

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



TESIS

**Comparación de los Perfiles del Tequila Producido en Casa
Sauza mediante Olfatometría y Pruebas Sensoriales Descriptivas**

Presentada por

JOSÉ ANTONIO AHUMADA CHÁVEZ

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Buenavista, saltillo, Coahuila, México.

DICIEMBRE 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Comparación de los Perfiles del Tequila Producido en Casa Sauza Mediante
Olfatometría y Pruebas Sensoriales Descriptivas.**

Por

JOSÉ ANTONIO AHUMADA CHÁVEZ

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aprobada



MC. Sarahí del Carmen Rangel Ortega

Directora Interna



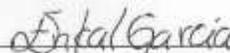
Dr. Dolores Gabriela Martínez Vázquez

Asesora Interna



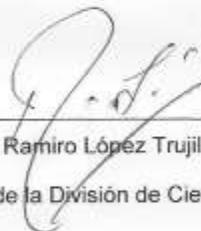
MC. Fernando Nonato Nonato

Director Externo



QFB. Erika Lizeth García Pineda

Asesora Externa



Dr. Ramiro López Trujillo

Coordinador de la División de Ciencia Animal.

Saltillo, Coahuila, México, Diciembre 2014.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Comparación de los Perfiles del Tequila Producido en Casa Sauza Mediante
Olfatometría y Pruebas Sensoriales Descriptivas.**

TESIS

Que se somete a consideración al comité de sinodales como requisito parcial
para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presentada Por:

JOSÉ ANTONIO AHUMADA CHÁVEZ

El presente trabajo ha sido evaluado y aprobado por el consiguiente comité:



MC. Sarahí del Carmen Rangel Ortega

Presidente



Dr. Dolores Gabriela Martínez Vázquez

Vocal



Dr. Mario Alberto Cruz Hernández

Vocal

Saltillo, Coahuila, México, Diciembre 2014



**SERVICIOS CORPORATIVOS SAUZA,
S.A. DE C.V.**

AV. VALLARTA NO. 6503 LOC-E49 CONCENTRO
COL CD GRANJA ZAPOPAN, JALISCO. C.P. 45010
TEL CONM. 3679 06 00 FAX 3679 06 91

Tequila, Jalisco, 21 de noviembre de 2014

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

El presente trabajo de tesis intitulado: **Comparación de los Perfiles del Tequila Producido en Casa Sauza Mediante Olfatometría y Pruebas Sensoriales Descriptivas**, fue realizado por José Antonio Ahumada Chávez en el laboratorio de Instrumentación de Casa Sauza en Tequila, Jalisco; bajo la dirección del MC. Fernando Nonato Nonato y la asesoría de la QFB. Erika Garcia Pineda

La tesis fue aprobada en su totalidad en cuanto a formato y calidad de su contenido a satisfacción del director de tesis y asesora.

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Dirección de Tesis:

Mtro. Fernando Nonato
Especialista de Calidad en Destilados

Asesoría de Tesis:

QFB. Erika Garcia Pineda
Químico



AGRADECIMIENTOS

El esfuerzo es el pilar que tiene todo ser humano en la vida para lograr sus metas, en algunas ocasiones existen obstáculos y adversidades que se tienen que superar pero si tus sueños son tan grandes como tus ganas de salir adelante no existe sueño inalcanzable.

Le doy gracias a dios por guiarme por el camino indicado y acompañado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizaje y sobre todo felicidad.

Le agradezco a mis padres Estela y Moisés por bríndame todo su apoyo incondicional, tanto moral como económico, ellos son los responsables de hacerme una persona que valla por el camino correcto gracias a esos consejos y regaños a lo largo de mi vida.

A mis hermanas y primos por estar ahí en momentos que se necesita de ellos gracias a ellos alegrar la vida en momentos inolvidables.

A mi alma mater por haberme enseñado y hacerme una persona que sabe apreciar lo que es ganarse la vida con sufrimientos, sudor, esfuerzo e independencia.

A mi maestra y tutora Sarahí por su apoyo y confianza que me brindo al momento de hacer este trabajo y esta nueva etapa de mi no existen palabras para el agradecimiento.

A mi asesor externo Fernando Nonato por estar ahí y darse el tiempo de atenderme y ayudarme a terminar mi trabajo y enseñarme cosas nuevas.

A mis compañeros de laboratorio como es Erika, Everardo, Martha, Memo, Jerry, y todos los catadores que me brindaron su confianza y apoyo en todas las cosas.

Por ultimo a todos mis amigos de la carrera que son aquellos que han estado en todos los momentos, en cualquier hora y sobre todo ser la segunda familia en mi vida muchas gracias.

DEDICATORIAS

A lo más valioso que tengo en la vida: mi familia.

En primer lugar a mis padres que me han sacado adelante con gran esfuerzo y dedicación.

Son ellos mi mejor ejemplo de persona, ellos quienes se han desvelado, han sufrido y han luchado por buscar mi bienestar , mis padres que siempre me han dado todo lo que han podido sin pedirme nada a cambio, esos seres por los que soy quien soy. Los amo.

A mis hermanos a quienes amo con todo mi corazón, además de ser mis hermanos han sabido ser amigos y padres ya que han cuidado de mi toda la vida y me han brindado su apoyo en todo momento, mi chaparrito mi hermanito mayor y mi flaco mi hermanito hermoso.

INDICE GENERAL

CONTENIDO	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIAS.....	vi
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	3
4. HIPOTESIS.....	5
5. OBJETIVOS.....	5
5.1. General.....	5
5.2. Específicos.....	5
6. Revisión de literatura.....	6
6.1. Tequila.....	6
6.1.1. Historia.....	6
6.1.2. Definición del Tequila	7
6.1.3. Tipos de tequila	8
6.1.3.1. Tequila blanco o plata.....	8
6.1.3.2. Tequila joven u oro:	9
6.1.3.3. Tequila reposado:	9
6.1.3.4. Tequila Añejo:	9
6.1.3.5. Tequila Extra Añejo:.....	9
6.1.4. Categorías del Tequila	10
6.1.4.1. “100% de Agave”	10
6.1.4.2. “Tequila”	10
6.2. Agave Tequilana Waber Variedad Azul	11
6.3. Proceso de elaboración del Tequila	13
6.3.1. Jima.....	13
6.3.2. Hidrólisis	13
6.3.3. Extracción.....	14
6.3.4. Formulación	15
6.3.5. Fermentación.....	15

6.3.6.	Destilación	17
6.3.7.	Maduración	18
6.4.	Calidad del tequila	19
6.5.	Impacto Económico del Tequila	20
6.6.	Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas. (GC-MS).....	22
6.6.1.	Cromatografía de gases	22
6.6.2.	Cromatografía de gases-olfatometría (GCO).....	24
6.6.3.	Métodos de Extracción	28
6.6.3.1.	Extracción con solventes.....	28
6.6.4.	Concentración.....	30
6.7.	Evaluación sensorial	31
6.8.	Calidad sensorial del Tequila.....	31
6.9.	Los Sentidos	32
6.9.1.	El Aroma	32
6.9.2.	El color	33
6.9.3.	Olor	33
6.9.4.	Sabor.....	34
6.10.	Jueces.....	36
6.10.1.	Juez analítico	36
6.10.2.	El Juez afectivo	36
6.11.	Métodos de evaluación sensorial.....	37
6.11.1.	Pruebas hedónicas	38
6.11.2.	Pruebas analíticas	38
6.11.3.	Pruebas discriminativas.....	39
6.11.3.1.	Prueba triangular	39
6.11.3.2.	Prueba de pares.....	39
6.11.3.3.	Prueba dúo-trío	39
6.11.4.	Pruebas descriptivas.....	39
6.11.4.1.	Escalas sensoriales.....	40
7.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
7.1.	ETAPA I.....	41

7.1.1.	Capacitación y realización de las pruebas descriptivas	41
7.2.	ETAPA II. Evaluación de la repetitividad en la aplicación del método de extracciones	42
7.3.	ETAPA III. Extracción de muestras de Tequila	43
7.4.	ETAPA IV. Aplicación de pruebas olfatométricas	43
7.5.	ETAPA V. Comparación de los perfiles aromáticos por olfatómetro y pruebas descriptivas	43
8.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	44
8.1.	ETAPA I.....	44
8.1.1.	Realización de las pruebas descriptivas	44
8.2.	ETAPA II.....	46
8.2.1.	Evaluación de la repetitividad en la aplicación del método de extracciones .	46
8.3.	Etapa III.....	48
8.3.1.	Extracción de muestras de Tequila	48
8.4.	Etapa IV.....	48
8.4.1.	Aplicación de pruebas Olfatométricas.....	48
8.5.	ETAPA V	58
8.5.1.	Comparación de los perfiles aromáticos por olfatómetro y pruebas descriptivas.....	58
9.	CONCLUSIONES.....	61
10.	BIBLIOGRAFIA.....	62
11.	ANEXOS.....	65

