire acondicionado desde arriba. Otro procedimiento consiste en unos grandes tambores rotatorios atravesados por pequeños orificios en los cuales la cebada se halla bajo una atmósfera controlada. Con estos métodos, el malteado, es bastante regular e independiente del clima, y no lleva más de 7 días.

El secado o “kilning” de la malta verde se efectúa tradicionalmente en unas torres, “kilns”, donde la cebada se dispone sobre unos suelos de hierro agujereados y situados por encima del fuego de turba. Hoy día, se comienza por la turba y se termina con carbón, en general, 24 horas de

turba y 36 horas de carbón o bien ambos mezclados. La turba ha de emplearse al principio, cuando el grano este todavía verde y húmedo ya que puede absorber los aromas.

Normalmente, el malteo y el secado se realiza en los grandes centros de producción industrial donde el secado se efectúa de una manera más moderna y más rápida con la ayuda de ventiladores que proyectan a través de la cebada húmeda un aire caliente, seco y cargado de aromas de turba o utilizando hornos de secado secundario alimentados con turba. La cantidad de turba empleada es variable y puede ser un factor importante que determinará la calidad del whisky. Por ejemplo, en la elaboración de muchos whiskies de las islas se utiliza una gran cantidad de turba.

Después del turbaje, la temperatura se lleva hasta los 71°C y el secado se prolonga hasta que el grado de humedad de la cebada vuelve a descender hasta un 3%, poniendo buena atención en que no resulten destruidos los enzimas que todavía tienen que desempeñar su papel. La malta se almacena y se deja en reposo por un periodo aproximado de seis semanas, tras lo cual será tamizada para desembarazarla de las pequeñas raíces.

Una vez cribada, la malta es pesada y dirigida hacia una agramadora donde es molida bastante fina con el fin de obtener una harina de malta, el "grist", completamente listo para el braceo.

En el braceo, el "grist" se mezcla con agua caliente (una parte de "grist" por cuatro de agua) en grandes recipientes de cobre o de hierro fundido que contienen unas paletas giratorias. La temperatura de la mezcla se mantiene entre 60 y 65°C sin ebullición para activar los enzimas de la malta sin destruirlos. Esta etapa es de todo punto análoga a la fabricación de la cerveza; la diastasa de la malta convierte todo el almidón restante en maltosa y dextrinas y produce un mosto azucarado, el "wort" (mezcla de agua y cereales). Cuando la transformación se ha consumado, el líquido caliente es evacuado por la base de la cuba y almacenado en unos recipientes intermediarios. Después se añade sucesivamente agua caliente, siempre sin hervir, para desalojar el medio de toda azúcar. El "wort" obtenido es un líquido translúcido, oloroso, dulzón y ligeramente pegajoso que es preciso refrigerarlo hasta una temperatura de 20°C.

Este mosto azucarado es capaz, bajo la acción de levaduras apropiadas, de transformarse, por fermentación, en alcohol y gas carbónico. El "wort" es trasladado a los tanques de fermentación que tradicionalmente estaban contruidos con alerce o pino de Oregón, pero, en la actualidad el acero inoxidable ha desplazado a la madera aunque en algunos casos el acero inoxidable se forra con láminas de madera. Los tanques no se llenan hasta arriba con el fin de dejar espacio para la intensa ebullición que va a tener lugar a lo largo de toda la fermentación. Añadida la

levadura seleccionada, la fermentación da lugar inmediatamente a que el líquido comienza a agitarse bajo la acción de las burbujas de gas carbónico producidas en su seno. Los tanques no deben desbordarse ni la temperatura dispararse. Para ello, se emplean unos agitadores que facilitan la desgasificación del gas carbónico y ralentizan la fermentación, se añaden agentes anti-espumantes (jabones-siliconas) o se enfrían las cubas por chorreo de agua sobre su superficie. Al cabo de unas 45 horas, todo el azúcar se ha transformado en alcohol que inhibe la actividad de las levaduras. La densidad del mosto pasa de 1.050 a 1.000 aproximadamente, el pH se establece en 4.5 y la disolución es una mezcla alcohólica de casi 8% V/V, siendo una cerveza fuerte, “wash”, rica en levaduras muertas o inhibidas y conteniendo impurezas no fermentables.

La destilación se efectúa mediante un procedimiento discontinuo de caldeo directo en unos alambiques especiales, los “pot stills”; alambiques de cobre con un cuerpo en forma de enorme cebolla coronado de un largo cuello de cisne de diámetro decreciente y terminado en un serpentín, sumergido en una envoltura de cobre que deja circular agua fría, el condensador. En la actualidad es más frecuente efectuar un calentamiento interno mediante serpentines de vapor, en lugar del calentamiento exterior utilizado anteriormente. Esto tiene como consecuencia una reducción en el grado de pirólisis del contenido del destilador. El medio tradicional de condensación, el serpentín, también se ha reemplazado por intercambiadores térmicos tubulares, que son más eficaces y presentan un mayor rendimiento térmico. Al diseño básico se le pueden efectuar diversas modificaciones, como son la inclusión de una camisa de agua en la caldera y de bucles de retorno desde la primera etapa de condensación. Algunas destilerías acoplan un *purificador* consistente en un recipiente esférico refrigerado por agua corriente que se intercala entre el cuello de la caldera de destilación y el condensador. Éste elimina algunos de los componentes menos volátiles del vapor. Algunos compuestos azufrados se eliminan por fijación a las paredes metálicas del destilador, y por esta razón todavía se construyen los destiladores con este material.

El “wash” se lleva al primer “pot still”, el “wash still”, precalentado para poner en marcha inmediatamente la destilación. Seguidamente se lleva el “wash” a la temperatura del punto de ebullición. Los productos volátiles van a ser arrastrados a través del cuello de cisne y, después, en el serpentín se licuarán y evacuarán. El destilado recogido tras el primer paso por el “pot still” es llamado “low wine”, siendo un líquido compuesto de alcohol etílico en un 30% V/V aproximadamente y de productos secundarios más o menos volátiles que el alcohol. Este líquido debe ser concentrado, purificado y rectificado para convertirse por fin en el verdadero whisky.

Un segundo “pot still”, el “spirit still”, acogerá a los “low wines” para extraerles el alcohol,

debiendo eliminarse en parte los constituyentes secundarios que dañan la calidad del whisky pero que su total ausencia produciría un licor demasiado puro, sin personalidad.

El primer líquido que mana del alambique, las cabezas o "foreshots", está cargado de éteres, aldehídos, ácidos volátiles, alcoholes secundarios, etc..., siendo reenviado al recipiente de "low wine" para otra destilación. En un momento determinado, el destilador o "stillman", estimará que las cabezas ya han pasado y dirigirá el líquido hacia el receptáculo donde se ubicará el licor. La temperatura sube durante el proceso de destilación y el grado alcohólico del líquido disminuye haciendo su aparición las colas o "feints". El "stillman" corta entonces el flujo hacia el receptáculo del licor y dirige las colas hacia la cuba de "low wine". Un exceso de colas en el licor recogido jamás permitirá que el whisky pueda afinarse ni siquiera después de un envejecimiento muy largo.

La ley inglesa (Acta de 1915 y Ley de finanzas de 1969) estipula que ningún licor puede ser vendido bajo el nombre de whisky si no ha permanecido un mínimo de tres años en barril. Este plazo es demasiado corto para los whiskies de malta puro, y 5 años constituyen de hecho un mínimo requerido. El whisky no envejece en la botella.

Se pueden determinar algunos elementos fundamentales que van a regir la buena evolución de este envejecimiento:

En primer lugar, la calidad propia del licor que es puesto en el barril. Cuanto más rico sea el licor en colas más prolongado deberá ser el envejecimiento para afinarlo.

En segundo lugar, la madera aporta al licor sustancias tánicas y aromáticas que se disolverán en él.

Tradicionalmente, el whisky era envejecido en barriles que se habían usado previamente con vinos de Jerez. Estas barricas se prestan admirablemente a la maduración del licor, aportándole dulzor y aromas variados debido a las distintas categorías de vinos de Jerez.

También se pueden utilizar toneles de encina nueva, por lo general americana. En este caso, se llenan los barriles con mosto de uva concentrado hasta aproximadamente un cuarto de su volumen, tras cierto tiempo de impregnación, se aclaran con la misma disolución antes de recibir un whisky.

La mayor parte de los barriles son reconstruidos con madera que ya ha servido anteriormente para hacer barriles de bourbon cuyo interior ha sido quemado en su primera fabricación. Los escoceses compran los toneles usados, los desmontan y los reconstruyen, ya que el tamaño óptimo para el envejecimiento del whisky escocés de malta es mayor que el de los toneles americanos.

El color del whisky debe provenir exclusivamente del barril, bien se trate de un barril de Jerez, de un barril *avinado* o de un barril quemado de bourbon, si bien, el color puede ser ajustado con pequeñas cantidades de caramelo que no modificarán apenas la cualidades gustativas del producto.

Otro papel de la madera es el de ser impermeable al líquido pero permeable a los vapores, estos intercambios pueden efectuarse en el sentido interior-exterior o al contrario. A igual volumen, mientras mayor sea la superficie de intercambio más rápido será el envejecimiento.

Un tercer elemento de envejecimiento es el ambiente. Cuanto más húmedo sea el aire, menos agua perderá el whisky bajando a cambio el contenido en alcohol. En una bodega húmeda el whisky perderá fuerza, pero no volumen y viceversa. El ideal se sitúa en un justo equilibrio, con preferencia por las condiciones frías y húmedas.

La duración del envejecimiento depende de la calidad y de la procedencia del whisky. Ciertos maltas ligeros de las Lowlands no necesitan más que 5 años, los grandes maltas de las Highlands terminan de madurar perfectamente entre los 12 y 15 años y los whiskies pesados y ahumados de las Islas requieren a veces más de 20 años. Si se deja a un malta envejecer en exceso, las mejoras se vuelven imperceptibles y la calidad puede decrecer apareciendo el *arraderamiento* y la pérdida de los delicados aromas de cebada malteada y turba.

En cuanto a los así llamados métodos de envejecimiento acelerado, mediante caldeamiento, oxigenación, ozono, electricidad, vibraciones etc..., no dan resultados deseables por el momento. Después del envejecimiento, el whisky queda reducido al grado de comercialización (43 y 57% V/V) por medio de la adición de agua pura, el color es ajustado y se procede al embotellado.

Un esquema general del proceso de fabricación del whisky escocés "single malt" se muestra en la figura de la página siguiente

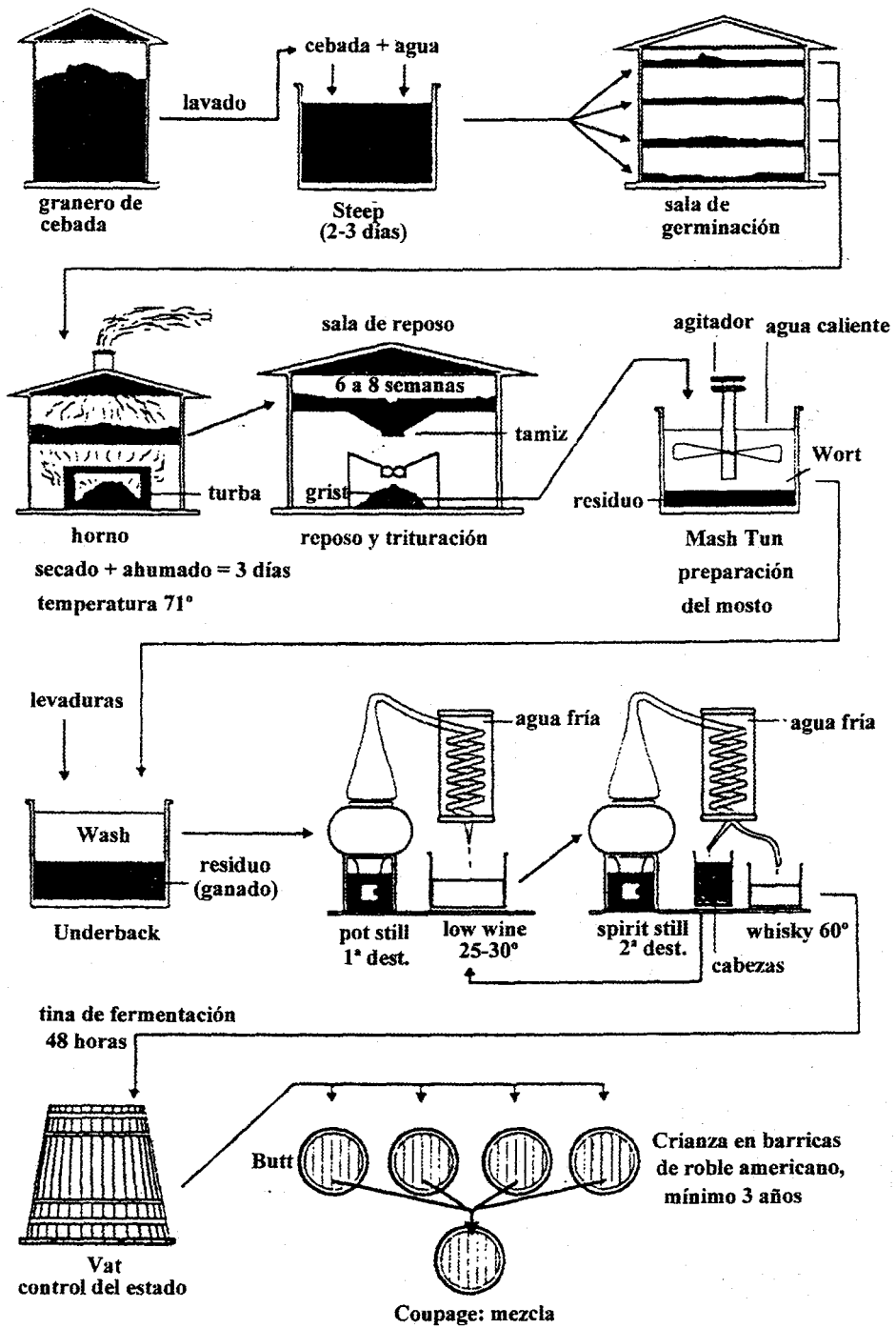


Figura 4.- Proceso completo de la elaboración de whisky escocés de malta puro

Whisky de grano

El whisky escocés de grano es un producto que se obtiene por sacarificación, una operación que consiste en transformar el almidón que contiene el grano en azúcar, por hidratación. El proceso de elaboración se inicia cuando los cereales, cebada o maíz, se someten a la acción del vapor y agua a presión durante unas tres horas y media. Después, los cereales así tratados se mezclan con cebada malteada en una cuba que contiene agua caliente; por mediación de agitadores se consigue que la diastasa de la malta actúe sobre el almidón de los primeros y que se convierta en maltosa.

Una vez obtenido el mosto, se practica la fermentación mediante levaduras. Finalizada ésta, la destilación se lleva a cabo en un alambique de destilación continua denominado "Patent still" o "Coffey still"; el producto que se extrae contiene pocos productos secundarios y pocos alcoholes superiores. El "Coffey still" fue el primer proceso de destilación continua que consta de dos columnas, una analizadora y otra de rectificación.

El whisky escocés de grano no está destilado hasta el extremo de encontrarse neutro, y su envejecimiento o maduración tiene una duración de cuatro años. En general, estos whiskies se utilizan para mezclarlos con los de malta y obtener los "blended", como ya se ha comentado.

El licor de grano se obtiene a partir de una mezcla de cereales (cebada y/o maíz). Se dejan los granos germinar en una atmósfera cálida y húmeda y, cuando las pequeñas radículas están lo bastante desarrolladas, se detiene la germinación por medio del secado. La primera diferencia se establece en el secado que es totalmente neutro y no se emplea turba alguna en el combustible, la malta será mucho menos perfumada que la destinada al "pot still".

El maíz es un cereal poco costoso y al que su alto contenido en almidón hace particularmente rentable para la fabricación de los licores de grano. Por ello, el grano de maíz se mezcla en proporción de nueve volúmenes por un volumen de malta, se pone en ebullición durante dos horas a 140°C para hacer estallar las células que contienen el almidón. Se puede también añadir a la mezcla la cebada sin maltear. Después de la cocción, la papilla de maíz es enfriada y se le agrega la cebada malteada.

Los enzimas segregados por la germinación de la cebada transformarán el almidón del maíz y de la cebada sin maltear en azúcar fermentable. El "wort", mosto azucarado producido, es bombeado y enviado a cubas donde es llevado a una temperatura favorable a la acción de la levadura, que es añadida tras la separación de las partículas sólidas de los cereales. La fermentación se efectúa en grandes "wash-backs" durante dos días, hasta que toda la maltosa se ha consumido.

A partir de este momento es cuando el procedimiento difiere realmente. El "wash" alcohólico es destilado en una sola vez por un procedimiento continuado siguiendo el principio de la destilación en bandejas. El alambique de Coffey (Figura 2) se compone de dos columnas de cobre de 12 a 16 metros de altura emparejadas y alimentadas por vapor que procede de un generador con hervidor. La ingeniosidad del sistema reside en el principio de un doble intercambio de calor: el mosto frío es caldeado por el vapor alcohólico y aquél a su vez enfría a éste hasta hacerle condensarse. El principio yace en el hecho de que cada elemento de la mezcla vaporizada se condensa a una temperatura diferente.

Las dos columnas se llenan en primer lugar de vapor caliente. Después, el "wash" es conducido por un serpentín hasta la cima del rectificador. Este "wash" se precalienta en el serpentín que recorre la columna rectificadora con los vapores, por lo que es un mosto caliente el que se introducirá en la segunda columna, el analizador. Este analizador es un cilindro en el que unas bandejas perforadas están dispuestas a alturas regulares. El vapor bajo presión sube por la columna a través de estas perforaciones. El "wash" cae a goteo desde lo alto siendo atravesado, bandeja por bandeja, por el vapor a alta temperatura. Todo el alcohol y los productos volátiles que contenía son evaporados y arrastrados por el vapor. El líquido queda, pues, desprovisto de alcohol y es evacuado. Este vapor cargado de alcohol es enviado a la base del rectificador.

El rectificador es igualmente una columna con bandejas donde el serpentín que lleva el "wash" frío es el órgano que produce el gradiente de temperatura. La parte más fría está a la entrada y, a medida que el "wash" desciende por el serpentín, la temperatura se eleva. Las cabezas son evacuadas en forma de vapor por la parte superior de la columna mientras que las colas o "feints" evacuan por abajo y son reciclados en el analizador para ser redestilados. El whisky de grano es entonces vuelto a enfriar y es enviado a la cuba de licor.

No hay que pensar que esta destilación se efectúa de una manera automática. Las regulaciones son delicadas y, si se quiere recoger sobre la bandeja el alcohol etílico y ningún otro compuesto volátil, es necesario que la entrada del "wash" en el serpentín y la temperatura del vapor sean convenientemente reguladas con el fin de ajustar la temperatura de condensación al nivel deseado, aproximadamente de 48°C. Por otra parte, hay que supervisar mediante control humano la calidad del destilado.

El alcohol producido es muy puro y alcanza el 95% V/V. Se le ha desembarazado de todo producto secundario pero su ausencia le quita todo el carácter que poseen los whiskies de malta puro. Este alcohol, tras una segunda rectificación y un aporte de sustancias aromáticas apropiadas,

está apto también para convertirse en ginebra o vodka.

El licor que sale del “pattent still” o “Coffey still” se rebaja mediante la adición de agua desmineralizada y se pone en barriles. Al ser este whisky de cereales mucho más neutro que el de malta puro, el tiempo de maduración se acorta considerablemente de modo que los tres años impuestos por la legislación son más que suficientes para obtener un producto apto para la mezcla y distribución.

Blended whisky

La proporción entre whisky de grano y de maltas puros y la identidad de dichos maltas es uno de los secretos más celosamente guardados de la industria del whisky escocés. Pero se puede estimar que los “blends de luxe” contienen alrededor de un 50% de grano y un 50% de malta, y que esta proporción puede llegar a descender, para el caso del malta, hasta un 20% e incluso un 10% en los whiskies ligeros y de bajo precio.

Una vez determinados los ingredientes y las proporciones de la mezcla gracias a las cualidades olfativas y gustativas del maestro mezclador o “blender”, el proceso de mezclado es bastante simple, siendo la única dificultad la de casarlos de una forma lo más homogénea posible en grandes cantidades.

Por lo general, los barriles son vaciados en canalones que discurren sobre el suelo de la fábrica de mezclas y que van a verter su contenido en grandes cubas. La fusión íntima está asegurada, bien tradicionalmente por medio de los braceadores mecánicos, o bien por inyección de aire comprimido en la base de la cuba.

Una vez realizada la mezcla, el licor se vuelve a poner en barriles durante un período de 4 a 6 meses, con el fin de que los ingredientes se mezclen íntimamente en una fusión lo más integral posible. El whisky es llevado al grado de comercialización mediante la adición de agua pura. Después del filtrado y enfriamiento, para eliminar los depósitos de ácido tartárico que pudieran producirse durante un almacenaje en malas condiciones, el whisky es embotellado mediante sistemas de cadenas automáticas.

Ciertas compañías prefieren que los maltas y granos se afinen por separado, realizando la mezcla a la hora de embotellarlos.

La operación más controvertida es la coloración. Mientras que los whiskies que han envejecido en barriles de Jerez han adquirido un color intenso y ambarino, aquellos que han pasado algunos años en barriles nuevos o de bourbon son relativamente pálidos y, además, cada tonel dará

un color diferente. Si se quiere ofrecer a la clientela una coloración constante que le permita identificar su producto, es necesario ajustar el color de la mezcla con la ayuda de un jarabe de caramelo concentrado.

En cuanto a la edad del whisky "blended", la edad anunciada en la etiqueta corresponde obligatoriamente a la edad del más joven de los whiskies que entran en la composición. Un whisky cuya etiqueta no lleva ninguna indicación de edad ha sido obligatoriamente envejecido durante tres años. Por lo general los whiskies mezclados estándares son puestos en circulación con 5 años de edad.

Whisky Irlandés

Desde 1966, Irish Distillers queda como la única productora de whiskey irlandés y constituye en Middleton un enorme complejo que reúne en la misma fabrica, a las destilerías de Jameson, Power, Tullamore Dew y Cork (Paddy). Sólo Old Bushmills, en Irlanda del Norte, produce su whiskey aparte.

El whiskey irlandés es el resultado de la destilación de un mosto de cereales que casi siempre es mixto: cebada malteada y cebada sin maltear, o cebada malteada y mezcla de cebada, trigo, avena y centeno sin maltear. La proporción de cebada malteada en ambas mezclas está entre un 25 y un 50%. Ahora, la palabra "blend" no se refiere a la mezcla de whisky de malta y licor de grano, sino una combinación de varios whiskeys de diferentes edades salidos de la misma destilería y madurados en toneles de diversas cualidades.

El whisky irlandés se elabora a partir de un macerado que contiene una mayor proporción de cebada sin maltear. La cebada malteada no es ahumada sobre el fuego de turba y debe contener un alto contenido de enzima. Los métodos para la producción del mosto y para la fermentación son, en general, similares a los empleados en Escocia. Sin embargo, el uso de cebada no malteada requiere el uso de molinos de martillos para obtener el grado adecuado de molturación.

Desde la introducción del alambique continuo, tipo Coffey, y la construcción del complejo de Middleton, el Whiskey irlandés es el resultado de tres destilaciones sucesivas que combinan "pot still" y "patent still". Con la utilización de un primer "pot still" se obtiene un destilado denominado "low wines". Este destilado se introduce en un segundo "pot still" generándose un producto llamado "feints" que requiere una destilación posterior en un alambique de tipo "Coffey still".

El grado de alcohol normalmente obtenido se sitúa entre el 85 y el 90% V/V debiendo ser reducido al 63% V/V para dar comienzo a su fase de maduración. El licor incoloro es puesto a

envejecer en barriles de encina que previamente han contenido whiskey, Jerez, ron o bourbon durante un periodo de 5 a 12 años. Un tercio del alcohol se evapora durante el envejecimiento. Se debe conseguir el grado legal de comercialización de 40 a 43% V/V mediante la adición de agua, después de lo cual los barriles de whiskey son mezclados en una gran cuba donde reposarán 2 o 3 semanas para mejorar la fusión.

Por lo tanto, la triple destilación, la ausencia de turbeado y la mezcla de cereales malteados y sin maltear son todos factores que diferencian este whiskey del whisky.

La destilación tradicional irlandesa se lleva a cabo con la ayuda de grandes “pot stills” semejantes a los “pot stills” escoceses pero con alambiques de mayor tamaño y tienen una caldera de destilación con una forma de esfera achatada con un brazo de salida en la retorta más largo que está sumergido en un tanque de agua fría.

Pero, lo que verdaderamente aporta su originalidad es el triple paso del licor por tres alambiques sucesivos. En el primer alambique se obtienen dos fracciones; la primera fracción (vinos básicos fuertes) se colecta y se transfiere directamente al alambique final, mientras que la segunda fracción (vinos básicos débiles) se pasa por un alambique intermedio. Este alambique produce a su vez otras dos fracciones; la primera (colas fuertes) se mezclan con los vinos básicos fuertes y pasan hacia el alambique final mientras que la segunda (colas débiles) se reciclan. El whisky se obtiene a partir de la segunda de las tres fracciones que se obtienen en el alambique final. La primera fracción (cabezas) y la tercera (colas) se reciclan.

Esta destilación tradicional, continúa realizándose en las destilerías Old Bushmills de Irlanda del Norte. En estas destilerías emplean únicamente cebada malteada para la producción de un whiskey que se denomina whiskey irlandés de malta puro y el licor producido se madura en barriles de Jerez o de roble americano.

Bourbon whiskey

El bourbon whiskey se produce en gran número de estados norteamericanos (Virginia, Illinois, Kentucky, Maryland, Tennessee, Pensylvania) aunque como muestra privilegiada hay que señalar los “Kentucky straight bourbons”, “Tennessee sour mash whiskey” y los “Kentucky sour mash bourbon whiskey”.

El bourbon whiskey es el más conocido y antiguo de los whiskeys estadounidenses. Se obtiene por destilación de un mosto de cereales que contiene al menos un 51% de maíz, cebada malteada sin ahumar con turba, y otro cereal (centeno, cebada o trigo) que imparten su aroma

peculiar al destilado. En la destilación no se debe sobrepasar el 80% V/V de graduación y el envejecimiento tiene que ser como mínimo de 2 años en barriles nuevos de encina.

En la variedad de "sour mash whiskey" al mosto antes de la fermentación se le añade un líquido privado de alcohol y con sabor agrio llamado "spent beer", mientras que en la variedad de "straight whiskey" se realiza una destilación única y en la misma destilería como mencionamos con anterioridad.

La fabricación del bourbon whiskey comienza con el desempolvado y despojado de sus impurezas de los cereales (maíz, centeno y cebada) que pasan a ser triturados. La trituración se realiza en molinos de martillos donde la intensidad de la molienda supone un compromiso entre un molido fino, el cual presentará una alta eficacia en la fermentación, y un molido grosero, que favorece la recuperación de un subproducto no fermentable de cierto valor económico.

Los cereales triturados han de ser cocidos con el fin de liberar el almidón que contienen. Existen tres procedimientos de cocción, aunque los destiladores de bourbon prefieren emplear el procedimiento tradicional de cocción a presión atmosférica donde los cereales se mojan con una mezcla de agua y cal viva y se introducen en recipientes metálicos provistos de agitadores e inyectores de vapor. Un segundo procedimiento consiste en una cocción bajo presión en grandes cocederos automáticos que presentan la ventaja de disolver más rápidamente y más completamente el almidón de los cereales. En el tercer procedimiento, la harina del cereal es transformada en una papilla mediante adición de agua e introducida en un tubo metálico en el cual se le inyecta vapor.

Para que la levadura pueda llevar a cabo la fermentación es necesario bajar la temperatura hasta 20 o 24°C, este enfriamiento se realiza con unos serpentines metálicos por los cuales circula agua fría. El líquido se lleva a las cubas de fermentación de acero inoxidable donde la levadura es añadida directamente o por mediación de un *pie de cuba* (pequeña cantidad de centeno y cebada malteada tratada con levaduras que se añade a la cuba).

El destilador debe controlar la temperatura de fermentación y no dejar que se eleve en demasía pues inhibiría la acción de las levaduras y provocaría reacciones secundarias perjudiciales para la calidad del producto. Si se trabaja a temperaturas demasiado bajas las levaduras se aletargarían y la fermentación alcohólica se interrumpiría.

Se utilizan una gran variedad de destiladores y la inmensa mayoría son del tipo continuo. El uso de torres de destilación está muy extendido, normalmente en combinación con un dispositivo llamado "doubler" (alambique simple acoplado a un condensador de cobre) que intercepta las fracciones pesadas y las devuelve al destilador. Una torre de destilación consta de un armazón

vertical que contiene una serie de platos con perforaciones dispuestos en tres secciones: purificadora, de eliminación de partículas y rectificadora. El alcohol y los congéneres se separan en la sección de purificación más baja y el vapor pasa a una sección en la que se eliminan los materiales particulados. En la sección de rectificación tiene lugar un enriquecimiento. Parte del vapor se condensa en el primer condensador (condensador desflemador) y el resto pasa al segundo condensador (condensador de descarga). La mayor parte del destilado procedente del primer condensador se recoge y se transfiere al "doubler", mientras que el resto, junto con el destilado obtenido en el condensador de descarga se recicla hacia la sección rectificadora del destilador. El destilado procedente de la torre de destilación se vuelve a destilar y se eliminan algunos de los congéneres de mayor punto de ebullición, reduciéndose el contenido en aldéhdidos ya que se elimina la primera fracción de cabeza del destilado. También se disponen de destiladores más complejos de cinco columnas que han adquirido un mayor uso, como se esquematiza en la Figura 5.

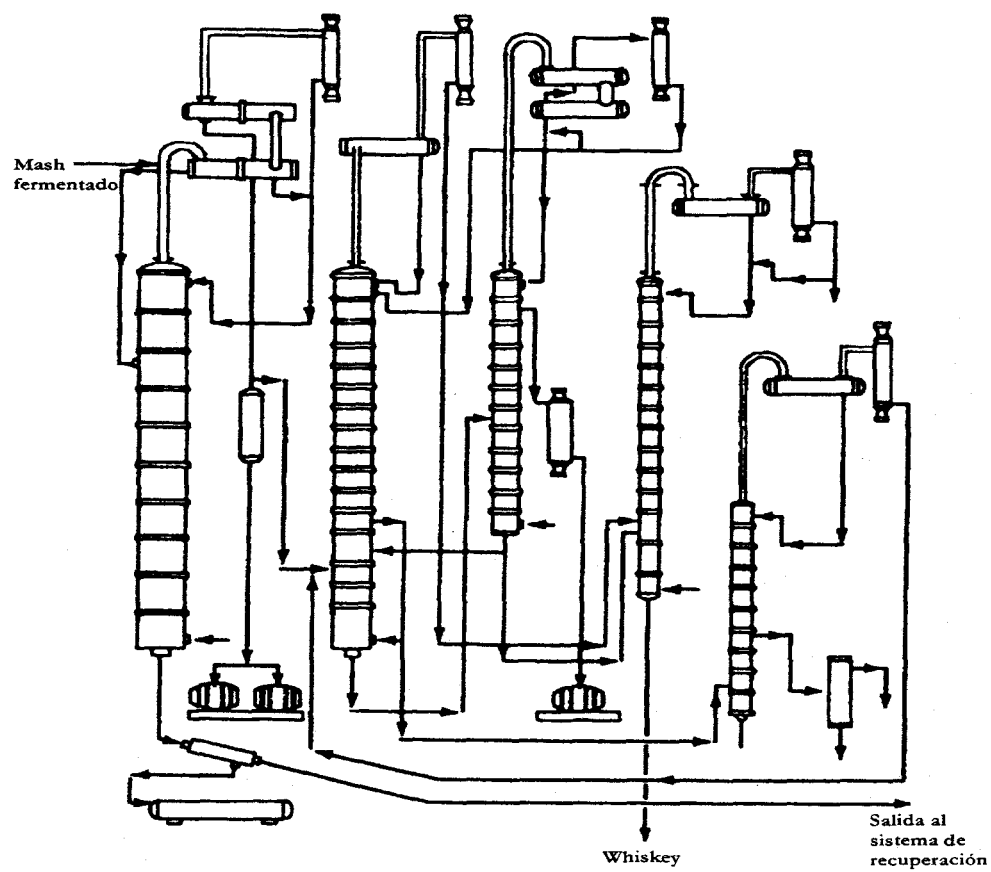


Figura 5.- Proceso de destilación del Bourbon

Estos alambiques están provistos de un rectificador y varios analizadores. En el rectificador se extrae el alcohol y los analizadores purifican las cabezas y las colas y extraen el alcohol que ellas contienen.

Los mejores bourbons serán destilados con 62.5% V/V. Cuanto menor sea el contenido alcohólico del líquido recogido se tendrá que añadir menos agua antes del envejecimiento y comercialización. Después de la destilación, el whiskey es rebajado al 50% V/V mediante la adición de agua destilada o desmineralizada.

El bourbon envejecerá en barriles de roble nuevo (la ley americana prohíbe el uso de barriles usados para el bourbon), siendo el interior de los barriles llameado y quemado hasta que se queda negro. La capa carbonizada es la que dará los aromas particulares del whiskey americano, durante un envejecimiento que por lo general dura dos años.

El carbón interior de las barricas produce un efecto purificador en el whiskey. Algunos de los alcoholes superiores y ácidos grasos quedan adsorbidos en los poros del carbón, de suerte que se eliminan del licor muchos de los caracteres desagradables. Por debajo del carbón queda una capa de madera tostada que contiene sustancias aromáticas y de sabor que son extraídas gradualmente por el alcohol, también ácido tánico y materias colorantes, todas las cuales comunican al whisky el sabor, aroma y color castaño rojizo característicos.

Las barricas se almacenan en bodegas bien ventiladas, con temperatura y humedad reguladas. La madera de las barricas funciona a manera de membrana semipermeable que deja salir vapor de alcohol y agua del interior del recipiente al exterior, lo cual es parte importante del proceso de maduración. En bodegas bien acondicionadas el vapor de agua escapa más rápidamente que el de alcohol, con lo que aumenta en contenido alcohólico del whiskey. Este grado alcohólico debe ser rebajado antes del embotellado mediante la adición de agua.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL WHISKY

El aroma y sabor del whisky depende de una mezcla compleja de componentes que se originan en diferentes momentos de la elaboración que acabamos de reseñar. Citaremos a continuación, los principales factores y procesos que influyen en la composición química de un whisky, así como, los diferentes e interesantes productos que aparecen en estas etapas.

Materia prima y turbeado

La materia prima empleada tiene una gran importancia en las características del producto final. La proporción entre los granos pequeños (malta, trigo, cebada y centeno) y el maíz provoca que cuanto mayor es el porcentaje de granos pequeños tanto mas cuerpo tiene el whisky. Los compuestos de azufre y los ácidos grasos, especialmente los insaturados, se deben a la cebada malteada y pueden influir en el desarrollo de compuestos organolépticos durante la fermentación.

La calidad del agua empleada en la elaboración tiene una influencia notable en el contenido metálico de los whiskies, en particular incide en la presencia de magnesio, calcio, sodio y potasio. Normalmente en las destilerías de whiskies de malta se usan aguas suaves, sin embargo, en las destilerías de whisky de grano se prefieren aguas con un cierto grado de dureza. El agua usada en la dilución debe tener bajo contenido en hierro y calcio para disminuir el riesgo de decoloración y precipitación.

Durante el proceso de turbeado aparecen aromas característicos que están relacionados con la alta cantidad de fenoles totales. Los fenoles simples como el fenol, los isómeros cresol, xilenol y guayacol provienen de la degradación del ácido benzoico procedente de la malta y del humo de la turba. El fenol posee un sabor medicamentoso, el guayacol esta caracterizado por su aroma ahumado y fenólico. Además existen otros compuestos con aroma *alquitranado* y *desinfectante* como el m-, o- y p-cresol, que suelen presentarse en los whiskies de las islas, aunque muy escasamente en otros tipos de whiskies.

Algunos de estos compuestos fenólicos se forman en el tostado de la malta por la degradación de precursores como el ácido cinámico, p-cumárico y ferúlico. Estos dos últimos ácidos también son degradados por las descarboxilasas de las levaduras originando 4-vinil y 4-etil fenoles.

Fermentación

La fermentación es la principal fuente de compuestos productores de aroma en los whiskies. Los factores que afectan a la producción de estos compuestos son el tipo de levadura usada, el sustrato de fermentación, la duración de la fermentación, la temperatura durante la fermentación, la agitación, la concentración del mosto (volumen de agua en proporción con el peso de grano) y la presencia de bacterias contaminantes. En general, las condiciones que aumentan la velocidad de fermentación también favorecen la producción de congéneres. Estos factores dependen del diseño de la destilería y de materia prima pudiendo producir diferencias importantes entre las regiones.

Los principales tipos de compuestos responsables del aroma se producen por oxidación química y enzimática de ácidos grasos, la reacción de aminoácidos libres, la reducción de azúcares (reacción de Maillard) y la degradación térmica de precursores biosintetizados como S-metilmetionina y derivados del ácido benzoico.

Un gran número de alcoholes, ácidos, ésteres y compuestos carbonílicos son producidos por las levaduras durante la fermentación, pero su concentración final está muy influenciada por la etapa de destilación.

Los alcoholes alifáticos de cadena corta como los propanoles, los butanoles, y los pentanoles son los más abundantes. Durante la fermentación se producen alcoholes superiores, ya sea por una ruta biosintética anabólica a partir de los azúcares, o por un proceso catabólico a partir de aminoácidos exógenos. En ambos casos los oxoácidos actúan como intermediarios. Los alcoholes de fusel se originan en las etapas tempranas de la fermentación por la ruta catabólica y en las últimas etapas por las rutas catabólica y anabólica. Entre los alcoholes no alifáticos están el 2-fenoletol y el 2,3-butanediol.

El principal ácido orgánico es el ácido acético, que constituye del 50 al 90% del total de ácidos volátiles, formándose principalmente a partir de la oxidación del etanol, en la cual el acetaldehído es un compuesto intermedio.

El ácido octanóico, decanóico, y dodecanóico son importantes cuantitativamente, aunque los ácidos de menor peso molecular como el ácido butanóico y pentanóico pueden tener un mayor impacto sensorial. Los ácidos grasos minoritarios más importantes son el cáprico, caprílico y láurico.

Los ésteres más abundantes son los ésteres etílicos de los ácidos mencionados, su abundancia depende de la concentración de los ácidos. Puede ocurrir cualquier otra combinación

de ácidos y alcoholes presentes, teniendo especial importancia, los ésteres acetato; como el isoamil acetato y el feniletil acetato, los ésteres de los hidroxiácidos; como el ácido láctico y de los ácidos dicarboxílicos; como el ácido succínico. La formación de ésteres puede ocurrir también durante la destilación y la maduración.

La mayoría de los compuestos carbonílicos son producidos por la acción metabólica de la levadura. Sin embargo, su formación mediante la oxidación de ácidos grasos insaturados o por degradaciones Strecker puede ocurrir en casi cualquier etapa de la producción. El acetaldéhidido es el más común y puede usarse para determinar el contenido de aldehídos total. También se han identificados muchas otras cetonas, aldehídos y acetales. El acetal más frecuente es el 1,1-dietoxietano.

La levadura puede utilizar el azufre inorgánico de aminoácidos y vitaminas para producir compuestos volátiles con azufre. Se observan heterociclos; como los tioazoles y los tiofenos y compuestos alifáticos; mono, di y trisulfuros. La formación de compuestos de azufre también ocurre durante la destilación.

Destilación

La forma en que se efectúe la operación de destilación tiene notable influencia en el cuerpo de whisky y puede modificar perceptiblemente el aroma.

Algunos compuestos nuevos pueden producirse durante la etapa de destilación, especialmente si el "wash" es ácido. Sin embargo, la influencia fundamental de la destilación está en la abundancia relativa de los diferentes componentes del aroma.

Es muy importante el tipo de destilador; el alambique de olla generalmente produce un whisky de más cuerpo que el destilador continuo.

En la destilación discontinua la selección del punto de corte en la destilación tiene gran importancia en los componentes del aroma, pues, los aldehídos y los ésteres de cadena corta son más abundantes en las cabezas mientras que los alcoholes de fusel y los ácidos son más abundantes en las colas.

En una destilación continua la concentración de congéneres depende del diseño, de la operación y de la eficiencia del destilador. De manera general, al producirse una mayor rectificación se pierden o eliminan congéneres alcohólicos de punto de ebullición alto; como los isopentanoles.

Pueden producirse gran cantidad de reacciones químicas cuando se calientan los "low wines" o el "wash" en la destilación. A partir de los aminoácidos azufrados se producen los

compuestos de azufre que encontramos en el whisky. La transformación de ácidos grasos insaturados origina los compuestos carbonílicos y la deshidratación de β -hidroxipropionaldehído produce acroleína.

La acroleína confiere un sabor picante y es deseable a bajas concentraciones, aunque si se encuentra en exceso es un defecto. Sin embargo, existen ciertas dudas acerca de la estabilidad de la acroleína en el whisky. Al menos una parte parece reaccionar con el etanol y se puede eliminar como 1,1-dietoxi-2-propeno y como 1,1,3-trietoxi-propeno.

Muchas de estas reacciones están catalizadas por el cobre, ya que, la presencia de cobre en el destilador puede provocar la ruptura catalítica de los compuestos de azufre con la introducción de sabores. Esto motiva el aumento del contenido metálico en cobre del whisky elaborado.

Los principales compuestos heterociclos con oxígeno que se presentan en el whisky son furaldéhdos y las lactonas. El furfural (2-furaldehído) se forma de pentosas y 5-hidroximetil-furaldehído y de hexosas a través de la reacción de Maillard durante el "mashing" y la destilación. El furfural, puede llegar a estar en concentraciones tan elevadas como 20-30 ml/l, y es un compuesto muy importante en el aroma ya que confiere un sabor de cereal o a grano.

El tratamiento con carbón después de la destilación tiene una influencia importante, pues el carbón activo elimina por adsorción ciertas sustancias, en particular los ácidos grasos y en menor grado otros componentes, con lo que mejoran notablemente el aroma y el sabor.

Maduración

La madera de los toneles utilizados en la maduración es la segunda fuente en importancia de los compuestos del aroma y del sabor en los destilados congénéricos. Esta aportación se basa tanto en las sustancias que se extraen de la madera a lo largo del periodo de maduración como en el estímulo de reacciones químicas a partir de precursores.

Los cambios se deben al contacto con el barril. La composición de la madera del barril tiene gran importancia en la magnitud de estos cambios y varía con los tipos de robles usados, la calidad de la madera, el pretratamiento aplicado a la madera, el uso previo del barril y la duración del añejado. El roble americano conduce a mayores concentraciones de vainillina y de lactonas de roble mientras que el roble español proporciona mayores concentraciones de taninos. El uso de barriles de vino de Jerez provoca el aumento de taninos y de azúcares.

Las condiciones de almacenamiento influyen en el aroma y el cuerpo de whisky. Las condiciones del ambiente, principalmente la temperatura, aunque también influyen la humedad y la

pureza del aire en la bodega donde se almacenan los toneles. Las sustancias extractivas de la madera son una parte de lo que generalmente se denominan cuerpo y modifican también el sabor, y es evidente que a mayor temperatura se extraen mayor cantidad de estas sustancias.

El total de ácidos, ésteres, aldehídos, color, sólidos, potasio y calcio aumenten con el envejecimiento. Mientras que el “proof”, los aceites de fusel, el n-propil alcohol, isobutil alcohol, isoamil alcohol, sodio y magnesio no dependen del envejecimiento.

Algunos de estos congéneres son el resultado de la degradación oxidativa de la etanol-lignina formada por la reacción entre el etanol y la lignina. Otros compuestos, como el 2-hidroxi-3-metil-2-ciclopentanona y el maltol, se originan durante el quemado de la madera. La madera de roble es también una fuente importante de ácido acético. Los toneles de roble promueven las oxidaciones y las esterificaciones favoreciendo la formación de acetaldéhid, acetal y acetato de etilo.

Los ésteres contribuyen en gran medida al aroma y “bouquet” característico del whisky madurado. Se produce un aumento en la cantidad de ésteres durante la maduración debido a las reacciones entre ácidos y alcoholes. El acetato de etilo es el éster predominante pero aparecen otros muchos ésteres alifáticos, aromáticos, mono y dibásicos. El aumento de ésteres en un whisky es el índice más característico de su edad.

Los sólidos se extraen de la madera del barril durante el contacto en el almacenaje, y la cantidad de material sólido extraído (por ejemplo; taninos, vainillina, etc...) juega un importante papel en la determinación de las características organolépticas del whisky.

El color se debe a la extracción de material del barril pues el whisky cuando se introduce en el mismo carece de color. No obstante, a veces se le añade de caramelo para proporcionar el color deseado. La presencia de 5-hidroximetil-furfural se explica por esta adición de caramelo.

Los aldehídos aromáticos y alifáticos en el whisky son fuertes saborizantes, se produce una aumento de la concentración de los mismos con el envejecimiento.

Se han identificados unos 17 aldehídos alifáticos y unos 6 cíclicos. Los aldehídos fenólicos como la vainillina, siringaldéhid (sabor amaderado), coniferaldéhid y sinapaldéhid se forman de la lignina de la madera durante la carbonización del tonel y la maduración. La etanol-lignina sufre una degradación a etanol, alcohol coniferílico y alcohol senápico. Estos alcoholes se oxidan a los correspondientes aldehídos, coniferaldéhid y sinapaldéhid, y después a vainillina y siringaldéhid.

Como mencionamos anteriormente, el ácido que se encuentra en mayor cantidad en el whisky es el ácido acético. La mayoría del ácido se forma en los 6 primeros meses de la maduración

y a partir de ese momento el nivel se reduce debido a que reacciona con el etanol para formar acetato de etilo. Encontramos trazas de otros ácidos, formados durante la fermentación (por ejemplo: fórmico, propiónico, butírico, hexanoico, octanoico, nonanoico, cáprico, etc...). Y otro tipo de ácidos se extraen del barril (por ejemplo: valérico, butenoico, 2-furóico, lignocérico, tánico, etc...).

Las lactonas se forman mediante la deshidratación de hidroxiacidos alifáticos. Se forman en los toneles de roble durante la maduración. Cabe destacar la existencia de una lactona característica, la β -metil- γ -octalactona, que a veces se la conoce como *whisky lactona*.

Los azúcares, tanto pentosas como hexosas, así como el glicerol, tienen un papel de congéneres. Se cree que la arabinosa, galactosa, ramnosa y xilosa se forman a partir de la degradación de la hemicelulosa de la madera. El glicerol lo producen las levaduras en la fermentación, pero una fuente más importante es la degradación de los triglicéridos procedentes de la madera, probablemente durante el quemado o chamuscado. También aparece la fructosa, aunque su procedencia no está clara.