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Zonas autorizadas para la producción de Tequila, Eduardo Benjamín Ibarra, 2010.	8
Figura 2.	Morfología de la planta de agave, Academia mixteca del tequila.	12
Figura 3.	Primera etapa de destilación, Ibarra, 2010.....	17
Figura 4.	Segunda etapa de destilación, Eduardo Benjamín Ibarra, junio 2010.....	18
Figura 5.	Esquema general del cromatógrafo de gases, (Anónimo, 2010).....	24
Figura 6.	Esquema del análisis cromatográfico-olfatométrico, (Anónimo, 2007).....	25
Figura 7.	Diagrama esquemático de equipos para extracción líquido- líquido en forma continua, CIATEJ, 2007.....	30

Figura 8. Morfología interna del olfato, (Espinosa, 2007)	33
Figura 9. Morfología externa de la lengua, con los distintos tipos de papilas, Espinosa, 2007.	35
Figura 10. Promedio (27 observaciones) de los Descriptores del Perfil aromático del Tequila Añejo (lote 1) generados por el panel de jueces mediante evaluación sensorial.	44
Figura 11. Promedio (27 observaciones) de los Descriptores del Perfil aromático del Tequila Añejo (lote 2) generados por el panel de jueces mediante evaluación sensorial.	45
Figura 13. Frecuencia de compuestos volátiles detectados por el GC-MS presentes en el tequila añejo lote 1 por extracción normal.	46
Figura 14. Frecuencia de compuestos volátiles detectados por el GC-MS presentes en el Tequila Añejo lote 2 por destilación previa.	47

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 . Composición general de la planta de agave	12
Tabla 2. Compuestos generados en la fermentación del Tequila.....	16
Tabla 3. Especificaciones fisicoquímicas del Tequila.	20
Tabla 4. Clasificación por familia de Compuestos Químicos del Tequila Añejo lote 2 identificados por Cromatografía de gases –Masas	48
Tabla 5. Tiempo de identificación en minutos por el GC-MS de los compuestos aromáticos del Tequila Añejo lote 2.	51
Tabla 6. Aromas identificados por los jueces al someterse en la prueba de evaluación SNIFFER.....	54
Tabla 7. Relación en el tiempo de aromas identificados por jueces contra los detectados por GC-MS.....	56
Tabla 8. Correlación de los perfiles aromáticos por Pruebas sensoriales , Evaluación SNIFFER y GC-MS del Tequila Añejo.	58

1. RESUMEN

En la actualidad la bebida alcohólica emblemática de México es el Tequila el cual tiene denominación de origen y la hace única en todo el mundo, esto lleva a que las Tequileras busquen formas de conservar la calidad sensorial de este producto, como el principal punto de calidad de la bebida es el aroma ya que este es una característica propia de cada marca. En el presente trabajo se comparó el perfil aromático de un Tequila Añejo mediante Cromatografía de Gases acoplado a masas (GC-MS) y pruebas sensoriales descriptivas, con el objetivo de depender en menor medida de un panel sensorial. 84 compuestos fueron identificados mediante GC-MS de los cuales 35 de ellos fueron identificados por olfatometría y solo 10 de ellos corresponden a los identificados en pruebas sensoriales. El perfil aromático del Tequila Añejo mediante pruebas descriptivas de evaluación sensorial se estableció como Roble tostado, Vainilla, y Agave cocido principalmente.

Palabras clave: Tequila, Calidad, Perfil aromático, Olfatometría, Pruebas sensoriales descriptivas.

2. INTRODUCCIÓN

En México existe una bebida que lo caracteriza y que ha sido reconocida en todo el mundo, esta bebida es el Tequila, ya que en los últimos años ha tenido una demanda mayor, esto ha ocasionado que cada vez más exijan y demanden bebidas con mayor calidad en el mercado. La calidad es un factor muy importante, ya que esta determina la aceptación o rechazo del consumidor, aunque la mayoría de las empresas cumplen los requisitos, existe una forma de elevar la calidad del Tequila, mediante la elaboración de perfiles aromáticos que identifiquen y hagan única a esta bebida.

Debido a que la empresa productora de Tequila TEQUILA SAUZA, S. DE R.L. DE C.V. cuenta con un panel de jueces entrenados que establece la calidad sensorial del Tequila mediante la detección e identificación de olores, se pretende comparar mediante un método olfatométrico de gases acoplado a espectrometría de masas (GS-MS), con dicha comparación, se confirmaran los resultados obtenidos por ambos métodos.

Durante muchos años se han ido perfeccionando las técnicas para el estudio de los componentes volátiles responsables del olor y aroma del Tequila. Ya que estos son factores que intervienen directamente con la calidad sensorial de este producto.

Existen diferentes técnicas para la cuantificación e identificación, pero la más utilizada en la actualidad es la cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GS-MS).

Al desarrollar esta comparación TEQUILA SAUZA, S. DE R.L. DE C.V. podrá garantizar una calidad en el olor y el aroma de sus productos ya que son características determinantes para la aceptación o el rechazo de esta bebida. Con esto se podrá estandarizar los compuestos presentes en los diferentes tequilas y así afirmar la importancia que tiene la olfatometría en el Tequila.

Esta investigación tiene como finalidad hacer una comparación de los perfiles aromáticos de los diferentes tipos de Tequilas mediante olfatometría de gases y pruebas sensoriales descriptivas ya que los perfiles aromáticos son componentes principales que determinan la calidad del Tequila.

3. JUSTIFICACIÓN

Durante muchos años la bebida de tequila ha sido un emblema que distingue al país de México y como tal al estado de Jalisco donde se produce la mayor cantidad de esta bebida en el país, teniendo por consecuencia un impacto económico importante para el país. Ya que la producción ha tenido un auge importante en los últimos años de una producción de 312.1 a 253.2 millones de litros en los años de 2008 a 2012 pero en el último año según las estadísticas ha bajado la producción de esta bebida hasta un 28.4%.

La demanda de esta bebida ha impactado tanto hasta lograr la exportación a casi todo el mundo, aunque también ha disminuido un poco la exportación, sigue siendo una bebida importante en el país y en el mundo.

Estas cifras han provocado que se tomen medidas drásticas para modificar la calidad del producto la cual ayudará a recuperar el mercado

Por dicha razón la empresa TEQUILA SAUZA, S. DE R.L. DE C.V. en la actualidad ha puesto en marcha la investigación para obtener un perfil aromático de cada uno de sus productos caracterizándolos mediante la olfatometría bien establecida donde se dispongan los compuestos que aportan los olores y aromas del Tequila y compararlo con pruebas sensoriales.

Para llegar a este perfil ha llevado a tener muchas medidas de calidad, adecuadas para este producto. En la busca de este perfil es necesario tener un control adecuado de todas las operaciones involucradas en la producción, también regirse en la norma reguladora del Tequila, ya que a lo largo del proceso se debe tener un control, dicha norma toma en cuenta algunos factores que influyen directamente en la bebida como son: toxicidad, grado de alcohol, pero el elemento principal son sustancias volátiles las cuales son apreciadas por el consumidor y estas ayudan a decidir si se acepta o rechaza el producto. Con estas sustancias volátiles se estudiará el perfil aromático del Tequila para poder compararlo con pruebas sensoriales descriptivas.

Con el uso de la técnica de olfatometría y comparándola directamente con pruebas sensoriales descriptivas se podrá obtener una comparación que contribuya crear un perfil aromático del Tequila donde establezca todos los parámetros contemplados.

4. HIPOTESIS

Los compuestos aromáticos del Tequila detectados con olfatometría pueden ser correlacionados con las notas aromáticas del Tequila descritas en las pruebas sensoriales descriptivas.

5. OBJETIVOS

5.1. General

Correlacionar las notas aromáticas descritas en las pruebas sensoriales descriptivas de catado con los compuestos identificados mediante olfatometría.

5.2. Específicos

- Capacitación y realización de las pruebas descriptivas.
- Extracción de compuestos traza del Tequila.
- Elaboración de pruebas olfatométricas e identificación de los compuestos aromáticos del Tequila.
- Comparación de los perfiles aromáticos por olfatómetro y pruebas sensoriales descriptivas.

6. Revisión de literatura

6.1. Tequila

6.1.1. Historia

Uno de los aguardientes más famosos en México y a nivel mundial es el Tequila cuyo consumo se ha incrementado en los últimos años. El Tequila tardó varios siglos en dejar de ser una más entre las miles de formas culturales que constituyen la cotidianidad del México popular, primero rural y, más recientemente, urbano. Al incorporársele como la bebida de moda de los años ochenta, el Tequila había pasado a ocupar un lugar de distinción entre los grupos dominantes urbanos del Distrito Federal, compitiendo con las bebidas de importación.

Poco después, el tequila irrumpió en las mesas y salones donde se construye y reproduce la alta cultura de México y en el mundo, en particular en los Estados Unidos y en Europa. Una vez obtenida la Denominación de Origen (DO), los productores y comercializadores, junto con los funcionarios y otros actores, lucharon por reconstruir la autenticidad y el prestigio de esta mercancía y, a la par, por protegerla de la falsificación interna y de la competencia desleal fuera de México (Yolanda Torres López, 2012).