Los extractos de la madera y las trazas de cobre elemental son fundamentales en la degradación de los compuestos de azufre y nitrógeno durante la maduración. Los compuestos heterocíclicos con nitrógeno como la pirazinas, pirroles y piridinas se forman mediante la reacción de Maillard durante la cocción, amasado, destilación y carbonizado del tonel. Estos compuestos pueden contribuir al aroma del whisky.

ANTECEDENTES

Señalaremos a continuación los diversos antecedentes bibliográficos utilizados en el estudio de los diferentes tipos de whiskies. Emplearemos los tres perfiles de compuestos químicos más utilizados para dicha caracterización. Estos tres conjuntos de compuestos químicos son los siguientes:

a) Aceites de fusel (alcoholes superiores)

La cantidad de alcoholes superiores en el producto final esta determinada por la clase de levadura, las condiciones de fermentación y los parámetros de operación en el alambique durante la destilación, siendo un factor muy importante en el *flavor* del whisky. Los estudios sobre los cambios en la concentración de los aceites de fusel durante la maduración del whisky indican que los alcoholes superiores son un producto exclusivo de la etapa de fermentación y que los incrementos durante la maduración se deben sólo a la pérdida de volumen total por evaporación.

El contenido de aceites de fusel se ha usado en diversos estudios (Schoeneman et al., 1971 y 1972; Wilson et al., 1991; Rice, 1987; Aylott et al., 1994; Martín-Álvarez et al., 1988) para proceder a la caracterización o diferenciación de diversos tipos de whiskies. En estos trabajos, se han estudiado con profundidad las diferencias entre los whiskies estadounidenses, escoceses de malta puro y "blended" pero no se han encontrado referencias a la caracterización o diferenciación entre los mismos y los whiskies irlandeses.

b) Metales

La presencia de los metales en el producto final viene determinada fundamentalmente por el tipo de aguas utilizadas durante la producción y la extracción de cierto metales del barril durante la maduración. Determinados metales como el potasio y el calcio aumentan en su concentración con la edad del whisky mientras que otros como el sodio y el magnesio no cambian en concentración. La aparición de cobre se debe a su extracción del alambique de destilación en ciertos casos.

El contenido de metales se ha usado en diversos estudios (Schoeneman et al., 1971 y 1972) para proceder a la caracterización o diferenciación de diversos tipos de whiskies. Como se indicó más arriba, en estos trabajos se han establecido las diferencias entre los whiskies estadounidenses, escoceses de malta puro y "blended" pero no se hacen referencias a la caracterización o

diferenciación entre dichos whiskies y los whiskies irlandeses.

c) Otros congéneres volátiles (ésteres, ácidos, aldéhidicos, etc...)

Como tercer conjunto de compuestos químicos utilizados en la caracterización y diferenciación de los tipos de whiskies (Schoeneman et al., 1971 y 1972; Headley y Hardy, 1989 y 1992; Aylott et al., 1994) aparecen otros constituyentes del perfil volátil, integrado por una serie de ésteres, ácidos, alcoholes, etc..., que se originan o varían su concentración en alguna de las etapas de la producción señaladas en el apartado de composición química del whisky.

Como en los casos anteriores, existe un vacío en la bibliografía en cuanto a la utilización de dichos compuestos químicos para la caracterización, diferenciación y la posible autenticación de los whiskies irlandeses.

SELECCIÓN DE LOS DESCRIPTORES QUÍMICOS

Como resultado de la exploración bibliográfica se procedió a seleccionar los descriptores químicos dentro de los tres perfiles establecidos:

a) Aceites de fusel (alcoholes superiores)

Los alcoholes superiores que se utilizan en la caracterización y diferenciación de distintos tipos de whiskies son los siguientes:

1-propanol

2-metil-1-propanol

2-metil-1-butanol

3-metil-1-butanol

b) Metales

Los metales que presentan una concentración significativa, siendo útiles en la caracterización de diversos tipos de whiskies son los siguientes:

Calcio (Ca)

Cobre (Cu)

Magnesio (Mg)

Potasio (K)

Sodio (Na)

c) Otros congéneres volátiles (ésteres, ácidos, aldehídos, etc...)

En la bibliografía aparecen diversas referencias al uso de los congéneres para la caracterización, diferenciación y autenticación de distintos tipos de whiskies, pero, es el trabajo desarrollado durante la elaboración de esta memoria el que no llevó a la selección concreta de los siguientes compuestos químicos:

Ácido propanodióico (PDA)

Propanoato de etilo (EP)

Dietoxietano (DEE)

Butanoato de etilo (EB)

1,1-dietoxi-2-metil-propano (DEMP)

1,1-dietoxi-butano (DEB)

2-furancarboxaldehído (FC)

Acetato de isopentilo (IPA)

Formiato de etilo (EF)

1-(1-etoxi-etoxi) pentano (EEP)

Hexanoato de etilo (EH)

1,1-dietoxi-propano (DEP)

Fenol (P)

Heptanoato de etilo (EHP)

2-metil-fenol (MP)

2-fenil-etanol (BE)

Octanoato de etilo (EO)

Ácido heptanóico (HPA)

Acetato de 2-feniletilo (FEA)

β -metil- γ -octalactona (MOL)

Decanoato de etilo (ED)

Ácido decanóico (DA)

4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído (HMB)

Dodecanoato de etilo (EDD)
Ácido dodecanóico (DDA)
3,3,4-trimetil-decano (D334TM)
4-hidroxi-3-metoxi-benzoato de etilo (B4H3ME)
Hexadecanol (HXD)

SELECCIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

Describiremos el tipo de metodología analítica empleada y la justificación de la elección de la misma para la determinación de los tres perfiles químicos mencionados en el apartado anterior:

a) Aceites de fusel (alcoholes superiores)

En el análisis de estos compuestos químicos utilizamos cromatografía de gases, pero el perfil completo de compuestos volátiles es complejo y muy difícil de interpretar, por ello, para centrar nuestro estudio en estos compuestos mayoritarios y más volátiles utilizamos la inyección del espacio de cabeza (Aishima, 1991). En el análisis se ha trabajado a una temperatura constante de 32°C, realizándose la cromatografía en régimen isotérmico, consiguiéndose una adecuada resolución de los compuestos de interés. Aunque en la bibliografía se hace referencia, fundamentalmente, a determinaciones con temperatura programada, se optimizó el método en modo isotérmico, que es más rápido ya que no hay que esperar ningún tiempo entre dos análisis sucesivos. Como método de detección se ha usado la espectrometría de masas.

El patrón interno utilizado ha sido el 1-butanol al no encontrarse presente en los diversos tipos de whiskies y el método de cuantificación, la adición estándar.

b) Metales

Las muestras de whiskies poseen un grado alcohólico próximo al 40% V/V haciéndose necesario el uso de la determinación por espectrometría de absorción atómica para no tener que proceder a la digestión o mineralización, ya que, la determinación por espectroscopía de emisión con plasma (ICP) presenta el problema del apagado de la antorcha para concentraciones de alcohol superiores al 20%.

La cuantificación se realiza mediante calibrado externo con la utilización de disoluciones

patrones preparadas con un grado alcohólico similar al de las muestras.

Los parámetros como la altura del quemador, la intensidad de corriente y la longitud de onda de trabajo de las lámparas de cátodo hueco o la proporción de aire-acetileno se optimizaron para cada elemento.

c) Otros congéneres volátiles (ésteres, ácidos, aldehídos, etc...)

Esta serie de compuestos también se determinan por cromatografía de gases utilizando la inyección directa que nos permite obtener señales significativas de estos compuestos minoritarios. Para eliminar las grandes cantidades de etanol y agua se realiza la extracción previa con diclorometano (CH_2Cl_2). A su vez, se optimizó un programa de temperatura similar a los de la bibliografía para llegar a obtener las señales de los compuestos menos volátiles con la mayor resolución posible.

Como método de detección se utilizó la espectrometría de masas, donde los espectros de masas de cada compuesto son comparados con una biblioteca de espectros de masas para proceder a la asignación de la identidad de los picos.

Se utilizó acenafteno como patrón interno al ser muy soluble en diclorometano y no encontrarse en los whiskies. Para evaluar las cantidades relativas de un compuesto en diversas muestras se empleó la relación de áreas entre el pico del compuesto y el patrón interno.

APLICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES

Para establecer la eficiencia en la diferenciación de los distintos tipos de whiskies por parte de los compuestos químicos seleccionados se han aplicado las técnicas de reconocimiento de patrones. Aunque a continuación se hace un somero resumen de estas técnicas, éstas serán explicadas con mayor profusión en el capítulo II.

La metodología a utilizar dependió de la calidad apreciada en la separación con los procedimientos sencillos de visualización:

a) Los "biplot" obtenidos una vez realizado el análisis de componentes principales (PCA) proporcionan una forma muy efectiva de visualizar las relaciones entre objetos y descriptores químicos.

La distancia euclídea entre dos puntos del biplot fue la métrica usada. Por tanto, esta representación permite visualizar posibles agrupamientos de los casos.

En lo que respecta a los descriptores químicos, observando esta representación es posible establecer cuáles son los que mejor discriminan entre las clases, ya que los que presenten mayores valores absolutos de “loadings” para el primer PC serán los más discriminantes. Por otra parte, los descriptores con valores de “loadings” próximos van a proporcionar el mismo tipo de información acerca de los objetos y descriptores cuyos “loadings” estén próximos al valor cero no aportaran mucha información.

b) Los *dendogramas* obtenidos mediante la realización de análisis “cluster” (CA), proporciona un modo de visualizar los diferentes grupos dentro del conjunto de muestras de manera no supervisada.

Estos métodos tienen por objetivo agrupar “clusters” o conjuntos de muestras para formar uno nuevo hasta llegar a un solo grupo o bien separar “clusters” formando nuevos subconjuntos que salen del anterior.

Dependiendo de la calidad observada en la separación de clases de whiskies podemos aplicar una u otra técnica de reconocimiento de patrones: El análisis discriminante lineal con modelado de clases (CMLDA), el análisis discriminante procusteo (PDA), el método de los K vecinos más próximos (KNN) o los métodos basados en algoritmos neuronales como la red de retropropagación (BPNN).

OBJETIVOS PORMENORIZADOS

El propósito básico desarrollado en esta memoria fue proceder a una caracterización, diferenciación y autenticación de los tres principales tipos de whiskies, a saber, whisky escocés de malta puro, whiskey irlandés y whiskey bourbon.

A su vez, se han pretendido desarrollar dos objetivos fundamentales donde aparecen los hechos más novedosos de este estudio. Estos objetivos son los siguientes:

a) Realizar una clasificación de los distintos tipos de whiskies, utilizando las técnicas de reconocimiento de patrones sobre los tres conjuntos de variables mencionadas.

Como aspecto más novedoso cabe reseñar que, si bien, la distinción entre whisky escocés

de malta y el bourbon está muy desarrollada, no ocurre lo mismo con la diferenciación entre estas dos categorías y el whiskey irlandés. Una vez desarrollada esta clasificación trataremos de realizar una distinción aun más profunda, diferenciando dentro del whisky de malta escocés entre los whiskies de las islas y los whiskies continentales, discriminando entre el “bourbon sour mash” y “straight”, y realizando una caracterización del whisky neutro de grano.

b) Desarrollar y adaptar nuevos procedimientos de clasificación como el análisis discriminante lineal con modelado de clases (CMLDA) y el análisis discriminante procrusteo (PDA).

A la consecución de dichos objetivos se ha destinado el trabajo realizado en la presente memoria.

REFERENCIAS

- Aishima, T., *Analytica Chimica Acta*, 243, 293-300, 1991
- Arthur, H., *Whisky de malta*, LocTeam, Barcelona, 1998
- Aylott, R. I., Clyne, A. H., Fox, A. P. y Walker, D. A., *Analyst*, 119, 1741-1746, 1994
- Casamayor, P. y Colombani, M., *El libro del amante del whisky, El cuerno de la abundancia*, Barcelona, 1985
- Headley, L.M. y Hardy, J.K., *Journal of Food Science*, 57, 980-984, 1992
- Headley, L. M. y Hardy, J. K., *Journal of Food Science*, 54, 1351-1358, 1989.
- Lapointe, F.J. y Legendre, P., *Appl. Statis*, 43, 237- 257, 1994
- La industria agroalimentaria en España, Banco de Crédito Agrícola, 1983
- Liebman, A. J., *J. Chem. Educ.*, 33, 166-173, 1956
- Martin-Alvarez, P.J., Cabezudo, M.D., Sanz, J., Herránz, A., De la Serna, P. y Barro, C., *J. Sci. Food Agric.*, 45, 347-358, 1988
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, *Consumo Alimentario en España 1988*, Dirección de agricultura, pesca y alimentación, 1988
- Muñoz Ramos, J., *Enciclopedia de los Alcoholes*, Enciclopedias Planeta, 1996
- Rice, G. W., *Journal of Chemical Education*, 64, 1055-1056, 1987
- Schoeneman, R.L., Dyer, R.H. y Earl, E.M., *Journal of the AOAC*, 54, 1247-1261, 1971
- Schoeneman, R. L., y Dyer, R. H., *Journal of the AOAC*, 56, 1-10, 1972
- Varnam, A. H., Sutherland, J. P., *Bebidas. Tecnología, Química y Microbiología*, 1997
- Wilson, L. A., Ding, J. H., y Woods, A. E., *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, 74, 248-256, 1991

PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA

I. PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA

En este capítulo se citan las disoluciones, reactivos, instrumentación, material y soporte informático utilizados en la memoria, así como una descripción de las muestras estudiadas y los procedimientos experimentales llevados a cabo en el desarrollo de la misma.

I.1 Disoluciones y reactivos

En la realización del trabajo experimental llevado a cabo en la presente memoria se han utilizado una serie de reactivos de calidad *para análisis* así como determinadas disoluciones de los mismos, que se indican a continuación.

Reactivos

- * n-Propanol (99.5% Fluka)
- * n-Butanol (99.5% Fluka)
- * Isobutanol (99.5% Fluka)
- * 2-metil-1-butanol (98.0% Fluka)
- * 3-metil-1-butanol (99.0% Fluka)
- * Etanol absoluto (99.8% Riedel-de Haën)
- * Diclorometano (99.9% Romil)
- * Acenafteno (99.0% Sigma)
- * N-nitroso-dimetilamina (99.0% Sigma)
- * Cloruro sódico (99.5% Panreac)
- * Cloruro potásico (99.5% Panreac)
- * Cinta de magnesio (99.0% Merck)
- * Carbonato cálcico (99.0% Merck)
- * Cobre metálico (99.8% Riedel-de Haën)
- * Cinc metálico (99.8% Merck)
- * Nitrato de plomo (II) (99.5% Merck)
- * Alambre de hierro (99.9% Merck)
- * Carbonato sódico (99.8% Panreac)

Disoluciones

* Disoluciones acuosas de 1000 mg/l de los iones Na(I), K(I), Mg(II), Ca(II), Cu(II), Fe(III), Pb(II) y Zn (II) preparadas a partir del metal ó sus sales puras según las directrices de la Guía de Usuario (Analytical Methods For Atomic Absorption Spectrophotometry PERKIN ELMER). A partir de éstas se han preparado disoluciones diluidas en mezclas etanol/agua (40% V/V) para la estandarización en los métodos de absorción y emisión atómica.

* Disolución de acenafteno 0.005% en diclorometano.

El agua empleada para la preparación de disoluciones siempre ha sido de calidad ultrapura obtenida mediante un sistema desionizador Milli-Q que se describe en la sección de instrumentación y material.

I.2 Instrumentación y material

Para la realización de las experiencias descritas en esta memoria se ha empleado la instrumentación y el material que se indica a continuación.

Instrumentación

* El agua ultrapura se ha obtenido usando un sistema de purificación de agua Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA) con una producción de 1.5 litros por minuto. El agua producida presenta una resistividad de 18.2 M Ω x cm ó una conductividad de 0.055 μ S/cm. (1S (Siemens) = 1/ Ω = mho).

* Las determinaciones de masa se han realizado en una balanza de precisión (\pm 0.1 mg) METTLER AE 200 y en un granatario SARTORIUS (\pm 0.1 g) dependiendo de la precisión requerida.

* Para el tratamiento térmico de las muestras se ha utilizado una estufa P-SELECTA con controlador de temperatura, \pm 2°C.

* Para la preconcentración de los extractos de whisky (sondeo de nitrosaminas) se utilizó un evaporador rotatorio (Rota-vapor, Büchi) conectado a un sistema evaporador de Kudernanish (Afora).

* Las determinaciones por cromatografía gaseosa se han llevado a cabo utilizando un cromatógrafo de gases FISIONS 8000 equipado con una columna capilar J&S de 30m x 0.32 mm con una fase estacionaria DW-624 (86% dimetilsilicona, 14% fenilsilicona) de un espesor de 1.8 μm . La detección se realizó por espectrometría de masas, con un sistema FISON TRIO 1000 (cuadrupolo). La gestión del sistema cromatográfico ha sido realizada mediante el programa informático Lab-Base TM de FISON INSTRUMENTS.

* En las determinaciones de los metales se ha empleado un espectrómetro de absorción atómica PERKIN ELMER modelo 3100. El calcio, el cobre y el magnesio se han determinado por absorción atómica de llama y se han usado las correspondientes lámparas de cátodo hueco (Perkin Elmer). El sodio y el potasio se han determinado por emisión atómica.

Material

- * Viales para espacio de cabeza (Teknokroma) de 25 ml provistos de septum y cápsula.
- * Encapsulador (Teknokroma) de viales para espacio de cabeza.
- * Jeringas (Hamilton) para cromatografía gaseosa de 5 y 10 μl .
- * Material de vidrio y volumétrico graduado y aforado de uso habitual en laboratorios de investigación.

I.3 Soporte informático

Computadoras

* Computadora clónica con procesador Pentium, disco duro de 2,5 Gbytes y 32 Mbytes de memoria RAM, unidad CD y ZIP y scanner.

* Computadora tipo PC con procesador 80386, disco duro de 100 Mbytes y 4 Mbytes de memoria RAM para la gestión del cromatógrafo de gases acoplado al detector de masas con el programa Lab-Base TM de FISON INSTRUMENTS.

Paquetes y programas informáticos

* Lab-Base TM de FISON INSTRUMENTS, programa para la gestión del cromatógrafo de gases acoplado al detector de masas. Permite la asignación de los picos cromatográficos por comparación de los correspondientes espectros de masas con la biblioteca de espectros de patrones.

* CSS:STATISTICA ver 3.1, StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA, 1991. Licencia

Departamento Química Analítica Universidad de Sevilla. Paquete estadístico de propósito general. Dentro del dominio del reconocimiento de patrones, permite realizar Análisis en Componentes Principales (PCA), Análisis "Cluster"(CA) y Análisis Discriminante Lineal (LDA).

* WinNN 97, Y. Danon, Arad, Israel, 1997. Licencia personal Dr. A. Gustavo González, Departamento de Química Analítica, Universidad de Sevilla. Programa para la aplicación de algoritmos neuronales artificiales entrenados por retropropagación.

* HOLMES, programa desarrollado por D. González-Arjona, J.A. Mejías y A. Gustavo González, Universidad de Sevilla, y distribuido por QCMP (Quantum Chemistry Program Exchange) con el código QCMP135, Indiana, USA. Este programa permite realizar Análisis Procrusteo (PA) y Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS).

* Otros programas necesarios para la presente memoria han sido desarrollados por el Dr. D. González-Arjona.

I.4. Muestras de whisky

Sesenta botellas de diversas clases de whisky (escocés malta puro, bourbon, irlandés y de grano) fueron adquiridas en diversos establecimientos comerciales locales y en el Reino Unido. Los whiskies fueron catalogados de acuerdo con las características indicadas en la etiqueta en cuatro clases: Escocés malta puro (clase S, 26 muestras), bourbon (clase B, 20 muestras), irlandés (clase I, 12 muestras) y de grano (clase G, 2 muestras). Los whiskies de grano se emplearon en la presente memoria con fines comparativos, pues dada la exigua cantidad de marcas existentes en el mercado (BlackBarrel y Cameron Brig) no se sometieron a ningún estudio puramente estadístico-quimiométrico. Por tal razón, en esta memoria sólo consideraremos las clases S, B e I y así cada botella fue etiquetada con un código alfanumérico que hiciera referencia a la clase y al número de la muestra dentro de la clase. En la Tabla 3 se indica el código de cada muestra estudiada junto con su origen y alguna característica especial. Así, los whiskies escoceses estudiados pueden ser de las Highlands, Lowlands o de las Islas (Orkney, Islay, Skye); los bourbons pueden ser de Kentucky o de Tennessee, y pueden ser “straight” o “sour mash”, y por último los whiskeys irlandeses pueden ser de Eire o de Irlanda del Norte.

Las botellas, una vez abiertas para la primera toma de muestra se volvieron a cerrar, con su propio tapón y se mantuvieron almacenadas en una vitrina a temperatura ambiente. Los diferentes análisis y las sucesivas tomas de muestra de cada botella se realizaron en un intervalo de 4-5 meses.

Tabla 3.- Codificación de las muestras de whisky según su origen

CÓDIGO	ORIGEN	CÓDIGO	ORIGEN
S01	Highlands	B04	Kentucky, straight
S02	Highlands	B05	Kentucky, straight
S03	Highlands	B06	Kentucky, straight
S04	Highlands	B07	Kentucky, sour mash
S05	Highlands	B08	Kentucky, sour mash
S06	Highlands	B09	Kentucky, sour mash
S07	Islas (Islay)	B10	Kentucky, straight
S08	Highlands	B11	Tennessee, sour mash
S09	Highlands	B12	Kentucky, sour mash
S10	Islas (Islay)	B13	Kentucky, sour mash
S11	Highlands	B14	Kentucky, sour mash
S12	Highlands	B15	Tennessee, sour mash
S13	Islas (Skye)	B16	Kentucky, straight
S14	Lowlands	B17	Kentucky, sour mash
S15	Islas (Orkney)	B18	Kentucky, straight
S16	Islas (Islay)	B19	Kentucky, straight
S17	Lowlands	B20	Kentucky, sour mash
S18	Highlands	I01	Eire
S19	Highlands	I02	Eire
S20	Highlands	I03	Eire
S21	Highlands	I04	Eire
S22	Islas (Islay)	I05	Eire
S23	Islas (Islay)	I06	Eire
S24	Islas (Skye)	I07	Eire
S25	Islas (Orkney)	I08	Eire
S26	Islas (Islay)	I09	Eire
B01	Kentucky, straight	I10	Irlanda del Norte
B02	Kentucky, straight	I11	Irlanda del Norte
B03	Kentucky, straight	I12	Eire

I.5. Procedimientos analíticos

I.5.1. Sondeo de nitrosaminas en whiskies por cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Las nitrosaminas son productos carcinogénicos que pueden encontrarse en el whisky. Su origen es doble. Por una parte, las nitrosaminas pueden surgir en el proceso de maceración de la cebada ya que el agua puede contenerlas merced a reacciones entre compuestos nitrogenados (aminas) y nitritos (que pueden aparecer por reducción bacteriana de nitratos) (Shough, 1990). En segundo lugar, y con mayor probabilidad, pueden originarse en la etapa de secado o "kilning" de la cebada malteada ya que los gases de secado contienen óxidos de nitrógeno (Smith, 1994; Sen et al., 1983) que reaccionan con las aminas de la malta. La más abundante en los whiskies es la N-nitrosodimetilamina (NDMA) cuyos niveles máximos permitidos dependen de la legislación del País. Por ejemplo, en Gran Bretaña, la "Brewers' Society" junto con la "Brewing Industry" han establecido para productos derivados de la cebada malteada, los límites de 20 µg/Kg de nitrosaminas totales y 0.5 µg/Kg en NDMA, al igual que en la Comunidad Europea.

En los últimos años, estos productos se destruyen en el whisky al final de la cadena de producción por irradiación UV según la Patente GB 2140455A (Sharp & Watson, 1985). El whisky es expuesto a radiación UV de 330-380 nm con lo cual la NDMA es descompuesta. Así pues, en la presente memoria, más que una determinación de NDMA en whisky, se ha realizado un procedimiento de sondeo o "screening" que nos indique la presencia o ausencia de nitrosaminas por debajo de un nivel umbral de 0.5 µg/Kg (0.5 ppb).

En el análisis de estos compuestos se ha utilizado la cromatografía gaseosa con un programa de temperatura con un período isoterma inicial de 2 minutos a 35°C y una rampa de temperatura de 20°C/min hasta alcanzar los 200°C, que se mantienen durante 20 minutos.

Se ha utilizado helio como gas portador, con un flujo de 1 ml/min a través de la columna, y una relación de división o "split" igual a 1:7. Al inicio del análisis el "split" se mantiene cerrado durante 1 minuto.

La temperatura del inyector ha sido de 100°C y la temperatura de la interfase entre el cromatógrafo y el espectrómetro de masas ha sido de 250°C.

La energía de los electrones del filamento fue 70eV y la temperatura de la fuente de 200°C. Siempre se ha trabajado con impacto electrónico positivo (EI+). Se ha realizado la detección en

modo de barrido (SCAN) entre los valores 20 y 250 de relación masa/carga (m/z), y con un tiempo entre barridos de 0.01 segundos.

Se realizó la inyección directa de 5 μ l de muestra que se obtuvo mediante la siguiente preconcentración:

Se preparó una disolución de 50 ml de whisky, 150 ml de agua Milli-Q y 5 gramos de carbonato sódico, la cual se extrae a continuación con 25 ml de diclorometano, dicho procedimiento se repite cuatro veces en un embudo de decantación de 250 ml (Harvey et al., 1981; Fine et al., 1976).

Los extractos se evaporaron en el rotavapor, llevándose hasta casi sequedad utilizando el evaporador de Kuderna-Danish. El residuo se llevó hasta 0.5 ml.

1.5.2. Determinación de metales en whiskies por técnicas de emisión y absorción atómicas.

*** Determinación de calcio, magnesio, cobre, plomo, hierro y cinc.**

Estos metales se determinaron por absorción atómica. Las muestras se aspiran directamente sin ningún tratamiento previo, excepto las diluciones en etanol/agua al 40% en volumen cuando fueron necesarias.

Las disoluciones patrones de los iones metálicos para la obtención de las rectas de calibrado se prepararon en etanol/agua con un grado alcohólico similar al de las muestras.

Los parámetros como la altura del quemador, la intensidad de corriente y la longitud de onda de trabajo de las lámparas de cátodo hueco o la proporción de aire-acetileno se optimizaron para cada elemento.

*** Determinación de sodio y potasio.**

Estos metales se determinaron por emisión atómica. El procedimiento operativo y la preparación de las muestras y patrones es similar al caso anterior, con la única diferencia de la no utilización de lámparas de cátodo hueco pues no se mide la absorción de la radiación por la muestra atomizada sino la emisión provocada por la excitación en la llama.

La llama utilizada en la atomización es de aire-acetileno (2:1). Las disoluciones se introducen en la llama por aspiración a través de un capilar, realizándose la cuantificación a partir

de los valores de absorción/emisión obtenidos para las muestras utilizando las correspondientes rectas de calibrado (estandarización). En todos los casos se utilizó un "spoiler" en la cámara nebulizadora.

En aquellos casos en que las muestras de whisky superaron el límite máximo lineal de concentración, se procedió a diluirlos con la mezcla etanol/agua utilizada en la preparación de los patrones.

Las condiciones operativas se indican en la siguiente tabla, mostrándose las longitudes de onda de absorción o emisión (nm), la anchura de la rendija (mm) utilizadas en el espectrómetro así como las disoluciones de prueba y el límite máximo de concentraciones (expresadas en ppm para cada metal analizado) en el que la respuesta es lineal.

Tabla 4.- Características de la determinación de metales en whiskies por absorción y emisión atómica

METAL	LONGITUD DE ONDA (nm)	ANCHURA DE RENDIJA (mm)	DISOLUCIÓN DE PRUEBA	LÍMITE LINEAL
COBRE	324.8	0.7	4.0	5.0
CALCIO	422.7	0.7	4.0	5.0
MAGNESIO	285.2	0.7	0.3	0.5
HIERRO	248.3	0.2	5.0	5.0
CINC	213.9	0.7	1.0	1.0
PLOMO	217.0	0.7	9.0	20.0
SODIO	589.0	0.2	-	-
POTASIO	766.5	0.7	-	-

1.5.3. Determinación de aceites de fusel en whiskies por cromatografía de gases-espectrometría de masas.

En la determinación de estos alcoholes superiores se ha aplicado la cromatografía gaseosa en régimen isotermico a una temperatura de 32°C empleando columna capilar con una fase

estacionaria DW-624 (Hewlett Packard Chromatography Users Catalog, 1993), utilizando como patrón interno el n-butanol, ausente en los whiskies (Wilson et al., 1991; Rice, 1987).

El gas portador fue helio, a un flujo de 1 ml/min. La relación de "split" se mantuvo igual a 1:7. Al inicio del análisis el "split" se mantuvo cerrado durante 10 segundos.

La temperatura del inyector fue de 150°C y la temperatura de la interfase entre el cromatógrafo y el espectrómetro de masas de 250°C.

La energía de los electrones del filamento fue de 70eV y la temperatura de la fuente 200°C. Siempre se trabajó con impacto electrónico positivo (EI+). Se ha realizado la detección en modo de barrido (SCAN) entre los valores 20 y 250 de relación masa/carga (m/z), con un tiempo de interbarrido de 0.01 segundos. Utilizamos un "solvent delay" retraso en la adquisición de datos para no registrar las señales del disolvente de 4 minutos.

Se ha utilizado la técnica de inyección por espacio de cabeza (Aishima, 1991) según el siguiente procedimiento:

Se añaden en un vaso de precipitado 20 ml de muestra, 10 µl de patrón interno (butanol) y 10 ó 5 µl de los aceites de fusel (propanol, isobutanol, 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol), se homogeneiza y se toman 5 ml con una pipeta, que se introducen en un vial de 20 ml para espacio de cabeza. Se sella el vial con un septum de teflón y cápsula de aluminio normalizados y se lleva a una estufa a 80°C durante 30 minutos. Pasado este tiempo se inyecta en el cromatógrafo un volumen de 0.5 ml del gas contenido en el espacio de cabeza del vial. Las muestras se han analizado utilizando el método de adición estándar (Tyson, 1984; Cardone, 1986).

1.5.4. Estudio del perfil menos volátil mediante inyección directa

El análisis de los congéneres (alcoholes, aldéhdos, ésteres. etc...) existentes en el whisky se ha realizado mediante cromatografía de gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Dada la gran cantidad de estos componentes (alrededor de 30), en lugar de utilizar patrones, los picos de cada cromatograma han sido identificados mediante la utilización de la biblioteca de espectros de masas (NBS) disponible para el cromatógrafo (Aylott et al., 1993). Para dicho análisis se utiliza un programa que comienza con una temperatura inicial de 40°C durante un periodo de 5 minutos llegándose a una temperatura final de 240°C con una rampa de 8°C/min con lo que la adquisición se completa a los 30 minutos (Headley y Hardy, 1989).

Se ha utilizado helio como gas portador, con un flujo de 1.5 ml/min a través de la columna, y una relación de "split" de 1:70. Al inicio del análisis el "split" se mantuvo cerrado durante 10 segundos. La temperatura del inyector ha sido de 250°C y la temperatura de la interfase entre el cromatógrafo y el espectrómetro de masas ha sido de 250°C. En la detección se ha utilizado una energía del filamento de 70eV y una temperatura de la fuente de 200°C. Siempre se trabajó con impacto electrónico positivo (EI+). Se ha realizado la detección en modo de barrido (SCAN) entre los valores 20 y 250 de relación masa/carga (m/z), y con un tiempo entre barridos de 0.01 segundos. Se usó un "solvent delay" de 6.6 minutos.

Los componentes a determinar se preconcentraron en un vial de 6 ml mediante extracción líquido-líquido de 3 ml de whisky con 1 ml de diclorometano, conteniendo acenafteno (como patrón interno) con 0.005% en peso. El vial se sometió a agitación durante 30 segundos (Headley y Hardy, 1989). Luego se tomaron 2 μ l del extracto y se inyectó en el cromatógrafo.

Para evaluar la cantidad relativa de cada componente presente en cada muestra de whisky se empleó el cociente de alturas del pico del analito y del patrón interno.

REFERENCIAS

Aishima, T., *Analytica Chimica Acta*, 243, 293-300, 1991

Analytical Methods For Atomic Absorption Spectrometry PERKIN ELMER, Guía de Usuario, Norwalk, Connecticut, 1982

Aylott, R. I., Clyne, A. H., Fox, A. P. y Walker, D. A., *Analyst*, 119, 1741-1746, 1994

Cardone, M., *Anal. Chem.*, 58, 438, 1986

Fine, D. H., Ross, R., Rombehler, D. P., Silvergleid, A. y Song, L., 24, 1976.

Harvey, D. C., Hotchkiss, J. H. y Fazio, T., *Journal of Food Science*, 46, 501-515, 1981.

Headley, L. M. y Hardy, J. K., 54, 1351-1358, 1989.

Hewlett Packard Chromatography Users Catalog, 1993

Rice, G. W., *Journal of Chemical Education*, 64, 1055-1056, 1987

Sen, N. P., Tessier, L. y Seaman, S. W., *J. Agric. Food Chem.*, 31, 1033-1036, 1983

Sharp, R. y Watson, S., Purification of beverages, UK Patent Application, 1985

Shough, J., *Biotecnología de la cerveza y malta*, Editorial Acribia SA, 1990

Smith, N. A., *J. Inst. Brew.*, 100, 347-355, 1994

Tyson, J. F., *Analist*, 109, 313, 1984

Wilson, L. A., Ding, J. H., y Woods, A. E., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 74, 248-256, 1991

**INTRODUCCIÓN A LOS MÉTODOS DE
RECONOCIMIENTO DE PATRONES**

II. INTRODUCCIÓN A LOS METODOS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES

El uso de los procedimientos analíticos en análisis químico produce a menudo grandes conjuntos de datos que comprenden medidas de un gran número de variables sobre un gran número de muestras. En un experimento GC-MS por ejemplo, pueden generarse en un ensayo 600000 datos equivalentes a unos 2.4 Mbytes de información digital. Para establecer la estructura y extraer la información química de los datos registrados se necesitan técnicas de manipulación, interpretación y predicción, que engloban la estadística matemática, el cálculo, la geometría, el álgebra y las redes neuronales y que globalmente pueden referirse como métodos de Análisis Multivariante (Gardiner, 1997). En la manipulación de datos químicos, la aplicación de los métodos de análisis multivariante se discuten dentro del marco de la Quimiometría, cubriendo los aspectos exploratorios, de agrupamiento, clasificación y modelado.

El quimiómetra considera las influencias químicas e instrumentales que afectan los datos y su propósito es presentar los datos de manera que permitan una interpretación química del sistema. En este sentido, las técnicas de análisis multivariante han encontrado aplicación en muchas ramas de la química y el análisis químico, como la espectroscopía, la cromatografía de gases y la pirólisis acoplada con la espectroscopía de masas, los estudios de resonancia magnética nuclear, química medioambiental, geoquímica, química de los alimentos y quimiotaxonomía. Los objetivos fundamentales de estos métodos quimiométricos de análisis multivariante pueden resumirse en:

- (a) Exploración y visualización de datos.
- (b) Agrupamiento, clasificación y predicción de la categoría de muestras u objetos.
- (c) Predicción de variables externas en función de los descriptores del sistema.

Dentro del campo del análisis y composición de los alimentos, existen cuatro factores fundamentales a considerar en la perspectiva del reconocimiento de patrones. El primero de ellos, es el *control genético*, habida cuenta la creciente aplicación de la ingeniería genética a los alimentos procedentes del mundo animal y vegetal. El segundo factor es el *componente ambiental*, que incluye al suelo, clima y organismos simbióticos o parásitos. El tercer factor es el *componente agrícola*, resultado de las prácticas empleadas en la producción del alimento: cultivo, riego, fertilizantes y abonos, piensos y medicamentos, uso de pesticidas y prácticas de recolección. El cuarto factor es *el procesado*, que incluye las manipulaciones realizadas después de la cosecha, tales como la preservación, adición de aditivos y conversiones a otras formas alimentarias y productos terminados. Estos cuatro factores pueden considerarse, en la terminología del análisis

multivariante como las causas directrices de la composición de los alimentos. No obstante, aún cuando estos factores son ciertamente definibles y trazables, a menudo resulta difícil inferirlos de los datos de composición de los alimentos, pues ésta no sólo es multivariante, sino que además puede ser no lineal con respecto a dichos factores.

La composición de los alimentos puede definirse cualitativa y cuantitativamente mediante medidas químicas y físicas, y como la mayoría de los alimentos son mezclas complejas de muchos componentes a menudo desconocidos y variables, la caracterización de un alimento requiere muchas medidas.

En química el término *objeto* o *patrón* puede cubrir desde elementos puros o compuestos hasta complicados productos industriales o naturales, y cada uno de ellos viene caracterizado por un conjunto de medidas, las cuales pueden ser propiedades físicas o químicas. A un conjunto de patrones caracterizados por una relación común se le conoce como *dase*.

En la rama de la inteligencia artificial denominada *Reconocimiento de Patrones* (Pattern Recognition, PR) se trabaja siempre con *patrones* o *casos* los cuales, químicamente no son más que muestras descritas por un conjunto de *variables* o *descriptores*, es decir, parámetros físicos o químicos que caracterizan dichas muestras. El primer nivel de PR consiste en el establecimiento de fronteras entre clases de patrones y de reglas de clasificación para ubicar un patrón desconocido dentro de alguna de las clases previamente conocida. Es una técnica de *modelado duro* o “hard modelling”, ya que el patrón va a ser asignado a una determinada clase. En un segundo nivel del PR, las fronteras se establecen no entre las categorías existentes, sino entre cada clase y el resto del universo de los datos. Es decir, que un patrón no tiene necesariamente que pertenecer a alguna de las categorías, puede pertenecer a una, no pertenecer a ninguna o a más de una a la vez. Las técnicas que se aplican en este segundo nivel son de *modelado suave* o “soft modelling” y consideran la posibilidad de datos *aberrantes* u “outliers” que no pueden clasificarse en ninguna de las clases conocidas de antemano. Existen más niveles dentro del PR, pero no serán consideradas en la presente memoria.

II.1. Ideas fundamentales en Reconocimiento de Patrones

Cualquier patrón u objeto i que se estudia, es decir, cada muestra, va a venir descrito por un conjunto de c variables y se va a representar mediante un vector fila cuyas componentes serán $\{ x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ic} \}$, estos vectores son los que forman las filas de la matriz de datos X en el espacio de las variables y reciben el nombre de *vectores patrón* o “pattern vector”.

Por el contrario, si cambiamos de perspectiva y trabajamos en el espacio de los patrones

tendremos r *vectores columna* cuyas componentes son los valores de una misma variable en cada una de las muestras $\{x_{1j}, x_{2j}, \dots, x_{rj}\}$ y constituyen las columnas de la matriz de datos. Esto conduce a dos principales categorías de técnicas analíticas llamadas modo R y modo Q. Las técnicas en modo R tratan las relaciones entre las variables del experimento y examinan las dependencias entre las columnas de la matriz de datos, mientras que las técnicas en modo Q tratan las relaciones o agrupamientos entre los casos examinando las dependencias entre las filas de la matriz X .

Si se trabaja en modo R, el punto de partida es calcular la matriz de covarianzas C , que es una matriz simétrica obtenida según $C = X^T X$. Normalmente, para evitar el predominio de descriptores que presenten valores elevados sobre otros de valores más pequeños, se suele homogeneizar las escalas de las variables realizando el denominado autoescalado de las variables, según la expresión:

$$x'_{ij} = \frac{x_{ij} - \bar{x}}{s_j}$$

donde:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^r x_{ij}}{r} \quad s_j = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^r (x_{ij} - \bar{x})^2}{r-1}}$$

Así, la matriz de covarianza para los datos autoescalados se transforma en la matriz de correlación R , donde los elementos de la diagonal r_{ii} son siempre la unidad y el resto de elementos son los coeficientes de correlación $r_{ij} = r_{ji} < 1$.

Si se trabaja en modo Q, se comienza con una matriz de distancias en el espacio de los modelos.

Vamos a considerar dos vectores patrón x_a y x_b que pertenecen al espacio c -dimensional. Así: $x_a = \{x_{a1}, x_{a2}, \dots, x_{ac}\}$ y $x_b = \{x_{b1}, x_{b2}, \dots, x_{bc}\}$.

Para establecer la similitud entre dos muestras, es necesario establecer previamente el concepto de distancia. Las distancias que más suelen emplearse en PR son las siguientes:

1) *Distancia de Minkowski:*

$$d_{ab} = \left(\sum_{i=1}^c |x_{ai} - x_{bi}|^k \right)^{\frac{1}{k}}$$

donde k es un entero.

2) *Distancia euclídea:*

$$d_{ab} = \sqrt{\sum_{i=1}^c (x_{ai} - x_{bi})^2}$$

esta distancia es una de las más utilizadas en quimiometría. Es equivalente a la de Minkowski para $k=2$

3) *Distancia City Block o Manhattan:*

$$d_{ab} = \sum_{i=1}^c |x_{ai} - x_{bi}|$$

es equivalente a la Minkowski para $k=1$

4) *Distancia Hamming:*

$$d_{ab} = \sum_{i=1}^c \text{XOR}(x_{ai}, x_{bi})$$

esta distancia corresponde a la City Block cuando las variables se codifican de forma binaria, escalando con valores 0 ó 1. XOR, también llamado OR exclusivo ó disyunción exclusiva es un operador lógico que devuelve el valor 1 cuando, de las dos variables binarias consideradas, una presenta el valor 0 y la otra el valor 1. El funcionamiento del operador es el siguiente:

x_1	x_2	XOR
1	1	0
0	1	1
1	0	1
0	0	0

5) *Distancia de Mahalanobis:*

$$d_{ab} = (x_a - x_b)^T C^{-1} (x_a - x_b)$$

donde C es la matriz de covarianzas, es decir, esta distancia corresponde a la distancia euclídea eliminando la posible correlación de las variables.

II.2. Preprocesado de los datos

El preprocesado de los datos sobre los que se va a trabajar consiste en manipulaciones algebraicas sobre la matriz de datos inicial, para una mejor realización de las técnicas de Reconocimiento de Patrones. Fundamentalmente, encontramos dos variantes: *escalado* y *ponderación*; en la primera, se equiparan los valores de las variables y se emplea para evitar los distintos rangos de magnitud de las medidas, la segunda diferencia entre los valores de descriptores que pertenecen a distintas clases y su uso permite ver las variables más importantes a la hora de distinguir entre categorías.

Dentro de las *técnicas de escalado* se distinguen (Meloun et al., 1992):

- *Centrado*: cuya representación de los nuevos valores viene dada por la expresión

$$x'_{ij} = x_{ij} - \bar{x}_j \quad \text{donde} \quad \bar{x}_j = \frac{1}{r} \sum_i x_{ij}$$

- *Normalización de columnas*: basta con dividir los valores de las variables por la desviación estándar

$$x'_{ij} = \frac{x_{ij}}{s_j}$$

- *Autoescalado*: las variables originales sufren una transformación tipo Student. Así

$$x'_{ij} = \frac{x_{ij} - \bar{x}}{s_j}$$

- *Escalado del rango*: transformación del intervalo de valores entre un máximo de 1 y un mínimo de 0.

$$x'_{ij} = \frac{x_{ij} - \min_j(x_{ij})}{\max_j(x_{ij}) - \min_j(x_{ij})}$$

- *Perfiles de fila*: consigue una frecuencia de aparición de cada variable.

$$x'_{ij} = \frac{x_{ij}}{\sum_j x_{ij}}$$

Antes de pasar a la enumeración de los distintos *criterios de ponderación y selección de variables*, consideraremos algunas expresiones que se van a utilizar. Así,

$$m = \frac{1}{r} \sum_i x_i$$

es el valor promedio de todos los patrones considerados. Expresión análoga se tiene para el patrón promedio de una determinada clase L.

$$\mathbf{m}^{(l)} = \frac{1}{r_l} \sum_i x_i^{(l)}$$

La matriz de varianza total es

$$S_T = \sum_{i=1}^r (x_i - \mathbf{m})(x_i - \mathbf{m})^T$$

para una variable, mientras que la covarianza entre las variables j y k es

$$(S_T)_{jk} = \sum_{i=1}^r (x_{ij} - m_j)(x_{ik} - m_k)$$

La matriz intraclase, que mide la dispersión dentro de cada clase se define como

$$S_w = \sum_{l=1}^L \sum_{i=1}^{r_l} (x_i^{(l)} - \mathbf{m}^{(l)})(x_i^{(l)} - \mathbf{m}^{(l)})^T$$

cuando es entre dos variables j y k se tiene:

$$(S_w)_{jk} = \sum_{l=1}^L \sum_{i=1}^{r_l} (x_{ij} - m_j)(x_{ik} - m_k)$$

De forma análoga, la matriz de varianza entre clases para una variable y para dos variables j y k es:

$$S_B = \sum_{l=1}^L r_l (\mathbf{m}^{(l)} - \mathbf{m})(\mathbf{m}^{(l)} - \mathbf{m})^T$$

$$(S_B)_{jk} = \sum_{l=1}^L r_l (m_j^{(l)} - m_j)(m_k^{(l)} - m_k)$$

A continuación, citaremos algunos de los criterios más habituales de ponderación considerando las clases 1 y 2:

- *Ponderación de la varianza* (Kowalski y Bender, 1972):

$$WV_j = \frac{r_1 (m_j^{(1)} - m_j)^2 + r_2 (m_j^{(2)} - m_j)^2}{S_j^{(1)^2} + S_j^{(2)^2}}$$

mientras mayor sea WV más discriminante será la variable j .

- *Pesos de Fisher* (Fisher, 1936):

$$FW_j = \frac{(m_j^{(1)} - m_j^{(2)})^2}{S_j^{(1)^2} + S_j^{(2)^2}}$$

es un criterio más utilizado que el anterior.

- *Ponderación de Coomans* (Coomans et al., 1978):

Cuando se consideran más de dos clases es ventajoso el empleo del criterio siguiente:

$$g_j = \frac{|m_j^{(1)} - m_j^{(2)}|}{S_j^{(1)} + S_j^{(2)}}$$

- Método Λ de Wilks (Wilks, 1960 y McCabe, 1975):

$$\Lambda = \frac{\det(S_w)}{\det(S_T)}$$

los valores del parámetro van desde 1.0 (ningún poder discriminatorio) a 0.0 (poder discriminatorio perfecto).

II.3. Métodos de visualización de datos. Análisis en Componentes Principales

El Análisis en Componentes Principales (PCA), también llamado Autoanálisis o transformación de Karhunen Loewe, comenzó en la primera década del presente siglo; fue en 1931 cuando se desarrolló para perfiles de comportamiento. Hasta 1950, no se aplicó a problemas de tipo químico. Es un procedimiento que puede aplicarse a cualquier conjunto de datos como técnica exploratoria con excelentes resultados (Chatfield y Collins, 1980 y Auf der Heyde, 1990). PCA transforma las c variables originales, posiblemente correlacionadas entre sí, en otros nuevos c ejes llamados *componentes principales* o *PC's* mediante un giro en el espacio de r dimensiones. Los nuevos ejes son ortogonales entre sí y son combinaciones lineales de las variables originales. En este tipo de análisis, no se tiene en cuenta ningún modelo de distribución para las variables.