En 1795, las autoridades virreinales autorizaron la producción y venta del Tequila. En ese año se otorgó una concesión real para la elaboración y comercialización del tequila, a principios del siglo XIX, José María Castañeda funda la destilería “La Antigua Cruz”, que tiempo después en 1873 fue adquirida por Cenobio Sauza, renombrándola como ahora se conoce “La Perseverancia” y fundando la Casa Sauza. En este mismo año comienza la exportación del Tequila enviando tres barriles y seis botijas (vasijas de barro) a E.E.U.U (Martha Dalila Jara Martínez, 2010).

Las marcas de Tequila Sauza son:

- Sauza Conmemorativo
- Sauza Hacienda

- 100 Años
- Tres Generaciones
- Hornitos
- Hornitos Black Barrel

En términos jurídicos, el tequila es un “producto distintivo de México, cuya denominación de origen es propiedad de Estado mexicano”. El aparato estatal es propietario formal de estos bienes. En tanto tales, y como símbolos de la mexicanidad, pueden concebirse en calidad de expresiones culturales de la formación del Estado, a la par, de la recreación del discurso oficial en la era de la globalización (Guadalupe Rodríguez Gómez, 2007).

6.1.2. Definición del Tequila

La norma oficial mexicana NOM-006-SCFI-2012, de bebidas alcohólicas-Tequila-especificaciones da como definición al Tequila a una bebida alcohólica regional obtenida por destilación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído, en las instalaciones de la fábrica de un Productor Autorizado la cual debe estar ubicada en el territorio comprendido en la Declaración, derivados de las cabezas de Agave de la especie *Tequilana Weber* variedad azul, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidos a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no, siendo susceptibles los mostos de ser enriquecidos y mezclados conjuntamente en la formulación con otros azúcares hasta en una proporción no mayor de 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa, en los términos establecidos en la presente norma y en la inteligencia que no están permitidas las mezclas en frío. El Tequila es un líquido que puede tener color, cuando sea madurado, abocado, o añadido de un color específico (NOM-006-SCFI-2012).

El Tequila puede ser añadido de edulcorantes, colorantes, aromatizantes y/o saborizantes permitidos por la Secretaría de Salud, con objeto de proporcionar o intensificar su color, aroma y/o sabor (NOM-006-SCFI-2012).

Tequila es la bebida alcohólica producida utilizando como materia prima, *agave tequilana weber* variedad Azul, cultivado y procesado, únicamente, en el territorio que

comprende 181 municipios ubicados en cinco estados de los Estados Unidos Mexicanos: Jalisco (125 municipios); Guanajuato(7municipios); Michoacán (30 municipios); Nayarit (8 municipios) y Tamaulipas (11 municipios) (Consejo Regulador del Tequila, 1974).



Figura 1. Zonas autorizadas para la producción de Tequila, Eduardo Benjamín Ibarra, 2010.

El tequila se obtiene de la fermentación del jugo de piña de la especie *Agave Tequilana Weber* Variedad azul. Después de la fermentación se puede obtener tequilas según su porcentaje de azúcar que tenga de la misma planta, también dependiendo sus características se clasifica en otros tipos de Tequila.

6.1.3. Tipos de tequila

6.1.3.1. Tequila blanco o plata

Producto transparente no necesariamente incoloro, sin abocante (suavizador del sabor, mediante la adición del 1% de uno o más de los ingredientes considerados como abocante según la norma vigente reguladora del Tequila), obtenido de la destilación añadiendo únicamente agua de dilución y una maduración menor de dos meses en recipientes de roble o encino.

6.1.3.2. Tequila joven u oro:

Producto resultante de la mezcla de Tequila blanco con Tequilas reposados y/o añejos y/o extra añejo. También se denomina Tequila joven u oro al producto resultante de la mezcla de Tequila blanco con algunos ingredientes, lo que se conoce como abocamiento.

6.1.3.3. Tequila reposado:

Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos dos meses en contacto directo con la madera de recipientes de roble o encino. Su contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución. El resultado de las mezclas de Tequila reposado con Tequilas añejos o extra añejos, se considera como Tequila reposado.

6.1.3.4. Tequila Añejo:

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

El resultado de las mezclas de Tequila Añejo con Tequila extra Añejo se considera como Tequila Añejo.

6.1.3.5. Tequila Extra Añejo:

Producto susceptible de ser abocado, sujeto a un proceso de maduración de por lo menos tres años, en contacto directo con la madera de recipientes de roble o encino, cuya capacidad máxima sea de 600 litros, su contenido alcohólico comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución (NOM-006-SCFI-2012).

6.1.4. Categorías del Tequila

De acuerdo al porcentaje de los azúcares provenientes del Agave que se utilice en la elaboración del Tequila, éste se puede clasificar en una de las siguientes categorías:

6.1.4.1. “100% de Agave”

Es el producto que no es enriquecido con otros azúcares distintos a los obtenidos del Agave de la especie *Tequilana Weber* variedad azul cultivado en el territorio comprendido en la Declaración. Para que este producto sea considerado como “Tequila 100% de Agave” debe ser envasado en la planta que controle el propio Productor Autorizado, misma que debe estar ubicada dentro del territorio comprendido en la Declaración (NOM-006-SCFI-2012).

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

6.1.4.2. “Tequila”

Es el producto en el que los mostos son susceptibles de ser enriquecidos y mezclados conjuntamente en la formulación con otros azúcares hasta en una proporción no mayor de 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa. Este enriquecimiento máximo de hasta 49% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa, no se debe realizar con azúcares provenientes de cualquier especie de agave. Sólo se podrá incrementar el 51% de azúcares reductores totales expresados en unidades de masa con azúcares reductores totales provenientes de Agave de la especie *Tequilana Weber* variedad azul cultivado en el territorio comprendido en la Declaración. Este producto puede ser envasado en plantas ajenas a un Productor Autorizado.

Para el mercado internacional se puede sustituir la clasificación mencionada en el párrafo anterior por la traducción al idioma correspondiente de acuerdo a la regulación del país o lugar de comercialización, o bien, por las siguientes (NOM-006-SCFI-2012):

- “Silver” en lugar de Blanco o Plata.
- “Gold” en lugar de Joven u Oro.
- “Aged” en lugar de Reposado.
- “Extra aged” en lugar de Añejo.
- “Ultra aged” en lugar de Extra añejo.

6.2. Agave Tequilana Waber Variedad Azul

El Agave *Tequilana Waber Variedad Azul* pertenece a la familia de las agaváceas, sus principales características son: hojas largas fibrosas, forma lanceolada, color azulado; la parte aprovechable para la elaboración del tequila es la piña o cabeza. Este agave es la única variedad admitida para la elaboración del Tequila y debe ser cultivada dentro del territorio comprendido en la declaración y estar inscrito en el registro de plantación de predios inscripción que debe hacerse como máximo durante el año calendario siguiente a su siembra (José Fernando Botero González, 2010).

El agave no existe en estado silvestre, el ciclo biológico del cultivo oscila entre 6 y 8 años. Durante este tiempo, el crecimiento de la piña o cabeza puede llegar a pesar entre 35 y 120kg. El agave una vez cortado inicia su descomposición llegando a su límite máximo en un tiempo de 15 días con la formación de hongos, que lo hace no apto para ser utilizado en procesos fermentativos, puesto que la piña llega al estado de madurez y su descomposición genera azúcares más simples (se manifiesta por coloración oscura en la piña). Ya que en esta se encuentran la mayor cantidad de azúcares concentrados, y no depende del tamaño y peso de esta (42-47°Bx) (Eduardo Benjamín Ibarra, 2010).

El polisacárido predominante en la planta de agave es la inulina, que está compuesta principalmente de cadenas moleculares de fructosa (85 a 92 %); esta fructosa es

obtenida de la inulina mediante hidrólisis, en la mayoría de los casos por medios térmicos; la composición general de la planta de agave se muestra en la Figura 2.

Tabla 1. . Composición general de la planta de agave

Composición	Porcentaje
Humedad	60
Carbohidratos	25
Fibra y médula	10
Sales minerales	2.5
Otros (proteínas, saponinas, etc.)	2.5

Ibarra, 2010.

El género *Agave* es una monocotiledónea, económicamente muy importante y cuenta con 136 especies. Algunas de ellas eran consumidas por los antiguos habitantes de México siendo apetecibles por su alto contenido de azúcar (Nobel, 1998). El *Agave Tequilana Weber* es una planta xerófila (que crece en zonas áridas y cálidas) de hojas color azul-verdoso, delgadas y casi planas; mide aproximadamente 1.25 m de largo y 10 cm de ancho y tiene una espina terminal de color rojo oscuro de 2 cm (Granados, 1993).

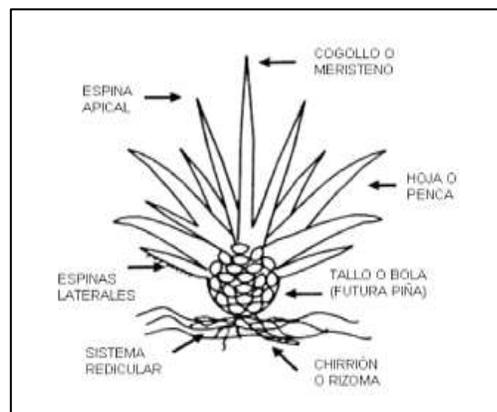


Figura 2. Morfología de la planta de agave, Academia mixteca del tequila.

La producción de la planta de agave es un proceso muy arduo y largo en el cual se sigue utilizando un proceso muy tradicional, razón por la cual la calidad del tequila, en muchas ocasiones, puede variar debido a el proceso de elaboración.

6.3. Proceso de elaboración del Tequila

6.3.1. Jima

Consiste en separar las piñas de las pencas del agave, labor que realiza un experto que recibe el nombre de jimador, utilizando su conocimiento, experiencia y una herramienta llamada Coa.

Las piñas son transportadas en camiones hacia las plantas de producción de tequila; en este punto se tiene una piña con un grado Brix de 42, en promedio, una vez en la planta de producción los agaves son reducidos a un tamaño adecuado para iniciar la operación de hidrólisis (Ibarra, 2010).

6.3.2. Hidrólisis

El agave, por su naturaleza tiene un polisacárido de reserva llamado inulina. La inulina es similar al almidón con la diferencia que esta es muy sensible a los ácidos con los cuales se hidrolizan dando D fructosa y es similar a los almidones por su estabilidad en álcalis.

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

Autoclaves: Estos equipos pueden compararse con ollas express de forma cilíndrica en donde por la parte superior es inyectado el vapor de agua, la parte inferior dispone de

unas parrillas que permiten el drenaje de los jugos y el soporte de las piñas. Las autoclaves poseen una capacidad de 15 a 40 toneladas.

El tiempo de cocción es de 14 horas, seguido de 12 horas de reposo, tiempo en el cual continúa la cocción y el desdoblamiento de azúcares, la presión de trabajo entre 0.8 a 1 kg f/cm², la temperatura es de 105°C; la cocción de los agaves en autoclave, brinda organolépticamente al tequila como producto final, aromas a agave crudo (Ibarra, 2010).

6.3.3. Extracción

Es la operación por medio de la cual se separan los azúcares de las fibras de las piñas de los agaves. Una vez concluida la operación de hidrólisis, utilizando para ello procedimientos mecánicos, físicos, químicos, biológicos o combinación de estos. Antiguamente se realizaba en la tahona, formada por una gran roca en forma de rueda que iba exprimiendo las fibras en su desplazamiento, labor que se caracterizaba por ser ineficiente, sin embargo, para aquel tiempo no se contaba con mayor tecnología.

Actualmente en la industria tequilera cuenta con molinos del tipo cañero, con un tren de hasta 8 pasos, donde las piñas cocidas, en su desplazamiento por los pasos se desgarran, desmenuzan, exprimen y se lavan con agua a una temperatura de 32°C, temperatura a la cual se ve favorecida la extracción de azúcares, para obtener sus jugos ricos en fructosa. El jugo resultante de la molienda se mezcla con las mieles dulces de la hidrólisis, en el caso que se realice por cocción, para ser llevadas a la formación y posterior fermentación.

El jugo extraído de las piñas de agave es analizado en el laboratorio para determinar azúcares reductores, practicándosele la prueba de Fehling-Soxhlet, y al bagazo se le hace prueba de azúcares residuales, con lo cual, en comparación con los azúcares presentes en la piña cocida, se halla la eficiencia de la molienda. Normalmente, en la industria del tequila la eficiencia de extracción va del 78 al 82% (Ibarra, 2010).

6.3.4. Formulación

Antes de llevar el jugo a fermentación es necesario fijar sus parámetros de entrada, tales como tipo y procedencia de los azúcares, concentración de los azúcares reductores totales, °Brix, temperatura, pH y nutrientes.

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

El jugo es llevado a los tanques de fermentación, estos tanques pueden tener entre cinco mil a 100 mil litros de capacidad. Sin embargo, se ha notado que las eficiencias de fermentación varían dependiendo del volumen, siendo menores a grandes volúmenes (Ibarra, 2010).

6.3.5. Fermentación

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

La composición química de los olores depende de la calidad y el tipo de las materias primas, así como las condiciones del proceso de fermentación (Plutowska, 2007).

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



Los parámetros a controlar en la fermentación son la población celular de levaduras, la carga microbiana, el porcentaje de inóculo, la temperatura, el pH, grados Brix y grado alcohólico. En los fermentadores se lleva a cabo un monitoreo cada dos horas, generando un historial de agotamiento de azúcares.

El tiempo que tarda la fermentación en concluir se encuentra entre 22 y 24 horas.

El jugo cargado debe estar entre 11.5 y 13°Brix, siendo estos valores en los que la levadura tiene mayores eficiencias, La industria tequilera maneja Brix bajos para reducir los tiempos de fermentación y porque no se ha encontrado una especie de levadura de mayor tolerancia a las altas concentraciones de alcohol y otras variables. El medio debe tener carácter ácido, manejado pH de 3,8 a 4,0. El 85% de las casas tequileras utilizan levadura comercial (Ibarra, 2010).

En el proceso fermentativo se producen gran variedad de compuestos químicos, algunos de ellos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Compuestos generados en la fermentación del Tequila

Ésteres	Aldehídos	Alcoholes superiores	Ácidos Orgánicos
Acetato de Etilo	Acetaldehído	2-Butanol	Acetato
Acetal		n-Propanol	Maltato
Lactato de Etilo		Iso-Butanol	Succinato
		2-Pentanol	Citrato
		Iso-Amílico	
		n-Butanol	

Ibarra, 2010.

La levadura utilizada en la elaboración de tequila es *Sacharomyces Cerviciae*, ya sea comercial o cepa propia y es necesario que se adapte (por propagación) al jugo de la piña del agave antes de agregarla a los fermentadores. Esta etapa se realiza a las mismas condiciones a las que la levadura va a fermentar.

Durante la fermentación alcohólica, las células de levadura producen principalmente etanol y CO₂, así como muchos compuestos de sabor como productos secundarios. Los estudios existentes informan el perfil aromático del Tequila, se distinguen más de 175 compuestos volátiles en el tequila; alta concentración de alcoholes superiores se observaron junto con bajas concentraciones de ésteres, acetales, terpenos, furanos,

ácidos, aldehídos, cetonas, fenoles y sulfuros. De estos compuestos, la mayoría se produce por la fermentación de la levadura; por lo tanto, la composición de la comunidad microbiana es un factor clave en la calidad aromática de las bebidas fermentadas. Los factores que pueden afectar a la comunidad microbiana en vinos, son la presencia de inhibidores (toxina killer, etanol y alta concentración de azúcar), la disponibilidad de nutrientes, factores de crecimiento y las condiciones físico-químicas, también pueden llegar a ser críticos en la producción de tequila (Díaz , 2007).

6.3.6. Destilación

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

La destilación se realiza en dos etapas: la primera se llama destrozamiento y su objetivo es un producto llamado ordinario, el cual tiene unas características sensoriales a fusel (mezcla de varios alcoholes) y muy aromático debido a la elevada cantidad, entre otras sustancias, de alcoholes superiores, su graduación alcohólica esta entre los 25 y 45 % Alc. Vol como se muestra en la Figura 3.



Figura 3. Primera etapa de destilación, Ibarra, 2010.

La segunda destilación es llamada rectificación y en esta están más equilibrados los aromas. El producto del destrozamiento “ordinario” ingresa a la rectificación para refinar su composición, en donde se obtiene tres productos: cabezas, corazón y colas. El corazón es propiamente el Tequila, puesto que es obtenido con un perfil estándar, 40 a 60% en volumen, como se muestra en la Figura 4.

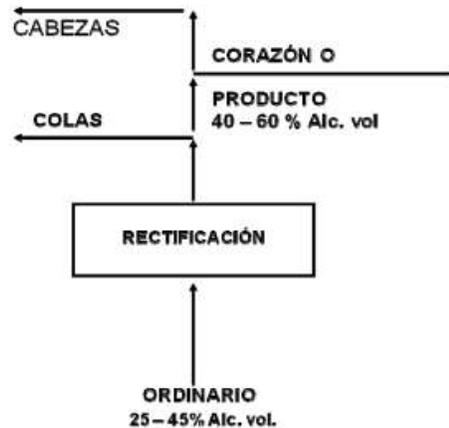


Figura 4. Segunda etapa de destilación, Eduardo Benjamín Ibarra, junio 2010.

El corazón, que es el tequila, es diluido a una concentración del 55% en volumen para poder ingresar a maduración. La norma Oficial Mexicana establece que para la maduración, el Tequila debe ingresar a una concentración entre 35 y 55% en volumen de alcohol (Ibarra, 2010).

6.3.7. Maduración

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

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

En esta operación se modifican, entre otros, el olor, el sabor y el color. Juega vital importancia la clase y el tipo de madera a utilizar, roble, tipo de roble o encino, el tiempo de permanencia del líquido en el barril, el área de contacto entre la madera y el alcohol, la temperatura interior y exterior de la bodega, el número de usos del barril, la humedad relativa, el volumen del barril, el grado alcoholímetro de maduración, el sitio de ubicación del barril en la organización de la bodega, entre otras, todas estos factores intervienen directamente con la calidad del tequila según la norma (NOM-006-SCFI-2012).