Estos PC's se van a generar sucesivamente, de forma que el primero explica la mayor parte de la varianza entre los datos y los siguientes explican cantidades decrecientes de la varianza residual. Por tanto, al convertir las variables originales en componentes principales las correlaciones entre los ejes quedan eliminadas y la mayor parte de la varianza, es decir, de la información contenida en los datos originales queda explicada por los primeros PC's.

En el sentido matemático, se parte de la matriz de datos $X_{r,c}$; el primer paso es realizar un preprocesado (centrado, autoescalado de los datos originales, etc). La matriz de covarianzas viene dada por $C = X^T X$. El análisis en componentes principales busca una matriz de similitud (transformación ortogonal) $U_{c,c}$ que actúe sobre la matriz de datos $X_{r,c}$ para originar otra matriz $Y_{r,c}$, llamada matriz de "scores", en la que los datos están referidos a los nuevos ejes o componentes principales:

$$Y_{r,c} = X_{r,c} U_{c,c}$$

La matriz $Y_{r,c}$ debe cumplir:

$$Y_{r,c}^T Y_{r,c} = \Lambda_{c,c}$$

donde $\Lambda_{c,c}$ es la nueva matriz de covarianzas, que es una matriz diagonal y no debe confundirse con el parámetro Λ de *Wilks*.

Por tanto:

$$Y^T Y = (XU)^T (XU) = U^T C U = \Lambda$$

luego la expresión final que obtenemos es:

$$\Lambda = U^T C U$$

esta ecuación es la llamada *Transformación de Karhunen-Loève*.

Se pretende encontrar los vectores columna de la matriz de transformación U , como ésta es ortogonal se cumple que $U^T = U^{-1}$. De forma que multiplicando por U por la izquierda la expresión de Karhunen, se tiene: $U \Lambda = C U$. Si reescribimos la misma expresión pero en lugar de en forma matricial lo hacemos vector a vector, podemos poner: $u_j \lambda_j I = C u_j$ es una clásica ecuación de autovalores o autovectores; es decir $u_j (C - \lambda_j I) = 0$ luego debe cumplirse que el $\det(C - \lambda I) = 0$ donde I es la matriz unidad. Lo cual conduce a un polinomio de grado c :

$$\lambda^c + a_1 \lambda^{c-1} + a_2 \lambda^{c-2} + \dots + a_c = 0$$

debido a que la matriz C es simétrica las c soluciones del polinomio son reales y positivas. Los valores de λ_j son los elementos de la diagonal principal de la matriz Λ y son las varianzas de los datos referidas a los nuevos ejes. Se ordenan en sentido decreciente de los valores de λ_j , de forma que:

$$\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \dots \geq \lambda_c$$

la suma de todos los λ_j debe ser igual a la suma de las varianzas de las variables originales. A partir de estos autovalores calculamos los vectores columna u_j y con ellos queda ya calculada la matriz de transformación U .

Las coordenadas de los datos en los nuevos ejes, Y , reciben el nombre de "scores". Como U es una transformación ortogonal es posible expresar linealmente las variables en función de los PC's y viceversa. Así:

$$x_{ij} = a_{j1} PC_{i1} + a_{j2} PC_{i2} + \dots + a_{jc} PC_{ic}$$

Los coeficientes a_{jk} se denominan "loadings" e indican la contribución del componente principal PC_k a la variable original. Por tanto, los PC's calculados son combinaciones lineales de las variables originales y pueden no tener sentido físico.

Debido a que los primeros componentes principales contienen la mayor información sobre la variabilidad de los datos, siempre es posible descartar aquellos PC's que no contengan información significativa sobre los mismos, mediante ensayos adecuados. La contribución a la

varianza total de cada PC viene dada por la expresión:

$$\% \text{var} = \frac{\lambda_j}{\sum_{j=1}^c \lambda_j}$$

de forma que pueden escogerse los primeros PC's que expliquen la mayor parte de la varianza conduciendo a una disminución de la dimensionalidad.

Algunos criterios utilizados para seleccionar el número adecuado de componentes principales se enumeran a continuación:

- *Criterio de Kaiser* (Kaiser, 1966):

Este es uno de los más sencillos y más empleados. Admite que los datos están autoescalados y considera componentes principales explicativos aquellos cuyos autovalores correspondientes son mayores que la unidad. Es decir $\lambda > 1$.

- *Criterio de la proporción de la varianza explicada* (Piggott, 1986):

Se deja en cierto modo al criterio de cada uno, normalmente se escogen los PC's que expliquen hasta por lo menos un 70% de la varianza.

- *Criterio de las comunalidades* (Piggott, 1986):

Según este método, nos quedamos con aquellos componentes principales cuyas *comunalidades* sean ≈ 0.8 nunca se escogen PC's de comunalidad menor de 0.6. Si se combina este criterio con el de Kaiser se obtienen muy buenos resultados.

- *Criterio de la función indicador (IND) de Malinowski* (Malinowski, 1977):

La expresión de dicha función es la siguiente:

$$\text{IND} = \frac{\text{RSD}}{(c-f)^2}$$

donde RSD es la desviación estándar relativa, cuya expresión es:

$$\text{RSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^c \lambda_i}{r(c-f)}}$$

en la que f representa los componentes principales seleccionados. El numerador de la expresión representa la varianza del error y el denominador es una medida de los grados de libertad. Esta desviación estándar relativa es una medida de cómo se reproduce la matriz original cuando en lugar de los c componentes principales se usan sólo f PC's.

El método consiste en ir variando f hasta que la representación gráfica de la función IND frente a f presente un mínimo, entonces ese valor de f es el número óptimo de PC's a

seleccionar.

- *Criterio de la función F* (Malinowski, 1988):

También es debido a Malinowski, la función F viene representada por

$$F = \frac{RSD_f^2}{RSD_{f+1}^2}$$

según este criterio se van cogiendo componentes principales hasta que la varianza explicada por f PC's no sea significativamente mayor a la explicada por $f+1$ PC's.

- *Método de la validación cruzada* (Wold, 1978):

Fue desarrollado por el químico sueco Wold a mediados de los años 70 y está basado en el algoritmo NIPALS (Nonlinear Iterative Partial Least Squares), que es un método iterativo para calcular PC's y es ideal para su aplicación en una computadora. La validación cruzada consiste en eliminar un determinado porcentaje de los datos en la matriz X y calcular los PC's. El criterio de bondad del ajuste consiste en calcular el valor PRESS (Predicted Residual Error Sum of Squares) que viene dado por

$$PRESS_f = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c (x_{ij} - x_{ij}^*)^2$$

donde x_{ij} son los datos eliminados de la matriz y x_{ij}^* los predichos empleando f PC's. Si por ejemplo eliminamos la cuarta parte de los datos los cálculos serían los siguientes:

- 1.- Eliminar el 25% de los datos de X
- 2.- Calcular el primer PC empleando NIPALS en ausencia del 25% de los datos
- 3.- Predecir los valores eliminados (x_{ij}^*)
- 4.- Restituir los datos eliminados y quitar ahora el 25% de otros diferentes y volver al paso 1 hasta un total de 4 veces (cualquier dato ha sido eliminado de la matriz alguna vez). Entonces calcular $PRESS_1$.

Repetir la secuencia calculando en el paso 2, dos, tres, etc componentes principales y calcular $PRESS_f$. Un PC_f se considerará significativo cuando $PRESS_f/PRESS_{f-1}$ sea menor que la unidad.

Una vez que han sido seleccionados los f componentes principales significativos, mediante alguno de los criterios indicados, podemos escribir las variables originales como:

$$x_j = a_{j1} PC_1 + a_{j2} PC_2 + \dots + a_{jf} PC_f + e_j$$

el término e_j describe el error de ajuste para la variable x_j .

Como los f PC's son independientes, si aplicamos la ley de propagación de la varianza al modelo anterior, debido a esta independencia y a que $\text{var}(PC_k)=1$, se cumple que:

$$\text{var}(x_j) = a_{j1}^2 + a_{j2}^2 + \dots + a_{jf}^2 + \text{var}(e_j)$$

Como las variables originales suelen estar autoescaladas, $\text{var}(x_j)=1$. La fracción de varianza de la variable explicada por los f componentes principales se denomina *comunalidad* (h) y su expresión es:

$$h = \sum_{k=1}^f a_{jk}^2$$

mientras más se aproxime a 1 la comunalidad, mejor vendrá descrito el sistema por los PC's escogidos.

Una vez realizado el análisis en componentes principales, una forma muy efectiva de visualizar las relaciones entre casos y descriptores es el uso de los "biplots" (Gabriel 1971), en los que se representan tanto los "scores" de los objetos como las contribuciones de las variables o "loadings" con respecto a los dos primeros PC's, que son los que explican mayor porcentaje de varianza.

Las variables son vectores en el "biplot" y los objetos son puntos. Asimismo, la distancia euclídea entre dos puntos del "biplot" sería la distancia existente entre dos casos; por tanto, esta representación permite visualizar posibles agrupamientos de los casos así como la mayor o menor separación de las variables en el plano de los dos primeros componentes principales.

Así pues, la representación "biplot" es una buena herramienta para establecer las tendencias de los objetos. En lo que respecta a los descriptores, observando esta representación es posible establecer cuales son las variables que mejor discriminan entre las clases, ya que las que presenten mayores valores de "loadings" (tanto positivos como negativos) para el primer PC serán los más discriminantes; de igual forma, variables con valores de "loadings" próximos van a proporcionar el mismo tipo de información acerca de los objetos y descriptores cuyos "loadings" estén próximos al valor cero no aportarán mucha información.

A veces, encontramos que existen unas pocas variables que presentan altos valores de sus "loadings" para el primer componente principal. En tales casos, cuando esto es muy claro, puede ser que dichas variables fueran capaces directamente de reflejar las tendencias de los datos y que se puedan observar fácilmente sin más que representar las coordenadas de las muestras con respecto a estas variables. Así, es posible elucidar las tendencias en los datos simplemente usando las representaciones variable-variable, donde se usan como ejes coordenados las dos variables con "loadings" más altos del primer componente principal y se representan bidimensionalmente los datos. Pero, desgraciadamente no siempre la situación es tan sencilla, y normalmente se requiere el empleo de técnicas de reconocimiento mucho más sutiles.

II.4. Técnicas de Reconocimiento de Patrones con aprendizaje no supervisado. Análisis “Cluster”

Cuando queremos establecer relaciones de pertenencia de los casos o variables estudiadas a determinadas categorías, los métodos difieren según conozcamos *a priori* o no la existencia de tales clases. En el primer caso, se aplican técnicas de reconocimiento de patrones con aprendizaje supervisado (las cuales explicaremos más adelante en este capítulo), y en el segundo, se emplean técnicas de reconocimiento de patrones con aprendizaje no supervisado, como es el Análisis “Cluster” (CA).

Un conjunto de objetos o patrones puede ser normalmente agrupado en *grupos* o “clusters”. Llegar a describir y localizar estos “clusters” ayuda a una mejor descripción de la estructura de los objetos, lo cual, aparte de ser útil en sí mismo, simplifica y resuelve muchos problemas de clasificación de patrones o casos. Se denomina Análisis “Cluster” al conjunto de métodos y técnicas que describen y localizan estas agrupaciones de acuerdo con su similitud en el espacio patrón (Massart y Kauffman, 1983 y Romesburg, 1984).

Así, la utilidad fundamental del CA puede ser:

- a) Un mejor estudio de los casos analizando las causas intrínsecas de la agrupación de los mismos.
- b) La muestra puede corresponder únicamente a una clase y los posibles grupos a formar pueden ser subclases de la misma clase.
- c) Pueden desconocerse las categorías a las cuales pertenecen los objetos pero, en cambio, puede que de acuerdo con las variables seleccionadas, si se encuentran “clusters” naturales, éstos correspondan a clases naturales de tal forma que, en base a ellas, se puedan diseñar reglas de clasificación de futuros casos cuya categoría de pertenencia es desconocida.

Para llegar a agrupar los objetos en clases naturales, el análisis “cluster” utiliza el criterio de minimizar la desviación interna de los patrones de un mismo grupo, maximizando, por tanto, la distancia entre los diversos grupos.

Una vez considerado que el objetivo del análisis “cluster” consiste en encontrar agrupaciones naturales del conjunto de objetos, es preciso definir qué se entiende por agrupaciones naturales y, por tanto, con arreglo a qué criterio se puede afirmar que dos grupos son más o menos similares. Así, si se forma un “cluster” éste no tiene por qué representar una clase y viceversa, una clase o categoría no siempre va a aparecer como un “cluster” aislado.

Todo esto nos lleva a establecer una medida de la similitud entre dos muestras, la forma

más obvia de medir la similitud o divergencia entre dos casos es la distancia entre ambos. Por tanto, la manera más idónea de comenzar un CA es definir una apropiada distancia métrica.

Las cualidades que debe tener una adecuada distancia son:

- Dos patrones distintos deben tener distancia positiva.
- La distancia de un patrón consigo mismo ha de ser nula.
- Debe cumplir la propiedad conmutativa.
- La distancia debe ser invariante a rotaciones y transformaciones. Normalmente, el cumplimiento de esta condición se consigue autoescalando las variables.
- La distancia debe tener en cuenta la posible correlación de las variables.

Dicho esto, la distancia más idónea a escoger es la distancia de Mahalanobis, o bien la distancia euclídea si los datos han sido previamente autoescalados.

En los últimos años, ha crecido considerablemente el número de métodos diferentes para agrupar objetos y se han realizado estudios exhaustivos de recopilación de métodos “cluster” (Williams y Dale, 1969; Cormack, 1971 y Kennedy, 1974; Lance y Williams, 1976).

- *Métodos de reagrupamiento:*

Se considera que un método de análisis “cluster” es de *reagrupamiento* cuando habiendo determinado el número de “clusters” a formar, se van distribuyendo los objetos entre los diversos grupos de tal forma que se establecen iterativamente los *centrotipos* de los grupos minimizando la distancia de los patrones con respecto a su centrotipo (*centroide* ó un patrón que defina el centro del grupo), maximizando la distancia entre los distintos centrotipos determinados. Entre estas técnicas están el método de las *K-medias* y *Fuzzy clustering*.

Si se desconoce el número de “clusters” o clases esperable, primero se realiza un análisis “cluster” *jerárquico*.

- *Métodos jerárquicos:*

Son los métodos más utilizados a la hora de realizar un CA y su expresión visual más común es el *dendrograma*. Estos métodos tienen por objetivo agrupar “clusters” para formar uno nuevo hasta llegar a un solo grupo o bien separar “clusters” formando nuevos subconjuntos que salen del anterior.

Vamos a centrarnos en el análisis “cluster” jerárquico, puesto que es el más empleado. El procedimiento para realizar un análisis “cluster” jerárquico *aglomerativo* comienza por calcular la matriz de distancias D de dimensión $(r \times r)$ que es simétrica. Sus elementos diagonales son todos nulos y el resto son números positivos. Una vez que se ha calculado la matriz D cada ciclo del

agrupamiento iterativo tiene lugar en los siguientes pasos:

- 1.- Buscar los dos objetos más próximos, cuyo elemento d_{ij} de la matriz D sea menor.
- 2.- Agrupar los objetos i y j , en un "cluster" (ij) .
- 3.- Actualizar la matriz D , eliminando las distancias con respecto a i y j y calculando las distancias nuevas de los demás objetos con respecto al centroide del "cluster" (ij) .
- 4.- Con la nueva matriz $(r-1) \times (r-1)$ repetir el procedimiento entero hasta haber realizado $r-1$ agrupamientos.

Otra cuestión importante a la hora de llevar a cabo un CA jerárquico es la elección de la *Regla de amalgamación* para la formación de "clusters". La distancia entre dos "clusters" H y K puede escribirse mediante una ecuación formalmente idéntica aunque con diferentes parámetros, dependiendo éstos de la regla de amalgamación seleccionada, llamada ecuación de Lance-Williams (Lance y Williams, 1966):

$$d(H, K) = a_I d(H, I) + a_J d(H, J) + b d(I, J) + g(d(H, I) - d(H, J))$$

La ecuación de Lance-Williams permite el cálculo de la distancia entre dos "clusters" H y K , $d(H, K)$, donde K representa el "cluster" formado más recientemente (I, J) . De manera más conveniente la distancia $d(H, K)$ debería escribirse $d(H, (I, J))$. Los coeficientes a_I , a_J , b y g son diferentes dependiendo del método de agrupar los "clusters", como se indica en la Tabla 5.

Tabla 5.- Coeficientes de la ecuación de Lance-Williams según la regla de amalgamación.

Regla de amalgamación	Coeficientes de la ecuación de Lance-Williams			
	a_I	a_J	b	G
Distancia mínima	0.5	0.5	0	-0.5
Distancia máxima	0.5	0.5	0	0.5
Distancia promedio ponderada	n_I/n_K	n_J/n_K	0	0
Distancia promedio no ponderada	0.5	0.5	0	0
Centroide	n_I/n_K	n_J/n_K	$-n_I n_J / n_K^2$	0
Mediana	0.5	0.5	-0.25	0
Método de Ward	n_{HI}/n_{HK}	n_{HJ}/n_{HK}	$-n_{HI}/n_{HK}$	0

El valor n_L representa el número de objetos en el "cluster" L ($L=I, J, H, K$) y el valor n_{LM} la suma $n_L + n_M$.

Los resultados obtenidos por el método de Ward son óptimos porque conduce a formación de los "clusters" más homogéneos posibles, aunque presenta la tendencia de formar un número mínimo de éstos.

Métodos no jerárquicos

Vamos a introducir de manera breve un procedimiento de reagrupamiento muy utilizado en la bibliografía que ya han sido mencionado en los comienzos de este epígrafe, el *Método de las K medias* (Henrrion y Henrrion, 1995)

El método de las K medias, también llamado de la partición óptima sigue el siguiente algoritmo: Inicialmente, se selecciona el número de “clusters” a formar. Los datos se dividen al azar en el número apropiado de grupos y cada uno de ellos se representa por su centrotipo (centroide o miembro típico del grupo). Entonces se calcula la distancia media dentro de los grupos como el promedio de las distancias entre cada elemento del grupo y su centrotipo. Los objetos se transfieren y reagrupan de un grupo a otro de modo que se minimice esta distancia media entre grupos. El resultado conduce a una serie de “clusters” muy homogéneos.

II.5. Reconocimiento de patrones con aprendizaje supervisado

Los métodos de clasificación mediante aprendizaje supervisado suponen que disponemos de un *conjunto conocido* o “known set” de patrones cuya *categoría* (pertenencia a una clase determinada) está establecida. La finalidad del aprendizaje supervisado es encontrar alguna regla de clasificación basada en los valores de los descriptores de las muestras para predecir las clases a las cuales puedan pertenecer *objetos desconocidos* (sin clase asignada). Al desarrollo de la regla de clasificación se le conoce a menudo como *aprendizaje, entrenamiento* o “training”. Durante el desarrollo del clasificador, se utilizan dos subconjuntos del conjunto conocido: el *conjunto de entrenamiento, calibración* o “training set” y el *conjunto de evaluación, predicción, validación* o “prediction set”. La *regla de clasificación* se elabora a partir del conjunto de entrenamiento, y se comprueba con el conjunto de evaluación. Para obtener estos dos conjuntos, el conjunto original se divide de manera aleatoria en dos que contengan alrededor del P% y 100-P% de los objetos de cada clase considerada. Una vez desarrollada la regla, y para comprobar la eficacia del clasificador, se considera la *eficacia en el reconocimiento* (tanto por ciento de patrones correctamente clasificados en el conjunto de entrenamiento) y la *eficacia en la predicción* (tanto por ciento de patrones correctamente clasificados en el conjunto de predicción). La misma operación se repite creando de nuevo aleatoriamente dos nuevos conjuntos de entrenamiento y de evaluación a partir del original (con diferentes constituciones) hasta un número de diez veces. Los resultados finales de la eficacia en el reconocimiento y la predicción se expresan pues como los valores medios de las diez determinaciones.

Un procedimiento alternativo para establecer la eficacia de un clasificador es el método

de *dejar uno fuera* o "leave-one-out". Del conjunto original se separa un objeto, que constituirá el conjunto de predicción y con los restantes (que constituyen el conjunto de entrenamiento) se desarrolla la regla de clasificación y entonces se predice la clase del objeto separado. Esto se repite hasta que cada objeto del conjunto original haya sido separado y predicho una vez. Como medida de la eficacia del clasificador se toma el porcentaje de éxito en la predicción (número de objetos separados cuya clase ha sido bien predicha por la regla de clasificación).

No obstante, todos estos parámetros empleados para dar una idea de la facultad predictiva de un clasificador pueden ser engañosos al no considerar el número de falsos positivos y falsos negativos al considerar una clase determinada frente al resto del universo. Consideremos una clase determinada, la A, dentro de un conjunto de predicción de n elementos. La clase A tiene n_A miembros en el conjunto de predicción (que es el que se utiliza en realidad para medir la eficacia del clasificador). Supongamos que después de desarrollar la regla de clasificación con el conjunto de entrenamiento, al aplicarla al conjunto de evaluación, solamente un número de elementos n_A' menor o igual que n_A es correctamente clasificado como perteneciente a la clase A. Y que de los objetos restantes que no pertenecían a la clase A, $n - n_A$, un número de objetos n' menor o igual que esa diferencia han sido clasificados como pertenecientes a clases distintas de A.

La *sensibilidad* de una clase corresponde al porcentaje o la fracción (tanto por uno) de objetos de esa clase del conjunto de validación que han sido correctamente clasificadas. En nuestro caso, la sensibilidad de A sería

$$\text{SENS (clase A)} = \frac{n_A'}{n_A}$$

Por otra parte la *especificidad* de una clase corresponde al porcentaje o la fracción (tanto por uno) de objetos en el conjunto de validación que no pertenecen a dicha clase y que han sido considerados por la regla de clasificación como objetos ajenos a dicha clase (correctamente clasificados en otras clases distintas a la estudiada). En nuestro caso

$$\text{SPEC (clase A)} = \frac{n'}{n - n_A}$$

Estos conceptos pueden explicarse en función de los errores de primera y segunda clase asociados con la predicción en el conjunto de validación. El error de primer género (α) corresponde a la probabilidad de rechazar erróneamente un miembro de una clase al ser

clasificado como perteneciente a otra clase (*falso negativo*). El error de segundo género (β) corresponde a la probabilidad de clasificar erróneamente un elemento extraño como miembro de una clase (*falso positivo*). Existe una relación directa entre la sensibilidad, especificidad y los errores de primer y segundo género: $\alpha = 1\text{-SENS}$; $\beta = 1\text{-SPEC}$.

II.6. Métodos de reconocimiento de patrones con aprendizaje supervisado utilizados en esta memoria

En la presente memoria se han seleccionado una serie de procedimientos de reconocimiento de patrones con aprendizaje supervisado: tres de ellos se han basado en técnicas de análisis multivariante (los que estudiaremos en esta sección) y uno de ellos presenta una filosofía diferente, fundamentada en las redes neuronales artificiales, y será estudiado en la próxima sección. De los métodos usuales dentro del análisis multivariante hemos elegido el método de los K vecinos más próximos (KNN, K Nearest Neighbours), el Análisis Discriminante lineal suavizado (CMLDA, Class Modeling Linear Discriminant Analysis) y el Análisis discriminante mediante transformaciones procrústeas (PDA, Procrustes Discriminant Analysis). El método KNN al ser no paramétrico y robusto, es el método de elección cuando no se conoce la distribución que siguen los objetos de las clases consideradas. El CMLDA y el PDA son métodos que han sido reexaminados recientemente por nuestro grupo de trabajo como herramientas importantes de clasificación que cubren los aspectos de modelado suave y rígido respectivamente y que por su diferente naturaleza se utilizarán para comparar los resultados obtenidos al desarrollar las reglas para la clasificación y discriminación de las muestras de whiskies, que es el objeto de la memoria.

II.6.1 Método de los K vecinos más próximos (KNN)

Un método sencillo para clasificación no paramétrica es el método de los K vecinos más próximos (Fix y Hodges, 1951). Para clasificar un objeto desconocido, se calculan primero las distancias (euclídeas) entre él y todos los objetos del conjunto de entrenamiento. Se buscan entonces los K objetos más próximos y la clase del objeto desconocido se establece mediante el voto de clase de los K vecinos. Si hacemos $K=1$, al objeto desconocido se le asignará la clase del objeto más cercano. Típicamente, el número de vecinos se establece entre 1 y 3. El método KNN proporciona fronteras de separación muy flexibles y es el método de elección cuando estrictamente hemos de utilizar un método robusto o no paramétrico. En el caso de empates, se asigna la clase con mayor número de objetos. Para estimar la eficacia de la clasificación por el

método KNN, se acostumbra a emplear el procedimiento de *dejar uno fuera*.

II.6.2. Análisis Discriminante Lineal suavizado (CMLDA)

Se trata de una adaptación del conocido Análisis Discriminante Lineal al segundo nivel del reconocimiento de patrones (González-Arjona y González, 1998). Consideremos un conjunto de entrenamiento compuesto por g clases que contienen n_1, n_2, \dots, n_g objetos respectivamente. Siendo el número total de objetos en el conjunto de entrenamiento $n = n_1 + n_2 + \dots + n_g$. Cada objeto i del conjunto de entrenamiento es un vector fila x_i cuyos componentes $\{x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ip}\}$ son los valores de los p descriptores más discriminantes del objeto i . Si el objeto i pertenece a la clase C , se le denotará como $x_i^{(C)}$. Sea $m^{(C)}$ el vector correspondiente a los centroides de las C clases consideradas

$$m^{(C)} = \frac{1}{n_C} \sum_{i=1}^{n_C} x_i^{(C)}$$

y m la media total calculada como:

$$m = \frac{n_C}{n} \sum_{C=1}^g m^{(C)}$$

Las matrices de dispersión intraclase (W) e interclase (B) pueden escribirse como:

$$W = \sum_{C=1}^g \sum_{i=1}^{n_C} (x_i^{(C)} - m^{(C)})^T (x_i^{(C)} - m^{(C)})$$

$$B = \sum_{C=1}^g n_C (m^{(C)} - m)^T (m^{(C)} - m)$$

La matriz de dispersión total es $T = W + B$. Todas estas matrices son de dimensión (p,p) . Consideremos de nuevo la matriz B . Si hacemos $v^{(C)} = (n_C)^{1/2} (m^{(C)} - m)$, entonces, la matriz B podrá expresarse como el producto $B = V^T V$, siendo V una matriz de dimensión (g,p) formada ensamblando los g vectores fila $v^{(C)}$. Como:

$$\sum_{C=1}^g n_C (m^{(C)} - m) = 0 = \sum_{C=1}^g (n_C)^{1/2} v^{(C)}$$

El conjunto de vectores $v^{(C)}$ es linealmente dependiente y por lo tanto, cada fila de V puede expresarse como una combinación lineal de las restantes. Así, el rango de V será el menor de los valores $\{p, g-1\}$. Si llamamos a dicho rango t , $t = \min \{p, g-1\}$. La base del Análisis

Discriminante Lineal es realizar combinaciones de los p descriptores que presenten la mayor eficacia discriminante. Esto puede vislumbrarse como la acción de una matriz de transformación U sobre la matriz de datos del conjunto de entrenamiento X para dar una matriz de scores $Z= XU$. La matriz X tiene dimensiones (n,p) y se construye adjuntando los distintos vectores fila correspondientes a los objetos. Si consideramos los q -ésimos vectores columna de las matrices Z y U , obtenemos la relación:

$$Z_q = X U_q$$

El "score" del objeto i , z_{iq} , puede escribirse como

$$z_{iq} = \sum_{j=1}^p x_{ij} u_{qj} = \mathbf{x}_i \mathbf{u}_q$$

La variable z_q recibe el nombre de *variable canónica* o *función discriminante*. Los vectores de combinación \mathbf{u}_q han de maximizar la razón F de la suma de cuadrados entre clase (BSS) y dentro de cada clase (WSS) para la nueva variable z :

$$F = \frac{(\text{BSS})}{(\text{WSS})} = \frac{\mathbf{u}_q^T \mathbf{B} \mathbf{u}_q}{\mathbf{u}_q^T \mathbf{W} \mathbf{u}_q}$$

Si normalizamos (WSS) a la unidad; $\mathbf{u}_q^T \mathbf{W} \mathbf{u}_q = 1$, entonces el máximo se encuentra utilizando el método de los multiplicadores λ de Lagrange

$$\frac{\partial}{\partial \mathbf{u}_q} [\mathbf{u}_q^T \mathbf{B} \mathbf{u}_q - \lambda_q (\mathbf{u}_q^T \mathbf{W} \mathbf{u}_q - 1)] = 0$$

que conduce a la conocida ecuación de autovalores:

$$\mathbf{W}^{-1} \mathbf{B} \mathbf{u}_q = \lambda_q \mathbf{u}_q$$

Teniendo en cuenta que $\text{rango}(\mathbf{W}^{-1} \mathbf{B}) = \text{rango}(\mathbf{B}) = t$, entonces tendremos sólo t autovalores y t funciones discriminantes z . La matriz Z de dimensión (n,t) contiene los "scores" de los objetos del conjunto de entrenamiento. Podemos construir recintos de clase como hiperesferas t -dimensionales con centro $\mathbf{m}_q^{(c)}$ y cuyo radio viene dado por (Ahrens, 1981;

Henrion y Henrion, 1995)

$$R_C = \sqrt{\frac{t(n-g)(n_C+1)}{(n-g-t+1)n_C} F_{\text{crit}}(t, n-g-t+1; \alpha)}$$

donde F_{crit} es el cuantil de la distribución de Snedecor-Fisher para los grados de libertad indicados a un nivel de significación α . Un objeto desconocido k con coordenadas en el espacio de las funciones discriminantes ($z_{k1}, z_{k2}, \dots, z_{kt}$) puede considerarse si pertenece a una clase C según su distancia euclídea $d_k^{(C)}$ al centroide de dicha clase

$$d_k^{(C)} = \sqrt{\sum_{s=1}^t (z_{ks} - m_s^{(C)})^2}$$

Si $d_k^{(C)}$ es menor o igual que R_C , entonces, el objeto pertenecerá a la clase C con un nivel de confianza de $1-\alpha$. Por lo tanto, este procedimiento permite un modelado suave de clases: es posible que haya objetos cuya distancia sea superior al radio de todas las clases y por lo tanto sea un objeto sin clasificar; pero puede suceder que la distancia sea inferior al radio de más de una clase, con lo que se considerarían también objetos multiclásicos. Este procedimiento presenta las ventajas del segundo nivel del reconocimiento de patrones y es equivalente en sus resultados a los obtenidos mediante SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogies; Wold, 1976). Este método en principio es aplicable a sistemas con más objetos que variables $n > p$, pero se puede aplicar sin embargo en los casos en que $p >> n$, después de una adecuada selección de variables. Esta selección se lleva a cabo a menudo dentro de los protocolos de análisis discriminante lineal clásico mediante las técnicas "forward stepwise" o "backward stepwise". Los criterios más utilizados para la selección de variables son la minimización del estadístico lambda de Wilks, la maximización de la distancia de Mahalanobis entre clases o la maximización del estadístico V de Rao (González-Arjona y González, 1998).

II.6.3. Análisis Discriminante mediante Transformaciones Procrústeas (PDA)

El análisis discriminante mediante transformaciones procrústeas (PDA) (González-Arjona et al., 1999) es análogo al análisis discriminante por PLS (Sjöström et al., 1986) y se basa en el uso de transformaciones procrústeas correspondientes a las rotaciones en TFA (Target Factor Analysis). Consideremos la matriz de datos X (n, p) e introduzcamos una matriz de pertenencia a clase Y (n, k) cuyas filas son los objetos y cuyas columnas (k) son los indicadores de

clase para cada objeto. Así, el elemento y_{ij} indica la pertenencia o no a la clase j por parte del objeto i . Si pertenece a la clase, entonces $y_{ij} = 1$ y si no pertenece, $y_{ij} = 0$. La matriz X puede descomponerse según la transformación de Karhunen-Loewe calculando los autovectores de la matriz $(Y^T X)^T (Y^T X)$ (Burnham et al., 1996), conduciendo a la matriz de "scores" T (n, f) y a la de "loadings" P (p, f), siendo f el número verdadero de factores, determinado por uno de los procedimientos usuales, ya mencionados. Por lo tanto: $T = XP$. Consideremos a continuación una rotación oblicua O (transformación procrústea) que convierta la matriz de "scores" en la matriz de pertenencia a clase:

$$Y = TO$$

Esta matriz de transformación no ortogonal puede estimarse fácilmente como:

$$\hat{O} = (T^T T)^{-1} T^T Y$$

y los valores estimados de las columnas de la matriz Y se deducen de este valor:

$$\hat{Y} = T \hat{O} = T (T^T T)^{-1} T^T Y$$

La matriz $G = T (T^T T)^{-1} T^T$ recibe el nombre de matriz de proyección y presenta ciertas características interesantes, como la idempotencia ($GG = G$) y simetría ($G^T = G$). La transformación procrústea permite comprobar los vectores columna o "target vectors" de la matriz Y uno a uno individualmente;

$$\hat{y}_j = G y_j$$

Estos "target vectors" son vectores columna cuyas componentes son 0 o 1 dependiendo de la pertenencia de los objetos a la clase considerada. Los elementos estimados se redondean al entero más próximo a 1 o 0. Para estudiar la eficacia de la clasificación, el conjunto original se divide como se indicó al comienzo de la sección en un conjunto de entrenamiento o calibración (X_{cal}, Y_{cal}) y un conjunto de validación (X_{val}, Y_{val}). A partir del conjunto de calibración se calcula la matriz G , y a partir de ella, se predicen las clases de los objetos:

$$\hat{Y}_{val} = G Y_{val}$$

Este procedimiento, puede aplicarse en los casos en que hay más variables que objetos, $p \gg n$, sin la necesidad de una previa selección de las variables. No obstante el PDA es un

método de modelado rígido, es decir, los objetos se clasifican en alguna de las clase establecidas en el conjunto de entrenamiento, y no se pueden considerar objetos sin clase o multiclásicos. Teóricamente, PDA es ligeramente proclive a proporcionar falsos positivos porque trabaja con un universo cerrado (las variables Y tienen una suma constante) y consiguientemente se ignora la posibilidad de elementos extraños. La ventaja fundamental de esta técnica es que al trabajar en dicho universo cerrado, el método es muy robusto frente a la falta de homogeneidad en las clases (Dahlberg et al., 1996).

II.7. Reconocimiento de patrones mediante algoritmos basados en redes neuronales artificiales

A lo largo de la historia, el principal problema de los investigadores ha sido buscar la forma de obtener los datos para que produzcan información. En la actualidad debido al desarrollo sufrido por las técnicas instrumentales, la problemática dentro del campo de la quimiometría, no es ya la forma de obtener los datos, sino cómo rechazar toda la información superflua y seleccionar solamente aquellos datos verdaderamente relevantes de un experimento específico. En este marco se incluyen las denominadas *redes neuronales*, consistentes en algoritmos puramente matemáticos que trabajan, tal y como indica su nombre, mimificando el funcionamiento del cerebro humano.

Como veremos, el funcionamiento de estos métodos no radica tanto en el término *neuronal* sino en cómo están interconectadas esas neuronas artificiales, es decir, en la arquitectura de la *red*. Precisamente, una de las razones por las que los algoritmos neuronales gozan de una amplia adaptabilidad para el tratamiento de datos es la mencionada arquitectura de las redes, junto con el número de neuronas que las componen y la posibilidad de llevar a cabo tanto un aprendizaje supervisado como no supervisado, por lo cual tienen múltiples campos de aplicación.

Las redes neuronales artificiales han sido el objeto de múltiples trabajos centrados básicamente en reconocimiento de imágenes. Dentro del campo de la química, existen numerosas aplicaciones con más de 500 artículos publicados en el Chemical Abstract, referentes a control de procesos, estudio de la estructura secundaria de las proteínas, elucidación de estructuras mediante métodos espectroscópicos, clasificación de objetos en distintas categorías, reactividad de enlaces, optimización de métodos cromatográficos, etc.

En principio, podemos considerar la red neuronal como una caja negra que acepta una serie de datos de entrada y proporciona uno o más datos de salida, tal y como se representa a continuación en la Figura 6.

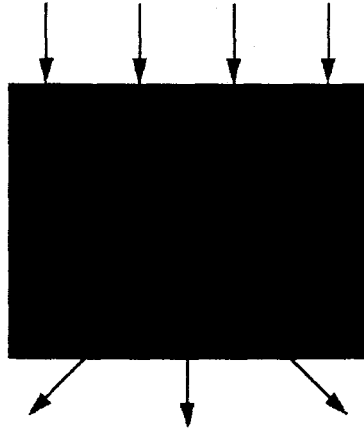


Figura 6.- Neurona en forma de caja negra.

En el interior de dicha caja, existen unidades básicas conectadas unas con otras llamadas *neuronas* tal y como se aprecia en la Figura 7.

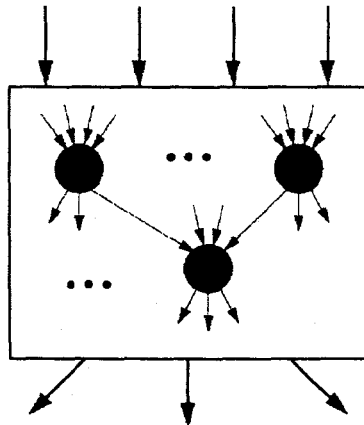


Figura 7.- Unidades básicas dentro de la caja.

Las entradas pasan a través de estas conexiones, que son las líneas de la red, transformándose y distribuyéndose en cada una de estas neuronas de forma que producen una o varias salidas. Los datos de entrada son m -dimensionales, siendo la salida n -dimensional. Normalmente, se utilizan redes en las que los datos de salida tienen una dimensión menor que los de entrada.

Las aplicaciones más comunes de las redes neuronales son:

- *Autoasociación*: el sistema es capaz de reconstruir un dato de salida correcto a partir

de un dato de entrada incompleto, es decir, identifica patrones corruptos.

- *Heterosociación*: el sistema realiza asociación uno a uno entre los miembros de dos conjuntos de patrones.

- *Clasificación*: asigna a los objetos una clase en base a una o varias propiedades que caracterizan a una determinada clase. El proceso de clasificación puede realizarse tanto de forma supervisada como no supervisada. El entrenamiento se realiza con un subconjunto de los datos. Posteriormente, la red es capaz de predecir la clase o el "cluster" al cual pertenecen objetos desconocidos.

- *Transformación*: la red lleva a cabo la transformación de datos del espacio multivariante a otro tipo de datos, también multivariantes de igual o menor dimensionalidad manteniendo la topología de los datos. Es decir, manteniendo la relación entre los datos.

- *Modelización*: consiste en buscar una función analítica o *modelo* que proporcione unos datos de salida n-dimensionales para una entrada m-dimensional. En la modelización clásica, es necesario conocer de antemano la función de modelización, en el caso de los algoritmos neuronales sólo se necesita un número suficiente de datos de entrada, lo suficientemente espaciados como para que la red se adapte a cualquier relación no lineal entre los datos de entrada y los de salida.

II.7.1. Neuronas y redes

Las redes neuronales artificiales son modelos matemáticos con una similitud muy superficial a las redes neuronales biológicas. Seguidamente, vamos a describir de forma breve y simplificada el funcionamiento de una neurona biológica en el proceso de transmisión de información.

El sistema nervioso humano consta de aproximadamente 10000 millones de neuronas. Una neurona biológica consta de unas ramificaciones llamadas *dendritas*, un cuerpo o *soma* y una ramificación más alargada denominada *axón*. Las dendritas reciben la información en forma de impulsos nerviosos y la transmiten al axón y de ahí a la siguiente neurona.

Las *sinapsis* son posiciones situadas en las dendritas y en el axón donde se realiza la transmisión de información. La señal generada por la neurona y transportada por el axón es una señal eléctrica, mientras que la señal que se transmite entre los terminales axónicos de una neurona y las dendritas de las neuronas siguientes es de origen químico. Esta última se realiza mediante sustancias químicas llamadas neurotransmisores, los cuales modulan la información y fluyen a

través de las sinapsis transmitiendo así el impulso nervioso hacia las dendritas de otras neuronas (Hiliera y Martínez, 1995). El paso de información de una neurona a otra se realiza de forma unidireccional en el sentido dendrita-axón. El tipo de señal producida por las neuronas es muy similar independientemente de la especie. Sin embargo, la intensidad de señal o la frecuencia de transmisión es variable aunque no influye en el tipo de información producida.

Una conclusión que se deduce de la similitud existente entre las señales es que la información memorizada en el cerebro no depende tanto del papel realizado por las neuronas en sí mismas, sino que está más relacionado con los valores sinápticos de las conexiones entre las neuronas y su estructura.

La sinapsis implica la acción de los neurotransmisores modificando la señal que se transmite. En neurobiología, a esta modulación se le denomina *fuerza sináptica*. En el caso de las neuronas artificiales, la fuerza sináptica se denomina *peso* (w). La fuerza sináptica determina la cantidad de señal que entra en el cuerpo de una neurona a través de las dendritas. Los cambios en la fuerza sináptica, incluso entre dos impulsos consecutivos, constituyen un mecanismo vital para el correcto funcionamiento del proceso de aprendizaje. Este proceso de aprendizaje en la red no es más que un cierto número de cambios en los valores de los pesos. Por tanto, si designamos la señal de entrada como s_i ($i=1, \dots, m$), que actúa sobre los pesos w_i , la señal de entrada global será una función de todas las s_i que llegan en cada momento y de todos los pesos w_i , es decir, la señal global o neta (Net) va a ser una suma de los productos $w_i s_i$. Esta idea se representa en el siguiente esquema:

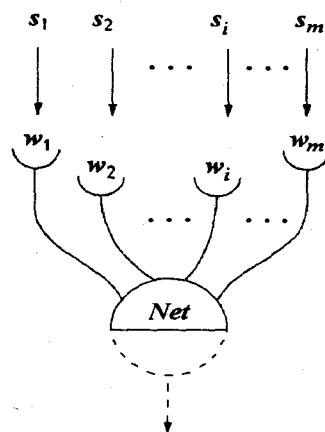


Figura 8.- Cálculo de la señal de entrada global a una neurona artificial.

La expresión analítica de la señal Net es:

$$\text{Net} = w_1 s_1 + w_2 s_2 + \dots + w_m s_m$$

Es conveniente combinar todas las señales s_i en un vector de entrada \mathbf{X} , cuyas componentes van a ser las s_i . Así:

$$\{s_1, s_2, \dots, s_m\} = \mathbf{X}(x_1, x_2, \dots, x_m)$$

análogamente, las fuerzas sinápticas se escriben en forma de un vector de pesos \mathbf{W} :

$$\mathbf{W} = (w_1, w_2, \dots, w_m)$$

de manera que la función Net será el producto escalar de los dos vectores \mathbf{W} y \mathbf{X} :

$$\text{Net} = \mathbf{W} \mathbf{X}$$

generalmente, se añade un "off-set" adicional llamado *bias*:

$$\text{Net} = \mathbf{W} \mathbf{X} + \theta$$

la adición de este término permite una mayor adaptabilidad para el aprendizaje.

Por tanto, la expresión final de la función Net será:

$$\text{Net} = \sum_{i=1}^m w_i x_i + \theta$$

Todo proceso de aprendizaje implica, como se indicó anteriormente, el cálculo del vector de pesos óptimo que proporcione decisiones correctas. Para evaluar este vector \mathbf{W} se utiliza la denominada *regla delta*.

Inicialmente, el vector de pesos se escoge al azar y se calcula Net para un objeto determinado \mathbf{X} , si no se ha obtenido un resultado correcto, deberá modificarse \mathbf{W} en cierta extensión:

$$\Delta \mathbf{W} = \mathbf{W}^{(\text{nuevo})} - \mathbf{W}^{(\text{viejo})}$$

esta modificación es proporcional a una determinada cantidad δ del vector de pesos \mathbf{W} :

$$\Delta \mathbf{W} \approx \delta \mathbf{X}$$

por tanto, δ se puede expresar como:

$$\delta = \eta \left(\frac{\Delta W}{X} \right)$$

donde η es una constante de proporcionalidad llamada factor de aprendizaje.

La ecuación estándar para la regla delta es:

$$\Delta W = \eta \delta X$$

Al principio del proceso de aprendizaje, es conveniente mantener $\eta=1$ y conforme va aumentando el tiempo de cálculo, mejorándose el aprendizaje, es aconsejable ir reduciendo el valor de η .

Una vez obtenido W y calculada Net , hay que transformar de forma no lineal esta función Net de forma análoga al comportamiento biológico. Esta modificación de Net para calcular la salida de la neurona se denomina *función de transferencia (Sal)*:

$$Sal = f(Net)$$

esta función de transferencia debe cumplir tres requisitos:

- no ser negativa.
- debe ser continua y estar confinada dentro de un determinado rango.
- debe ser derivable.

Dentro de las funciones matemáticas que cumplen dichas características, una de las más empleadas en numerosas aplicaciones de redes neuronales es la *función sigmoidea (sf)*:

La expresión analítica de esta función es:

$$sf(Net) = \frac{1}{1 + \exp(-Net)}$$

Una de las ventajas que presenta esta función de transferencia es que el cambio de pendiente es mucho más suave que para otras funciones, además la zona de cambio es la de máximo aprendizaje. Una ventaja adicional es que la derivada de la función contiene a la propia función.

Con lo explicado hasta ahora, ya tenemos definida la unidad básica o neurona artificial, cuya representación gráfica se puede observar en la Figura 9.

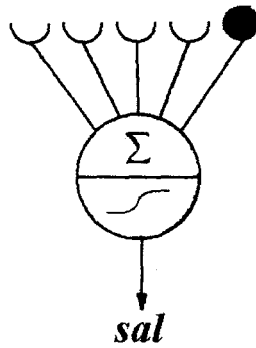


Figura 9.- Representación gráfica de una neurona artificial.

El modelo de red debe procesar la información de forma paralela. La señal de entrada debe adecuarse al conjunto de neuronas conectadas en la red, por lo tanto, la señal de entrada debe atacar a todas las neuronas a la vez, cada una de ellas con sus propios vectores de pesos, W , y señales de salida (Sal).

Al grupo de neuronas que reciben el mismo conjunto de señales de entrada X y producen otras tantas salidas simultáneamente se les denomina *capa*. Todas las neuronas de la misma capa deben tener la misma dimensión. Como cada neurona j produce su propia función Net_j y su correspondiente señal de salida Sal_j , cada señal individual de una misma capa se puede englobar en los respectivos vectores X , Net y Sal . El vector de salida Sal de una capa será el vector de entrada X de la siguiente capa de neuronas.

A partir de su situación dentro de la red, se pueden distinguir tres tipos de capas:

- *Capa de entrada*: esta capa recibe directamente la información proveniente de las fuentes externas de la red, los datos de entrada. Es una capa no activa.
- *Capas ocultas*: son internas a la red y no tienen contacto directo con el entorno exterior. El número de niveles ocultos puede estar entre cero y un número elevado. Las neuronas de las capas ocultas pueden estar interconectadas de distintas maneras, lo que determina, junto con su número, las distintas topologías de redes neuronales.
- *Capa de salida*: transfiere información de la red al exterior.

Sea cual fuere la arquitectura de una red neuronal, se debe cumplir que a todas las neuronas de una misma capa les ha de llegar igual número de entradas, incluyendo una entrada adicional o "bias". Además, el número de pesos en cada neurona viene fijado por el número de señales procedentes de la capa anterior. Este hecho, se observa en la Figura 10 que representa una red neuronal de arquitectura $2 \times 3 \times 2 \times 4$.

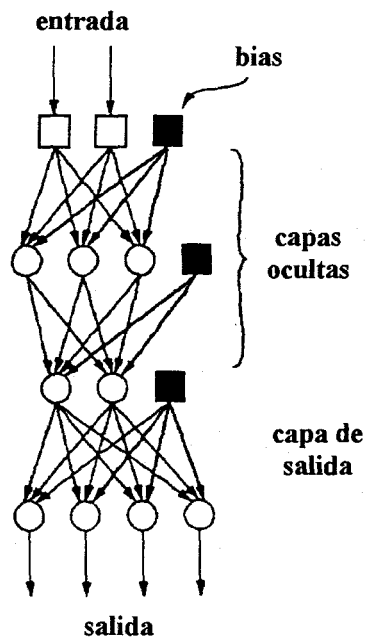


Figura 10.- Representación gráfica de las distintas capas de una red neuronal

Hasta el momento, hemos representado gráficamente la red neuronal como capas de círculos (neuronas) interconectados mediante flechas de una capa a la siguiente, indicativas de la dirección de flujo de las señales. Desde el punto de vista matemático, una representación matricial como de la presentada en la Figura 11 es mucho más precisa y explícita.

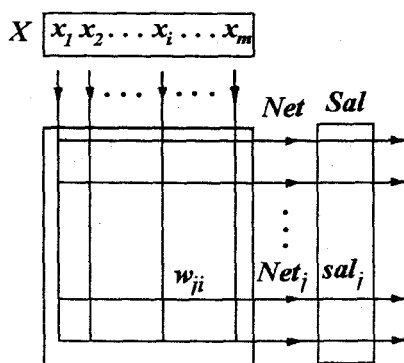


Figura 11.- Representación matricial de una red neuronal

Vamos a considerar una capa de n neuronas, cada una de ellas con un vector de pesos de m -dimensional, por lo que tendremos una matriz de pesos W . Para una red multicapa, cada

elemento de esta matriz de pesos W tendrá un superíndice indicativo de la capa a la cual pertenece y un subíndice j representativo de su neurona correspondiente (w_{ji}^l).

Para aplicar una señal de entrada m -dimensional a una red neuronal con una capa de n neuronas, cada una de ellas con m pesos, tenemos que multiplicar un vector X ($x_1, x_2, \dots, x_{m-1}, 1$) por una matriz de pesos W de dimensión ($n \times m$). El resultado será un vector Net ($Net_1, Net_2, \dots, Net_n$).

Empleando notación extendida, cada componente Net_j para una capa l se calcula como:

$$Net_j^l = \sum_{i=1}^m w_{ji}^l x_i^l$$

para $j=1, 2, \dots, n$.

En forma matricial:

$$Net = (Net_1, Net_2, \dots, Net_j, \dots, Net_n) =$$

$$= \begin{bmatrix} w_{11} & w_{12} & \dots & w_{1m} \\ w_{21} & w_{22} & \dots & w_{2m} \\ \cdot & \cdot & w_{ji} & \cdot \\ w_{n1} & w_{n2} & \dots & w_{nm} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \cdot \\ x_i \\ \cdot \\ \cdot \\ x_{m-1} \\ 1 \end{bmatrix}$$

Para una red multicapa, se cumple que la señal de entrada para la capa l es la salida en la capa $l-1$:

$$X^l = Sal^{l-1}$$

por tanto, puede escribirse:

$$Net_j^l = \sum_{i=1}^m w_{ji}^l Sal_i^{l-1}$$

para $j=1, 2, \dots, n$.

La señal de salida de la capa l se obtiene a partir de Net^l mediante la señal de transferencia, en el caso de utilizar la función sigmoidea:

$$Sal^l = sf(Net^l)$$

II.7.2. Aprendizaje supervisado

En los sistemas de aprendizaje supervisado, se dispone de algún tipo de información que permite decidir cuándo dejar de aprender, con qué intensidad aprender o cada cuánto tiempo hacerlo. Es posible también manejar cierto tipo de información de error que permite ponderar la rectificación que debemos introducir en la red.

Rumelhart et al. (1986) basándose en los trabajos de Werbos (1974) y Parker (1982) idearon un método para que una red neuronal *aprendiera* la asociación existente entre los patrones de entrada a la misma y las clases correspondientes empleando varias capas de neuronas. Este método es conocido como “backpropagation” o propagación del error hacia atrás (*retropropagación*) y está basado en la regla delta. A pesar de sus limitaciones, el rango de aplicaciones de este tipo de red neuronal se ha ampliado tanto que casi el 90% de las publicaciones en las que se emplean redes neuronales en el campo de la química se utiliza el aprendizaje por retropropagación (Zupan y Gasteiger, 1991).

II.7.3. Aprendizaje por Retropropagación

La principal ventaja de un aprendizaje por retropropagación es que la corrección de los pesos está muy bien definida, dicha corrección empieza a ser aplicada a los pesos de la última capa (capa de salida) continuando hacia atrás hasta llegar a la capa de entrada. Seguidamente, en la Figura 12, se muestra un esquema de dicha corrección.

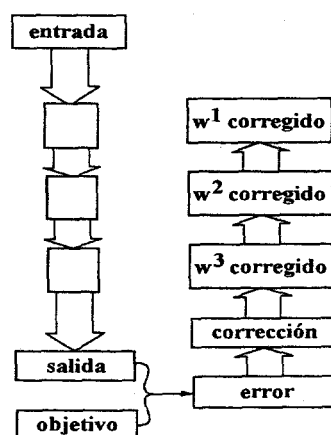


Figura 12.- Corrección de pesos en el aprendizaje por retropropagación.

La arquitectura de la red de retropropagación, es decir, el número de capas, número de

neuronas en cada capa y la forma en la que se conectan estas neuronas es muy flexible. Generalmente, las capas de neuronas están conectadas de forma total. El número de capas así como el número de neuronas en cada capa depende de la aplicación para la cual se esté desarrollando la red y, normalmente, se determina por ensayo-error. No obstante, en lo referente a esta cuestión existen diversas recomendaciones en la bibliografía, entre ellas que el número de pesos total no supere el número de objetos introducidos en la red, o bien que el número de pesos sea aproximadamente igual al número de objetos en el conjunto de entrenamiento; por otra parte, también suele ser aconsejable que, en la capa oculta, haya un número menor de neuronas que en la capa de entrada.

En la mayoría de los casos, una red de retropropagación consiste en una capa de entrada con tantas neuronas como componentes tenga la señal de entrada (\mathbf{X}) y dos capas activas, la capa oculta y la capa de salida.

El método de aprendizaje es supervisado debido a que necesita de un conjunto predefinido de parejas de entradas consistentes en objetos (\mathbf{X}) junto con unos objetivos o "targets" asociados (\mathbf{T}). Durante el proceso de entrenamiento, se ajustan los pesos de la red con el fin de que las entradas introducidas produzcan las salidas deseadas.

Antes de comenzar el entrenamiento, es conveniente inicializar los pesos a pequeños valores (por ejemplo entre -0.1 y 0.1) elegidos al azar con lo cual se asegura, por una parte, que la red no se sature con valores grandes de los pesos y por otra, que se comience en un punto aleatorio de la superficie de error.

Los pasos seguidos en el entrenamiento son:

- Elegir dos conjuntos de objetos de entrada y de objetivos e introducir el primer vector de entrada (\mathbf{X}) en la red.
- Calcular la salida de la red.
- Calcular el error entre la salida de la red y la salida deseada (objetivo).
- Modificar los pesos de la red con el fin de minimizar el error, empleando la regla delta.
- Repetir los pasos anteriores para cada vector del conjunto de entrenamiento hasta disminuir convenientemente el error.

Las neuronas de la capa de entrada actúan como "buffers" de entrada de los datos, los cuales son ponderados por cada una de las neuronas de la capa. La siguiente capa, capa oculta, recibe las salidas ya ponderadas de la capa de entrada, suma todas las entradas en cada neurona y pasa dicha suma a través de la función de transferencia. El resultado obtenido se pondera y pasa

hacia la capa de salida donde se repite el proceso de suma y transformación. El valor de la función de transferencia de la capa de salida constituye la respuesta de la red del objeto introducido.

El proceso de entrenamiento se realiza de forma iterativa introduciendo en la red todos los miembros del conjunto de parejas conocido objeto-objetivo (conjunto de entrenamiento). Cada paso del conjunto completo se denomina *época* o "epoch". El aprendizaje termina cuando no se mejora la diferencia entre la salida de la red y el objetivo correspondiente al objeto, o bien, cuando se llega a un número determinado de épocas.

Cuando la función de transferencia empleada es la sigmoidea, el error en la capa de salida viene dado por:

$$\delta_{kl} = (t_{kl} - \text{sal}_{kl}) \text{sal}_{kl} (1 - \text{sal}_{kl})$$

donde δ_{kl} es el error para el objeto k en la salida de la neurona l , t_{kl} es el valor de "target" u objetivo correspondiente al objeto k y sal_{kl} es la salida del objeto k en la neurona l .

El error en la neurona j de la capa oculta cuando se utiliza la función sigmoidea es:

$$\delta_{kj} = \text{sal}_{kj} (1 - \text{sal}_{kj}) \sum_{l=1}^L \delta_{kl} w_{lj}$$

Los errores de la capa oculta se propagan hacia atrás por la red corrigiendo los pesos según la regla delta, así:

$$\Delta w_{ji}(n) = \eta \delta_{kj} \text{sal}_{ki} + \mu \Delta w_{ji}(n-1)$$

donde Δw_{ji} es la corrección de pesos entre la neurona j de la capa oculta y la neurona i de la capa de entrada, η es la velocidad de aprendizaje y μ se denomina momento y es un parámetro utilizado para salir de los mínimos locales. El término n se refiere a la iteración actual y el término $n-1$ a la iteración anterior.

Durante el entrenamiento de la red, los objetos pueden introducirse al azar para, de esta forma, evitar posibles tendencias o desviaciones de la red, debido a que ésta puede memorizar el conjunto de aprendizaje extrayendo dependencias.

Otra cuestión importante es la normalización de los objetos de entrada para que no se produzca desbordamiento de la red neuronal.

Este tipo de aprendizaje con esta red es muy adecuado para clasificación de objetos. Para estos casos, el número de neuronas de la capa de salida se hace coincidir con el número de clases existentes y los objetivos asociados a los objetos de entrada serán las clases a las cuales pertenecen dichos objetos. En la mayoría de los casos, es aconsejable escalar los objetivos entre valores 0 y 1;

incluso debido al carácter no lineal que presenta la función de transferencia, se puede escalar la salida de la red a valores entre 0.1 y 0.9 ó 0.2 y 0.8. Esta codificación conlleva tres ventajas importantes:

- La comparación de la salida de la red y los objetivos se hace más fácil.
- Se realiza un mejor cálculo del error.
- Se facilita el posterior cálculo de la respuesta correcta de la red.

Una vez concluido el proceso de entrenamiento, es posible la predicción de la categoría de un nuevo objeto, a partir de la matriz de pesos final de la red y los descriptores del objeto a clasificar. El porcentaje de acierto en la clasificación de un conjunto de J objetos viene dado por:

$$\% \text{ acierto} = 100 \frac{\sum_{l=1}^J \sum_{k=1}^G f(\text{sal}_{kl} - \tau_{kl})}{GJ}$$

Donde J es el número de objetos a clasificar (conjunto de entrenamiento o conjunto de evaluación), G es el número de categorías consideradas y f es una función que devuelve 1 (acierto) si el argumento es menor o igual que el error preseleccionado en los "targets" y que devuelve 0 (fallo) en los demás casos.

REFERENCIAS

- Ahrens, H. y Läuter, J., *Mehrdimensionale Varianzanalyse*. Akademie-Verlag, Berlin, 1981
- Auf der Heyde, J. *Chem. Educ.*, 67, 461, 1990
- Burnham, A. J., Viveros, R. y McGregor, J. F., *J. Chemometrics.*, 10, 31-45, 1996
- Chatfield, C. Y Collins, A. J., *Introduction to Multivariate Analysis*, Chapman and Hall, Londres, 1980
- Coomans, D., Broeckeaert, I., Fonckheer, M., Massart, D. L. y Blocks, P., *Anal. Chim. Acta*, 103, 409, 1978
- Cormack, R. M., *J. of the Royal Statistical Society*, 321-367, 1971
- Dahlberg, D. B., Lee, S. M., Wenger, S. J., Vargo, J. A. y Guyot, D. C. S., *Classification of Vegetable Oils using FTIR Spectra*. VI International Conference of Chemometrics in Analytical Chemistry, Tarragona, España, 1996
- Fisher, R. A., *Ann. Eugenics*, 7, 179, 1936
- Fix, E. y Hodges, J. L. *Discriminatory Analysis: non parametric discrimination: consistency properties*, Vol. 4, USAF School of Aviation Medicine, Rondolph Field, Texas, 1951
- Gabriel, K. R., *Biometrika*, 58, 453, 1971
- Gardiner, W. P., *Statistical Analysis Methods for Chemists*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 331, 1997
- Gonzalez-Arjona, D. y Gonzalez, A. G., *Anal. Chim. Acta*, 363, 89-95, 1998
- Gonzalez-Arjona, D., Lopez Pérez, G. y González, A. G., *Talanta*, 49, 189-197, 1999
- Henrion, R. y Henrion, G., *Multivariate Datenanalyse*, Springer, Heidelberg, 56-57, 1995
- Hilera, J. R. y Martínez, V. J., *Redes Neuronales Artificiales. Fundamentos, modelos y aplicaciones*, Serie Paradigma, Ed. Ra-ma, Madrid, 1995.
- Kaiser, H. F., *Educ. Psych. Meas*, 20, 141, 1966
- Kennedy, J. N., *AIEE Transactions*, 6, 216-227, 1974
- Kowalski, B. R. y Bender, C. F., *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 5634, 1972
- Lance, G. N. y Williams, W. T., *Comp. J.*, 10, 271-277, 1976
- Lance, G. H. y Williams, W. T., *Comp. J.*, 9, 373, 1966

- Malinowski, E. R., *Anal. Chem.*, 49, 612, 1977
- Malinowski, E. R., *J. Chemom.*, 3, 49, 1988
- Massart, D. L. y Kauffman, L., *The interpretation of analytical chemical data by the use of Cluster Analysis*, J. Wiley, Londres, 1983
- McCabe, G. P., *Technometrics*, 17, 103, 1975
- Meloun, M., Militky, J. y Forina, M., *Chemometrics for analytical chemistry, Vol. I: PC-aided statistical data analysis*, Cap. 5, Ellis Horwood Limited, Chimester, 1992
- Parker, D., *Learning Logic, Invention Report*, 581-664, File 1, Office of Technology Licensing, Stanford University, 1982
- Piggott, J. R., *Statistical Procedures in Food Research*, Elsevier Applied Science, Londres, 1986
- Romesburg, H. C., *Cluster Analysis for Researchers*, Lifetime Learning Publications, Belmont, California, 1984
- Rumelhart, D., Hinton, G. y Williams, R., *Nature*, 323, 533-536, 1986
- Sjöstrom, M., Wold, S. y Söderström, B., *PLS discriminant plots*, in: E. S. Geselma, L. N. Kanal (Editors), *Pattern Recognition in Practice II*, Elsevier, Amsterdam, 1986
- Werbos, P., *Beyond Regression: New tools for prediction and analysis in the behavioral sciences*, Ph. Tesis, Harvard University, 1974
- Wilks, S., *Multidimensional Scatter in Olkin* (Ed), *Contributions to Probability and Statistics*, Standford Press, 597-614, 1960
- Williams, W. T. y Dale, M. B., *Advanced Bot. Res.*, 2, 35-68, 1969
- Wold, S., *Pattern Recognition*, 8, 127, 1976
- Wold, S., *Technometrics*, 20, 397, 1978
- Zupan, J. Y Gasteiger, J., *Anal. Chim. Acta*, 248, 1-30, 1991

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la excepción de los resultados del sondeo de las N-nitrosaminas, al que no se ha aplicado ningún tratamiento de datos (máxime cuando en todos los casos los resultados fueron negativos), la interpretación y el diagnóstico de los resultados obtenidos en cada perfil analítico se llevaron a cabo mediante técnicas quimiométricas de reconocimiento de patrones, tal como se indicó en el capítulo II. Así pues, para cada uno de los perfiles se construyó una matriz de datos, X , con tantas columnas como descriptores químicos (variables) se hubieran considerado y , con tantas filas como número de muestras se hubiese ensayado. Antes de construir la matriz, se realizó una preselección heurística de las variables, eliminando algunas que obviamente no contenían información relevante. Una vez establecida la matriz, un elemento cualquiera x_{ij} corresponderá al valor de la variable de la columna j que presenta la muestra de la fila i .

La validación de los métodos basados en aprendizaje supervisado se realizó seleccionando al azar diversos conjuntos de entrenamiento y evaluación, y promediando los porcentajes de éxito, excepto en el caso del KNN que se validó por el procedimiento de "leave-one-out".

A continuación pasamos a realizar la discusión de los resultados obtenidos en cada perfil analítico.

III.1. Sondeo de Nitrosaminas

Como método de "screening" para la detección de nitrosaminas se utilizó el protocolo indicado en el apartado I.5.1. Utilizando como patrón NMDA, el tiempo de retención obtenido fue de 6.60 minutos. En las muestras de whisky analizadas, aparece una señal prácticamente imperceptible a dicho tiempo de retención que fue confirmada como NDMA con una probabilidad mayor del 90% con el programa Lab-BaseTM. En todos los casos los niveles encontrados de NDMA fueron notablemente inferiores a 0.5 ppb, lo cual demuestra la efectividad del proceso de eliminación de nitrosaminas por irradiación UV.

III.2. Estudio del perfil obtenido por inyección del espacio de cabeza

III.2.1. Determinación analítica

El contenido en aceites de fusel de los whiskies fue determinado de acuerdo con los procedimientos indicados en el apartado I.5.3. Las concentraciones de los alcoholes superiores fueron determinadas por adición estándar, utilizando como patrón interno el 1-butanol. En la Figura 13 se muestran cromatogramas típicos del whisky escocés de malta puro (a), bourbon whiskey (b), whiskey irlandés Old Bushmills (c) y de Midleton (d) y whisky escocés de grano (e). Los picos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 corresponden respectivamente a 1-propanol, acetato de etilo, 2-metil-1-propanol, 1,1-dietoxi-etano, 3-metil-1-butanol y 2-metil-1-butanol. IS hace referencia al patrón interno. La presencia de todos estos compuestos ha sido corroborada por espectrometría de masas y los alcoholes superiores fueron confirmados por adición estándar.

La línea base de los cromatogramas no presentó derivaciones en ningún caso. El factor de simetría de los picos siempre fue menor de 1.35 y la resolución encontrada para cada par de picos fue mayor de 1.5, excepto para los picos correspondientes al 3-metil y 2-metil-1-butanol, que oscilaron entre 1.1-1.3, dependiendo de las concentraciones relativas en el whisky.

Existe una relación lineal entre la concentración de cada aceite de fusel y la relación de alturas (pico de analito / patrón interno). La expresión general de estas rectas de calibrado es:

$$Y = (a \pm s_a) + (b \pm s_b) X$$

donde Y es la relación de alturas, X es la concentración del alcohol superior en mg/l, a es la ordenada en el origen, b la pendiente y s_a y s_b sus correspondientes desviaciones estándar.

En el caso que nos ocupa, los valores de s_a fueron superiores en valor absoluto a los de la ordenada en el origen, lo que indica que las rectas pasan por el origen de coordenadas. Por lo tanto, la expresión final de las rectas de calibrado fue

$$Y = (b \pm s_b) X$$

En las siguientes tablas se muestran los parámetros de tales rectas de calibrado en la cuantificación de los aceites de fusel por espacio de cabeza estático GC/MS.

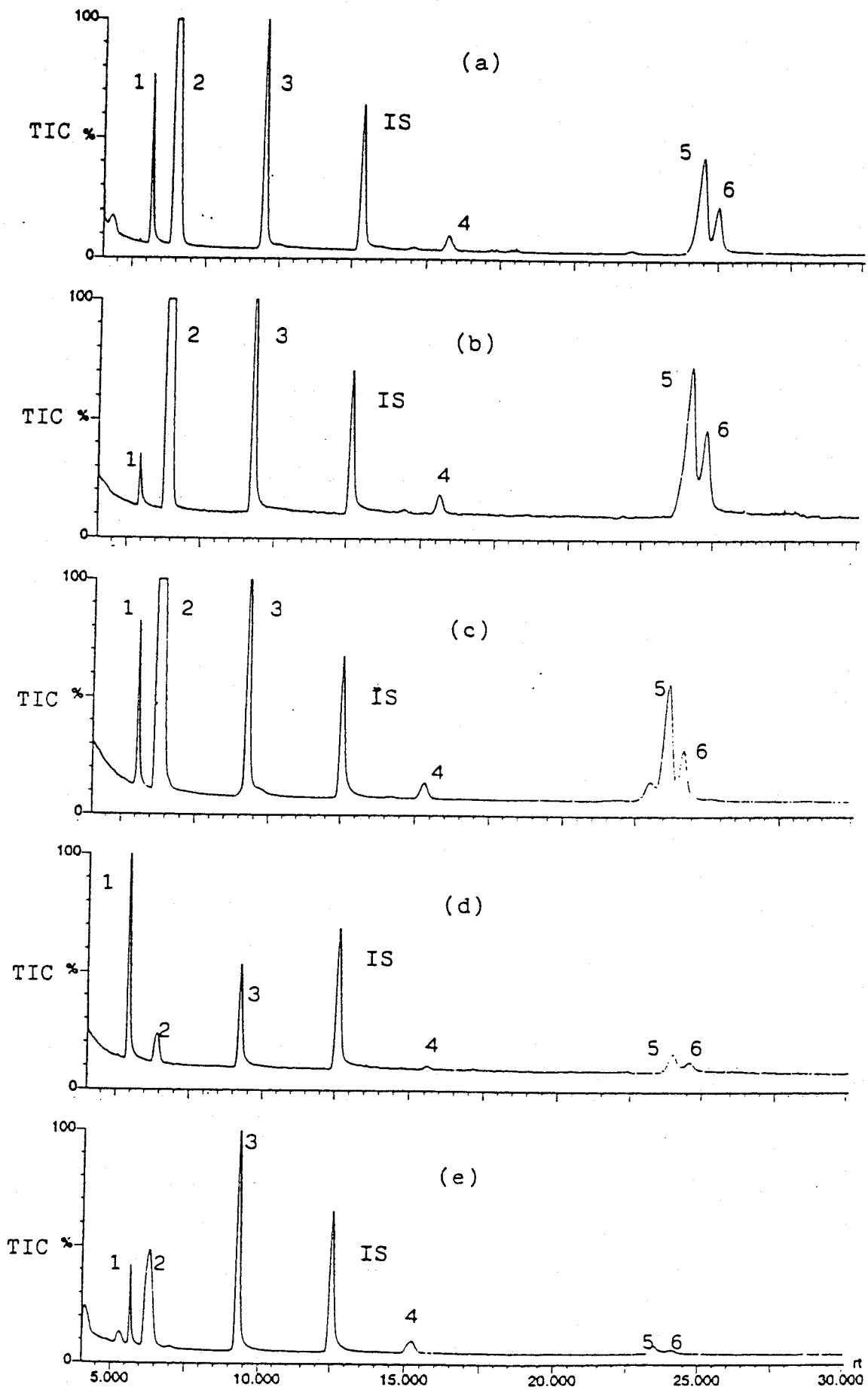


Figura 13.- Cromatogramas de espacio de cabeza de muestras de whisky representativas. Ver explicación en el texto (página 98).

Tabla 6.- Recta de calibrado para el 1-propanol.

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	80-320 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.0050 \pm 0.0001) X$
NÚMERO DE PUNTOS	4
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.990

Tabla 7.- Recta de calibrado para el 2-metil-1-propanol.

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	120-960 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.0041 \pm 0.0003) X$
NÚMERO DE PUNTOS	4
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.999

Tabla 8.- Recta de calibrado para el 3-metil-1-butanol.

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	240-1680 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.00088 \pm 0.00005) X$
NÚMERO DE PUNTOS	4
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.990

Tabla 9.- Recta de calibrado para el 2-metil-1-butanol.

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	80-960 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.0012 \pm 0.0005) X$
NÚMERO DE PUNTOS	4
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.992

Para evaluar la reproducibilidad del proceso, se ha realizado la inyección de mezclas de patrones cinco veces al día durante un periodo de dos meses. La reproducibilidad expresada como desviación estándar relativa porcentual (% RSD) osciló en el intervalo de 3-5%.

Se han calculado las recuperaciones en las muestras adicionadas con patrones para determinar la exactitud. Las recuperaciones medias oscilaron entre 97% y 105%.

Podemos concluir, a tenor de estos resultados, que el procedimiento analítico ha sido validado adecuadamente.

En la Tabla 10 se presenta la matriz de datos, donde cada fila se refiere a cada muestra de whisky analizada y cada columna al contenido en un determinado alcohol superior. Las muestras están ordenadas por clases (S01-S26, B01-B20 y I01-I12). Los resultados están expresados en mg de alcohol superior por litro de whisky. A la matriz de datos resultante, de dimensiones 58 x 4 le serán aplicados los procedimientos convenientes de reconocimiento de patrones para establecer si es posible la discriminación y diferenciación de los tres tipos de whisky.

Tabla 10.- Contenido en alcoholes superiores de las muestras de whisky

Código	1-propanol	2-metil-1-propanol	3-metil-1-butanol	2-metil-1-butanol
S01	169.8	368.5	315.2	248.1
S02	186.8	423.9	409.4	231.3
S03	203.5	353.3	368.2	152.1
S04	270.2	425.1	410.2	162.3
S05	289.6	398.2	415.4	216.5
S06	269.6	378.6	345.6	201.8
S07	258.3	452.3	398.7	200.2
S08	213.2	484.1	379.8	195.9
S09	280.5	420.1	502.4	179.5
S10	247.7	464.6	450.9	284.7
S11	249.4	424.4	548.6	300.4
S12	341.3	395.3	398.5	213.6
S13	290.6	402.5	425.6	215.4
S14	215.7	561.8	426.4	282.7
S15	258.3	523.4	386.5	302.5
S16	226.8	428.8	525.3	238.9
S17	191.2	453.4	374.6	210.2
S18	241.3	395.8	415.2	268.4
S19	228.6	512.4	378.5	298.1
S20	233.6	359.2	358.7	201
S21	253.3	400.5	440.1	365.4
S22	232.6	392.4	445.3	187.5
S23	290.2	483.1	512.6	270
S24	214.1	561.4	558.4	348.1
S25	212.8	507.2	339.9	212.8
S26	242.3	502.5	432.2	350.2
B01	117.6	448.3	1514.4	438.9
B02	152.5	532.1	1461.1	457
B03	98.3	478.2	1283.1	424.2
B04	59.1	493.2	1244.2	466.3
B05	105.4	375.7	1353.3	606.2

Tabla 10 (cont.)- Contenido en alcoholes superiores de las muestras de whisky

B06	91.9	587.7	1666.3	533.7
B07	130.6	428.4	1277.4	577.5
B08	129.6	417.5	1389.6	421.7
B09	115.8	400.5	1459	465.2
B10	102.6	398.6	1504.2	524.7
B11	99.5	504.2	1389.9	503.1
B12	125.8	545.5	1478.8	484.5
B13	130.5	584.1	1253.3	482.4
B14	128.5	415.2	1515.2	588
B15	130.2	425.9	1497.2	528.5
B16	111.1	419.8	1556.3	520.1
B17	102.8	485.4	1498.7	430.2
B18	146.2	475.3	1358.4	452.2
B19	154.4	387.8	1335.2	444.8
B20	108.9	415.5	1565	453
I01	211.1	154.5	289.1	88.4
I02	242.3	168.9	315.2	90.2
I03	218.5	152.3	330.1	81.5
I04	225.3	150.8	298.4	84.7
I05	258.4	162.5	335.5	89.3
I06	260	145.8	286.3	81.5
I07	234.8	158	340.2	80.2
I08	220.2	142.3	329.5	91.5
I09	237.5	171.2	301.4	83.2
I10	202	427.9	941.2	250.9
I11	208.5	430.2	950	254.8
I12	244.8	160.1	288.8	89.1

III.2.2. Análisis en componentes principales (PCA), representaciones variable-variable y análisis "clusters" (CA).

Para visualizar la estructura de los datos y la eficiencia discriminante de los descriptores seleccionados, se aplicó el PCA a la matriz de datos. Como resultado, se seleccionaron dos componentes principales (PC1 y PC2) que explican el 94% de la varianza de los datos y conducen a comunalidades superiores al 0.91 para todas las variables consideradas. Los valores de los "loadings" o contribuciones de las variables originales en estos dos PCs se indican en la Tabla 11.

Tabla 11.- Valores de los "loadings" para los dos primeros componentes principales en las variables estudiadas.

Variable	PC1	PC2
1-propanol	-0.880024	0.377387
2-metil-1-propanol	0.656862	0.743761
3-metil-1-butanol	0.944943	-0.225843
2-metil-1-butanol	0.964358	0.059076

Como se observa en la tabla anterior, las variables 1-propanol, 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol predominan en PC1, mientras que en PC2 la mayor contribución se debe al 2-metil-1-propanol. El "scores plot" para las muestras de whisky se presenta en la Figura 14 .

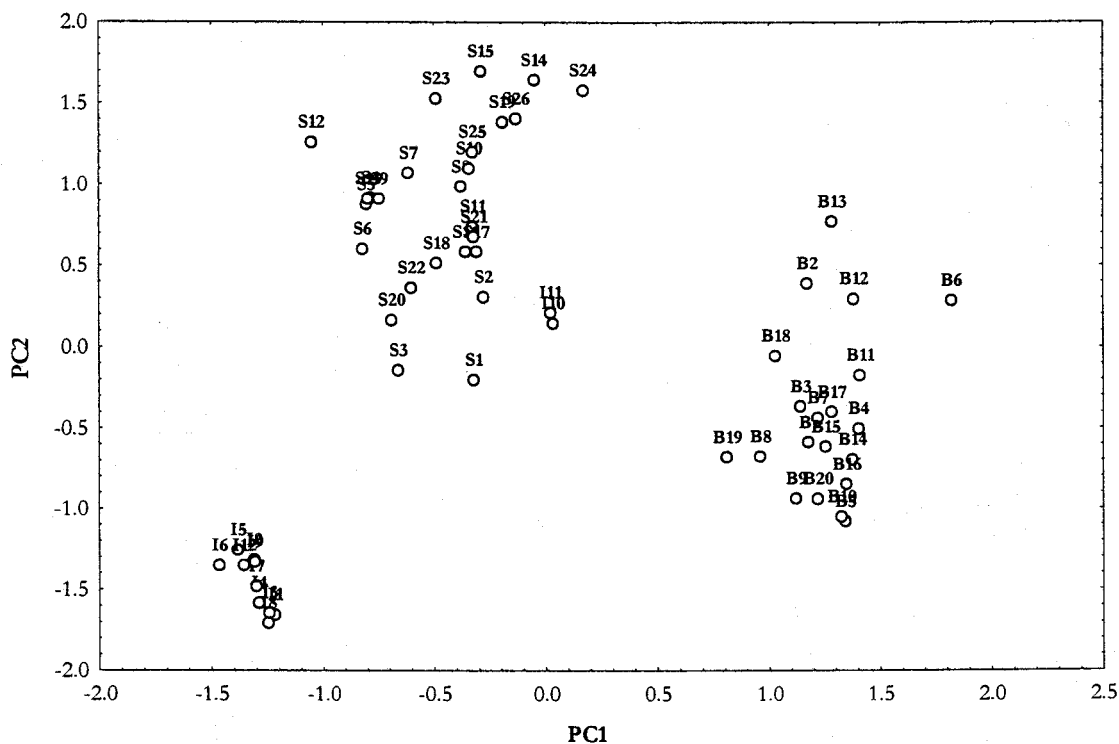


Figura 14.- "Scores plot" de las muestras estudiadas para los dos primeros componentes principales del perfil más volátil

En la Figura 14 se observan claramente tres grupos de muestras que se corresponden con las tres clases de whiskies estudiados con la excepción de dos muestras de whiskey irlandés de las destilerías Old Bushmills, que aparecen cercanas a la agrupación del whisky escocés.

El whiskey irlandés producido en las destilerías de Midleton constituye un grupo compacto. Esto indica que los alcoholes superiores pueden ser descriptores muy útiles para la caracterización y diferenciación del whiskey irlandés.

Otro método para visualizar aglomeraciones de muestras se basa en análisis jerárquico de "clusters". Al realizar dicho análisis sobre nuestra matriz de datos, utilizando como distancia métrica la euclídea y como regla de amalgamación de "clusters" el método de Ward, se obtuvo el dendrograma de la Figura 15.

Como puede verse en el dendrograma, para una distancia aproximada del 10% de la máxima aparecen tres "clusters" que se corresponden con los tres tipos naturales de whiskies. En este caso, el whiskey irlandés de Old Bushmills aparece dentro del "cluster" de los bourbons. A partir de una distancia del 20% de la máxima en adelante, los "clusters" correspondientes a los whiskies irlandeses (de Midleton) y los escoceses se funden en un solo racimo.

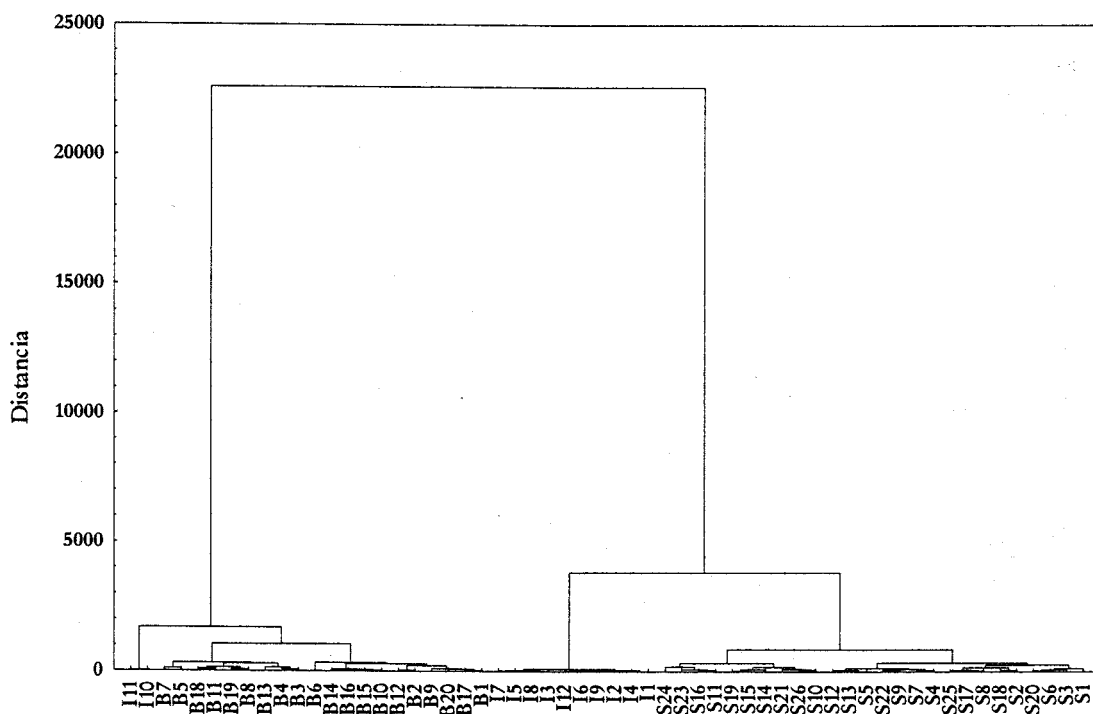


Figura 15.- Dendrograma correspondiente al análisis “cluster” jerárquico del los whiskies usando los alcoholes superiores como variables.

Teniendo en cuenta el escaso número de descriptores químicos empleados para la discriminación de las clases de whisky, un buen método para seleccionar aquéllos más diferenciadores y a la vez vislumbrar las agrupaciones de las muestras, es realizar las distintas representaciones variable-variable y escoger la que presente una separación más eficaz. En nuestro caso disponemos de cuatro variables o descriptores y hemos de representarlos uno frente al otro, con lo cual tendremos que realizar seis representaciones. Una vez hechas, la representación de los compuestos 2-metil-1-propanol frente a 3-metil-1-butanol fue la que condujo a la mejor separación entre las clases, como se observa en la Figura 16.

Los whiskies irlandeses de Midleton, los escoceses y los bourbons se agrupan de manera compacta, apareciendo sus “clusters” en zonas separadas de la carta. Cabe señalar la presencia de un par de muestras situadas entre los whiskies escoceses y los bourbons. Se trata de los dos casos de whiskey irlandés de Old Bushmills. La razón para el comportamiento diferente de estas muestras debe buscarse en su proceso de elaboración: En las destilerías Old Bushmills se usa únicamente cebada malteada y se realiza una destilación triple empleando tres “pot stills”. En las destilerías de Midleton se emplean mezclas de cebada malteada, sin maltear y otros cereales (Muñoz Ramos, 1996) y en la tercera etapa de la triple destilación se emplea el

alambique "Coffey still", de trabajo continuo. El licor resultante de este alambique tiene un contenido bajo en alcoholes superiores, como el 2-metil y 3-metil-1-butanol (Casamayor y Colombani, 1985).

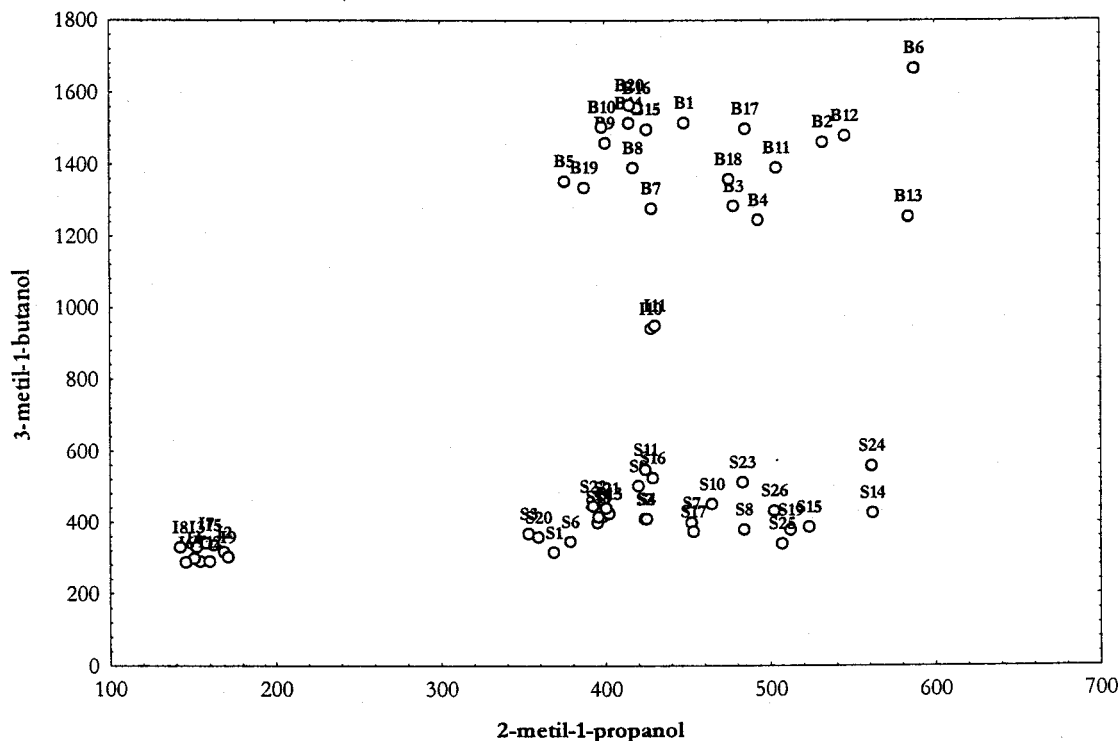


Figura 16.- Representación de la variable 2-metil-1-propanol frente a la variable 3-metil-1-butanol.

El whisky escocés de grano se produce mediante destilación continua y, por tanto, presenta un escaso contenido en alcoholes superiores. Este hecho explica la similitud existente entre el cromatograma del whisky de grano y el irlandés de Midleton que se observa en la Figura 13 (cromatogramas (e) y (d), respectivamente).

III.3. Estudio del perfil metálico

III.3.1 Determinación analítica

El contenido metálico de los whiskies fue determinado de acuerdo con los procedimientos indicados en el apartado I.5.2.. Los metales analizados fueron: calcio, magnesio, cobre, plomo, hierro y cinc por absorción atómica, y sodio y potasio por emisión atómica. Por lo

tanto, los descriptores o variables fueron Ca, Mg, Cu, Pb, Fe, Zn, Na y K. La determinación cuantitativa de estos metales en las muestras de whisky se realizó a través de calibrado externo.

En las determinaciones por absorción atómica la expresión general de las rectas de calibrado fue del tipo

$$Y = (a \pm s_a) + (b \pm s_b) X$$

donde Y es la señal analítica (Absorbancia), X es la concentración del metal en mg/l, a es la ordenada en el origen, b la pendiente y s_a y s_b las desviaciones estándar correspondientes a las mismas.

En las siguientes tablas se muestran los parámetros de tales rectas de calibrado en la cuantificación de los metales determinados por absorción atómica.

Tabla 12.- Recta de calibrado para el cinc

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	0.2-1 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.01 \pm 0.02) + (0.30 \pm 0.04) X$
NÚMERO DE PUNTOS	4
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9980

Tabla 13.- Recta de calibrado para el cobre

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	0.2-4 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.002 \pm 0.006) + (0.061 \pm 0.003) X$
NÚMERO DE PUNTOS	5
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9997

Tabla 14.- Recta de calibrado para el calcio

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	0.3-4 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.012 \pm 0.007) + (0.053 \pm 0.003) X$
NÚMERO DE PUNTOS	5
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9994

Tabla 15.- Recta de calibrado para el plomo

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	0.2-9 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.005 \pm 0.002) + (0.0296 \pm 0.0005) X$
NÚMERO DE PUNTOS	4
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9999

Tabla 16.- Recta de calibrado para el magnesio

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	0.1-0.5 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.02 \pm 0.02) + (0.68 \pm 0.08) X$
NÚMERO DE PUNTOS	4
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9986

Tabla 17.- Recta de calibrado para el hierro

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	0.3-5 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.003 \pm 0.008) + (0.066 \pm 0.004) X$
NÚMERO DE PUNTOS	6
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9987

Las determinaciones de los metales anteriores en las muestras se realizaron por interpolación en las correspondientes rectas de calibrado

En las determinaciones por emisión atómica se encontró, tanto para el sodio como para el potasio, un comportamiento no lineal en la estandarización. En general, las curvas de calibrado se ajustaron a la ecuación de una parábola. La expresión general de las curvas de calibrado fue

$$Y = (a \pm s_a) + (b \pm s_b) X + (c \pm s_c) X^2$$

donde Y es la señal analítica (intensidad de emisión), X es la concentración del metal en mg/l, a es el término independiente, b el coeficiente de primer grado y c el de segundo grado, siendo s_a , s_b y s_c sus respectivas desviaciones estándar.

En las siguientes tablas se muestran los parámetros de las curvas de calibrado para la cuantificación del sodio y el potasio por emisión atómica.

Tabla 18.- Curva de calibrado para el sodio

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	1-10 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (0.14 \pm 0.02) + (0.14 \pm 0.01) X + (-0.005 \pm 0.001) X^2$
NÚMERO DE PUNTOS	5
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9995

Tabla 19.- Curva de calibrado para el potasio

INTERVALO DE CONCENTRACIÓN	1-20 mg/l
RECTA DE CALIBRADO	$Y = (-0.01 \pm 0.02) + (0.100 \pm 0.004) X + (-0.0019 \pm 0.0002) X^2$
NÚMERO DE PUNTOS	5
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9995

La determinación de sodio y potasio en las muestras se realizó por interpolación en las anteriores curvas de calibrado, aunque también se utilizó el método de los segmentos rectilíneos (Schwartz, 1977) para la cuantificación, obteniéndose prácticamente los mismos resultados.

La matriz de datos para el perfil metálico de los whiskies ensayados se presenta a continuación. Se indican los descriptores (Na, K, Mg, Cu, Ca, Fe, Zn y Pb) y las muestras (casos) ordenadas por clases (S01-S26, B01-B20 y I01-I12). Todos los resultados están expresados en mg de metal por litro de whisky.