6.4. Calidad del tequila

La calidad de un producto depende de las necesidades y expectativas del consumidor. En el caso de las bebidas alcohólicas se debe, por un lado, asegurar que el producto que se consume no contenga componentes tóxicos y que cumpla con las características específicas en la etiqueta (grado alcohólico, identificación, origen, operaciones del proceso, etc.). Por lo tanto también un factor fundamental en el que el éxito de una bebida alcohólica, ya que, aparte de la estrategia de mercado para la imagen del producto (nacionalista, elitística, tradicional, divertido, etc.), una bebida alcohólica ofrece al consumidor básicamente sus atributos del olor, aroma, gusto y textura, las cuales determinan aceptación y preferencia.

La calidad final del Tequila se construye partiendo de las materias primas y a lo largo del proceso. El primer paso es una selección y el control adecuado del agave tequilero, lo que permite garantizar que tenga la madurez adecuada para el proceso y proporcione componentes volátiles y precursores de aroma, además de azúcares fermentables, que permanezcan hasta el producto terminado (CIATEJ, 2004).

La calidad juega un papel muy importante en la industria tequilera ya que establece estándares que consolida el prestigio de la bebida, también el control de calidad verifica

que el Productor Autorizado y el envasador de Tequila “aprobado”, deben mantener sistemas compatibles con las normas aplicables y las buenas prácticas de fabricación de acuerdo a la NOM-251-SSA1-2009. Así mismo deben verificar sistemáticamente en cumplimiento de las especificaciones contenidas en la NOM-006-SCF1-2012.

El producto objeto de esta norma debe cumplir con las especificaciones señaladas en la Tabla 3.

Tabla 3. Especificaciones fisicoquímicas del Tequila.

Parámetros	Tequilas Blancos		Tequila Joven u Oro		Tequila Reposado		Tequila Añejo		Tequila Extra Añejo		Método de ensayo (prueba)
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	
Contenido alcohólico a 293 °K (20°C) (% Alc. Vol)	35	55	35	55	35	55	35	55	35	55	NMX-V-013.-NORMEX
Extracto seco (g/L)	0	0.30	0	5	0	5	0	5	0	5	NMX-V-017-NORMEX
Valores expresados en mg/ 100 ml de Alcohol Anhidro											
Alcoholes superiores (como Alcohol Amílico)	20	500	20	500	20	500	20	500	20	500	NMX-V-005-NORMEX
Metanol	30	300	30	300	30	3000	30	300	30	300	NMX-V-005-NORMEX
Aldehídos (como acetaldehídos)	0	40	0	40	0	40	0	40	0	40	NMX-V-005-NORMEX
Esteres (como acetato de etilo)	2	200	2	200	2	250	2	250	2	250	NMX-V-005-NORMEX
Furfural	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	NMX-V-004-NORMEX

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-006-SCFI-20012, Bebidas alcohólicas-Tequila- especificaciones.

Las especificaciones establecidas de la bebida, son muy importantes ya que estas aparte, de ayudar con la calidad el punto principal que busca cualquier empresa, es expresarlo en términos monetarios y al no cumplirlas ocasionaría un impacto económico el cual afectaría drásticamente.

6.5. Impacto Económico del Tequila

En el año del 2013, la producción total de la emblemática bebida mexicana se redujo 28.4%, en comparación con el mismo período del año anterior, al pasar de 158 a 113 millones de litros; es decir, 44.8 millones menos, de acuerdo con estadísticas del Consejo Regulador del Tequila (CRT).

Aunque el destilado de agave tiene presencia en 120 países y las casas tequileras tienen altas expectativas con el reconocimiento de la bebida en mercados como India y China, el consumo nacional se mantiene prácticamente estancado, por factores como la competencia desleal que representan otros destilados, situación que ha provocado un aumento en inventarios y la drástica caída en la producción. El problema es tal, que el año anterior las existencias superaron la producción (Romo, 2013).

Actualmente, hay 146 empresas certificadas para la producción de Tequila (13 de las cuales acaparan 80% del total), 1,293 marcas vigentes en México y 254 en el extranjero, que suman 1,547 certificadas. En contraparte, año con año, las exportaciones de la primera denominación de origen mexicana han ido a la alza y han alcanzado cifras récord.

El Consejo Regular del Tequila reportó que las ventas al exterior de la bebida ascendieron a 107.8 millones de litros, cifra que supone un crecimiento de 4.2 millones de litros con relación a las exportaciones del período enero-julio del 2012, cuando se vendieron al mundo 103.6 millones de litros, es decir, un aumento de 4%.

Para el periodo en cuestión, Estados Unidos se mantiene como el principal destino para las exportaciones tequileras, al adquirir 85 millones 213,569 litros; es decir, 79% del total, en tanto China anunció en junio del 2012 la eliminación de su barrera no arancelaria al Tequila mexicano, se han exportado en lo que va del año 2013 únicamente 305,803 litros del destilado (Romo, 2013).

Tanto ha sido el impacto económico del Tequila a nivel mundial, que ha llevado al consumidor a exigir el mantenimiento o mejoramiento de la calidad de esta bebida, para lograr este objetivo las empresas Tequileras han buscado nuevos métodos que permitan conocer y descubrir las características tanto físicas, químicas y organolépticas de sus productos, es por tal razón que la implementación de la cromatografía de gases, ayudará a perfeccionar perfiles del Tequila, para seguir siendo una de las bebidas más importantes de México y del mundo.

6.6. Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas. (GC-MS)

6.6.1. Cromatografía de gases

Aparecida en 1952, la cromatografía de gases (GC) es la técnica más adecuada para analizar la fracción volátil de los alimentos, entre otras cosas por los avances que han producido tanto en las columnas cromatográficas como en los sistemas de detección, consiste en la separación de una mezcla de compuestos (solutos) en componentes independientes, de modo que se facilita la identificación (calidad) y medición (cantidad) de cada uno de los componentes (Muños, 2011).

La cromatografía de gases (GC) es una de las diversas técnicas cromatográficas que existen y resulta adecuada para analizar entre un 10 y un 20% de todos los compuestos conocidos. Para reunir los requisitos para un análisis GC, un compuesto debe poseer la volatilidad y estabilidad térmica suficientes. En caso de que todas o algunas de las moléculas de un compuesto se encuentren en la fase gaseosa o de vapor a 400 - 450 °C (o inferior) y no puedan descomponerse a tales temperaturas, lo más probable es que el compuesto pueda analizarse mediante GC (Angilent Technologies, 2007).

Para realizar una separación mediante cromatografía de gases, se inyecta una pequeña cantidad de la muestra a separar en una corriente de un gas inerte a elevada temperatura; esta corriente de gas, atraviesa una columna cromatográfica que separa los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de participación (cromatografía gas líquido), de adsorción (cromatografía gas sólido) o, en muchos casos, por medio de una mezcla de ambos. Los componentes separados, emergerán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de algún sistema de detección adecuado, o bien serán dirigidos hacia un dispositivo de recogida de muestras (Espinosa, 2007).

Los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases, son:

- Fuente de gas.
Los gases que se usan son el helio, hidrógeno y nitrógeno, aunque predomina el helio; cualquiera de ellos debe ser químicamente inerte a la muestra, puro y seco.
- Sistema de inyección.
La muestra se introduce en el flujo del gas acarreador por medio de una microjeringa, cuya aguja atraviesa un diafragma de caucho o de silicona dentro de una entrada para muestras previamente calentada en la cabeza de la columna.
- Horno y columna cromatográfica.
Estas pueden ser capilares o empacadas; el tubo, de cobre, acero inoxidable, aluminio o vidrio; generalmente se usan de acero inoxidable. Deben ser térmicamente estables, tener una presión vapor pequeña, ser inertes a la muestra y tener polaridad, es decir, tener una estructura similar a la de los compuestos que se quieren analizar.
- Sistema de detección.
El detector es un dispositivo que mide la concentración de cada uno de los componentes de la muestra generando una señal eléctrica proporcional a la concentración. Los que más se utilizan son los de conductividad térmica, ionización de flama y captura de electrones, aunque existen más en el mercado.
- Sistema de registro.
Durante el análisis se va obteniendo una gráfica denominada cromatograma. Cuando por la columna solo pasa el gas portador, en el cromatograma se observa una línea recta; en el momento que se detecta un compuesto se comienza a generar un pico; el tiempo de retención y el área del pico dependen de la concentración y del compuesto.