Tabla 20.- Contenido metálico de las muestras de whisky analizadas

Código	Na	K	Mg	Cu	Ca	Fe	Zn	Pb
S01	4.68	6.03	0.12	0.20	0.54	ND	ND	ND
S02	5.66	6.22	0.33	0.38	1.00	ND	2.47	ND
S03	8.31	5.32	0.16	0.27	0.67	ND	ND	ND
S04	7.10	6.60	0.30	0.26	0.50	ND	ND	ND
S05	3.76	9.42	0.28	0.49	0.56	ND	ND	ND
S06	7.07	15.10	0.80	0.29	1.56	ND	ND	ND
S07	9.90	7.50	0.32	0.28	0.60	0.30	ND	ND
S08	7.26	10.65	0.26	0.29	0.52	0.39	ND	0.30
S09	3.50	12.20	0.95	0.72	1.29	ND	ND	ND
S10	9.60	15.70	1.23	0.81	3.50	ND	ND	ND
S11	1.98	7.22	0.29	0.53	0.77	ND	ND	ND
S12	2.65	12.19	0.46	0.64	1.10	ND	ND	ND
S13	9.62	8.02	0.22	0.43	0.50	ND	ND	ND
S14	6.09	8.84	0.26	0.26	0.70	ND	ND	ND
S15	9.30	7.93	0.22	0.45	0.30	ND	ND	ND
S16	10.91	7.90	0.62	0.40	0.40	ND	ND	ND
S17	4.60	8.50	0.42	0.21	0.70	ND	ND	ND
S18	6.50	9.80	0.90	0.55	0.88	0.43	ND	ND
S19	8.70	16.50	1.95	0.31	1.81	ND	ND	0.20
S20	9.90	10.50	0.58	0.39	0.73	ND	ND	ND
S21	3.00	7.10	0.72	0.61	1.46	0.35	0.20	ND
S22	7.37	21.60	0.19	0.58	2.16	ND	ND	0.20
S23	7.54	8.47	0.28	0.79	0.69	ND	ND	ND
S24	8.50	8.00	0.36	0.39	0.50	0.31	2.13	0.32
S25	7.44	8.28	0.28	0.69	0.63	0.33	ND	ND
S26	10.94	14.93	0.78	0.83	3.45	ND	ND	ND
B01	2.30	13.70	0.82	ND	1.16	0.31	ND	0.22
B02	1.10	9.83	0.35	ND	0.48	0.39	ND	ND
B03	1.35	17.93	0.39	ND	0.64	ND	ND	ND
B04	1.49	17.61	0.22	ND	ND	ND	ND	0.20
B05	1.10	17.90	0.36	ND	ND	ND	ND	ND
B06	2.30	17.55	0.41	ND	0.50	ND	ND	ND
B07	2.00	12.30	0.33	0.30	0.30	ND	ND	ND

Tabla 20 (cont.)- Contenido metálico de las muestras de whisky analizadas

B08	1.05	12.99	0.37	ND	0.61	ND	ND	ND
B09	1.83	15.63	0.30	0.63	0.86	ND	ND	0.20
B10	1.07	12.73	0.39	ND	0.86	ND	ND	ND
B11	1.00	17.85	0.75	ND	2.05	0.37	ND	ND
B12	1.26	16.48	0.34	0.44	0.68	ND	ND	ND
B13	1.10	17.20	0.44	0.49	0.70	0.32	ND	ND
B14	1.18	12.88	0.38	ND	0.47	ND	0.20	ND
B15	2.00	19.70	1.80	ND	2.42	ND	ND	ND
B16	1.15	12.31	0.45	0.28	0.70	ND	ND	0.20
B17	2.82	12.20	0.20	0.22	0.30	ND	ND	ND
B18	1.02	13.18	0.38	0.39	0.75	0.36	ND	ND
B19	1.11	10.52	0.28	0.22	0.52	ND	0.24	ND
B20	1.36	15.91	0.56	0.34	0.62	ND	ND	ND
I01	5.79	5.69	0.15	ND	0.50	ND	ND	ND
I02	4.35	4.60	0.17	0.21	0.41	ND	ND	ND
I03	6.80	8.00	3.28	0.79	7.50	0.30	0.21	0.21
I04	5.93	5.65	0.15	ND	0.43	ND	ND	ND
I05	5.10	4.80	0.22	ND	0.50	ND	ND	ND
I06	8.25	8.30	2.32	0.85	7.62	0.31	0.20	0.20
I07	5.60	4.80	0.22	ND	0.60	ND	ND	ND
I08	6.29	4.70	0.13	ND	ND	ND	ND	ND
I09	5.69	5.35	0.15	ND	ND	ND	ND	ND
I10	4.97	4.30	0.21	0.20	0.38	ND	ND	ND
I11	4.37	6.29	0.15	0.22	ND	ND	ND	ND
I12	4.70	5.30	0.23	ND	0.40	ND	ND	ND

Los elementos cuya concentración estimada fue inferior al correspondiente límite de cuantificación determinado según Miller y Miller (1988), se han denotado en la tabla como no detectadas (ND).

Después de una breve inspección de la tabla, puede comprobarse que los descriptores Fe, Zn y Pb contienen un elevadísimo número de datos no detectados: un 78 % ND para Fe, un 88% ND para el Zn y un 83% ND para el Pb. Esto nos indica que tales variables no tienen *heuristicamente* ningún significado para el tratamiento de datos y por consiguiente los únicos descriptores a considerar en el perfil metálico de los whiskies serán: Na, K, Ca, Mg y Cu. Este hecho está de acuerdo con la bibliografía (Schoenemann y Dyer, 1972) en la que se indica que los metales correspondientes a estos descriptores seleccionados son los más importantes. Por lo tanto, cada muestra de whisky puede considerarse como un vector con cinco componentes (descriptores) que son los contenidos metálicos correspondientes. La matriz de datos se construye a partir de estos vectores fila y tiene las dimensiones 58 x 5. A continuación aplicaremos los procedimientos adecuados de reconocimiento de patrones para la clasificación y diferenciación de los whiskies estudiados.

III.3.2. Análisis en componentes principales (PCA) y análisis "cluster" (CA)

Exigiendo unas comunalidades mínimas de 0.80, al aplicar el PCA a la matriz de datos, se obtuvieron tres componentes principales (PCs) que explican un 89% de la varianza total. Los valores de los "loadings" para estos tres PCs se indican en la tabla siguiente

Tabla 21.- Valores de los "loadings" para los tres primeros componentes principales en las variables estudiadas

Variable	PC1	PC2	PC3
Na	0.444421	0.759849	0.159332
K	0.142376	-0.849398	0.396927
Mg	0.872927	-0.254451	-0.347663
Cu	0.746449	0.175215	0.539942
Ca	0.928462	-0.135095	-0.244360

Como puede apreciarse, las variables más contributivas al PC1 son Ca, Mg y Cu, y las de mayor peso en el PC2, Na y K. El componente PC3 no se caracteriza por una contribución significativamente importante de ninguno de los descriptores anteriores, lo cual parece indicar que este componente se encuentre más bien asociado a ruido. De hecho, siguiendo el criterio de Kaiser (1966) solamente se escogerían como significativos aquellos PCs cuyos autovalores son superiores a la unidad, en nuestro caso, PC1 y PC2. El "scores plot" correspondiente a los dos primeros PCs se muestra en la Figura 17

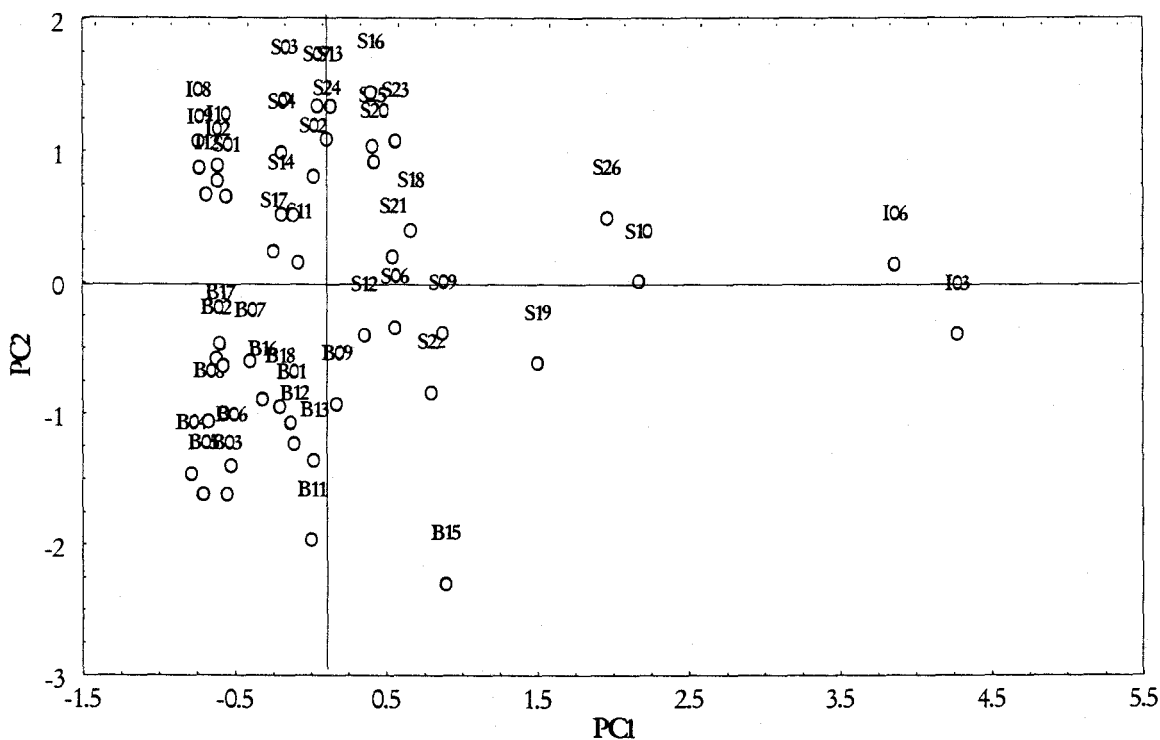


Figura 17- "Scores plot" del perfil metálico de las muestras estudiadas para los dos primeros componentes principales

Como puede apreciarse, existe un patrón fundamental de distribución. Si dividimos la carta de la Figura 17 en cuatro cuadrantes dibujando rectas paralelas a los ejes PC1 y PC2 que pasen por el origen de coordenadas, observaremos que la gran mayoría de las muestras de bourbon se agrupan en el tercer cuadrante, mientras que el resto de los whiskies se dispersan en los otros tres.

Es digno de mención que, a excepción de dos muestras (I03 e I06), las muestras de whiskey irlandés se encuentran densamente apiñadas en el segundo cuadrante, y la mayor parte

de los whiskies escoceses están situadas en el primero. Una posible explicación al comportamiento anómalo de las muestras I03 e I06 puede deberse al modelo del contenedor en el que se comercializan, en ambos casos consiste en una jarra de material cerámico (Tullamore Dew trade mark).

Por otra parte, en el caso de los escoceses, la dispersión observada podría deberse a la mayor deslocalización geográfica de procedencia de las muestras. Este fenómeno, en mucha menor extensión puede apreciarse en los bourbons, donde las muestras de Tennessee (B11 y B15) aparecen más alejadas del centroide de la clase.

Una manera alternativa de visualizar esto puede conseguirse mediante el análisis “cluster” jerárquico. Si realizamos dicho análisis sobre nuestra matriz de datos, utilizando como distancia métrica la euclídea y como regla de amalgamación de “clusters” el método de Ward, se obtiene el dendograma siguiente

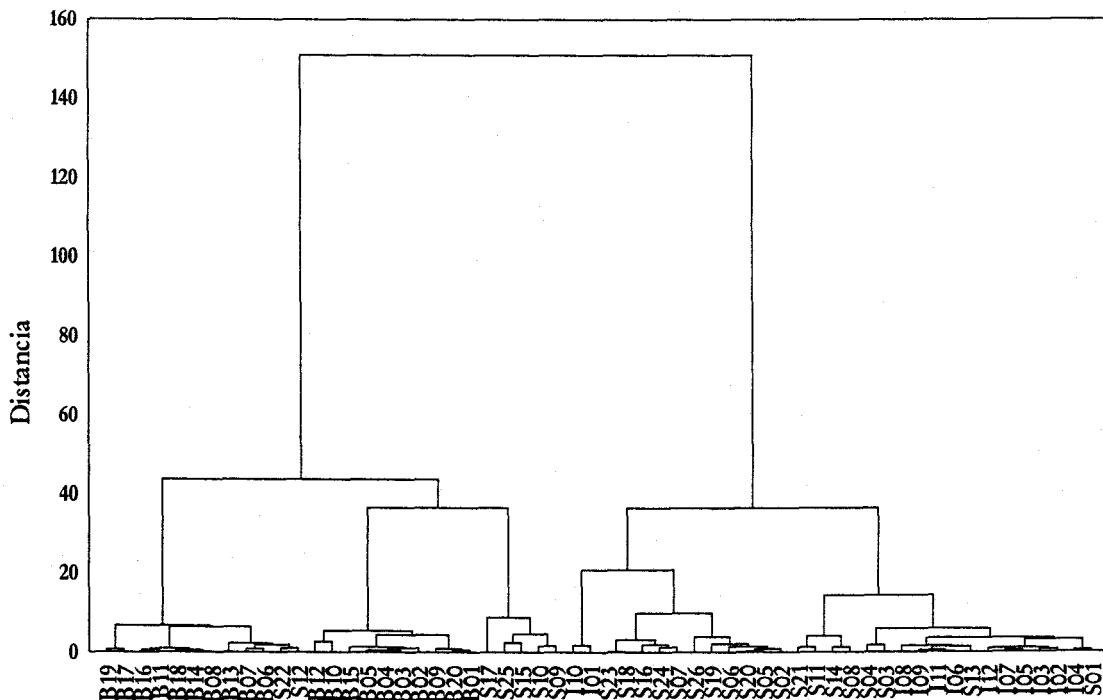


Figura 18.- Dendograma correspondiente al análisis “cluster” jerárquico del los whiskies usando las variables del perfil metálico

Como se observa en la Figura 18, aunque las tres clases de whisky aparecen agrupadas, la separación entre dichos "clusters" no es completa y aparecen numerosos conflictos de asignación de clase.

Así pues, a manera de conclusión puede decirse que tanto los resultados del PCA como del CA indican la evidencia de una estructura en los datos, en el sentido de que los éstos parecen agruparse en torno a las tres clases de whisky estudiadas. No obstante, las fronteras interclásicas no están bien definidas tal como se visualiza al aplicar los procedimientos de reconocimiento de patrones no supervisados. Sin embargo, cabe destacar que la detección de un patrón de distribución en las muestras es innegable y ello indica que los descriptores correspondientes a este perfil rinden cuenta de la variabilidad interclásica, pudiendo el ruido oscurecer las zonas de separación de los grupos al utilizar técnicas de visualización sencillas como el PCA o el CA.

A continuación, vamos a considerar métodos de reconocimiento de patrones basados en aprendizaje supervisado para un estudio más profundo del poder discriminativo de las variables consideradas en el perfil metálico. Como no había evidencia de una separación neta de clases en el "scores plot", hemos seleccionado los métodos de los vecinos más próximos (KNN) y los basados en redes neuronales artificiales (ANN) entrenados por retropropagación.

III.3.3 Métodos supervisados de reconocimiento de patrones

Se ha aplicado el método KNN normalizando las variables y empleando para la validación el procedimiento "leave one out". Los resultados expresados como % de éxito en la predicción fueron un 95% para el 1NN y un 93% para 3NN y 5NN. El estudio de sensibilidad y especificidad indica que los porcentajes de falsos negativos y falsos positivos oscilan entre los valores que aparecen en la Tabla 22. Los valores entre paréntesis presentes en dicha tabla indican el número de vecinos empleados en la decisión de la asignación de clase.

Tabla 22.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las tres clases de whisky aplicando KNN sobre el perfil metálico.

Clase	% falsos negativos (K)	% falsos positivos (K)
S	7.7 (1) - 3.8 (3,5)	3.1 (1) - 6.2 (3,5)
B	0 (1,3,5)	2.6 (1,3,5)
I	8.3 (1) - 25 (3,5)	2.2 (1,3,5)

Por lo tanto, para propósitos de autenticación, el método KNN no ofrece muchas garantías, pues en el caso de los whiskeys irlandeses, es posible clasificar erróneamente como no irlandés, siendo irlandés al menos un 8.3% de los casos.

Se diseñó una red neuronal artificial con la siguiente arquitectura: una capa de 5 neuronas inactivas correspondientes a los descriptores metálicos, una capa oculta de dos neuronas, y una capa de salida con tres neuronas, una para cada clase de whisky (5 x 2 x 3 más bias). El entrenamiento se realizó por retropropagación con una velocidad de aprendizaje (η) de 0.2 y un momento (μ) de 0.5. El error en la clasificación de los "targets" se estableció en un 0.2, se empleó una función de transferencia sigmoidea y se realizaron las clasificaciones cada 1000 épocas. Los objetos fueron previamente normalizados en el intervalo de valores de variables de -1 a 1. Los pesos iniciales se establecieron al azar dentro del intervalo -0.1 a 0.1, la selección de objetos para el conjunto de entrenamiento se realizó al azar. Las salidas se normalizaron entre 0 y 1.

Los "targets" (t), escritos en código binario son (1 0 0) para S, (0 1 0) para B y (0 0 1) para I. Los valores de salida (sal) se compararán con aquéllos. El porcentaje de acierto en la clasificación viene dado por:

$$\% \text{ acierto} = 100 \frac{\sum_{k=1}^J \sum_{k=1}^3 f(sal_k - t_k)}{3J}$$

Se obtuvo un 95-100% de aciertos en la clasificación del conjunto de aprendizaje. Los porcentajes de acierto para el conjunto de evaluación oscilaron entre el 89% y el 100% en los

diez conjuntos establecidos al azar. Los porcentajes de falsos positivos y falsos negativos para cada clase se indican en la Tabla 23.

Tabla 23.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las tres clases de whisky aplicando BPNN sobre el perfil metálico.

Clase	% falsos negativos	% falsos positivos
S	7.8	6.2
B	0	2.0
I	15.6	2.7

Como puede observarse, en lo que se refiere al whiskey irlandés ocurre prácticamente lo mismo que al aplicar KNN. La probabilidad de falsos negativos, es decir de asignar como no irlandés un whisky que lo es, es extremadamente alta debido a que dos de las muestras de whiskey irlandés (Tullamore Dew) presentan un elevado contenido metálico en relación con el resto de las muestras.

No obstante es notable en el caso de los bourbons, el escaso número de falsos negativos y falsos positivos obtenidos tanto al aplicar KNN como BPNN, que conducen a una sensibilidad del 100% y una especificidad de alrededor del 98%. Esto permite concluir, que aunque para una discriminación y autenticación global, el perfil metálico no es factible, para el caso de los bourbons produce buenos resultados predictivos.

A pesar de la distribución intrínsecamente no lineal de las muestras en el perfil metálico, hemos aplicado con fin comparativo el Análisis Discriminante Lineal con modelado de clases. Empleando como conjunto de calibración el 70% de los datos dentro de cada clase y como conjunto de validación el resto, los radios de clase fueron: 2.99 para S, 3.01 para B y 3.08 para I. De acuerdo con ello, una vez aplicado el procedimiento, se obtuvo un reconocimiento medio del 100% para el conjunto de calibración y una predicción media del 100% para el conjunto de validación. No obstante, estos resultados aparentemente excelentes, son engañosos, dado los valores obtenidos para la sensibilidad y especificidad en la predicción. En la Tabla 24 se indican los porcentajes de falsos negativos y falsos positivos encontrados en el conjunto de predicción.

Tabla 24.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las tres clases de whisky

Clase	% falsos negativos	% falsos positivos
S	1.2	34
B	0	12.5
I	0	30.8

El escaso número de falsos negativos y el enorme número de falsos positivos pueden explicarse fácilmente. Respecto a los valores del contenido metálico, las clases no están muy separadas en el espacio discriminante, con lo cual las esferas de modelado de clases (aquí círculos, pues hay dos ejes correspondientes a las dos funciones discriminantes) contienen las muestras que pertenecen a la clase en cuestión, pero atrapan también muestras pertenecientes a otras clases que quedan encerradas en el recinto. Esto se ilustra en la Figura 19.

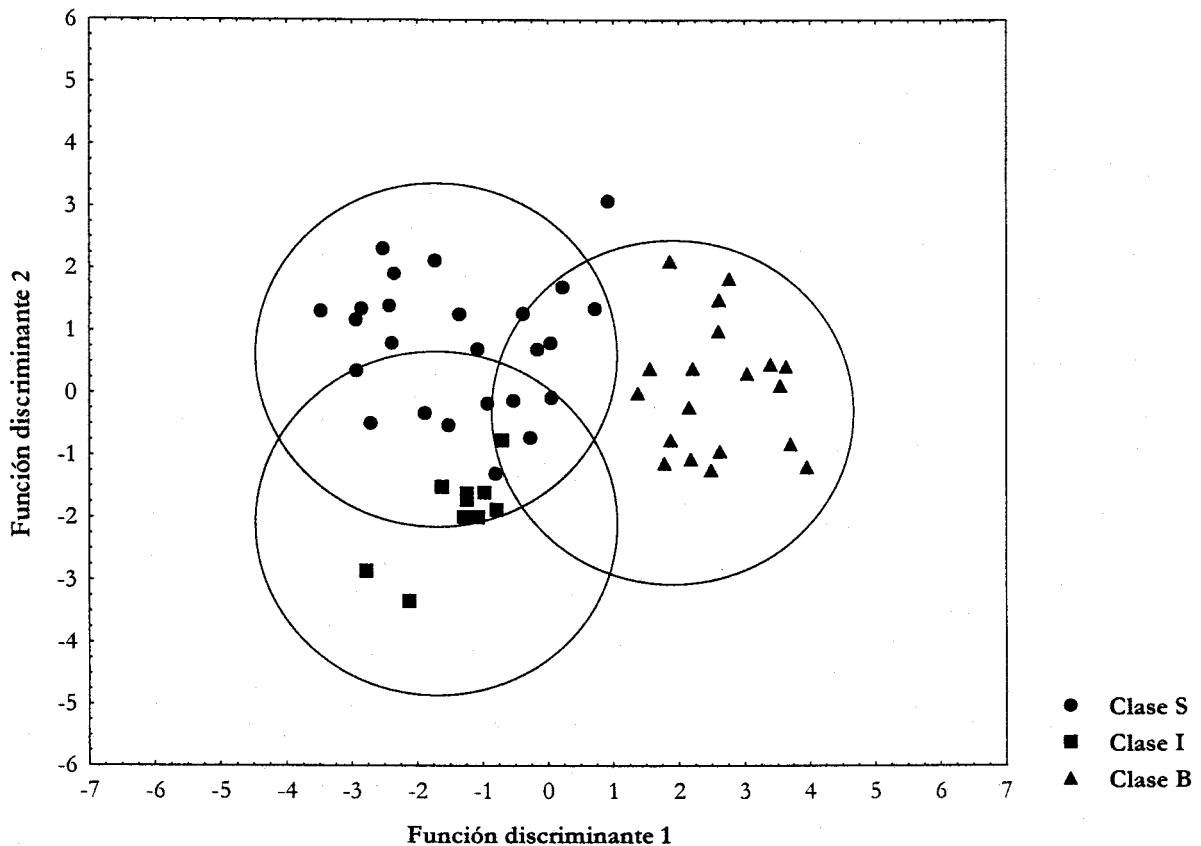


Figura 19.- Representación de las muestras en el espacio discriminante según el perfil metálico

Por ello, prácticamente todas las muestras de una clase están bien clasificadas tanto en el conjunto de calibración como en el de validación, siendo el éxito en la asignación casi del 100% y por lo tanto, el número de falsos negativos tiende a cero. Sin embargo, dada la poca separación de las muestras y la múltiple pertenencia a los círculos de modelado de clase, el número de falsos positivos se hace extremadamente elevado y como era de esperar, el método de Análisis Discriminante Lineal es completamente inadecuado para la predicción y autenticación de las muestras estudiadas con el perfil metálico.

III.4. Estudio del perfil obtenido por inyección directa

III.4.1. Reconocimiento y estimación de la abundancia relativa de los congéneres mediante inyección directa

Como se indicó previamente en I.5.4, al no haberse utilizado patrones para la obtención de perfil de congéneres, estos componentes se identificaron aplicando en cada pico cromatográfico la opción de reconocimiento del programa Lab-Base™, que utiliza la biblioteca de espectros de masa del National Bureau of Standards (NBS). De este modo, se reconocieron un total de 28 compuestos. Los cromatogramas correspondientes a las distintas muestras de whisky se encuentran compilados en el Apéndice A. Los espectros de masas de los 28 congéneres encontrados en los whiskies estudiados, junto con los espectros NBS asignados por el programa se presentan en el Apéndice B de esta memoria.

A modo de ejemplo, el cromatograma de una muestra de whisky escocés malta puro (Highlands) se desglosa en la Figura 20, observándose los picos de los diversos congéneres. La naturaleza química de estos compuestos se indicó en la Introducción de esta memoria en los apartados *selección de los descriptores químicos* y la *composición química de los whiskies*. Para referirnos a los descriptores, utilizaremos sus correspondientes acrónimos, a saber (en sentido creciente de tiempo de retención): PDA, EP, DEE, EB, DEMP, DEB, FC, IPA, EF, EEP, EH, DEP, P, EHP, MP, BE, EO, HPA, FEA, MOL, ED, DA, HMB, EDD, DDA, D334TM, B4H3ME y HXD. Como medida de la cantidad de cada componente en las muestras de whisky se utilizó el cociente entre la altura del pico correspondiente y el del patrón interno (acenafteno).

La correspondiente matriz de datos, donde cada fila se refiere a cada muestra de whisky analizada y cada columna al congénere (descriptor) en cuestión se presenta en la Tabla 25.

Dadas las dimensiones de la matriz de datos (58 filas \times 28 columnas), para una mejor visualización, la Tabla 25 se presentará desglosada en subtablas que contengan solo siete variables de manera que cada subtabla ocupe dos páginas. Las muestras están ordenadas por clases (S01-S26, B01-B20 y I01-I12) y los resultados, que indican la proporción relativa de cada congénere, son adimensionales (razón entre dos alturas de pico).

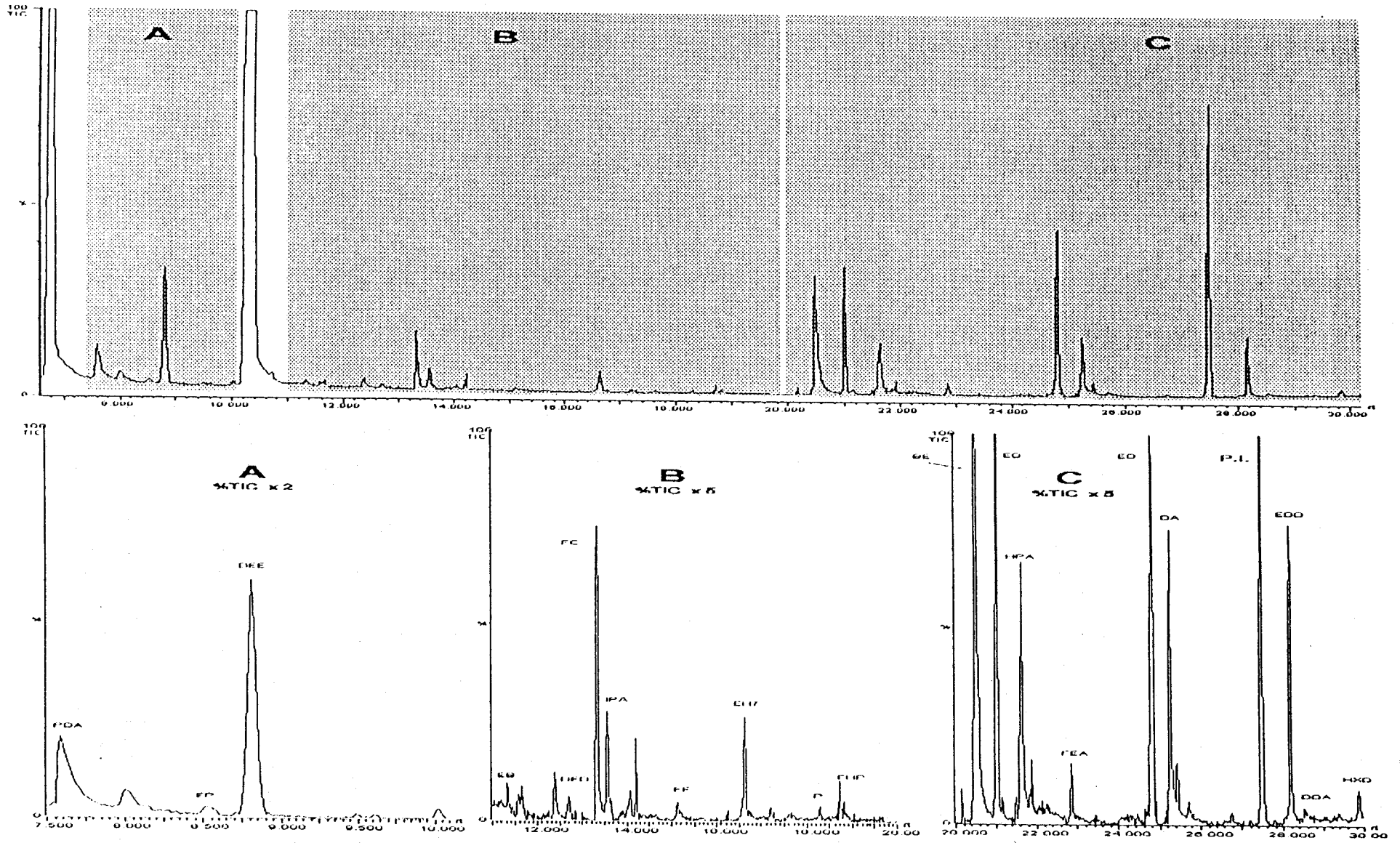


Figura 20.- Cromatograma de inyección directa desglosado de una muestra representativa de whisky escocés malta puro (Highlands). Ver explicación en el texto (Apéndice A).

Tabla 25 (a).- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

CASOS	PDA	EP	DEE	EB	DEMP	DEB	FC
S01	0.101	0.031	0.629	0.019	0.218	0.032	0.323
S02	0.664	0.022	0.966	0.026	0.206	0.040	0.412
S03	0.085	0.014	1.280	0.021	0.010	0.033	0.134
S04	0.106	0.021	0.579	0.020	0.320	0.027	0.242
S05	0.169	0.019	0.475	0.024	0.031	0.014	0.212
S06	0.315	0.036	0.833	0.017	0.030	0.021	0.243
S07	0.052	0.016	0.395	0.014	0.019	0.013	0.170
S08	0.176	0.021	0.538	0.019	0.039	0.020	0.242
S09	0.217	0.022	0.551	0.019	0.094	0.009	0.142
S10	0.273	0.027	0.894	0.028	0.236	0.023	0.081
S11	0.194	0.023	0.414	0.021	0.366	0.035	0.146
S12	0.137	0.024	0.651	0.065	0.179	0.020	0.029
S13	0.316	0.022	1.100	0.030	0.397	0.025	0.207
S14	0.157	0.011	0.595	0.031	1.643	0.040	0.138
S15	0.185	0.042	0.527	0.025	0.216	0.030	0.372
S16	0.223	0.024	0.954	0.035	0.168	0.030	0.466
S17	0.109	0.013	1.675	0.027	0.905	0.040	0.046
S18	0.056	0.010	0.688	0.016	0.007	0.021	0.133
S19	0.076	0.010	0.374	0.025	0.160	0.028	0.041
S20	0.139	0.016	0.624	0.040	0.076	0.016	0.069
S21	0.079	0.007	0.242	0.009	0.016	0.009	0.082
S22	0.027	0.012	0.402	0.010	0.011	0.012	0.088
S23	0.102	0.018	0.700	0.020	0.139	0.026	0.029
S24	0.072	0.010	0.659	0.014	0.119	0.018	0.051
S25	0.177	0.012	0.763	0.020	0.108	0.028	0.083
S26	0.029	0.011	0.419	0.010	0.013	0.012	0.067
B01	0.155	0.018	0.747	0.014	0.006	0.006	0.032
B02	0.149	0.023	0.772	0.016	0.001	0.003	0.025
B03	0.169	0.023	0.922	0.016	0.000	0.003	0.028
B04	0.088	0.012	0.443	0.013	0.000	0.004	0.018
B05	0.195	0.023	0.895	0.016	0.000	0.004	0.041
B06	0.186	0.019	1.968	0.049	0.013	0.009	0.063
B07	0.093	0.019	1.386	0.040	0.002	0.004	0.063
B08	0.339	0.017	2.109	0.023	0.262	0.002	0.051

Tabla 25 (a) (cont.)- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

B09	0.306	0.013	1.545	0.019	0.007	0.008	0.030
B10	0.269	0.011	0.465	0.026	0.013	0.010	0.030
B11	0.149	0.011	0.182	0.007	0.003	0.002	0.027
B12	0.140	0.015	0.419	0.015	0.004	0.003	0.036
B13	0.245	0.020	0.552	0.025	0.013	0.002	0.167
B14	0.309	0.016	1.873	0.031	0.330	0.018	0.105
B15	0.180	0.013	0.219	0.020	0.007	0.003	0.060
B16	0.231	0.063	0.424	0.030	0.009	0.003	0.096
B17	0.414	0.023	0.915	0.027	0.016	0.009	0.117
B18	0.480	0.026	1.066	0.047	0.032	0.012	0.120
B19	0.347	0.025	0.667	0.056	0.023	0.008	0.158
B20	0.170	0.024	0.606	0.023	0.010	0.004	0.112
I01	0.012	0.000	0.034	0.000	0.004	0.000	0.012
I02	0.008	0.000	0.035	0.000	0.002	0.000	0.011
I03	0.008	0.000	0.043	0.000	0.004	0.001	0.005
I04	0.010	0.000	0.035	0.000	0.003	0.000	0.011
I05	0.005	0.004	0.253	0.000	0.004	0.004	0.036
I06	0.008	0.001	0.269	0.001	0.007	0.001	0.013
I07	0.005	0.004	0.389	0.002	0.002	0.002	0.007
I08	0.005	0.004	0.504	0.007	0.004	0.004	0.014
I09	0.001	0.004	0.477	0.002	0.000	0.002	0.000
I10	0.031	0.005	0.619	0.026	0.000	0.011	0.037
I11	0.041	0.006	0.710	0.027	0.000	0.014	0.042
I12	0.007	0.004	0.494	0.003	0.000	0.002	0.000

Tabla 25 (b).- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

CASOS	IPA	EF	EEP	EH	DEP	P	EHP
S01	0.194	0.017	0.002	0.077	0.000	0.000	0.000
S02	0.035	0.045	0.007	0.105	0.004	0.005	0.007
S03	0.087	0.019	0.007	0.075	0.010	0.002	0.004
S04	0.149	0.017	0.003	0.075	0.007	0.005	0.007
S05	0.144	0.015	0.000	0.095	0.008	0.002	0.004
S06	0.022	0.023	0.005	0.072	0.004	0.002	0.003
S07	0.077	0.009	0.000	0.032	0.001	0.033	0.004
S08	0.095	0.016	0.004	0.084	0.011	0.002	0.000
S09	0.120	0.020	0.002	0.077	0.003	0.004	0.023
S10	0.189	0.017	0.003	0.070	0.000	0.000	0.000
S11	0.111	0.011	0.003	0.081	0.009	0.003	0.004
S12	0.114	0.019	0.005	0.139	0.021	0.007	0.007
S13	0.195	0.015	0.007	0.109	0.009	0.033	0.007
S14	0.111	0.018	0.011	0.135	0.011	0.010	0.011
S15	0.149	0.026	0.013	0.148	0.009	0.007	0.006
S16	0.055	0.033	0.008	0.122	0.005	0.027	0.009
S17	0.090	0.017	0.010	0.100	0.019	0.007	0.009
S18	0.068	0.016	0.003	0.064	0.008	0.001	0.002
S19	0.084	0.009	0.008	0.076	0.008	0.003	0.002
S20	0.083	0.013	0.005	0.069	0.011	0.004	0.006
S21	0.055	0.013	0.001	0.058	0.007	0.000	0.002
S22	0.085	0.009	0.004	0.032	0.002	0.020	0.004
S23	0.170	0.020	0.006	0.062	0.005	0.021	0.009
S24	0.124	0.010	0.007	0.091	0.005	0.014	0.004
S25	0.101	0.018	0.005	0.097	0.006	0.003	0.003
S26	0.079	0.008	0.002	0.028	0.003	0.020	0.004
B01	0.094	0.061	0.008	0.033	0.003	0.002	0.006
B02	0.085	0.050	0.014	0.027	0.000	0.001	0.002
B03	0.086	0.047	0.009	0.023	0.000	0.001	0.003
B04	0.080	0.017	0.003	0.020	0.000	0.001	0.002
B05	0.094	0.052	0.008	0.028	0.001	0.001	0.001
B06	0.050	0.067	0.032	0.057	0.000	0.003	0.010
B07	0.048	0.057	0.012	0.046	0.001	0.001	0.006
B08	0.068	0.047	0.027	0.060	0.001	0.006	0.011

Tabla 25 (b) (cont.)- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

B09	0.035	0.052	0.021	0.050	0.001	0.000	0.007
B10	0.039	0.043	0.007	0.054	0.024	0.018	0.012
B11	0.115	0.017	0.004	0.013	0.002	0.000	0.003
B12	0.060	0.038	0.005	0.060	0.002	0.001	0.009
B13	0.090	0.062	0.005	0.106	0.000	0.003	0.017
B14	0.064	0.054	0.165	0.063	0.001	0.005	0.014
B15	0.169	0.026	0.003	0.019	0.001	0.000	0.004
B16	0.061	0.045	0.009	0.061	0.001	0.001	0.008
B17	0.049	0.077	0.012	0.087	0.002	0.002	0.013
B18	0.062	0.068	0.007	0.081	0.037	0.008	0.012
B19	0.057	0.079	0.006	0.068	0.001	0.002	0.012
B20	0.054	0.051	0.005	0.050	0.006	0.002	0.006
I01	0.006	0.011	0.000	0.001	0.001	0.000	0.000
I02	0.005	0.011	0.000	0.001	0.001	0.000	0.000
I03	0.005	0.011	0.000	0.001	0.004	0.000	0.000
I04	0.005	0.011	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000
I05	0.021	0.014	0.000	0.011	0.001	0.000	0.000
I06	0.005	0.011	0.003	0.001	0.004	0.000	0.002
I07	0.018	0.009	0.000	0.004	0.001	0.000	0.000
I08	0.017	0.009	0.001	0.008	0.002	0.000	0.000
I09	0.012	0.002	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000
I10	0.117	0.013	0.001	0.019	0.003	0.003	0.002
I11	0.123	0.015	0.002	0.022	0.006	0.005	0.004
I12	0.013	0.004	0.000	0.002	0.001	0.000	0.000

Tabla 25 (c).- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

CASOS	MP	BE	EO	HPA	FEA	MOL	ED
S01	0.000	0.521	0.488	0.225	0.120	0.009	0.745
S02	0.001	0.529	0.801	0.136	0.013	0.008	1.356
S03	0.000	0.396	0.612	0.186	0.040	0.000	1.144
S04	0.000	0.402	0.550	0.197	0.092	0.003	0.972
S05	0.002	0.602	0.632	0.230	0.111	0.004	1.240
S06	0.000	0.368	0.536	0.095	0.007	0.004	0.860
S07	0.036	0.308	0.182	0.047	0.058	0.008	0.441
S08	0.000	0.537	0.482	0.224	0.043	0.018	0.639
S09	0.013	0.335	0.513	0.151	0.057	0.025	1.142
S10	0.035	0.500	0.518	0.161	0.095	0.010	1.008
S11	0.002	0.423	0.519	0.250	0.050	0.000	0.798
S12	0.005	0.358	0.918	0.298	0.036	0.003	2.168
S13	0.031	0.485	0.814	0.288	0.132	0.005	2.180
S14	0.001	0.402	0.898	0.404	0.048	0.003	1.614
S15	0.006	0.702	0.930	0.353	0.064	0.005	1.391
S16	0.026	0.691	0.879	0.337	0.023	0.006	1.362
S17	0.000	0.231	0.846	0.498	0.037	0.003	1.630
S18	0.000	0.384	0.521	0.057	0.033	0.002	0.950
S19	0.002	0.244	0.560	0.303	0.038	0.001	0.941
S20	0.003	0.120	0.635	0.198	0.020	0.002	1.521
S21	0.000	0.396	0.512	0.283	0.032	0.002	0.769
S22	0.028	0.276	0.265	0.072	0.060	0.002	0.605
S23	0.020	0.359	0.562	0.169	0.084	0.003	1.084
S24	0.012	0.222	0.695	0.238	0.082	0.004	1.764
S25	0.003	0.323	0.906	0.275	0.043	0.015	1.296
S26	0.029	0.246	0.263	0.060	0.057	0.001	0.603
B01	0.002	0.126	0.154	0.013	0.030	0.008	0.219
B02	0.001	0.104	0.143	0.010	0.021	0.007	0.222
B03	0.001	0.085	0.131	0.000	0.017	0.066	0.215
B04	0.001	0.175	0.257	0.014	0.017	0.019	0.410
B05	0.002	0.085	0.151	0.010	0.018	0.007	0.214
B06	0.000	0.381	0.251	0.013	0.023	0.020	0.411
B07	0.000	0.134	0.171	0.001	0.014	0.014	0.283
B08	0.000	0.148	0.409	0.003	0.045	0.021	0.620
B09	0.002	0.271	0.275	0.028	0.009	0.012	0.517
B10	0.000	0.400	0.200	0.016	0.037	0.014	0.394
B11	0.001	0.386	0.027	0.000	0.025	0.012	0.008
B12	0.000	0.271	0.274	0.014	0.045	0.013	0.363
B13	0.000	0.580	0.380	0.012	0.068	0.018	0.440

Tabla 25 (c) (cont.)- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

B14	0.000	0.161	0.349	0.003	0.039	0.015	0.577
B15	0.000	0.495	0.034	0.000	0.015	0.007	0.009
B16	0.000	0.122	0.174	0.001	0.021	0.014	0.266
B17	0.000	0.618	0.389	0.033	0.017	0.014	0.614
B18	0.000	0.919	0.309	0.007	0.060	0.023	0.505
B19	0.000	0.544	0.252	0.008	0.024	0.019	0.366
B20	0.000	0.192	0.164	0.001	0.014	0.012	0.238
I01	0.000	0.007	0.023	0.000	0.002	0.006	0.104
I02	0.000	0.006	0.023	0.000	0.002	0.005	0.103
I03	0.000	0.014	0.005	0.000	0.001	0.006	0.002
I04	0.000	0.006	0.023	0.000	0.002	0.005	0.103
I05	0.000	0.010	0.054	0.000	0.004	0.003	0.186
I06	0.002	0.015	0.006	0.000	0.000	0.007	0.000
I07	0.000	0.004	0.050	0.000	0.003	0.005	0.203
I08	0.000	0.005	0.047	0.001	0.003	0.003	0.165
I09	0.000	0.000	0.027	0.000	0.001	0.000	0.197
I10	0.001	0.013	0.330	0.000	0.015	0.001	0.943
I11	0.003	0.014	0.334	0.000	0.016	0.001	0.957
I12	0.000	0.001	0.036	0.003	0.002	0.000	0.231

Tabla 25 (d).- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

CASOS	DA	HMB	EDD	DDA	D334TM	B4H3ME	HXD
S01	0.251	0.009	0.329	0.053	0.041	0.048	0.033
S02	0.256	0.029	0.663	0.044	0.013	0.003	0.082
S03	0.353	0.006	0.629	0.049	0.017	0.003	0.169
S04	0.201	0.007	0.361	0.012	0.006	0.001	0.040
S05	0.319	0.012	0.377	0.034	0.039	0.012	0.065
S06	0.172	0.012	0.408	0.021	0.007	0.003	0.062
S07	0.072	0.002	0.188	0.009	0.018	0.000	0.028
S08	0.222	0.009	0.216	0.011	0.004	0.008	0.027
S09	0.206	0.007	0.530	0.021	0.010	0.009	0.071
S10	0.183	0.012	0.414	0.023	0.013	0.008	0.060
S11	0.227	0.004	0.284	0.009	0.006	0.002	0.021
S12	0.483	0.010	1.011	0.043	0.020	0.001	0.169
S13	0.343	0.011	1.109	0.044	0.039	0.006	0.102
S14	0.437	0.005	0.784	0.030	0.020	0.001	0.106
S15	0.453	0.014	0.773	0.046	0.011	0.002	0.081
S16	0.485	0.012	0.720	0.073	0.012	0.003	0.071
S17	0.646	0.005	0.972	0.086	0.032	0.005	0.153
S18	0.127	0.013	0.503	0.012	0.012	0.000	0.116
S19	0.357	0.003	0.359	0.032	0.012	0.003	0.032
S20	0.408	0.004	0.937	0.072	0.021	0.003	0.153
S21	0.392	0.005	0.288	0.038	0.014	0.004	0.047
S22	0.122	0.000	0.324	0.019	0.010	0.002	0.044
S23	0.214	0.006	0.643	0.025	0.018	0.004	0.094
S24	0.405	0.002	1.388	0.081	0.052	0.004	0.150
S25	0.382	0.011	0.710	0.071	0.016	0.014	0.080
S26	0.115	0.000	0.356	0.019	0.014	0.004	0.042
B01	0.079	0.004	0.055	0.001	0.002	0.001	0.003
B02	0.059	0.002	0.052	0.002	0.000	0.000	0.002
B03	0.059	0.002	0.046	0.000	0.001	0.000	0.000
B04	0.046	0.020	0.171	0.007	0.036	0.025	0.006
B05	0.054	0.004	0.049	0.000	0.001	0.000	0.000
B06	0.174	0.032	0.160	0.006	0.002	0.007	0.004
B07	0.113	0.025	0.121	0.001	0.003	0.007	0.005
B08	0.113	0.029	0.061	0.002	0.002	0.000	0.013
B09	0.170	0.042	0.333	0.021	0.008	0.012	0.010
B10	0.115	0.029	0.234	0.016	0.033	0.030	0.003
B11	0.066	0.008	0.039	0.002	0.000	0.002	0.003
B12	0.137	0.034	0.175	0.002	0.002	0.003	0.005
B13	0.110	0.032	0.135	0.006	0.003	0.005	0.001

Tabla 25 (d) (cont.)- Proporción relativa de los congéneres menos volátiles en las muestras

B14	0.109	0.033	0.186	0.003	0.004	0.005	0.001
B15	0.083	0.013	0.003	0.001	0.001	0.003	0.000
B16	0.109	0.024	0.098	0.000	0.005	0.003	0.003
B17	0.184	0.070	0.308	0.010	0.009	0.008	0.004
B18	0.159	0.040	0.244	0.002	0.008	0.004	0.001
B19	0.159	0.038	0.113	0.001	0.002	0.004	0.002
B20	0.102	0.032	0.079	0.002	0.004	0.004	0.004
I01	0.017	0.007	0.062	0.004	0.002	0.002	0.002
I02	0.017	0.003	0.059	0.003	0.001	0.002	0.001
I03	0.026	0.009	0.000	0.002	0.001	0.003	0.001
I04	0.017	0.004	0.060	0.000	0.002	0.002	0.001
I05	0.017	0.001	0.102	0.000	0.002	0.000	0.002
I06	0.023	0.008	0.000	0.001	0.000	0.002	0.001
I07	0.014	0.003	0.144	0.000	0.003	0.001	0.001
I08	0.015	0.004	0.082	0.001	0.002	0.002	0.001
I09	0.004	0.000	0.088	0.002	0.002	0.000	0.000
I10	0.012	0.000	0.394	0.000	0.005	0.000	0.000
I11	0.014	0.000	0.399	0.000	0.005	0.000	0.000
I12	0.005	0.000	0.119	0.000	0.004	0.000	0.000

Cada muestra de whisky en este perfil puede considerarse como un vector de veintiocho componentes correspondientes a los cocientes de altura de cada pico congénere y el del acenafteno. A la matriz de datos de dimensión 58 x 28 se le aplicó la misma marcha seguida en el estudio del perfil metálico.

III.4.2. Análisis en componentes principales (PCA) y análisis "cluster" (CA)

Al efectuar el PCA sobre la matriz de datos exigiendo unas comunalidades de al menos 0.8 para las variables, se obtuvieron 11 PCs que explican el 91.3 % de la variabilidad total de los datos. Los valores de los "loadings" para los 11 PCs se indican en la Tabla 26.