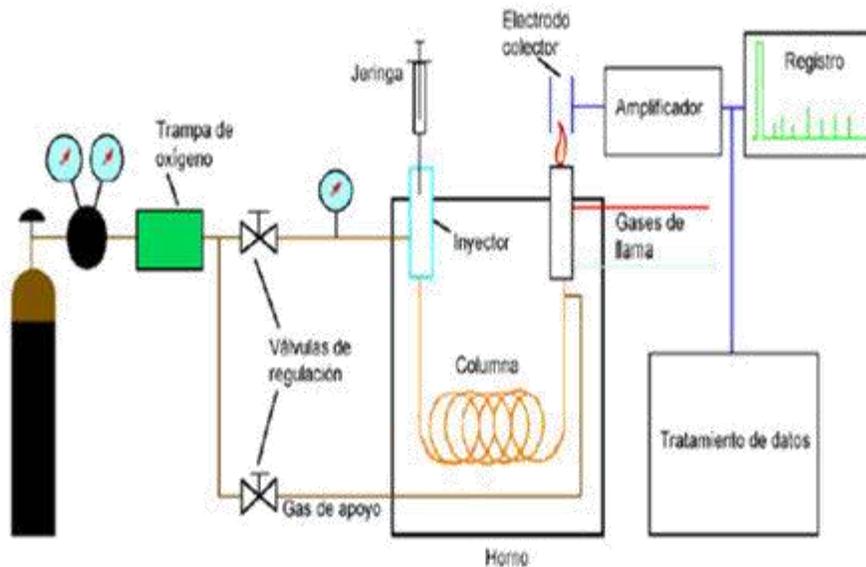


Figura 5. Esquema general del cromatógrafo de gases, (Anónimo, 2010).

Una alternativa muy usada en la identificación de volátiles acoplada a la cromatografía de gases consiste en el uso del detector de espectrometría de masas: los compuestos que llegan al detector, una vez separados al salir de la columna, se ionizan en relación con su masa y su carga, en general, el proceso de ionización produce una familia de partículas positivas cuya distribución según la masa es característica de la especie que le dio origen, lo que genera un patrón o “espectro” exclusivo que permite su identificación (Skoog L, 1994).

6.6.2. Cromatografía de gases-olfatometría (GCO)

La cromatografía de gases con detección olfatométrica se utiliza a menudo para crear perfiles de olor de las bebidas alcohólicas de características tradicionales de cualquier país o región, que por lo general se distinguen por aromas atípicos resultantes de determinadas materias primas o tecnologías utilizados durante su producción (Plutowska, 2007).

La técnica más empleada para la identificación de los componentes del aroma, ha sido la cromatografía de masas acoplada a un detector de ionización de flama o a espectrometría de masas. En general, la cromatografía de gases-olfatometría, o GCO, consiste en evaluar con la nariz humana las cualidades aromáticas de los compuestos que eluyen de la columna cromatográfica, a la vez que el detector instrumental instalado proporciona un cromatograma. De esta manera se pueden asignar olores a los picos y/o determinarse a qué tiempos de retención se detectan olores. Así, tal y como puede verse en la Figura 6, la detección olfatométrica y la instrumental son simultáneas, lo que permite relacionar la información sensorial con la información química.

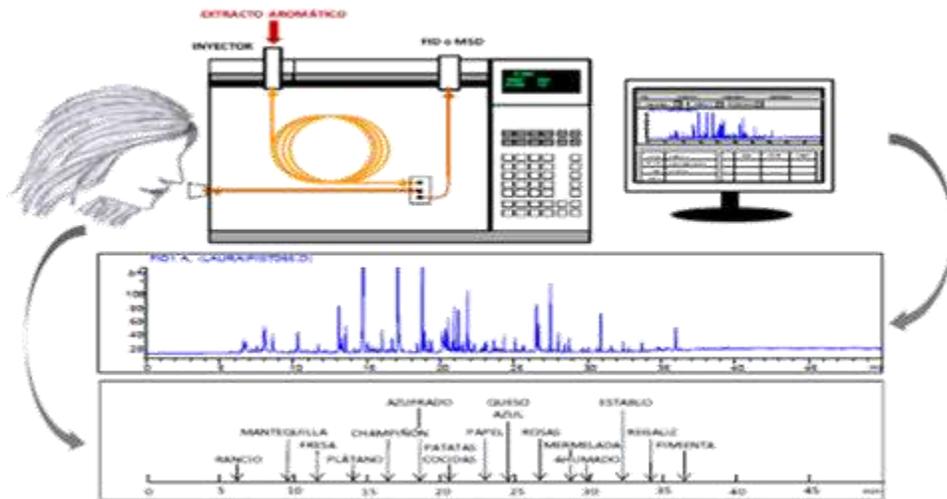


Figura 6. Esquema del análisis cromatográfico-olfatométrico, (Anónimo, 2007)

En los últimos años, se han llevado a cabo estudios intensivos sobre la actividad sensorial de los componentes individuales de la comida y los olores de bebidas alcohólicas, y la dependencia entre el olor y la composición química de la fracción volátil de estos productos. La mayoría de los logros dentro de esta área se pueden atribuir a la combinación de cromatografía de gases con detección olfatométrica (Plutowska,2007).

La cromatografía de gases con detección de olfatometría, es basado en la evaluación sensorial del eluato (dilución que sale) de la columna cromatográfica orientada a conocer los compuestos de olor activos. La función del detector es ser trabajado por una persona debidamente educada o un equipo de evaluación de personal. El diseño de todos los puertos olfatométricas disponibles en el mercado es muy similar. El eluato se entrega al puerto a través de una delicada línea de transferencia hacia un puerto cónico de PTFE (politetrafluoroetileno), montado en la forma de una nariz. La evaluación cualitativa y cuantitativa del olor se lleva a cabo para cada analito que abandona la columna cromatográfica. Esto permite determinar si un compuesto dado es sensorial activo a una concentración dada (es decir, si aparece en la muestra a un nivel más alto que el umbral de detección sensorial) y cuál es su olor, así como la determinación del tiempo de la actividad sensorial y la intensidad del olor.

La determinación del olor de los analitos es posible gracias a la presencia de un accesorio especial, un denominado puerto de olfatometría, conectado en paralelo a los detectores convencionales, tales como detector de ionización de llama (FID) o espectrómetro de masas (MS). El flujo del eluato se divide de tal manera que los analitos alcanzan ambos detectores simultáneamente, debido a que ambas señales se pueden comparar. Una combinación del detector de olfatometría con un espectrómetro de masas es particularmente ventajosa, ya que hace posible la identificación de analitos (componente) de olores activos. Sin embargo, puesto que el espectrómetro de masas funciona en condiciones de vacío, mientras que el detector de olfatometría trabaja bajo condiciones de presión atmosférica, los tiempos de retención de los analitos pueden ser diferentes para los dos detectores (típicamente más cortos para el espectrómetro de masas) (Hochereau y Bruchet, 2004).

Una comparación de olfactogramas con cromatogramas obtenidos con el uso de detectores tales como el detector de ionización de llama (FID) o espectrómetro de masas (MS) a menudo revela que los compuestos que producen señales grandes con los detectores convencionales son débilmente detectable en el eluato de la columna, y viceversa. Debe hacerse hincapié en que a veces compuestos detectados a la nariz como picos en un olfactograma no son en absoluto detectable con detectores

convencionales, que muestra la enorme sensibilidad de la nariz humana (Benn y Peppard, 1996; Ferreira y col, 1998).

La composición y el contenido de compuestos de olor determinan la calidad de los productos alcohólicos. El olor de una bebida alcohólica es el efecto de un gran número de compuestos químicos con diferentes propiedades (tales como la polaridad o la volatilidad) que ocurren a concentraciones muy diferentes (Angilent Technologies, 2007).

Debido a la complejidad que presenta el aroma en muchos alimentos, en particular en las bebidas alcohólicas, en el análisis de los compuestos responsables de él presenta algunas dificultades. La primera dificultad es el hecho de que estos compuestos se encuentran solo en pequeñas cantidades, en ocasiones incluso a nivel de trazas. Por otro lado, el perfil del aroma de un alimento o bebida lo constituye una gran cantidad de compuestos volátiles pertenecientes a una gran variedad de familias químicas (Adda, J y Richard, H., 1992).

La composición de la fracción volátil de los productos puede cambiar dependiendo de la solubilidad de los componentes y las propiedades de la matriz (por ejemplo, contenido de azúcar). En consecuencia, es más ventajoso utilizar métodos de aislamiento que reflejan la liberación de los componentes volátiles de la matriz en lugar de determinar el contenido global de estos componentes, ya que esto facilita la correlación con los resultados del análisis sensorial.

El aspecto de la olfatograma depende en gran medida sobre el procedimiento de aislamiento, ya que numerosos estudios comparativos revelaron que el uso de diferentes técnicas de preparación de la muestra (incluso usando diferentes disolventes en el caso de la extracción líquido-líquido) podría afectar a la composición y contenido del compuestos aislados (Bonino et al, 2003; López y Gómez, 2000; Nonato, Carazza, Silva, Carvalho, y Cardeal, 2001). El extracto aislado debe ser representativo, por lo tanto, la selección de un procedimiento apropiado de preparación de muestras es crucial (Plutowska y Wardencki, 2007).

La extracción de los compuestos volátiles requiere seleccionar el método más adecuado según las necesidades o parámetros que se desee evaluar. No existe un método que pueda considerarse universal para la extracción de volátiles, debido a que cada uno basa la separación en diferentes propiedades fisicoquímicas. Así cada método elegido mostrará una imagen diferente de la composición del alimento o bebida (Adda, J. y Richard, H., 1991).