Tabla 26.- Valores de los "loadings" de los componentes principales (PC1-PC6)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
PDA	0.395	-0.764	0.026	0.028	0.142	-0.028
EP	0.422	-0.524	0.281	0.129	0.259	0.245
DEE	0.332	-0.536	-0.291	-0.338	-0.330	0.185
DEMP	0.560	0.095	-0.324	-0.109	-0.095	0.261
DEB	0.852	0.142	-0.116	0.077	0.065	0.244
FC	0.609	-0.213	0.265	0.180	0.391	0.262
IPA	0.603	0.072	0.459	-0.007	-0.122	0.274
EF	-0.031	-0.926	-0.052	-0.032	-0.003	-0.059
EEP	0.048	-0.436	-0.262	-0.388	-0.394	0.364
EH	0.916	-0.258	-0.075	0.096	0.141	0.040
BE	0.660	-0.413	0.311	0.228	0.262	-0.123
OE	0.953	0.047	-0.146	0.040	0.076	0.090
HPA	0.867	0.312	-0.152	0.133	0.055	0.123
FEA	0.666	0.034	0.559	-0.046	-0.192	0.101
MOL	-0.133	-0.593	0.153	0.012	-0.187	0.030
ED	0.921	0.189	-0.138	-0.106	-0.007	-0.030
DA	0.908	0.096	-0.247	0.108	0.019	-0.021
HMB	0.060	-0.853	-0.032	0.103	-0.081	-0.210
EDD	0.869	0.273	-0.161	-0.122	-0.056	-0.128
DDA	0.823	0.291	-0.137	0.110	-0.127	-0.049
HXD	0.801	0.338	-0.242	-0.055	-0.001	-0.088
D334TM	0.681	0.276	0.228	0.150	-0.480	-0.222
B4HBME	0.210	-0.120	0.399	0.524	-0.615	-0.044
DEP	0.492	-0.051	-0.228	0.141	0.046	-0.586
P	0.480	0.134	0.382	-0.595	0.040	-0.304
MP	0.345	0.258	0.566	-0.598	0.111	-0.072
EHP	0.371	-0.641	-0.072	-0.269	-0.052	-0.20
EB	0.575	-0.547	-0.134	-0.072	0.035	-0.151

Tabla 26 (cont.)- Valores de los “loadings” de los componentes principales (PC7-PC11)

	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11
PDA	-0.151	-0.017	-0.021	-0.072	-0.010
EP	0.137	0.232	0.069	-0.057	-0.193
DEE	-0.070	0.159	0.108	-0.247	-0.125
DEMP	0.166	-0.497	-0.282	0.086	-0.299
DEB	-0.105	-0.181	0.024	-0.177	-0.065
FC	-0.389	-0.070	-0.059	-0.083	0.068
IPA	0.469	0.012	0.173	0.058	0.052
EF	0.021	0.095	0.012	0.048	-0.133
EEP	-0.177	-0.189	0.192	-0.089	0.314
EH	0.023	-0.020	-0.030	0.109	0.044
BE	-0.038	-0.191	0.048	-0.033	0.168
OE	-0.027	0.063	-0.022	0.036	0.059
HPA	0.033	-0.079	-0.138	-0.013	-0.001
FEA	0.206	-0.142	0.105	0.062	0.143
MOL	0.245	0.250	-0.588	-0.236	0.170
ED	0.052	0.128	0.052	0.062	0.030
DA	-0.011	0.081	-0.082	0.025	0.021
HMB	-0.217	-0.052	0.082	0.214	-0.038
EDD	-0.027	0.202	0.017	0.092	0.029
DDA	-0.226	0.250	-0.090	-0.007	0.034
HXD	0.022	0.253	0.033	0.041	0.072
D334TM	-0.104	0.055	-0.002	0.037	-0.078
B4HBME	-0.204	-0.083	-0.013	-0.024	-0.131
DEP	0.240	-0.311	0.096	-0.363	0.098
P	-0.195	-0.144	-0.108	-0.107	-0.110
MP	-0.116	0.070	-0.042	-0.044	-0.082
EHP	0.084	-0.133	-0.172	0.394	0.119
EB	0.253	0.125	0.234	-0.065	-0.185

Como puede observarse, las variables que más contribuyen en los primeros factores son DEB, EH, EO, HPA, ED, DA, EDD, DDA y HXD (PC1) y PDA, EF y HMB (PC2), fundamentalmente ésteres y ácidos. El “scores plot” correspondiente a los dos primeros PCs se presenta en la Figura 21

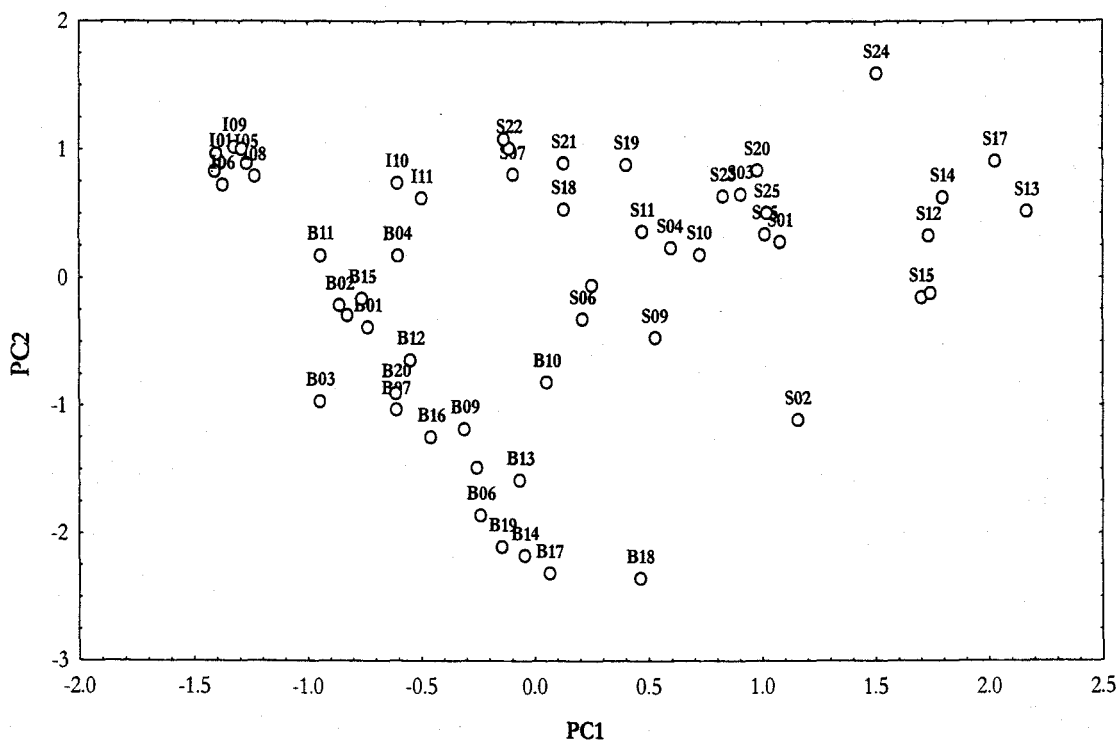


Figura 21.- “Scores plot” de las muestras estudiadas para los dos primeros componentes principales del perfil menos volátil.

Como puede observarse, existe un patrón de distribución de las muestras pertenecientes a las tres clases consideradas. Las muestras de bourbon presentan una estructura de agrupación cuasi lineal, en una zona definida de la carta. Las muestras de whisky escocés presentan un patrón mucho menos regular y mayor dispersión, aunque también restringidos a una zona aparte de la carta. Los whiskeys irlandeses, por último, presentan una clara falta de homogeneidad: Las muestras de Midleton se encuentran densamente agrupadas en una zona separada de la carta. Sin embargo las que corresponden a whiskeys de Irlanda del Norte (Old Bushmills) aparecen juntas pero separadas de las de Midleton y confundidas con la agrupación de los escoceses y bourbons, más cerca de éstos últimos. De todos modos, se trata de una visión muy mediatizada de la distribución real puesto que sólo hemos considerado los dos primeros componentes principales, aunque muestra de manera evidente que las tres clases de whiskies se encuentran relativamente bien separadas y por lo tanto, es de esperar una buena discriminación cuando se apliquen los métodos de reconocimiento de patrones con aprendizaje supervisado.

Para comprobar si las variables más contributivas a los dos primeros PCs bastan para discriminar las tres clases de whiskies se aplicó el análisis “cluster” jerárquico de casos seleccionando como variables DEB, EH, EO, HPA, ED, DA, EDD, DDA, HXD, PDA, EF y HMB. Empleando la distancia euclídea como medida de la similaridad y el método de Ward como regla de formación de “clusters”, se obtiene el dendrograma siguiente

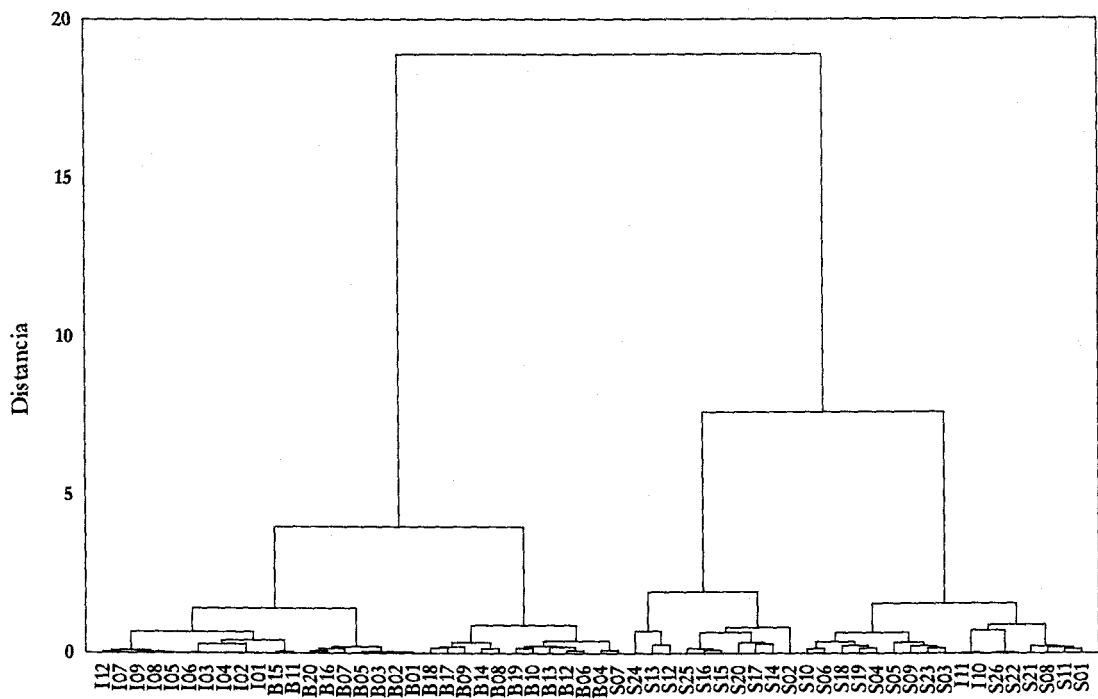


Figura 22.- Dendrograma correspondiente al análisis “cluster” jerárquico del los whiskies usando los congéneres menos volátiles como variables

Como puede observarse, existe una separación excelente entre las tres clases de whiskies con la excepción de las dos muestras de Irlanda del Norte que han sido clasificadas dentro de la agrupación de los whiskies escoceses. Este hecho como veremos más adelante no es sorprendente habida cuenta la elaboración del whiskey de Old Bushmills.

Así pues, con la excepción apuntada, los dos métodos de visualización (PCA y CA) muestran una separación entre las clases consideradas, que presume la aplicación exitosa de los métodos supervisados de clasificación.

III.4.3. Métodos supervisados de reconocimiento de patrones

La técnica KNN se ha utilizado normalizando los descriptores y empleando como procedimiento de validación el "leave-one-out". Se ha tabulado el % de falsos positivos y negativos dependiendo del número de vecinos escogido (K), como se observa en la Tabla 27. El éxito en la predicción osciló entre un 98% (1,5) y 100% (3).

Tabla 27.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las tres clases de whisky aplicando KNN sobre el perfil menos volátil

Clase	% falsos negativos (K)	% falsos positivos (K)
S	3.8 (1) - 0.0 (3,5)	0.0 (1,3,5)
B	0.0 (1,3,5)	2.6 (1,5)- 0.0 (3)
I	0.0 (1,3) - 8.3 (5)	0.0 (1,3,5)

A tenor de estos resultados, el método 3NN presenta una predicción de un 100% con una probabilidad de 0% de falsos positivos y falsos negativos, para cualquiera de las tres clases consideradas, ofreciendo magníficas perspectivas.

El método PDA/PLS-DA se ha aplicado una vez se han construido los 10 conjuntos de calibración y validación. Como el método realiza los cálculos en el espacio de los componentes principales, no es necesaria una reducción de variables previa (a no ser que fuesen grandes generadoras de ruido) y por lo tanto se han utilizado los valores de los 28 descriptores. Los resultados que se discuten a continuación se refieren al comportamiento promedio de las 10 ejecuciones.

El número de factores establecido mediante el método de crosvalidación resultó ser de 11, lo cual se encuentra en perfecta armonía con el número de componentes principales extraídos de la matriz total de datos considerando los valores de las comunalidades. El porcentaje de reconocimiento (conjunto de calibración) resulta ser de alrededor del 95% y el éxito en la predicción (conjunto de validación) de un 97%. Los resultados expresados como % de falsos positivos y falsos negativos para el conjunto de validación se presentan en la Tabla 28

Tabla 28.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las tres clases de whisky aplicando PLS-DA sobre el perfil menos volátil

Clase	% falsos negativos	% falsos positivos
S	0.0	0.0
B	0.0	4.2
I	12.5	0.0

A tenor de los resultados obtenidos puede decirse que ciertos whiskeys irlandeses (Old Bushmills) se confunden con los bourbons. Esto ya se observaba al contemplar el “scores plot”, y como el método PDA/PLS-DA trabaja en el espacio de los PCs, ésta es la tendencia observada. No obstante, si se repiten los cómputos eliminando las dos muestras de whiskey de Irlanda del Norte, el resto de los whiskeys irlandeses no se confunde con ningún bourbon, cayendo a 0% los falsos negativos de los whiskeys irlandeses y también a 0% los falsos positivos de los bourbons.

Al aplicar el procedimiento CMLDA se usaron los mismos conjuntos de calibración y validación preparados en el apartado anterior. Como antes, se consideraron los resultados promedio de los obtenidos en cada ejecución. Como el método CMLDA realiza una reducción previa del número de variables de acuerdo con el criterio Lambda de Wilks “Backward stepwise method”, las variables seleccionadas fueron las siguientes: PDA, IPA, BE, EO, HPA, ED, DA, DDA, HXD, D334TM y MP. No obstante, se realizó una reducción ulterior basándonos en el valor del “p-level” y el % de éxito en la asignación del conjunto completo. Los descriptores escogidos finalmente fueron 8 a saber: IPA, BE, HPA, ED, DA, DDA, HXT y D334TM. La relación entre casos y variables es de 58/8 >7.

Los radios de las tres clases evaluados a partir de los conjuntos de calibración y utilizando el ensayo F con un nivel de significación del 5% resultaron ser 2.99, 3.01 y 3.08 para los escoceses, bourbons e irlandeses, respectivamente. El porcentaje de reconocimiento (conjunto de calibración) resulta ser de alrededor del 100% y el éxito en la predicción (conjunto de validación) de un 96%. Los resultados expresados como % de falsos positivos y falsos negativos para el conjunto de validación se presentan en la Tabla 29.

Tabla 29.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las tres clases de whisky aplicando CMLDA sobre el perfil menos volátil

Clase	% falsos negativos	% falsos positivos
S	6.2	0.0
B	5.0	1.7
I	0.0	10.7

En este caso observamos, una mayor acentuación de los falsos negativos para las muestras de escoceses y bourbons, así como una inversión entre los valores de falsos positivos y negativos para el caso de los whiskeys irlandeses. Esto sucede porque al trabajar en el espacio de las variables canónicas o funciones discriminantes, se ha minimizado la varianza intraclásica frente a la interclásica y, tiene lugar una compactación de las muestras alrededor del centroide, con una tendencia a preferir los falsos positivos a los falsos negativos.

En el caso de las muestras de whiskey irlandés, el apiñamiento es considerablemente mayor que en el resto, que presentan mayor dispersión. Como en este caso los radios de confianza son muy semejantes, las muestras irlandesas no penetran los círculos de las clases vecinas, pero algunas muestras ajenas sí penetran la clase de los whiskeys irlandeses. Así se observa para uno de los conjuntos de datos procesados en el "scatteplot" de las dos funciones discriminantes que se presenta en la Figura 23.

En este caso particular no hay ninguna muestra irlandesa que se introduzca en las clases vecinas, pero hay 3 muestras escocesas y 3 bourbons que penetran su frontera. Es notorio reseñar que en este tratamiento las muestras de Old Bushmills no se separaron del resto de las irlandesas.

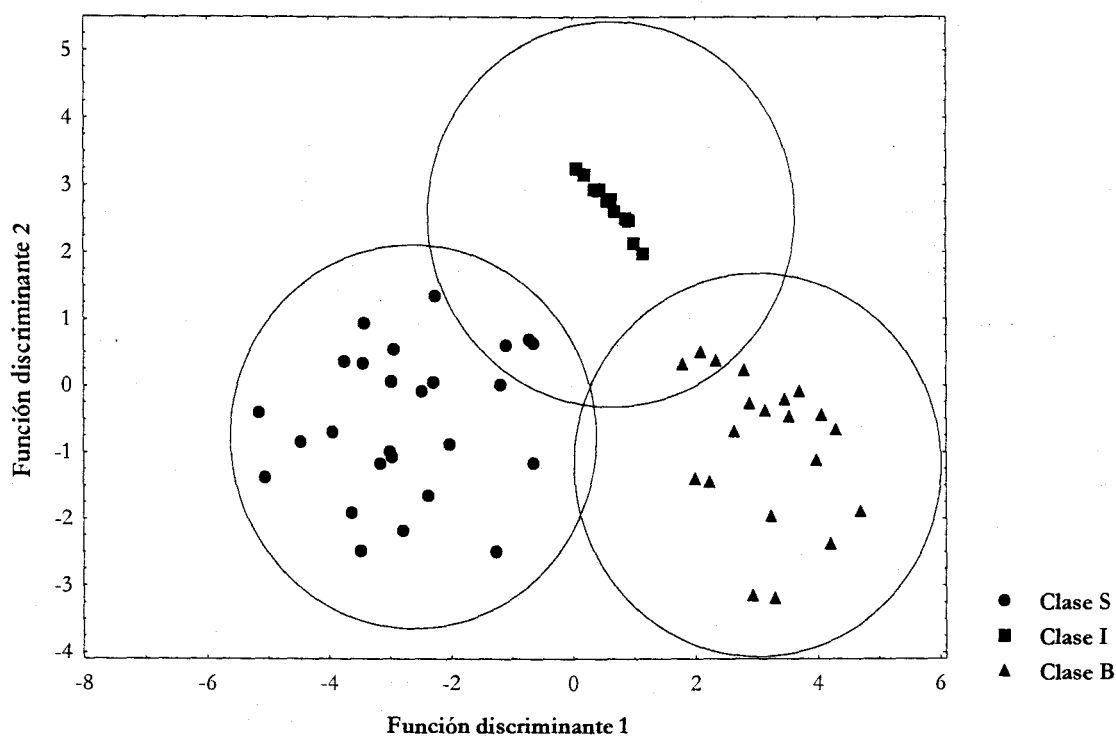


Figura 23.- Representación de las muestras de whisky en el espacio discriminante según el perfil menos volátil

Para la aplicación del método BPNN, se diseñó una red neuronal artificial con la siguiente arquitectura: una capa de 28 neuronas inactivas correspondientes a los congéneres, una capa oculta de dos neuronas, y una capa de salida con tres neuronas, una para cada clase de whisky (5 x 2 x 3 más bias). El entrenamiento se realizó por retropropagación con una velocidad de aprendizaje (η) de 0.2 y un momento (μ) de 0.5. El error en la clasificación de los "targets" se estableció en un 0.2, se empleó una función de transferencia sigmoidea y se realizaron las clasificaciones cada 100 épocas. Los objetos fueron previamente normalizados en el intervalo de valores de variables de -1 a 1. Los pesos iniciales se establecieron al azar dentro del intervalo -0.1 a 0.1, la selección de objetos para el conjunto de aprendizaje se realizó al azar. Las salidas fueron normalizadas a 0 y 1.

Los "targets" (t), escritos en código binario son (1 0 0) para S, (0 1 0) para B y (0 0 1) para I. Los valores de salida (sal) se compararán con aquéllos. El porcentaje de acierto en la clasificación se calcula con la misma expresión que en el caso del perfil metálico.

Al igual que en tratamientos anteriores, se realizaron 10 conjuntos de aprendizaje y de predicción para la calibración y validación del método. Así, se obtuvo un promedio de 100%

de aciertos en la clasificación del conjunto de aprendizaje y de un 97% de acierto para el conjunto de evaluación. Los porcentajes de falsos positivos y falsos negativos para cada clase se indican en la Tabla 30.

Tabla 30.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las tres clases de whisky aplicando BPNN sobre el perfil menos volátil

Clase	% falsos negativos	% falsos positivos
S	5.0	0.0
B	3.3	3.0
I	0.0	2.1

Resulta notable el buen funcionamiento de la red neuronal para la asignación de muestras de whiskey irlandés, que en los dos procedimientos anteriores presentaba excesivos falsos positivos (CMLDA) o negativos (PLS-DA).

Si no se consideran las dos muestras de whiskey irlandés procedentes de Old Bushmills, el número de falsos positivos cae a 0% como ya ocurría al procesar los datos por CMLDA.

La causa fundamental de la mejora en los valores de la sensibilidad y especificidad puede asignarse al proceso de entrenamiento en este tipo de redes neuronales. Como trabajamos en el espacio de las variables, y existe de hecho una separación entre las muestras irlandesas de Midleton y de Old Bushmill, cuando se entrena (al azar) con muestras de Midleton y se predicen las de Old Bushmills éstas aparecen como falsos negativos. Si por el contrario, las de Old Bushmills entran en el conjunto de aprendizaje, extienden el ámbito de los irlandeses más allá y otras muestras ajenas pueden ser clasificadas como aquéllas dando falsos positivos.

Aparte del excelente resultado obtenido al aplicar un ensayo no paramétrico como el 3NN, para cualquier tipo de whisky, tanto los métodos paramétricos (PLS-DA como CMLDA) como los basados en redes neuronales proporcionan resultados suficientemente buenos, con sensibilidades y especificidades superiores a 87.5 y 89.3, respectivamente. No existen, pues grandes diferencias entre los resultados obtenidos por cada uno de los métodos, lo que indica que cualquiera es bueno, o como corolario, que las variables seleccionadas en este

perfil permiten la discriminación y asignación de clases sin grandes problemas de falsos positivos y negativos.

III.4.4. Estructura intraclásica de segundo orden

Dentro de las dos otras categorías estudiadas de whisky, a saber el escocés malta puro y el bourbon, existen algunos factores que apuntan la posibilidad de un efecto de segundo orden dentro de cada clase, es decir, encontrar subclases diferentes dentro de las categorías. En el caso de los escoceses, el factor ambiental relativo al tipo de suelo y por lo tanto de turba, puede ser causa de anidamiento; así los whiskies de las islas podrían presentar diferencias con respecto a los de las Highlands y Lowlands sobre todo en la etapa del *turbeado*, que le confiere un sabor ahumado-fenólico a los primeros. Por otra parte, el factor relacionado con la elaboración parece indicarnos que los “sour-mash bourbon” y los “straight” podrían originar dos subclases. Por lo tanto, a continuación realizaremos un breve estudio aplicando los métodos anteriores al conjunto de los datos de whiskies escoceses por una parte y el de los datos de los bourbons por otra para comprobar si efectivamente hay una estructura de segundo orden en dichas categorías.

III.4.4.1. Diferenciación entre whiskies de las islas y del resto de Escocia

Antes de nada es necesario visualizar si efectivamente esta tendencia se observa en los datos. Para ello se realizó un PCA en la submatriz de datos que contiene únicamente los whiskies escoceses. El correspondiente “scores plot” para los dos primeros componentes principales no muestra ninguna separación neta entre los dos grupos indicados, como se observa en la Figura 24.

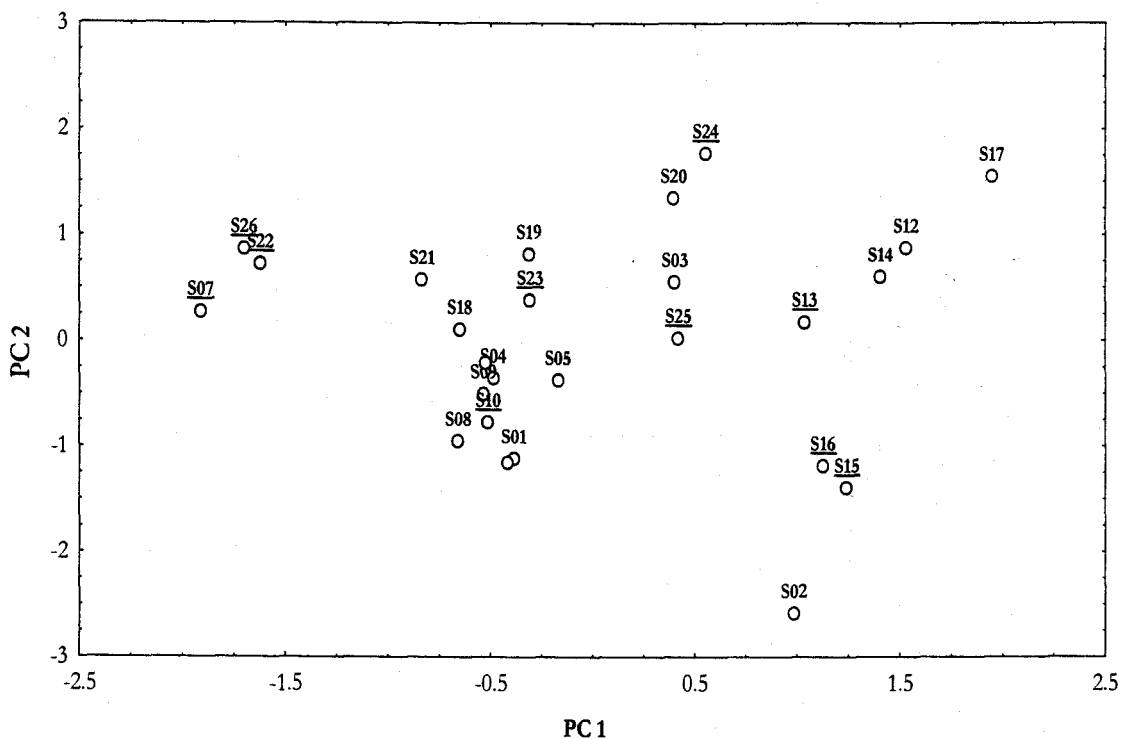


Figura 24.- "Scores plot" de las muestras estudiadas (Islas y resto de Escocia).

Las muestras de las islas se encuentran subrayadas en la Figura 24. Como puede verse, la distribución es fuertemente no lineal y aparentemente no puede inferirse nada acerca de la separabilidad. No obstante, de toda la gama de variables consideradas, solo unas cuantas son realmente discriminatorias para los whiskies de las islas, con lo cual, el problema de la separación puede ser aparente dada la magnitud de ruido producido por las variables irrelevantes para tal clasificación. Así pues, se procedió a una selección de las variables más discriminatorias empleando el método de Wilks. Las variables seleccionadas fueron BE, EO, HPA, FEA, ED, EDD y MP. De éstas, tres de ellas (BE, FEA y MP) son sustancias con anillos bencénicos. Una de ellas es el cresol, que contribuye al aroma típicamente fenólico de los whiskies de las islas. El resto consiste en compuestos alifáticos (ésteres en su mayoría) de 10 a 14 átomos de carbono. Si con estas variables seleccionadas se repite el PCA, el correspondiente "scores plot" para los dos primeros componentes principales presenta una clara separación entre las dos categorías (Figura 25).

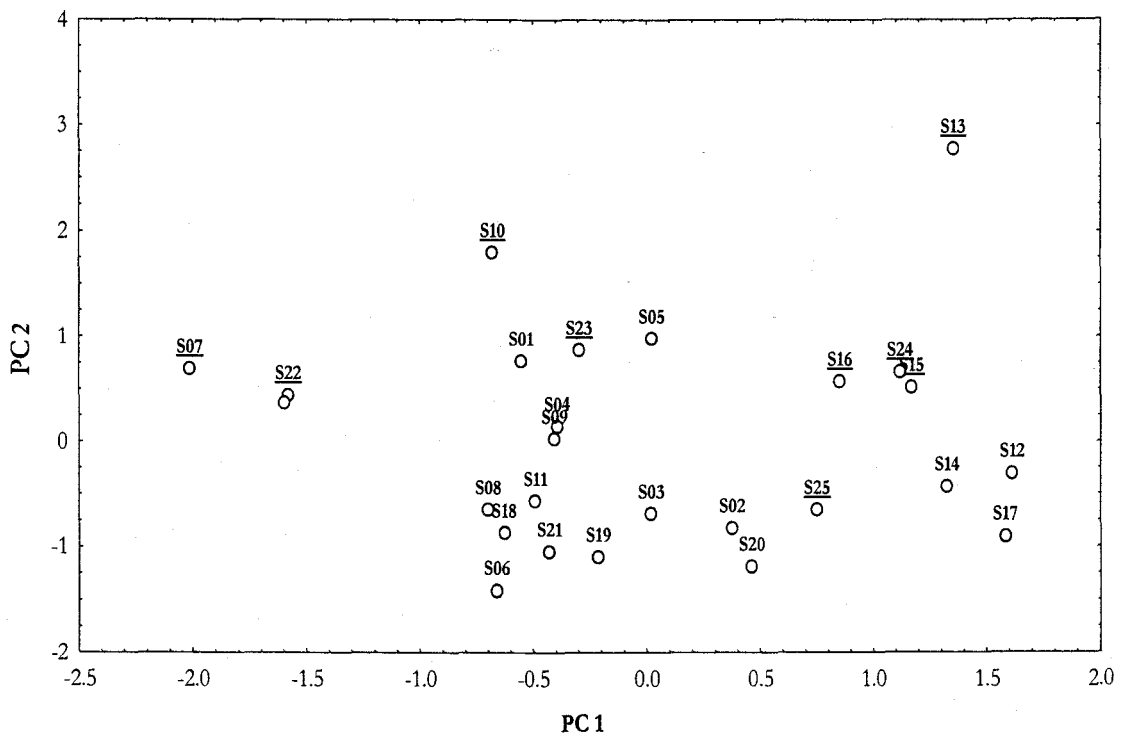


Figura 25.- "Scores plot" de las muestras seleccionando variables (Islas y resto de Escocia)

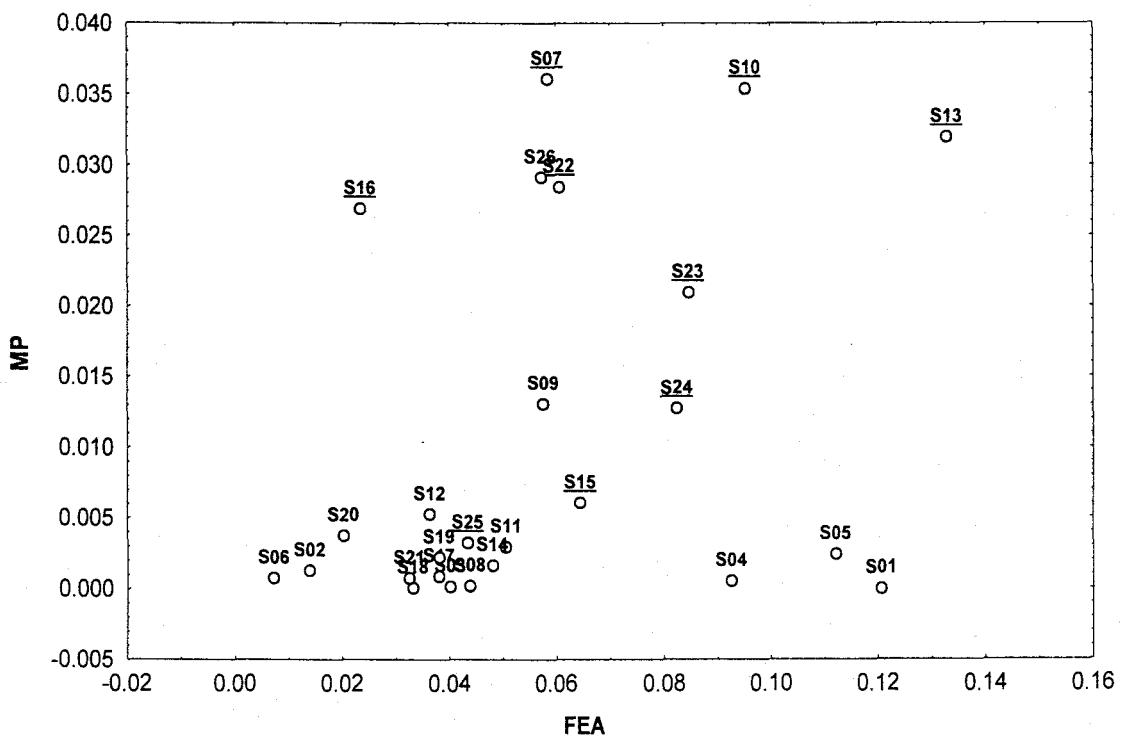


Figura 26.- Representación de la variable FEA frente a MP (Islas y resto de Escocia)

El componente principal decisivo en la mejor separación de las muestras es el segundo. Las variables que más contribuyen a PC2 son FEA y MP, como era previsible. La representación de las muestras empleando como ejes estas dos variables conduce a una separación de categorías relativamente buena, como se puede observar en la Figura 26. Es curioso reseñar que las dos muestras de whisky de las islas que se confunde con el resto de los escoceses corresponden a los producidos en las islas Orcadas (S15 y S25).

Con estas variables seleccionadas se procedió a aplicar el procedimiento CMLDA (95%, 2 colas) en orden a evaluar la sensibilidad y selectividad para las dos subclases. En la tabla siguiente se presentan los valores finales promedio de 10 conjuntos diferentes (elegidos al azar) de entrenamiento y evaluación.

Tabla 31.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las dos clases de whisky escocés aplicando CMLDA sobre el perfil menos volátil

	% Falsos negativos	% Falsos positivos
Islas	10	0
Resto de Escocia	0	12.5

Los resultados pueden considerarse aceptables para los propósitos de clasificación. El método PLS-DA (utilizando todas las variables y seleccionando 9 componentes principales) produce buenos resultados para la sensibilidad y especificidad, como se indica a continuación en la Tabla 32

Tabla 32.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las dos clases de whisky escocés aplicando PLS-DA sobre el perfil menos volátil

	% Falsos negativos	% Falsos positivos
Islas	3.3	2.5
Resto de Escocia	2.5	3.3

Estos resultados, validan la tesis de la diferente composición de estas dos subclases de whisky. No obstante, habría que subrayar que el tratamiento ha sido realizado aislando las muestras escocesas del resto de muestras no escocesas y que de haberlo realizado sin este anidamiento, no se hubieran obtenido resultados concluyentes.

III.4.4.2 Diferenciación entre “sour-mash” y “straight bourbons”

Al igual que en el apartado anterior, se obtuvo el “scores plot” correspondiente a los dos primeros componentes principales extraídos mediante un PCA sobre la submatriz de datos correspondientes a los bourbons. La distribución, como en el apartado anterior es fuertemente no lineal y no podemos deducir nada acerca de la separabilidad. Si realizamos una selección de las variables más discriminatorias empleando el método de Wilks. Las variables seleccionadas fueron EP, EF, EH, FEA y D334TM, que corresponden a ésteres de bajo peso molecular, de ácidos alifáticos de 2 a 6 átomos de carbono. Al repetir el PCA con estas variables seleccionadas, el correspondiente “scores plot” para los dos primeros componentes principales no presentó ninguna mejora sustancial. Por lo tanto, se procedió a emplear métodos supervisados de reconocimiento de patrones.

El método PLS-DA (utilizando todas las variables y seleccionando 7 componentes principales) condujo a resultados aceptables para la sensibilidad y especificidad, como se indica a continuación en la Tabla 33.

Tabla 33.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las dos clases de bourbon empleando PDA sobre le perfil menos volátil

	% Falsos negativos	% Falsos positivos
Sour-mash	6	4
Straight	4	6

Con las variables seleccionadas por el método de Wilks se procedió a aplicar el procedimiento CMLDA (95%, 2 colas) en orden a evaluar la sensibilidad y selectividad para las dos subclases. En la Tabla 34 se presentan los valores finales.

Tabla 34.- Porcentajes de falsos positivos y negativos en las dos clases de bourbon empleando CMLDA sobre el perfil menos volátil

	% Falsos negativos	% Falsos positivos
Sour-mash	4	4
Straight	14	2

De todo ello podemos inferir que, es posible una diferenciación relativamente aceptable, usando las técnicas en grupos anidados. Para los "sour-mash bourbons" las sensibilidades oscilaron entre 94-96% y las especificidades sobre el 96%. Para los "straight bourbons", las sensibilidades lo hicieron entre 86-96% y las especificidades entre 94-98 %.

REFERENCIAS

Casamayor, P. y Colombani, M., El libro del amante del whisky, El cuerno de la abundancia, Barcelona, 1985

Kaiser, H. F., Educ. Psych. Means, 20, 141, 1966

Miller, J. C. y Miller, J. N., Statistics for analytical chemistry, Ellis Horwood Limited, 1988

Muñoz Ramos, J., Enciclopedia de los alcoholes, Enciclopedias Planeta, 1996

Schoeneman, R. L., y Dyer, R. H., Journal of the AOAC, 56, 1-10, 1972

Schwartz, L. M., Anal. Chem., 49, 2062, 1977

RESUMEN

RESUMEN

El propósito básico de la memoria era proceder a la caracterización, diferenciación y autenticación de los tres principales tipos de whisky, a saber, whisky escocés de malta puro, whiskey bourbon y whiskey irlandés. Nuestros mayores esfuerzos se centraron en diferenciar este último tipo de whisky de los dos anteriores, al ser el whiskey irlandés el menos estudiado en la bibliografía. Para conseguir dicho objetivo se aplicaron diversos métodos de reconocimiento de patrones a los tres perfiles analíticos estudiados en los whiskies, a saber, aceites de fusel, metales y diversos congéneres volátiles.

El empleo de los aceites de fusel como descriptores de las muestras de whisky, condujo a una perfecta diferenciación de las tres clases de whisky. Para ello bastó el uso de únicamente los descriptores 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol, con lo cual la autenticación de nuevas muestras puede hacerse mediante una representación en dos dimensiones. Con el empleo únicamente de estos dos compuestos podemos distinguir las tres clases de whisky. Al estar la concentración de estos compuestos muy influenciada por el proceso de destilación, el whisky irlandés procedente de las destilerías de Old Bushmills aparece como excepción situado entre los whiskies escoceses y los bourbons debido a la peculiar destilación a la que es sometido.

Cuantificado el contenido metálico de las muestras de whisky mediante técnicas de absorción y emisión atómicas, los mejores resultados en la clasificación se obtuvieron empleando los métodos KNN y BPNN al apreciarse una distribución no lineal en las muestras. Se consiguió una caracterización y predicción muy buena de los bourbons, pero no se consiguió una discriminación completa de las tres clases de whisky al aparecer problemas de sensibilidad y especificidad en la predicción.

Determinada la cantidad relativa de diversos congéneres volátiles mediante cromatografía gaseosa con inyección directa de las muestras de whisky, se consiguieron notables resultados en la diferenciación de las tres clases de whisky al aplicar diversos métodos supervisados de reconocimiento de patrones. La técnica KNN proporcionó excelentes resultados con una probabilidad de 0% de falsos negativos y positivos en las tres clases de whisky estudiadas. El método PDA/PLS-DA presentó muy buenos resultados, confundiendo únicamente los whiskeys de Irlanda del Norte con los bourbons. El procedimiento CMLDA condujo a un mayor número de falsos positivos en la clasificación de los whiskeys irlandeses y

de falsos negativos en los whiskies escoceses y bourbons. El método BPNN llevó a una buena discriminación y separación de las diversas clases de whisky con unos valores aceptables de falsos positivos y negativos. Particularmente se obtuvieron muy buenos resultados con el whisky irlandés, llegándose a un 0% de falsos positivos y negativos sin considerar las muestras de Irlanda del Norte.

Hemos tratado de realizar una distinción aún más profunda, diferenciando dentro del whisky escocés los whiskies de las islas y los whiskies del resto de Escocia y distinguiendo dentro de los bourbons entre el "sour mash" y "straight bourbon". En la diferenciación entre el whisky de las islas y el whisky del resto de Escocia, se comprobó que eran muy pocos los congéneres que conducían a esa distinción debido al aumento de su concentración durante el proceso de turbeado del whisky de las islas. Por lo tanto, la representación de las variables MP frente a FEA condujo a una separación de categorías relativamente buena y los procedimientos CMLDA y PDA proporcionaron valores suficientemente buenos de sensibilidad y selectividad. Para la diferenciación entre bourbon "sour mash" y "straight" se han empleado las mismas técnicas (CMLDA y PDA) obteniéndose resultados aceptables de falsos positivos y negativos.

Se han empleado las técnicas CMLDA y PDA (PLS-DA) (desarrolladas por miembros de nuestro grupo de trabajo) comparándolas con los métodos KNN y BPNN, fundamentalmente, en el trabajo desarrollado con el perfil analítico constituido por los congéneres volátiles determinados por cromatografía gaseosa con inyección directa. Hemos obtenido resultados aceptables en la clasificación, aunque, hemos comprobado que no son las técnicas más adecuadas cuando las fronteras de separación entre clases son no lineales. Sin embargo, para el caso de la diferenciación de segundo orden, son justamente estos métodos los que han dado mejores resultados debido al filtrado de información irrelevante que se lleva a cabo con la selección de variables en CMLDA o al escoger un número pequeño de factores en el caso del PDA.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1.- Con la excepción de los whiskeys irlandeses de las destilerías Old Bushmills, el empleo de los alcoholes superiores como descriptores químicos, específicamente el 2-metil-1-propanol y 3-metil-1-butanol, conduce a una perfecta separación de las tres clases de whisky, permitiendo la autenticación mediante una representación bidimensional.
- 2.- Los descriptores metálicos no conducen a una discriminación completa de las muestras de whisky, aunque de manera particular en el caso de los bourbons producen excelentes predicciones.
- 3.- Los congéneros obtenidos por cromatografía de gases por inyección directa, conducen a una separación y discriminación aceptable de las tres clases de whisky, especialmente cuando se emplea la técnica de clasificación basada en algoritmos neuronales (BPNN).
- 4.- Las técnicas CMLDA y PDA comparadas con las más robustas KNN y BPNN no producen resultados tan buenos como aquéllas en los casos como los que nos ocupan, donde la distribución de las clases exhiben fronteras de separación profundamente no lineales.

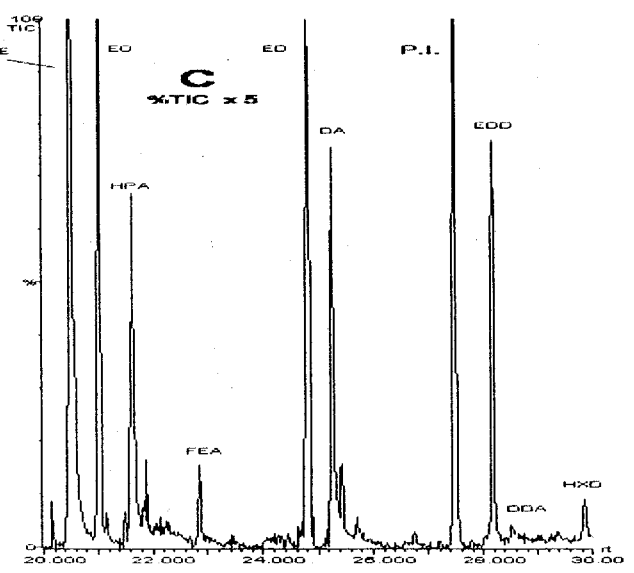
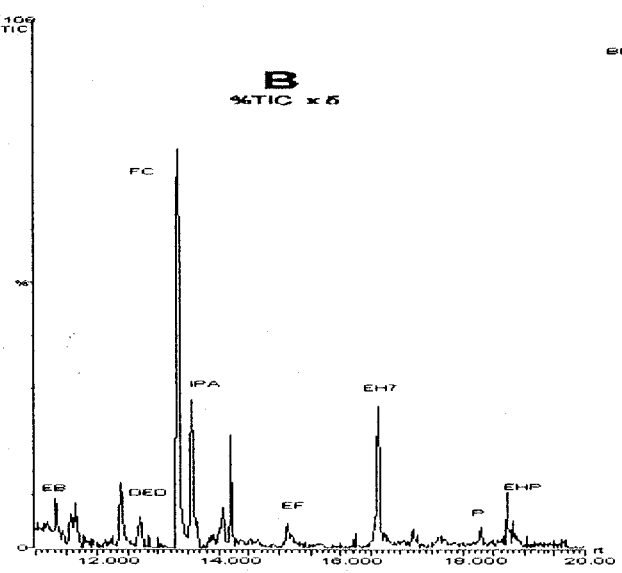
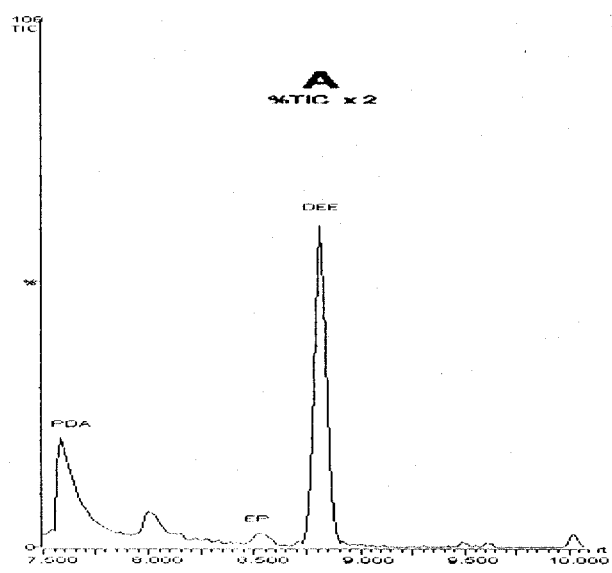
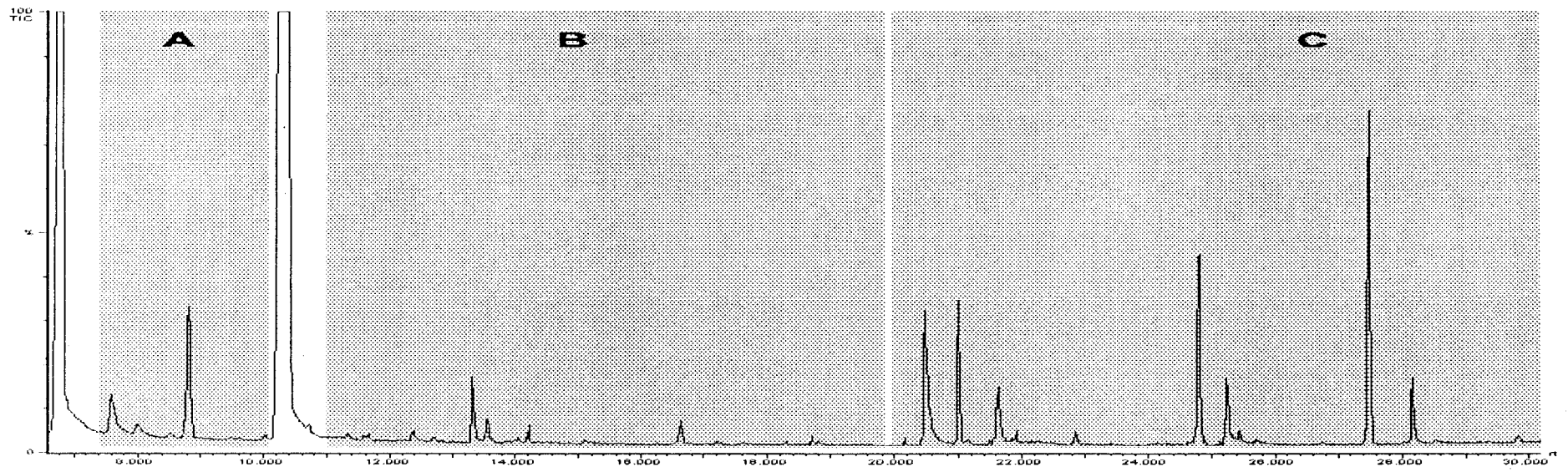
APÉNDICE A

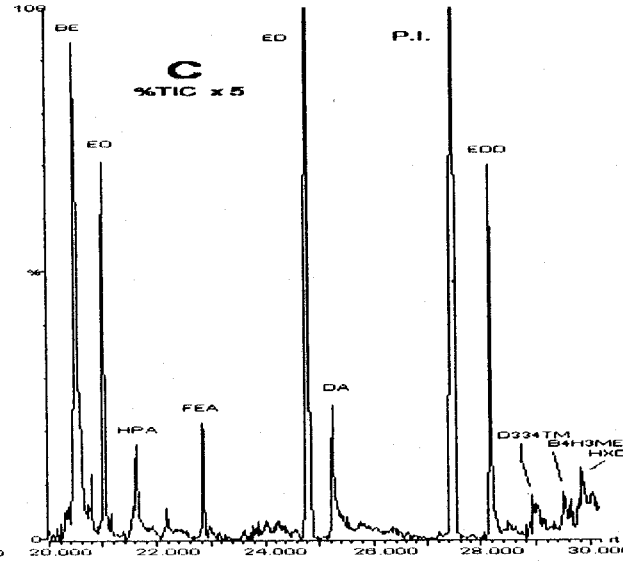
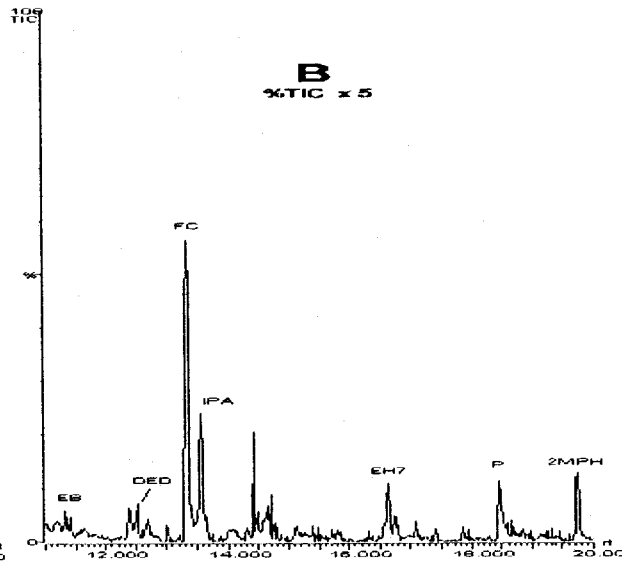
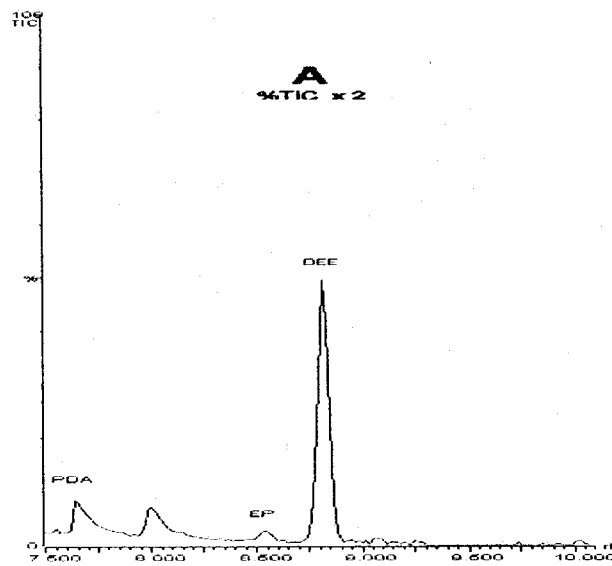
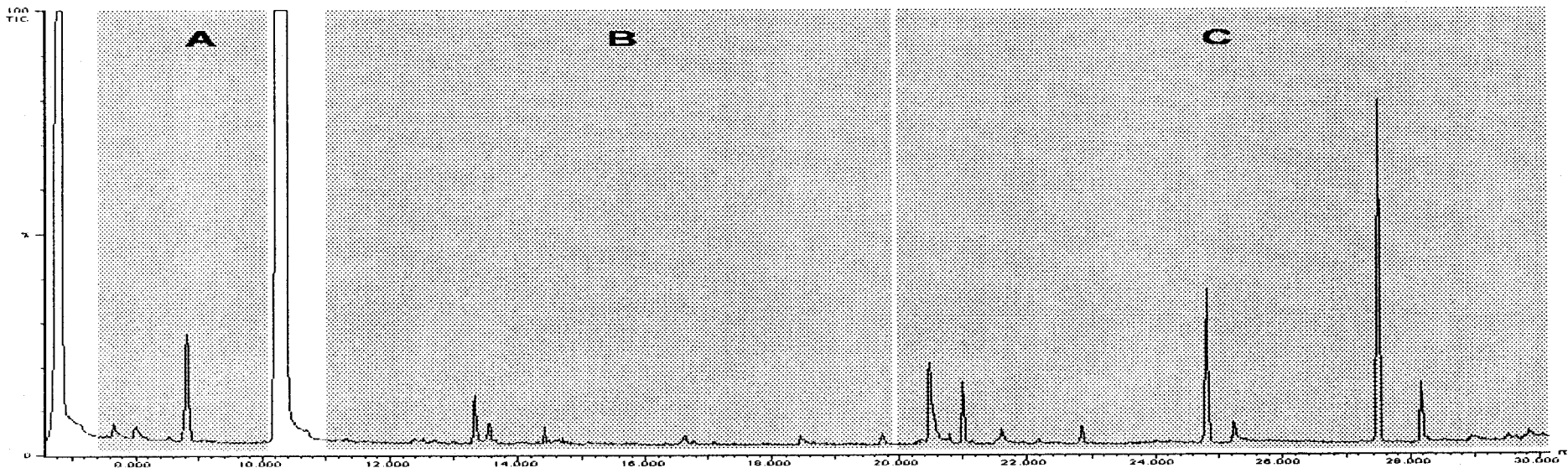
APÉNDICE A

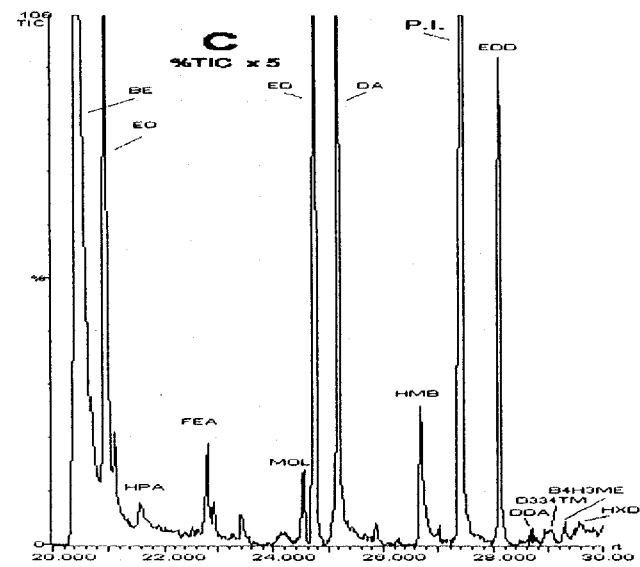
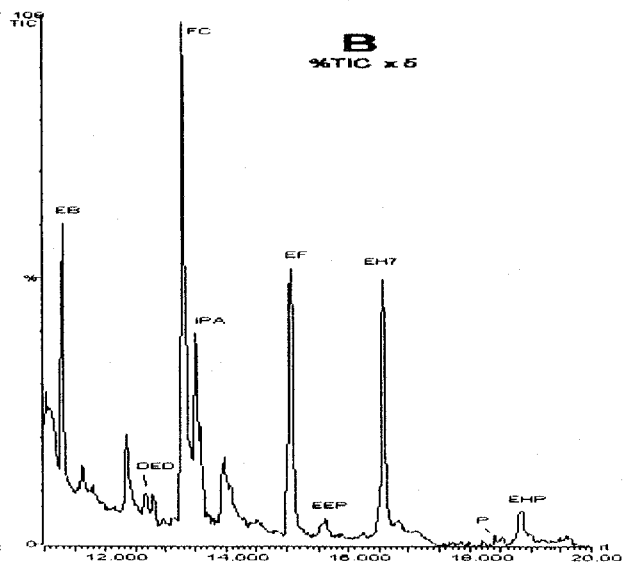
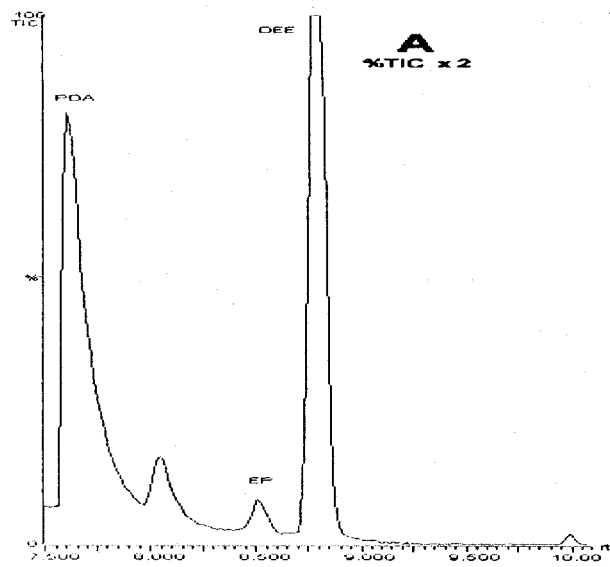
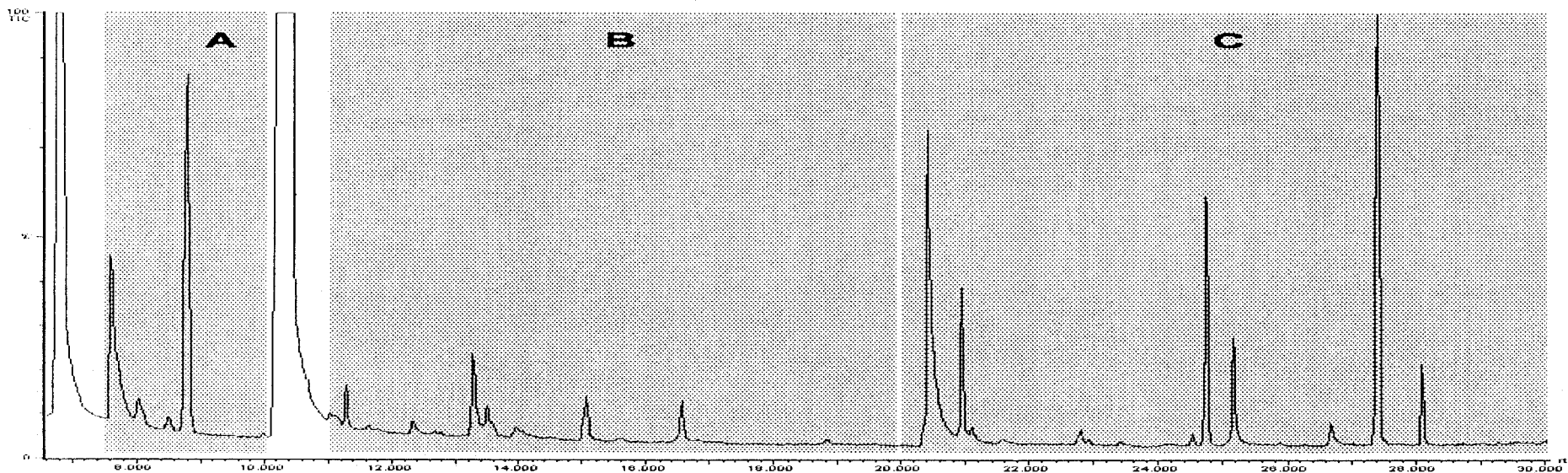
En este apéndice se presentan los cromatogramas de inyección directa de una serie de muestras representativas de los tipos de whisky más característicos estudiados en la memoria: el whisky escocés malta puro (Highlands e Islay), el bourbon (Straight y sour mash), el whiskey irlandés (destilerías Old Bushmills y Midleton) y el whisky de grano. Los cromatogramas han sido desglosados en tres porciones, A, B y C que se han magnificado para la observación de los diversos picos de los compuestos congéneres. En la tabla siguiente se indican los tiempos medios de retención para cada uno de los 28 congéneres estudiados y el patrón interno (P.I.) que fue el acenafteno. Se indican únicamente las siglas de los congéneres, pues su composición química ya se indicó en las páginas 43 y 44 (Selección de los descriptores químicos).

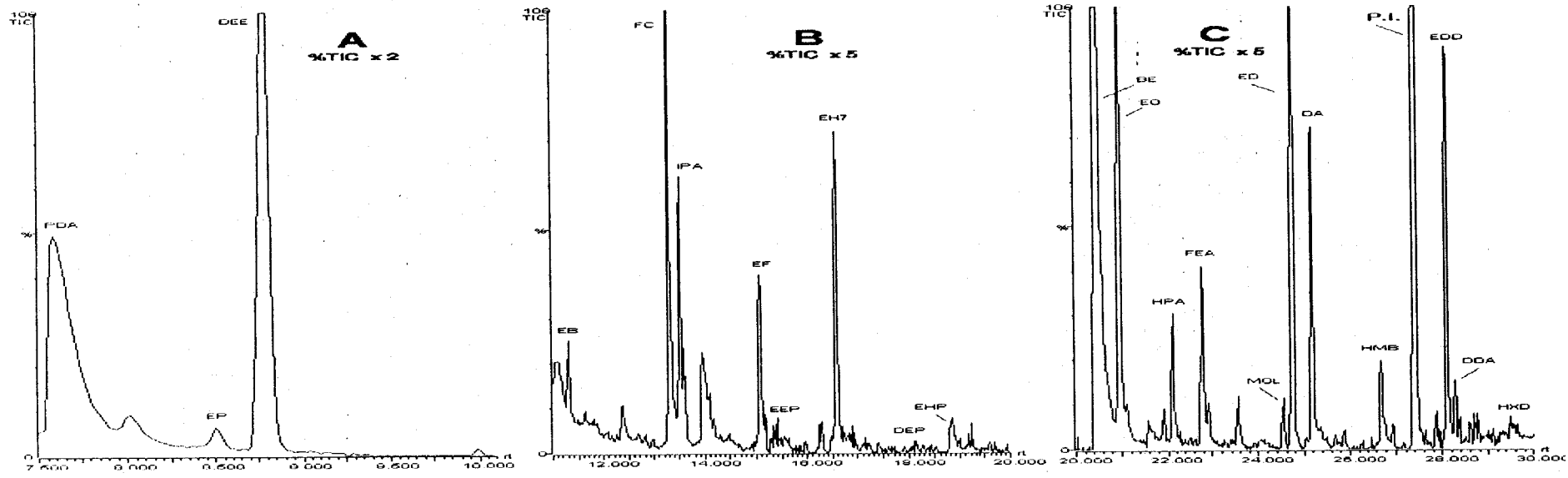
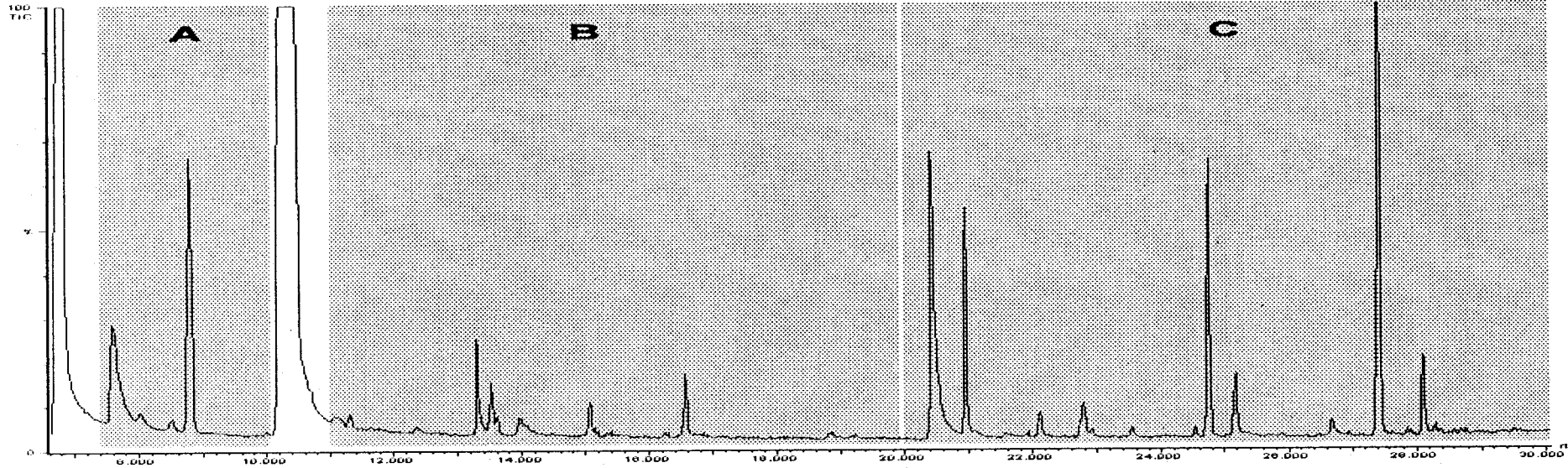
Tiempo de retención	Compuesto	Tiempo de retención	Compuesto
7.6	PDA	20.5	BE
8.6	EP	21.0	EO
8.8	DEE	21.6	HPA
11.4	EB	22.9	FEA
12.7	DEMP	24.5	MOL
12.8	DED	24.8	ED
13.3	FC	25.3	DA
13.6	IPA	26.7	HMB
15.1	EF	27.5	P.I.
15.6	EEP	28.2	EDD
16.6	EH	28.5	DDA
18.3	DEP	29.0	D334TM
18.4	P	29.3	B4H3ME
18.9	EHP	29.8	HXD
19.7	MP		

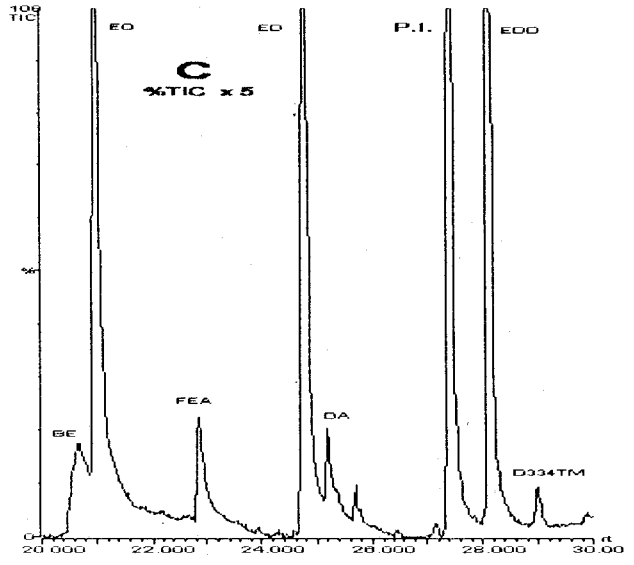
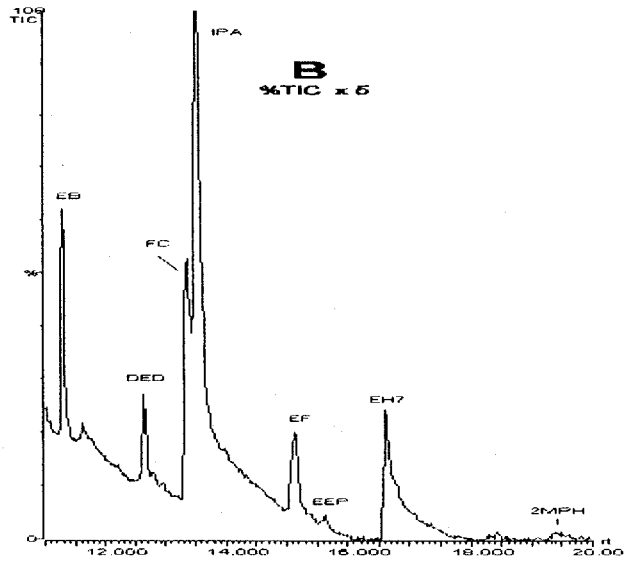
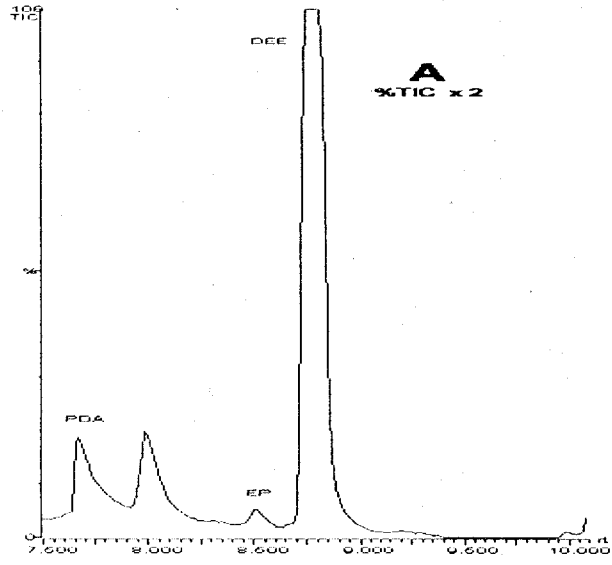
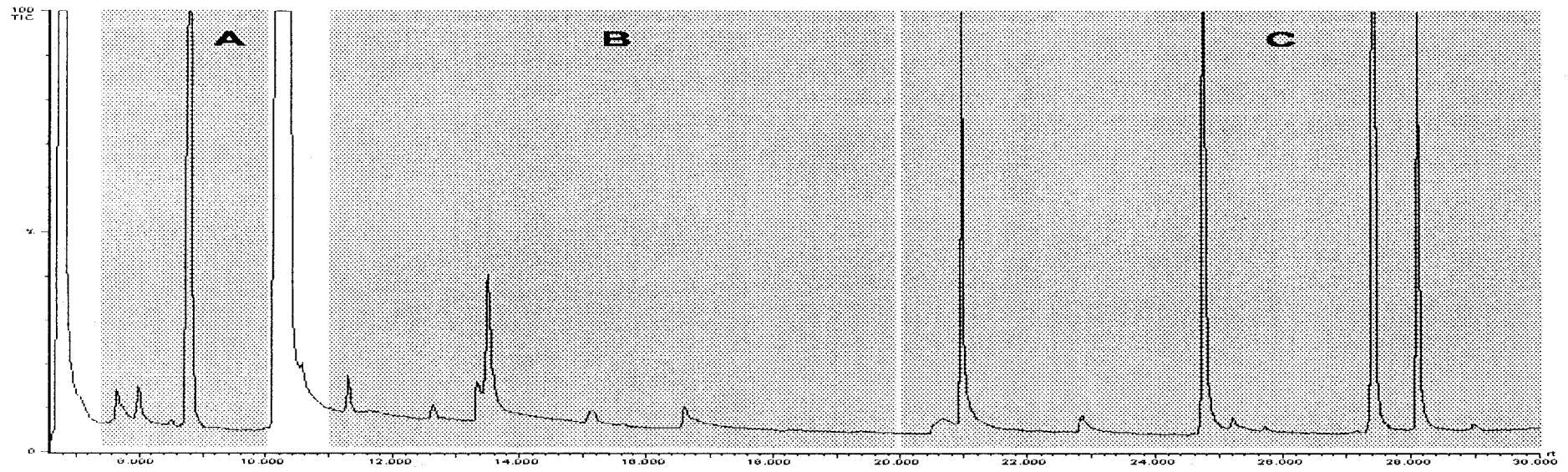
Los correspondientes cromatogramas se muestran a continuación, desde la página A1 a la A7

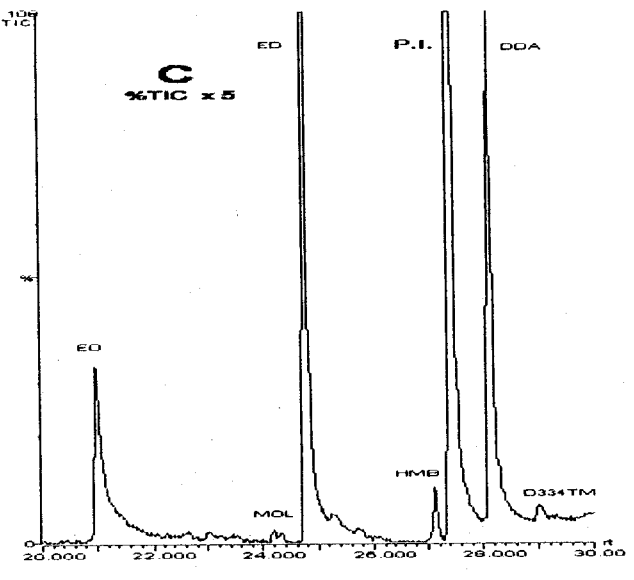
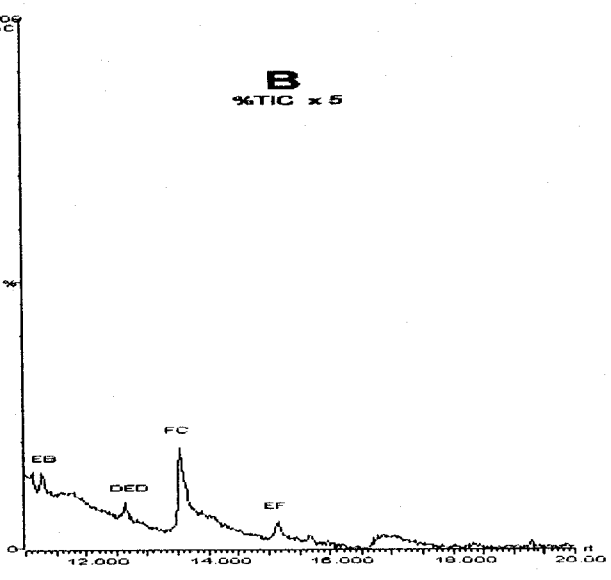
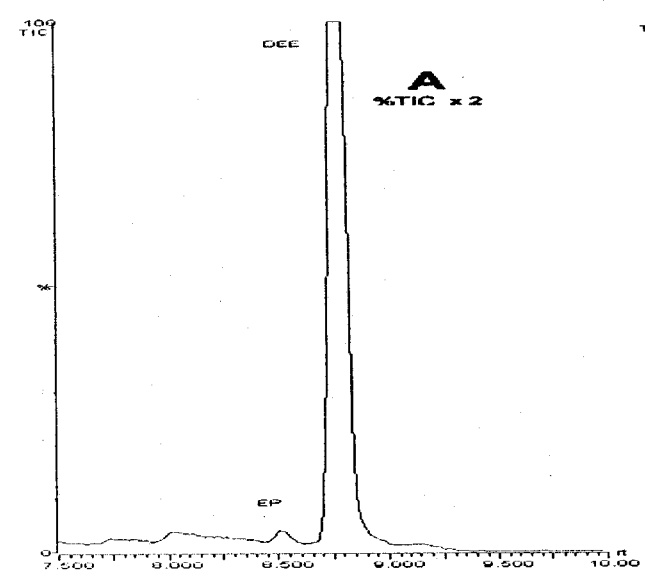
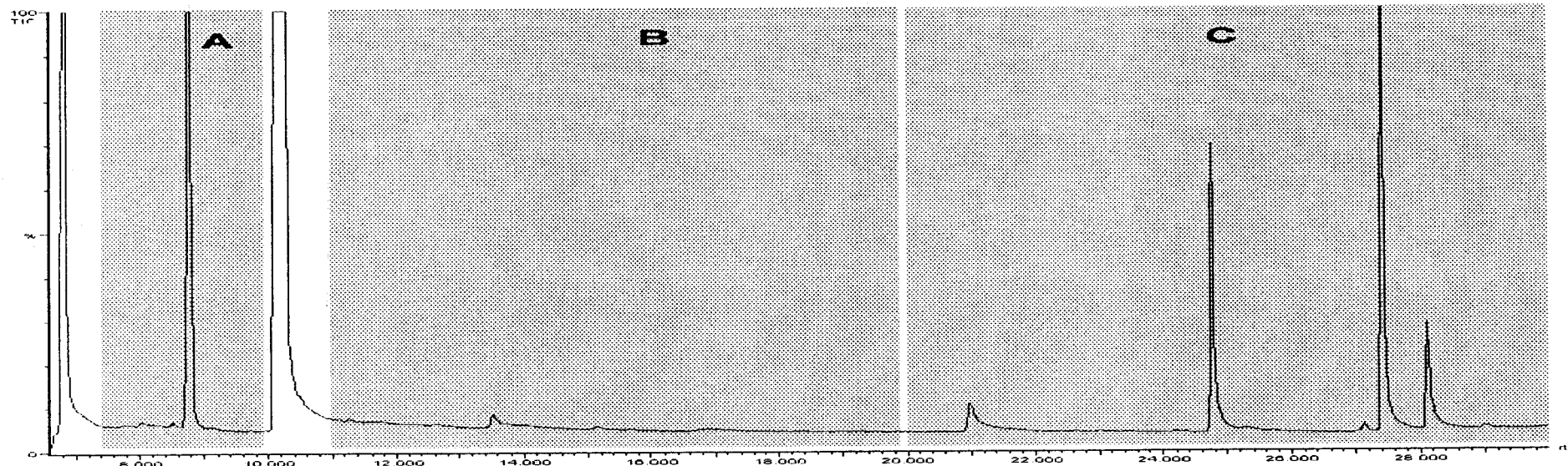


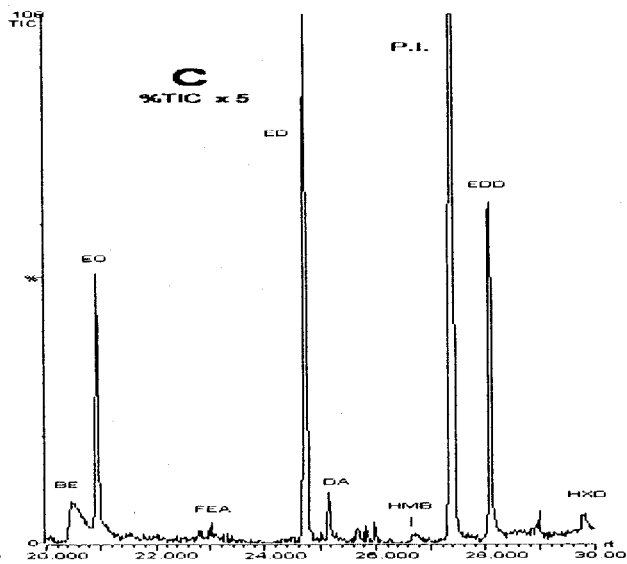
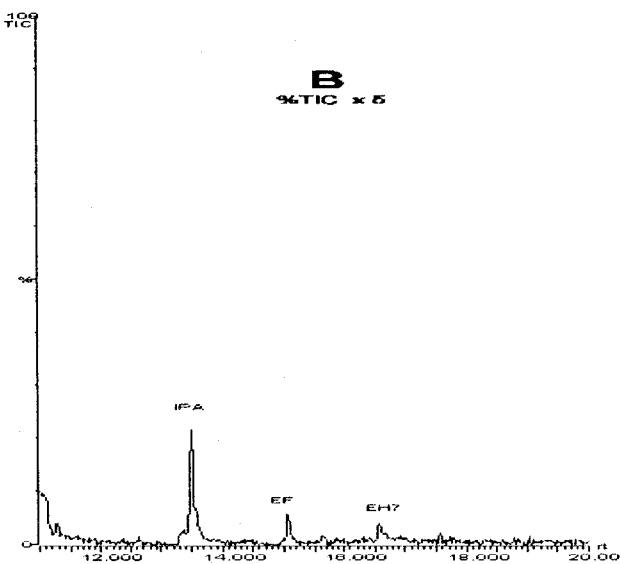
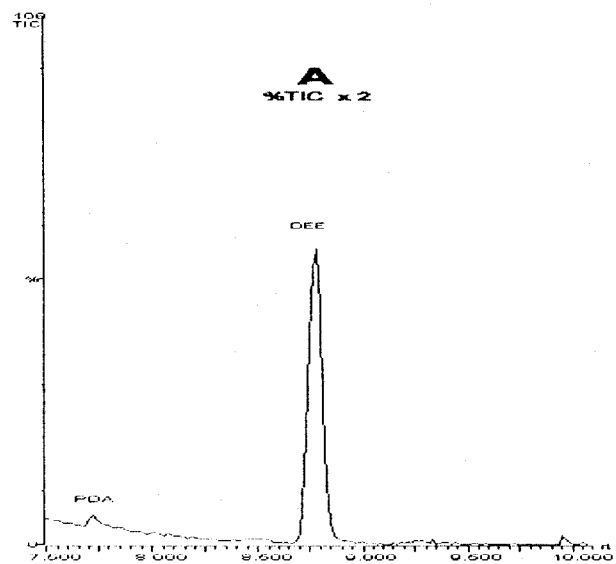
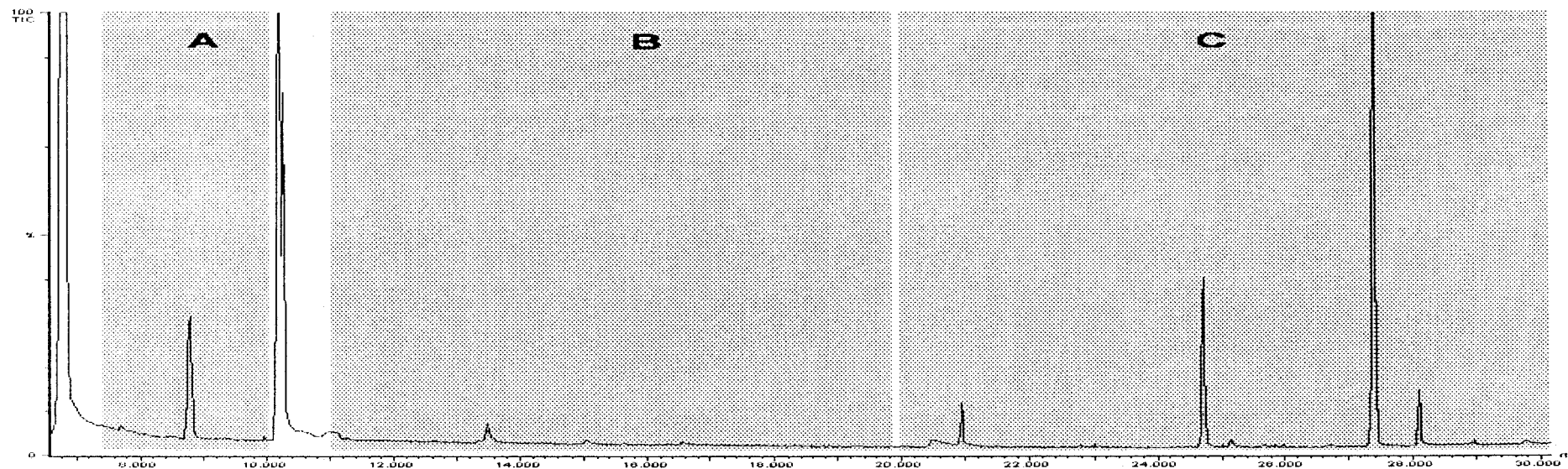












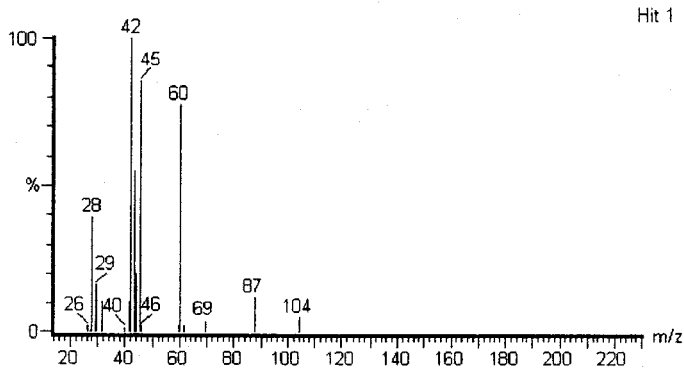
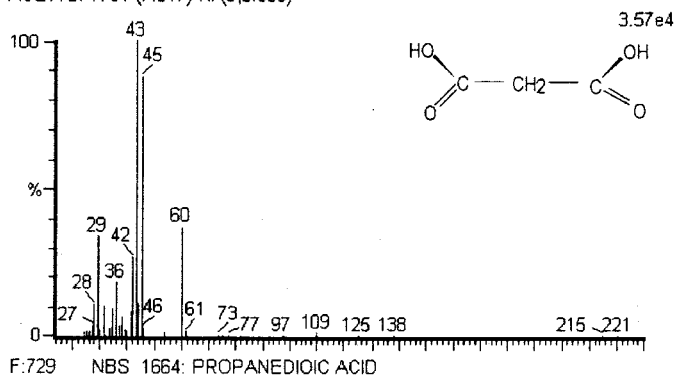
APÉNDICE B

APÉNDICE B

En este apéndice se compilan los espectros de masas de cada uno de los 28 congéneres estudiados, obtenidos a partir del cromatograma de una muestra típica y se comparan con los correspondientes de la biblioteca de espectros de masas del National Bureau of Standards (NBS). En cada caso se indica la fórmula estructural del compuesto y su sigla, el tiempo de retención, el espectro de masas experimental y tabulado, y el índice de fiabilidad en la asignación del compuesto (F). Un valor de $F = 729$, por ejemplo, indica un 72.9% de fiabilidad en la correspondiente asignación. Los espectros de los congéneres se muestran a continuación desde la página B1 hasta la B15, incluyendo un par de congéneres por página.

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 61 (7.617) Rf (8.5.000)

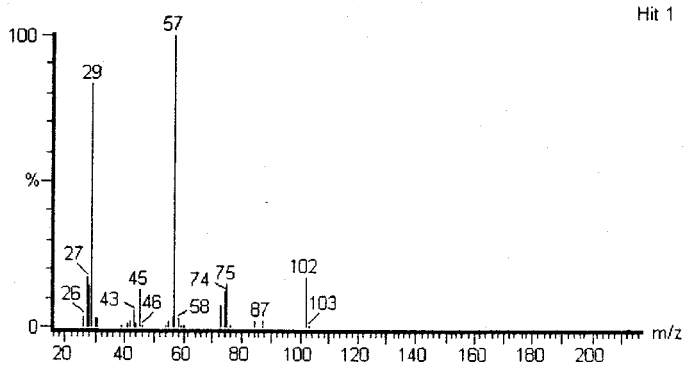
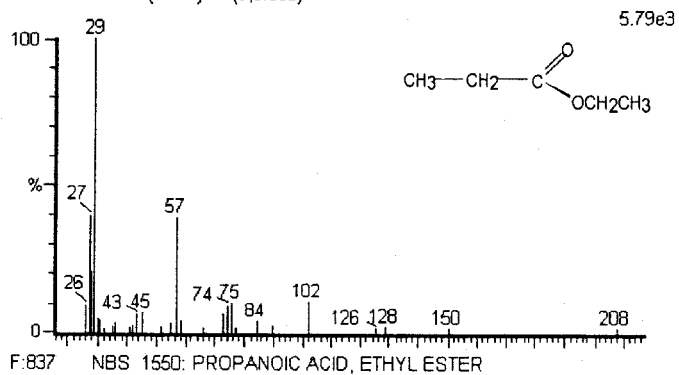
Forward Fit: 729, Reverse Fit: 832



Espectros de masas del ácido propanodioico (PDA) y del producto a tr=7.6 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 117 (8.550) Rf (8.5.000)

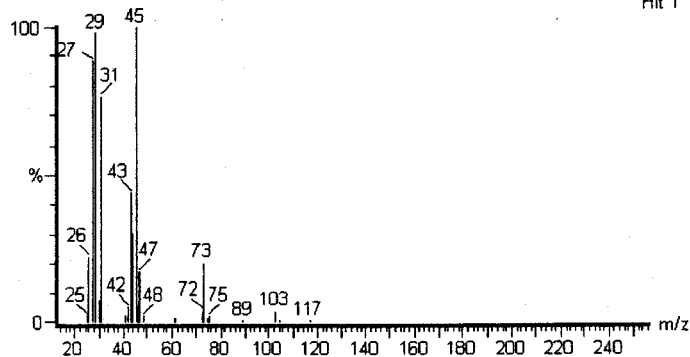
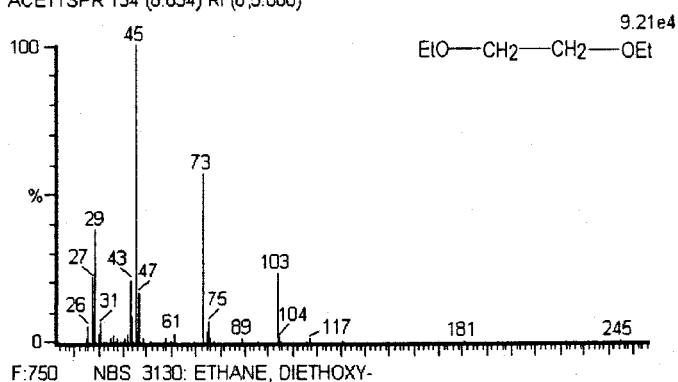
Forward Fit: 837, Reverse Fit: 888



Espectros de masas del propanoato de etilo (EP) y del producto a tr=8.5 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
 Library: NBS
 ACE11SPR 134 (8.834) Rf (8,5.000)

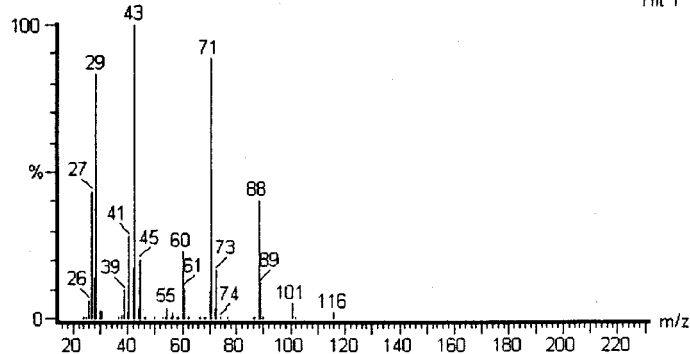
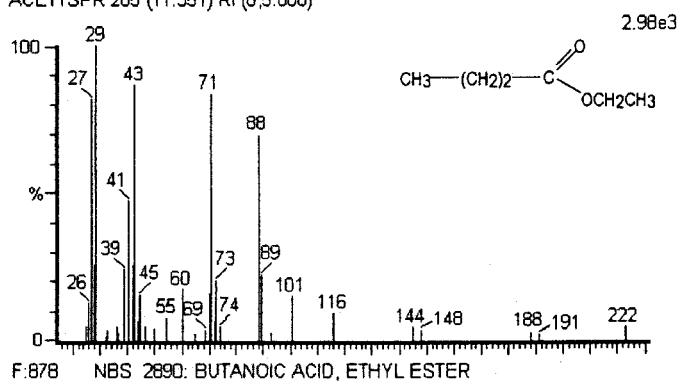
Forward Fit: 750, Reverse Fit: 786



Espectros de masas del dietoxietano (DEE) y del producto a tr=8.8 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
 Library: NBS
 ACE11SPR 285 (11.351) Rf (8,5.000)

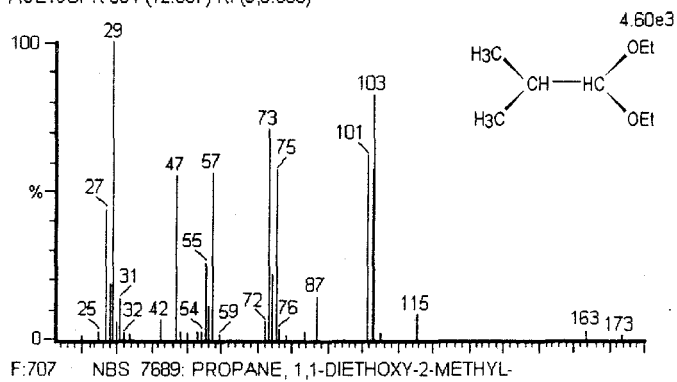
Forward Fit: 878, Reverse Fit: 914



Espectros de masas del butanoato de etilo (EB) y del producto a tr=11.3 min

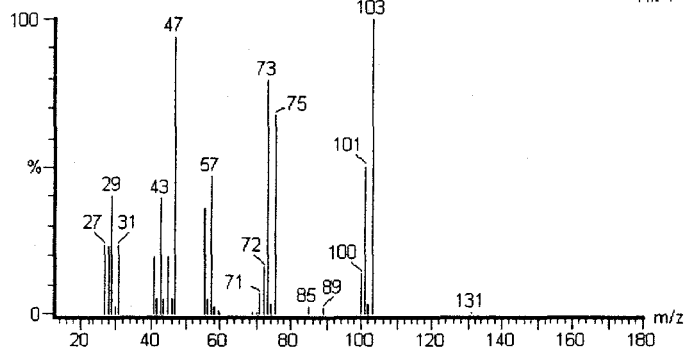
Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
 Library: NBS
 ACE19SPR 364 (12.667) Rf (9.5.000)