6.6.3. Métodos de Extracción

La definición de un método ideal para la extracción de volátiles se dificulta debido a que las moléculas presentan grandes diferencias en las propiedades fisicoquímicas (solubilidad, polaridad, volatilidad) según las diversas familias químicas.

6.6.3.1. Extracción con solventes

La extracción con solventes es un método clásico en la evaluación de la composición aromática. Su funcionamiento se basa en el poder de los solventes orgánicos para separar las moléculas de la matriz volátiles que los contiene. Su utilización se reserva a aquellos alimentos o bebidas que no contenga lípidos o sustancias lipofílicas, por lo que es un método adecuado para el estudio de las bebidas alcohólicas destiladas (Espinosa, 1998).

Este método presenta algunos inconvenientes, generalmente implican mucho tiempo y son muchas etapas. Esto es debido entre otras a la necesidad de enjuagar el extracto orgánico con soluciones acuosas de pH diferente para eliminar los ácidos y compuestos no volátiles que podrían entrar en la extracción de disolventes poco selectiva. La eliminación de sustancias no volátiles del aislado es crucial no sólo debido al riesgo de contaminación de la columna cromatográfica, por si no también debido a la posible creación de artefactos en el inyector caliente, lo que podría falsear los resultados (Plutowska, 2007).

Por otro lado, es importante tener en cuenta la imposibilidad de extraer todos los compuestos con un solo solvente, por lo que se debe elegir el más adecuado para cada problema que vaya a tratarse.

El pentano es uno de los solventes apolares que más se utiliza en el análisis de bebidas alcohólicas debido a que presenta la ventaja de extraer cantidades mínimas de etanol; además presenta cierta selectividad hacia la familia de los ésteres. Por su parte, el solvente medianamente polar más utilizado es el cloruro de metilo (Dicloro metano), ya que es más fácil de purificar y menos peligroso.

Según el equipo utilizado y la forma de realizar la extracción se distinguen diferentes tipos o sistemas de extracción. Un sistema consiste en dos líquidos inmiscibles (muestra y solvente) y separar los compuestos por medio de los coeficientes de partición que tengan los volátiles entre ambas fases. Este sistema extractivo se puede efectuar de forma continua o bien por lote.

Cuando la extracción se hace en equipos perforadores (extracción líquido-líquido en continuo) se mantiene un flujo de solvente constante a través de la muestra durante toda la extracción. El solvente, calentado hasta su punto de ebullición, llega a la cámara de enfriamiento en donde se condensa y cae a través de la muestra. Durante este tiempo se realiza una separación por gravedad entre la fase acuosa de la muestra y la fase orgánica del solvente utilizado. El solvente separado retorna cargando de volátiles hasta su propio recipiente (Espinosa, 1998).

En la extracción se utiliza un equipo adecuado según la densidad del solvente seleccionado. Un diagrama esquemático de la extracción líquido-líquido en continuo se muestra en la figura 7.



Figura 7. Diagrama esquemático de equipos para extracción líquido- líquido en forma continua, CIATEJ, 2007.

La extracción se puede llevar a cabo en sistema por lote (Líquido-Líquido por lote). Un sistema sencillo consiste en utilizar embudos de separación convencionales. En el recipiente de separación tanto muestra como el solvente seleccionado y un sistema completo se somete a una agitación constante durante un tiempo establecido según las necesidades. Una vez transcurrido el tiempo el sistema se deja reposar hasta que la fase orgánica se separe de la acuosa por medio de la gravedad (Adda, J y Richard, H., 1992).

6.6.4. Concentración

Para la concentración de compuestos es necesario realizar una destilación fraccionaria ya que permite concentrar los extractos orgánicos diluidos mediante el empleo de evaporadores Kuderna Danish y de la columna Snyder.

El extracto a concentrar es colocado en un matraz Kuderna Danish el cual es calentado a la temperatura de ebullición del solvente utilizado en la extracción, una vez que comienza la ebullición los vapores del solvente con los compuestos volátiles circulan a través de una cámara de enfriamiento donde son condensados y recuperados en el matraz (Espinoza, 1997).

En cuanto mayor eficiencia exista en la recuperación de los vapores y compuestos volátiles, mejor será su concentración para su identificación de esta al momento de ser sometidos a las pruebas de evaluación sensorial mediante la nariz electrónica y así lograr obtener aromas más puros.

6.7. Evaluación sensorial

El análisis sensorial es una ciencia utilizada en los últimos años para medir, analizar e interpretar las reacciones de determinadas características de los alimentos y materiales, tal como son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído, proporcionar una visión integradora sobre la calidad organoléptica de un producto, que se puede definir como calidad sensorial (Ibáñez, 2001).

6.8. Calidad sensorial del Tequila

Un camino que puede tomar la investigación sobre la calidad sensorial del tequila es la identificación certera de los compuestos clave con impacto en el aroma y gusto del producto. Esto requiere estudios más profundos sobre la correlación entre la composición volátil y la evaluación sensorial. Las técnicas olfatómetricas, las herramientas estadísticas multivariantes y otro tipo de modelo matemático, como las redes neuronales, se encaminan más a fondo al respecto. La información que generan estas herramientas se puede al desarrollo de los equipos llamados nariz electrónica, que permitirán, hasta cierto límite, estimar las propiedades aromáticas de un producto (CIATEJ, 2004).

En cuanto a los indicadores de calidad, cabe señalar que los primeros que utiliza el consumidor al primer trago de Tequila son la apariencia, el color y el sabor, ya que el control de calidad más riguroso por el que pasa una bebida es la que realiza un consumidor al probarlo. En cuestión de segundos, la persona analiza e identifica la apariencia, el sabor y otros atributos del producto con sus sentidos para decidir si lo acepta o no. El sabor es la puerta de entrada de una bebida hacia el consumidor (Villanueva S., 2003).

Un alimento o bebida puede fracasar al llegar al consumidor, aun cumpliendo con parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y nutricionales; si la combinación de integrantes no tiene las proporciones adecuadas para generar una imagen sensorial agradable al paladar del consumidor el producto puede ser rechazado o adquirir una baja preferencia (Booth D.A., 1994).

Sin embargo aun cuando estos parámetros dentro de los límites permitidos por la norma (NOM-006-SCFI-2012) estos no aplica a un punto determinante del Tequila y en consecuencia su compra.

- Apariencia, notas de olor, gusto, aroma, etcétera, que percibe el consumidor en función del tipo y proporción de compuestos volátiles y no volátiles que generan la imagen del sabor y la apariencia.

6.9. Los Sentidos

La apariencia, olor, sabor, textura, son las llamadas propiedades organolépticas y constituyen la calidad sensorial. En el caso específico del Tequila, las características de textura son casi nulas, las que en verdad contribuyen a la percepción y apreciación del Tequila son la apariencia sobre todo color, el olor y el sabor. Las dos últimas características representan lo que en las bebidas alcohólicas (principalmente respecto al vino) se llama bouquet.

6.9.1. El Aroma

El aroma que presenta un alimento es uno de sus más importantes factores de calidad. En la práctica la totalidad de los casos, el olor que un producto alimenticio emite es el responsable directo de la buena o mala primera impresión que causa en el consumidor. Incluso en ciertos alimentos, aquéllos cuyo consumo está estrechamente ligado al placer que proporciona su degustación, su influencia es aún mayor, debido al destacado papel que desempeñan las propiedades organolépticas (Aceña, 2007).

6.9.2. El color

La importancia del color en la evaluación sensorial se debe fundamentalmente a la asociación que el consumidor realiza entre este y otras propiedades de los alimentos, por ejemplo, el color rojo se asocia al sabor fresa, el verde a la menta, etc., demostrándose además que en ocasiones sólo por la apariencia y color del alimento un consumidor puede aceptarlo o rechazarlo (Espinosa, 2007).

6.9.3. Olor

El olor desempeña un papel muy importante en la evaluación sensorial de los alimentos, sin embargo su identificación y las fuentes de las que provienen son muy complejas y aún se desconocen muchos aspectos de este campo. El olor y el aroma son resultado de la estimulación de los compuestos volátiles sobre los receptores olfativos, mediante todo el sistema nasal. En el interior de la nariz y de la zona facial cercana a esta, existen regiones cavernosas cubiertas de una mucosa pituitaria, la cual presenta células y terminales nerviosos que reconocen los diversos olores y transmiten a través del nervio olfativo hasta el cerebro la sensación olfatoria (Espinosa, 2007).