Forward Fit: 707, Reverse Fit: 756



F:707 NBS 7689: PROPANE, 1,1-DIETHOXY-2-METHYL-

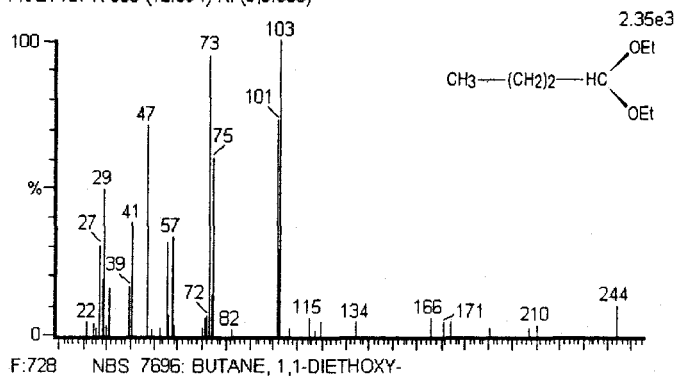
Hit 1



Espectros de masas del 1,1-dietoxi-2-metil-propano (DEMP) y del producto a tr=12.7 min

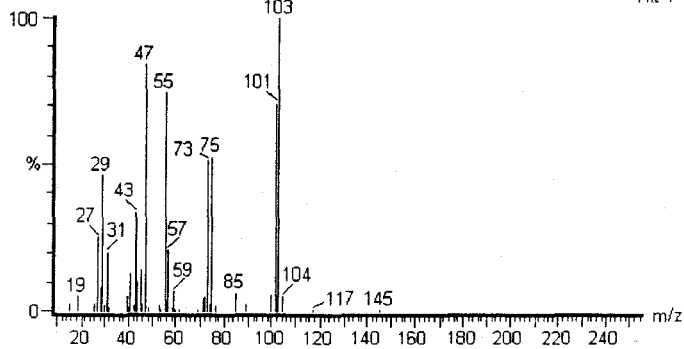
Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 11:26:10
 Library: NBS
 ACE14SPR 363 (12.894) Rf (9.5.000)

Forward Fit: 728, Reverse Fit: 793



F:728 NBS 7696: BUTANE, 1,1-DIETHOXY-

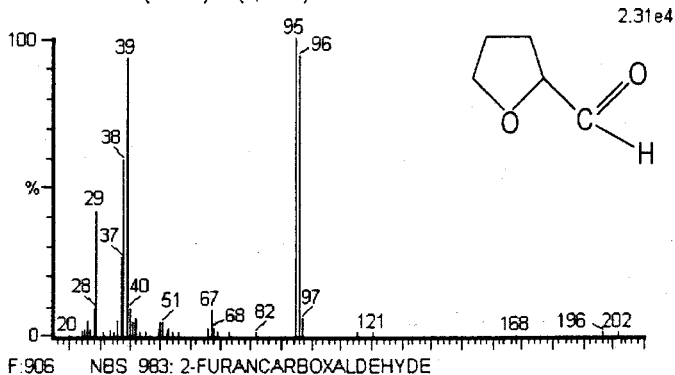
Hit 1



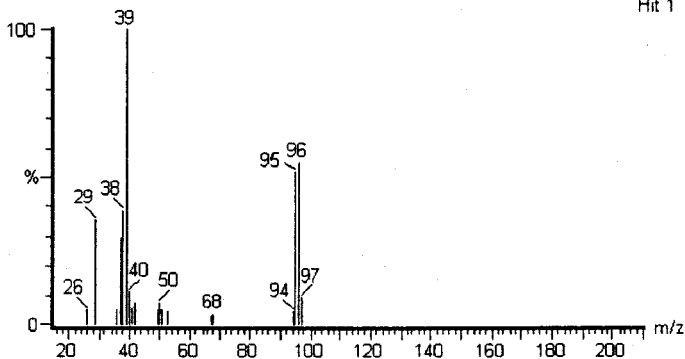
Espectros de masas del 1,1-dietoxi-butano (DEB) y del producto a tr=12.9 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 404 (13.334) Rf (8,5.000)

Forward Fit: 906, Reverse Fit: 956



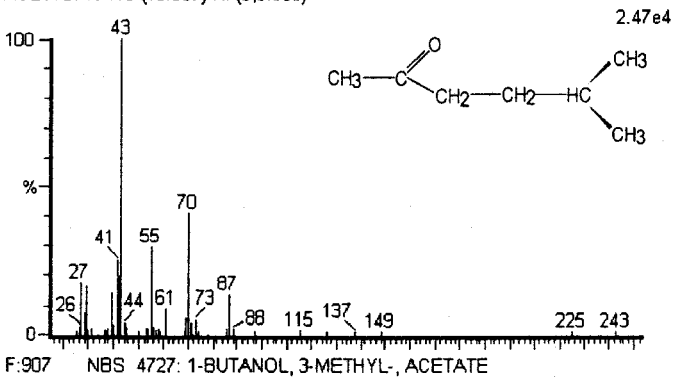
Hit 1



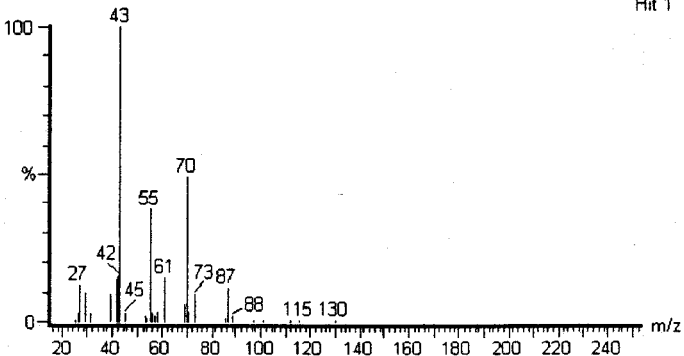
Espectros de masas del 2-furancarboxaldehido (FC) y del producto a tr=13.3 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 418 (13.567) Rf (8,5.000)

Forward Fit: 907, Reverse Fit: 974



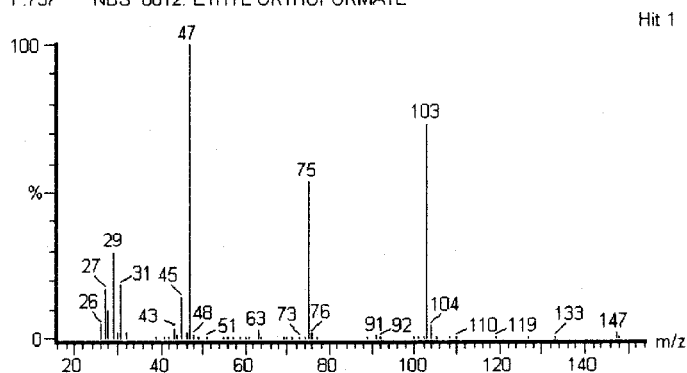
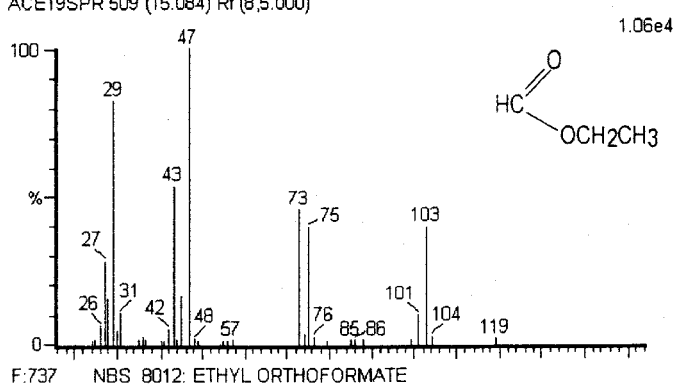
Hit 1



Espectros de masas del acetato de isopentilo (IPA) y del producto a tr=13.6 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
 Library: NBS
 ACE19SPR 509 (15.084) Rf (8,5.000)

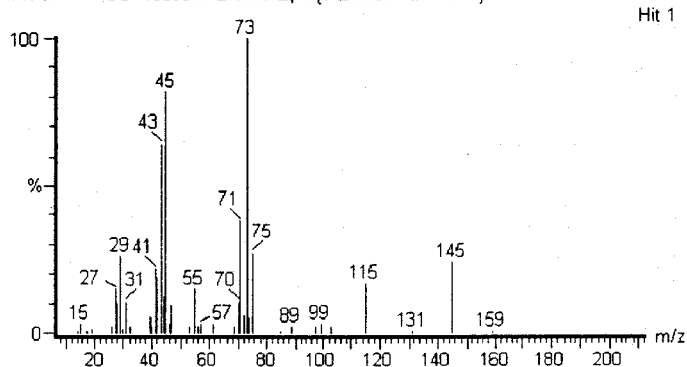
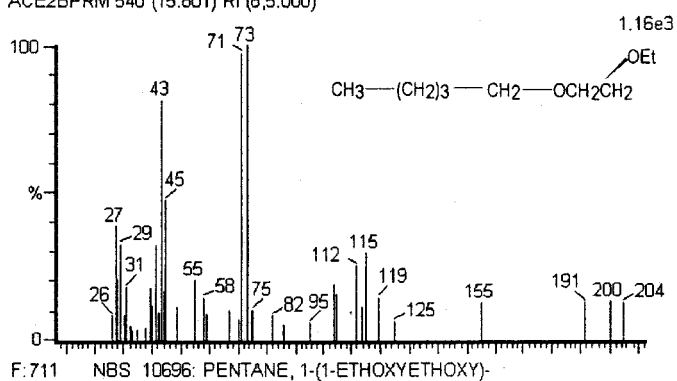
Forward Fit: 737, Reverse Fit: 757



Espectros de masas del formiato de etilo (EF) y del producto a tr=15.1 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 11-Oct-1996 at 11:04:02
 Library: NBS
 ACE2BPRM 540 (15.601) Rf (8,5.000)

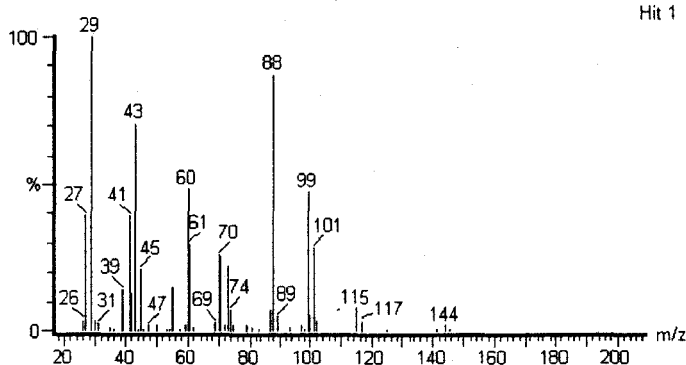
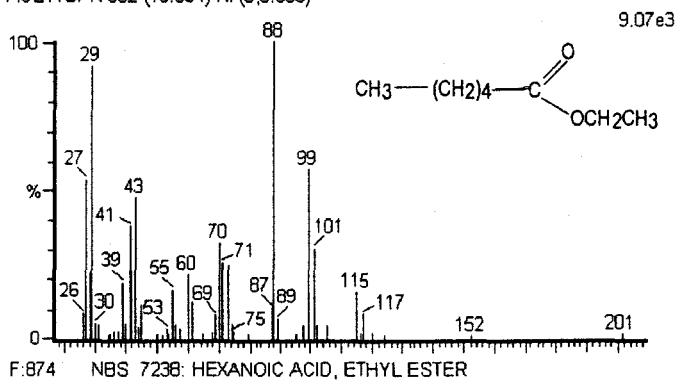
Forward Fit: 601, Reverse Fit: 807



Espectros de masas del 1-(1-etoxi-etoxi) pentano (EEP) y del producto a tr=15.6 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 602 (16.634) Rf (8.5.000)

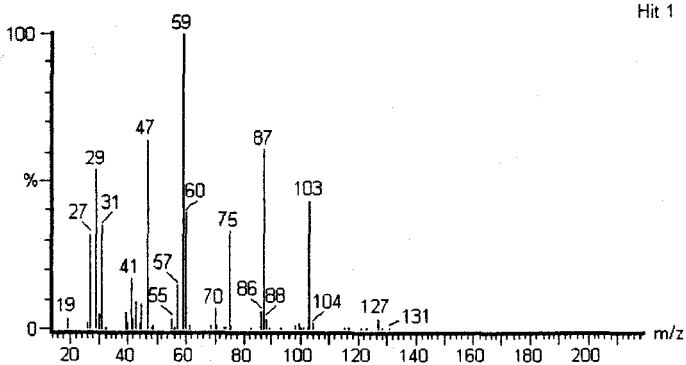
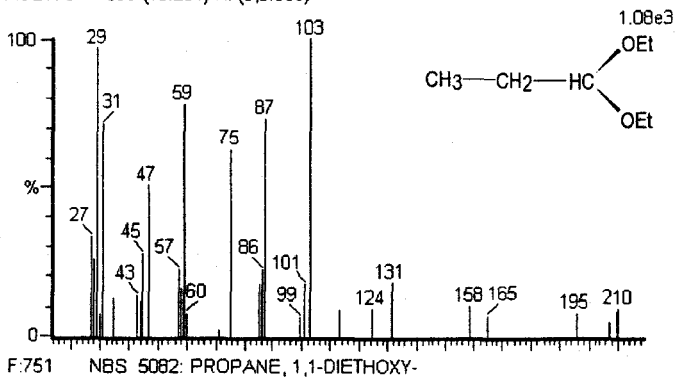
Forward Fit: 874, Reverse Fit: 934



Espectros de masas del hexanoato de etilo (EH) y del producto a tr=16.6 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
Library: NBS
ACE19SPR 699 (18.251) Rf (8.5.000)

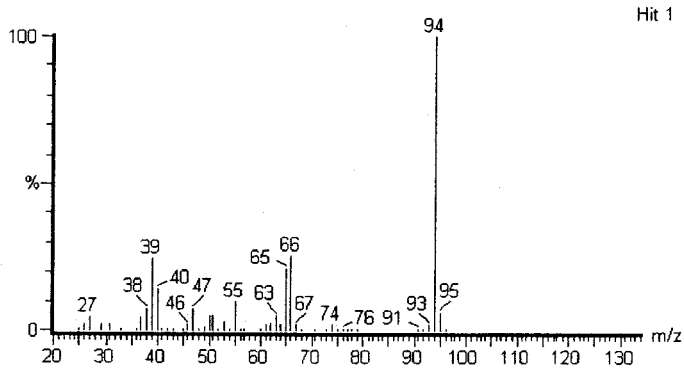
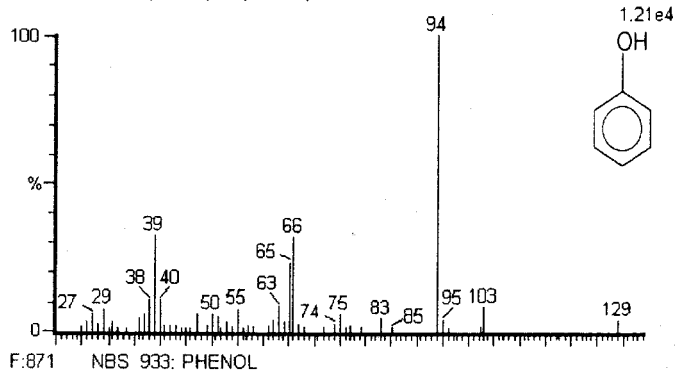
Forward Fit: 661, Reverse Fit: 785



Espectros de masas del 1,1-dietoxi-propano (DEP) y del producto a tr=18.2 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
 Library: NBS
 ACE19SPR 710 (18.434) Rf (8,5.000)

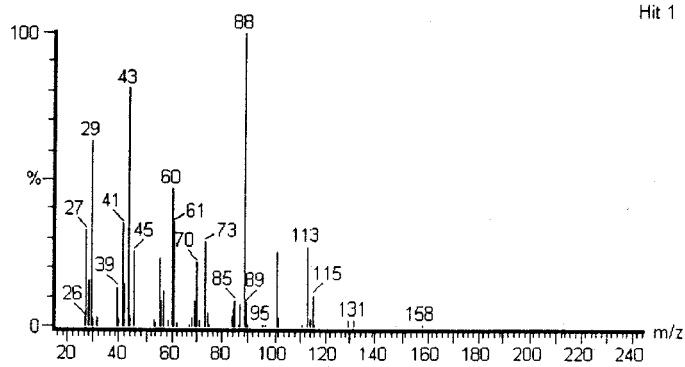
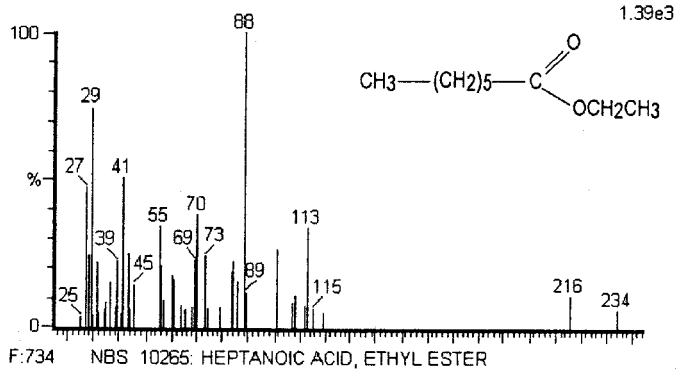
Forward Fit: 871, Reverse Fit: 938



Espectros de masas del fenol (P) y del producto a tr=18.4 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
 Library: NBS
 ACE19SPR 735 (18.851) Rf (8,5.000)

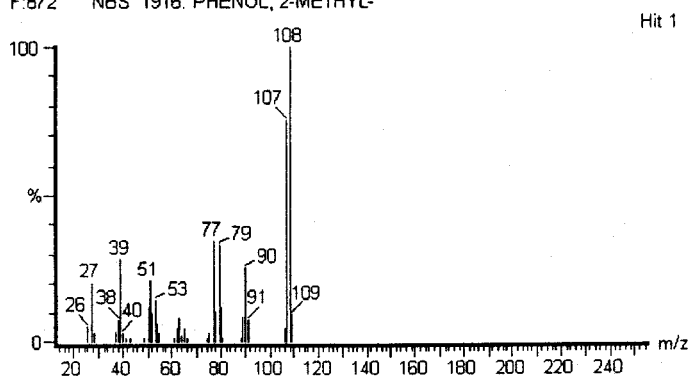
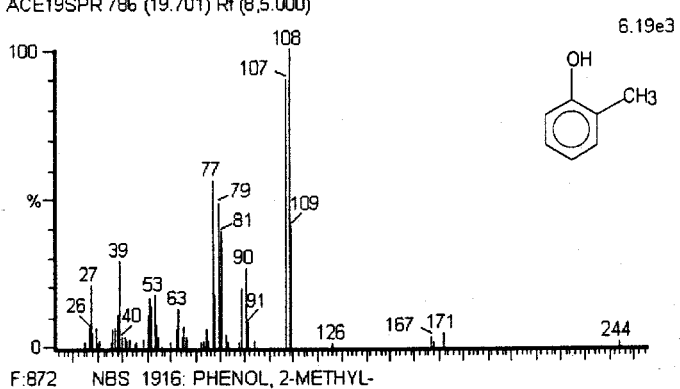
Forward Fit: 734, Reverse Fit: 845



Espectros de masas del heptanoato de etilo (EHP) y del producto a tr=18.8 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
Library: NBS
ACE19SPR 786 (19.701) Rf (8.5.000)

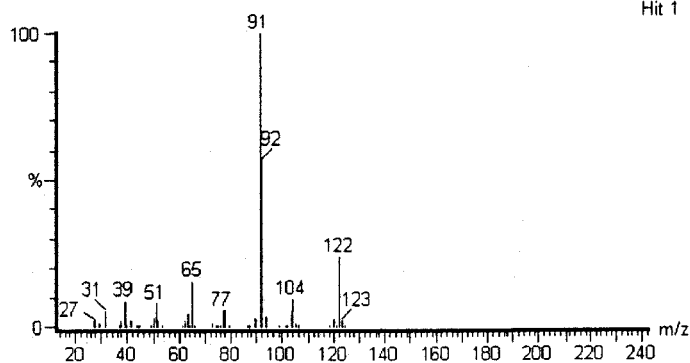
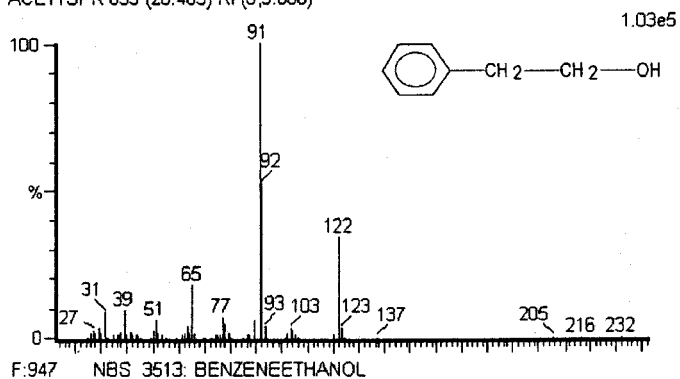
Forward Fit: 872, Reverse Fit: 921



Espectros de masas del 2-metil-fenol (MP) y del producto a tr=19.7 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 833 (20.485) Rf (8.5.000)

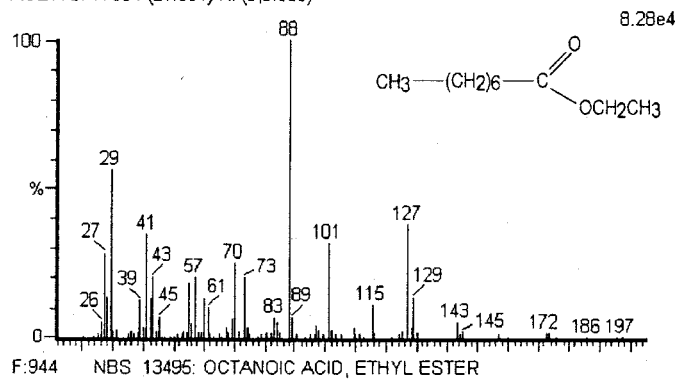
Forward Fit: 947, Reverse Fit: 959



Espectros de masas del 2-fenil-etanol (BE) y del producto a tr=20.5 min

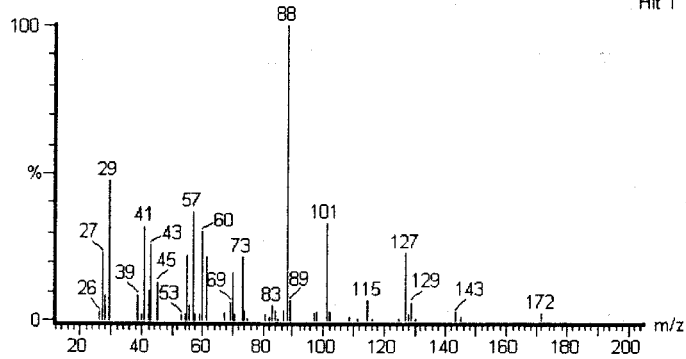
Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 864 (21.001) Rf (8,5.000)

Forward Fit: 944, Reverse Fit: 956



F:944 NBS 13495: OCTANOIC ACID, ETHYL ESTER

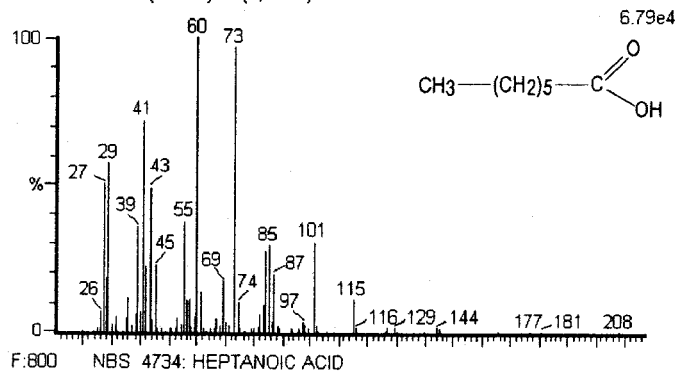
Hit 1



Espectros de masas del octanoato de etilo (EO) y del producto a tr=21.0 min

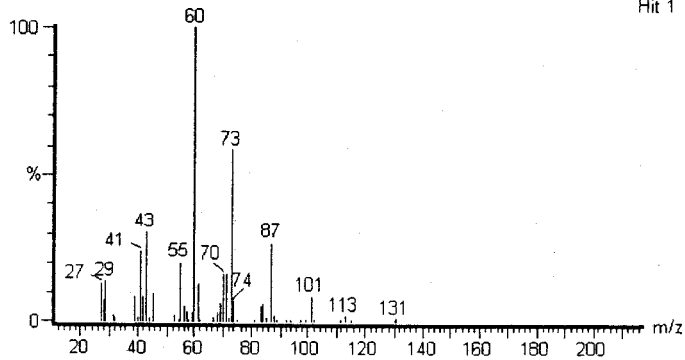
Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
Library: NBS
ACE19SPR 900 (21.601) Rf (8,5.000)

Forward Fit: 800, Reverse Fit: 849



F:800 NBS 4734: HEPTANOIC ACID

Hit 1

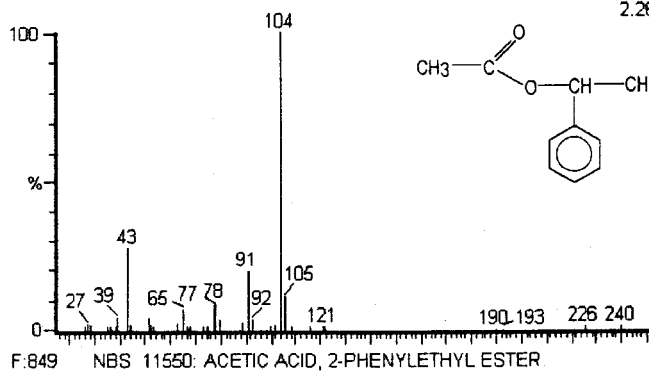


Espectros de masas del ácido heptanoico (HPA) y del producto a tr=21.6 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 975 (22.851) Rf (8.5.000)

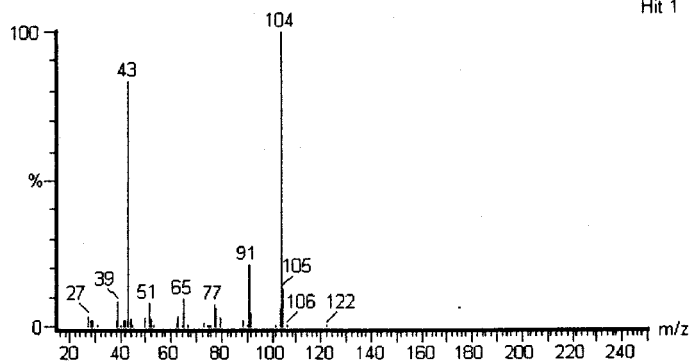
Forward Fit: 849, Reverse Fit: 877

2.26e4



F:849 NBS 11550: ACETIC ACID, 2-PHENYLETHYL ESTER

Hit 1

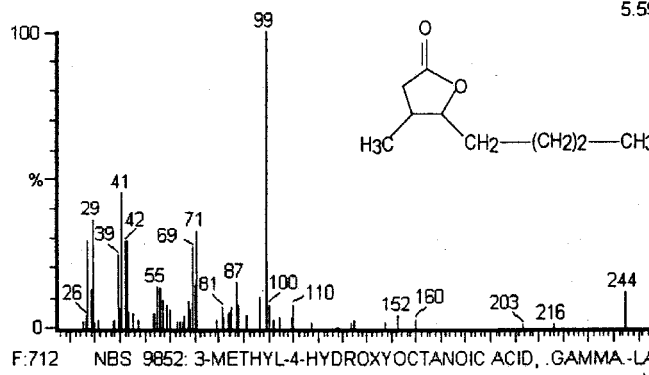


Espectros de masas del acetato de 2-feniletilo (FEA) y del producto a tr=22.8 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 23-Sep-1996 at 14:55:11
Library: NBS
ACE7BPRM 1076 (24.540) Rf (8.5.000)

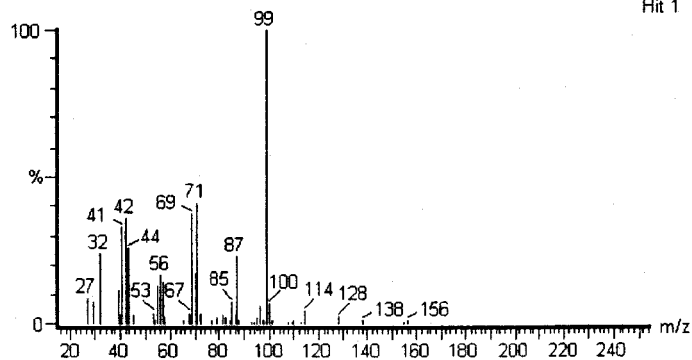
Forward Fit: 712, Reverse Fit: 818

5.59e3



F:712 NBS 9852: 3-METHYL-4-HYDROXYOCTANOIC ACID, GAMMA-LACTO

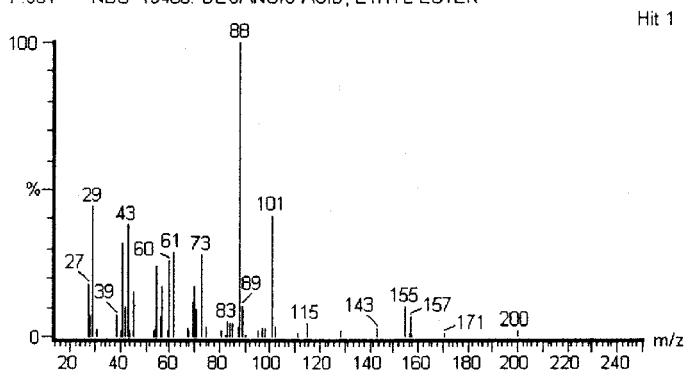
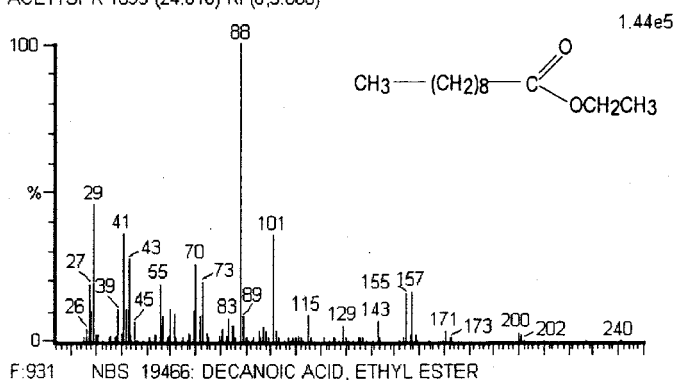
Hit 1



Espectros de masas de la β -metil- γ -octolactona (MOL) y del producto a tr=24.5 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
 Library: NBS
 ACE11SPR 1093 (24.818) Rf (8,5.000)

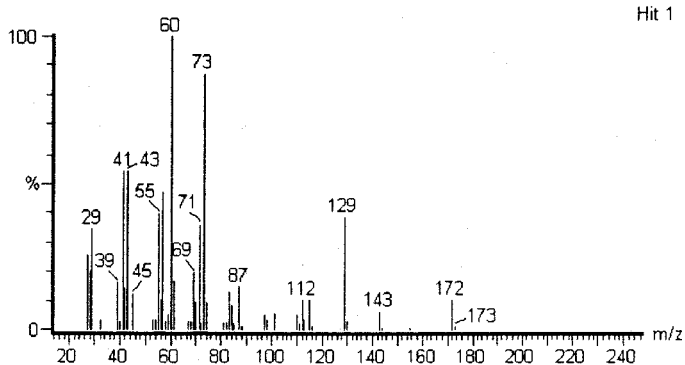
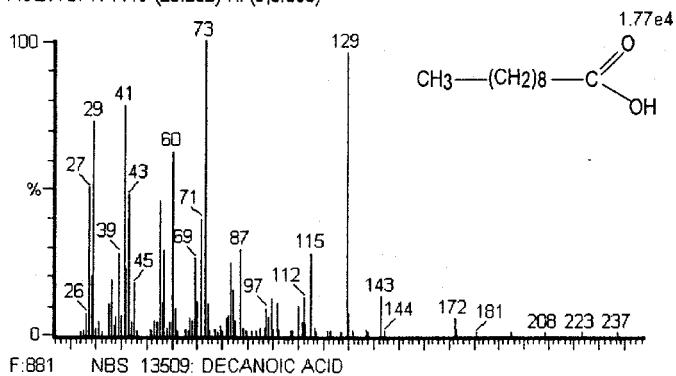
Forward Fit: 931, Reverse Fit: 943



Espectros de masas del decanoato de etilo (ED) y del producto a tr=24.8 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
 Library: NBS
 ACE11SPR 1119 (25.252) Rf (8,5.000)

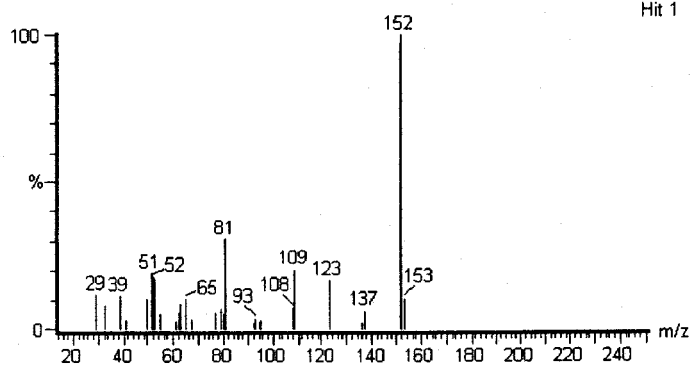
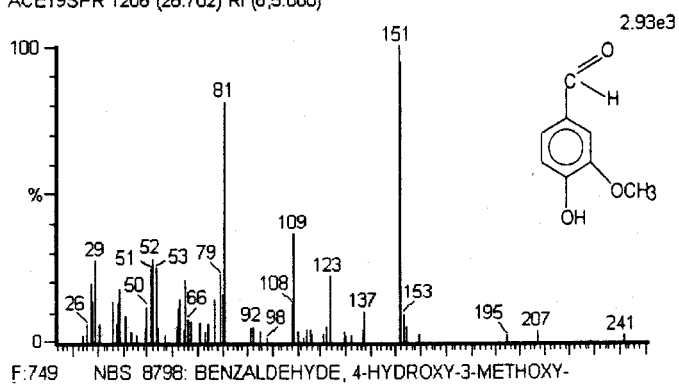
Forward Fit: 881, Reverse Fit: 935



Espectros de masas del ácido decanoico (DA) y del producto a tr=25.2 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
 Library: NBS
 ACE19SPR 1206 (26.702) Rf (8.5.000)

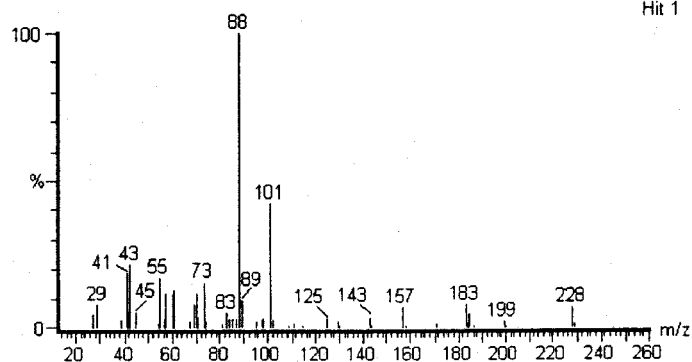
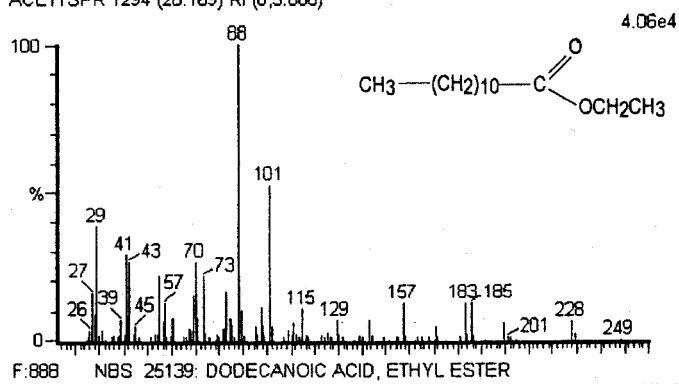
Forward Fit: 749, Reverse Fit: 921



Espectros de masas del 4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehido (HMB) y del producto a tr=26.7 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
 Library: NBS
 ACE11SPR 1294 (28.169) Rf (8.5.000)

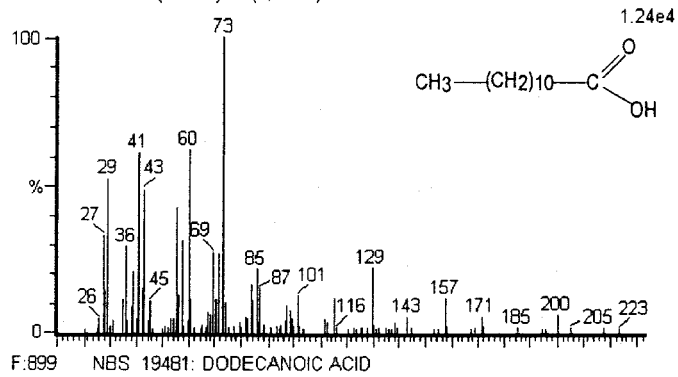
Forward Fit: 888, Reverse Fit: 917



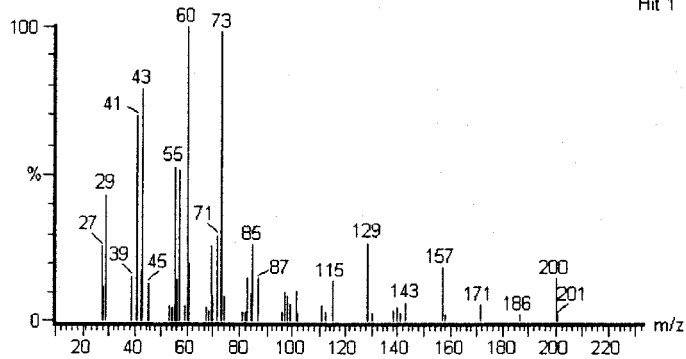
Espectros de masas del dodecanoato de etilo (EDD) y del producto a tr=28.2 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
 Library: NBS
 ACE19SPR 1312 (28.469) Rf (8,5.000)

Forward Fit: 899, Reverse Fit: 966



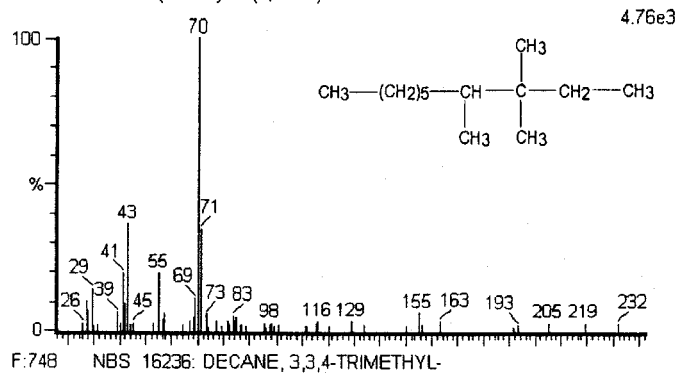
Hit 1



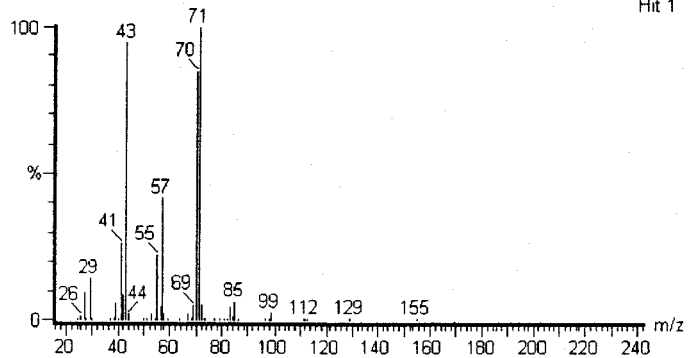
Espectros de masas del ácido dodecanoico y del producto a tr=28.5 min

Sample ID: extraccion whiskys
 Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
 Library: NBS
 ACE19SPR 1341 (28.952) Rf (8,5.000)

Forward Fit: 748, Reverse Fit: 822



Hit 1

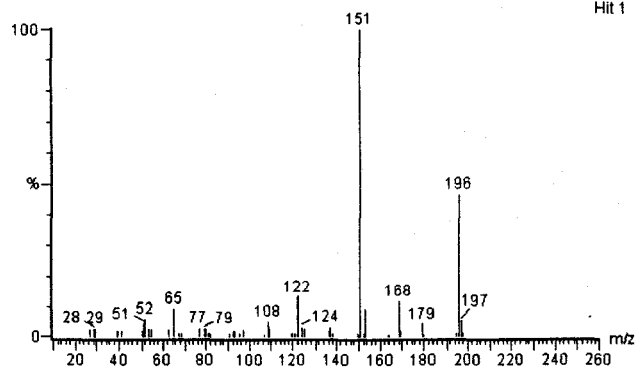
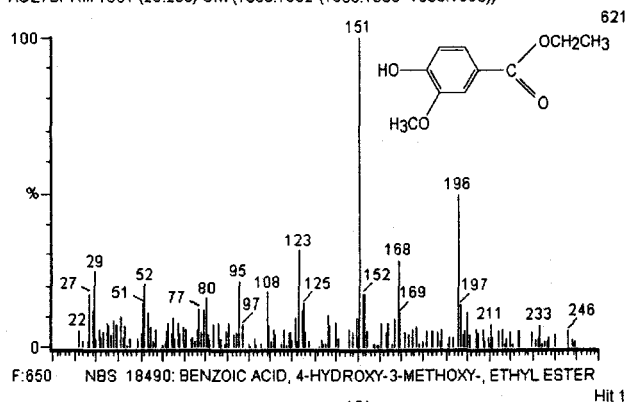


Espectros de masas del 3,3,4-trimetil-decano (D334TM) y del producto a tr=28.9 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 23-Sep-1996 at 14:55:11
Library: NBS

Forward Fit: 520, Reverse Fit: 696

ACE7BPRM 1361 (29.290) Cm (1360:1362-(1355:1360+1363:1368))



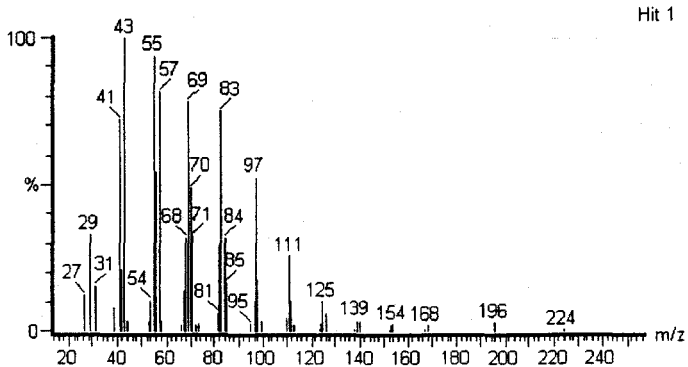
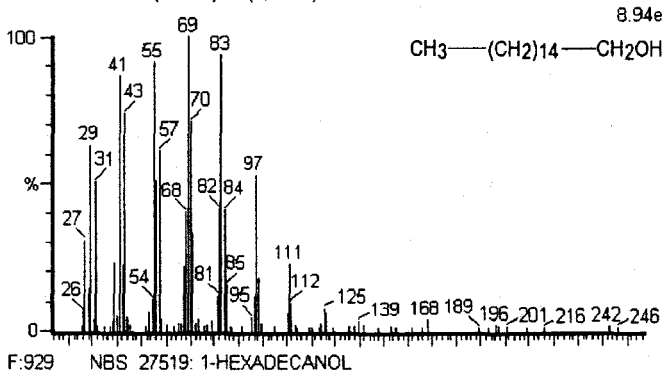
Espectros de masas del 4-hidroxi-3-metoxi-benzoato de etilo (B4H3ME) y del producto a tr=29.3 min

Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 18-Sep-1996 at 18:16:15
Library: NBS

Forward Fit: 929, Reverse Fit: 960

ACE19SPR 1391 (29.785) Rf (8,5.000)

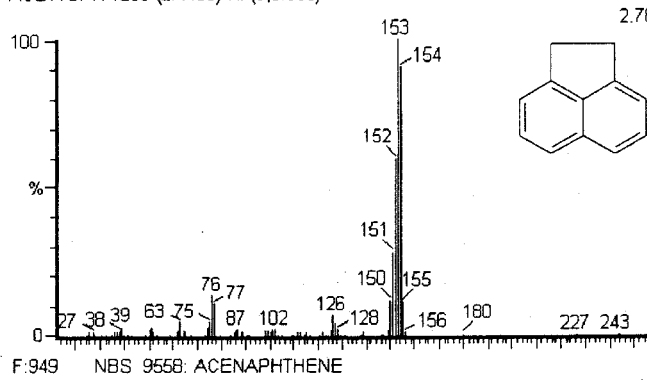
8.94e3



Espectros de masas del hexadecanol (HXD) y del producto a tr=29.8 min

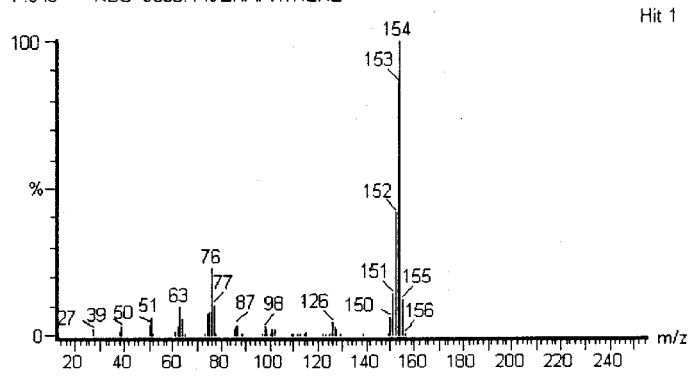
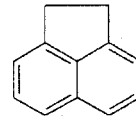
Sample ID: extraccion whiskys
Acquired 15-May-1996 at 12:53:51
Library: NBS
ACE11SPR 1253 (27.485) Rf (8,5.000)

Forward Fit: 949, Reverse Fit: 964



F:949 NBS 9558: ACENAPHTHENE

2.78e5



Hit 1

Espectros de masas del acenafteno (ACE) y del producto a tr=27.5 min

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

El Consejo de Gobierno de esta Universidad ha acordado, en su sesión de fecha 14 de marzo de 2008, la concesión de un Doctorado Honoris Causa a

Vicente Manuel Contreras Gallero

por sus trabajos de investigación en el campo de la
Discriminación y autenticación de whiskey
blancos a partir de microimpurezas químicas mediante
técnicas de reconocimiento de patrones

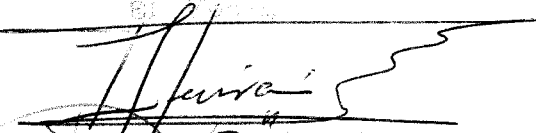

de manera excepcional y

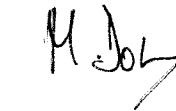

(unanimidad)

14

marzo

2008

El Rector

El Vicerrector


El Decano

El Secretario


El Doctorado