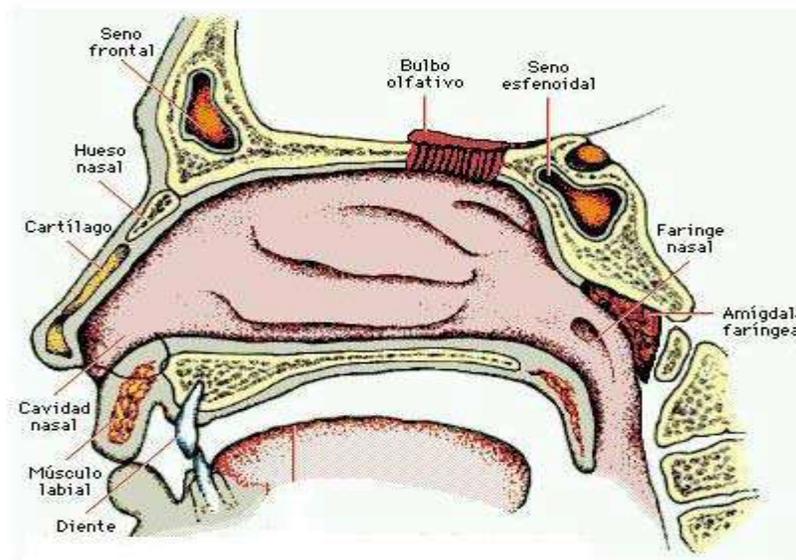


Figura 8. Morfología interna del olfato, (Espinosa, 2007)

Un aspecto importante entre la diferencia que existe del olor y aroma, pues el primero es la percepción de las sustancias volátiles por medio de la nariz, en cambio el aroma es la detección que se origina después de haberse puesto en contacto el alimento en la boca, o sea que el aire en el caso del aroma no es el medio de transmisión de la sustancia, sino la membrana mucosa del paladar.

6.9.4. Sabor

En general se designa sabor a las sensaciones que percibimos en la boca y que permiten identificar algún alimento o bebida. En muchos casos se supone que el sabor se percibe en la lengua, aunque también se presentan en el velo del paladar, mucosa de la epiglotis, en la faringe, laringe y en la garganta.

Los órganos receptores para la sensación del sabor, son los llamados botones gustativos que se encuentran en las papilas gustativas de la lengua, aunque también existen algunos en la superficie del paladar suave, amígdalas, faringe y laringe. A partir de estudios fisiológicos se piensa que existen cuatro sensaciones sápidas primarias: dulce, salado, ácido y amargo, constituyendo éstos los cuatro sabores básicos.

El sabor dulce se percibe con mayor intensidad en la punta de la lengua, zona donde se encuentran las células receptoras que detectan los azúcares, glicoles, aldehídos, cetonas, aminas, esterres, alcoholes o sustancias de naturaleza orgánica que están presentes en los alimentos; el sabor salado y ácido se percibe en los bordes anteriores y posteriores respectivamente, donde los receptores son estimulados por sales ionizadas o por los hidrogeniones de las sustancias ácidas.

El sabor amargo se detecta fundamentalmente en la parte posterior o base de la lengua, donde se encuentran los receptores de las sustancias orgánicas de cadena larga que contienen nitrógeno en su molécula y alcaloides como la quinina (Espinosa, 2007).

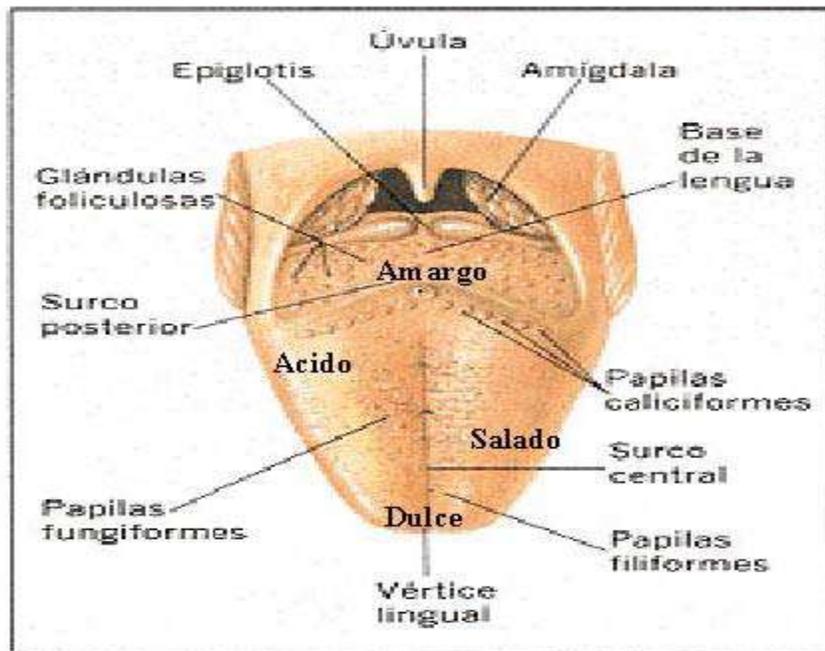


Figura 9. Morfología externa de la lengua, con los distintos tipos de papilas, Espinosa, 2007.

A pesar de lo sencillo que parece, el sabor es un fenómeno múltiple y complejo. El sabor lo determina más bien la estimulación, de al menos tres diferentes tipos de captadores o receptores, que inducen ciertos compuestos volátiles y no volátiles presentes en proporción determinada.

$$\text{sabor} = \sum \text{sensaciones gustativas} + \text{sensaciones de aroma} \\ + \text{sensaciones trigémeas}$$

Entre estos tres tipos de sensaciones el aroma es un componente que contribuye en forma significativa a la identidad del sabor.

Para lograr plasmar los resultados obtenidos en el análisis sensorial es el hombre el instrumento de medición, donde su herramienta de trabajo son los sentidos, es decir los jueces que participan en las diferentes pruebas de evaluación sensorial, por lo que es necesario tener en cuenta todos los factores que pueden incidir en sus respuestas, tanto desde el punto de vista psicológico como fisiológico y prepararlos adecuadamente con el propósito de que puedan emitir juicios exactos y confiable.

6.10. Jueces

Se distinguen dos tipos de jueces:

6.10.1. Juez analítico

El Juez analítico es el individuo que entre un grupo de candidatos ha demostrado una sensibilidad sensorial específica para uno o varios productos. Es necesario tener en cuenta algunos aspectos personales de los jueces analíticos entre los que se encuentran los siguientes:

- Edad
- Sexo
- Estado de salud
- Carácter y responsabilidad
- Afinidad con el material objeto de prueba
- Disponibilidad

6.10.2. El Juez afectivo

El Juez afectivo es el individuo que no tiene que ser seleccionado ni adiestrado, son consumidores escogidos al azar representativo de la población a la cual se estima está dirigido el producto que se evalúa.

El objetivo que se persigue al aplicar una prueba de evaluación sensorial con este tipo de juez, es conocer la aceptación, preferencia o nivel de agrado que estas personas tienen con relación al alimento evaluado (Espinosa, 2007).

6.11. Métodos de evaluación sensorial

Existe en la práctica una gran confusión por parte de las personas que no tienen un conocimiento adecuado sobre las técnicas sensoriales, con relación a que información se necesita según el objetivo que se persigue al realizar un estudio sensorial. En la mayoría de los casos no existe una sola prueba que resuelva el problema y en ocasiones es necesario revisar varias veces el objetivo para tener claro cuál o cuáles métodos hay que aplicar.

Con relación a las pruebas que pueden ser utilizadas existen diversas formas de clasificarlas aunque todos los autores coinciden en que estas se dividen en dos grandes grupos:

- Pruebas hedónicas ó afectivas.
- Pruebas analíticas

Cualquiera que sea la prueba que se vaya a emplear, es necesario que los jueces entiendan la necesidad de efectuar la misma de la manera más objetiva posible, demuestren su capacidad para seguir las instrucciones y ejecuten la misma de manera correcta (Espinosa, 2007).

A pesar de lo complejo del proceso de percepción del sabor, la percepción de la calidad sensorial de alimentos y bebidas ha sido una actividad natural del hombre. En cambio, la medición de la calidad sensorial en la industria de alimentos y bebidas es una actividad relativamente nueva. Esta actividad, tal como se conoce hoy, se inició a principios del siglo 20 ante la necesidad de controlar la calidad en las industrias de embutidos y panificación.

La metodología actualmente empleada para identificar y cuantificar propiedades físicas y químicas haciendo uso de los sentidos tiene la calidad de normas ISO (International Organization for Standardization) y ASTM (American Section of the International Association for Testing Materials).

Los sentidos son capaces de identificar cuantificar propiedades físicas y químicas como lo hacen los distintos instrumentos que se han desarrollado para medir tales propiedades de la materia. Con base en esta capacidad, la metodología de la evaluación sensorial ha generado dos grupos de prueba.

6.11.1. Pruebas hedónicas

El objetivo de estas pruebas es medir, el nivel de agrado o preferencia de un producto determinado en función de las características percibidas mediante los sentidos.

Estas aportan información sobre la preferencia del tequila por parte de distintos segmentos, pero en función de sus características intrínsecas, debidas únicamente a la composición del producto. Este tipo de información se obtiene usando protocolos establecidos por las normas ISO, con poblaciones consumidores donde estén presentados los segmentos que constituyen el universo de consumidores y empleando un diseño estadístico conveniente con muestras completamente anónimas preparadas con rigor y cuyas respuestas se analizan también por métodos estadísticos (CIATEJ, 2004).

6.11.2. Pruebas analíticas

Estas utilizan solo la primera fase del análisis sensorial, es decir, la fase en la que se identifica un estímulo, sin considerar el componente efectivo.

Las pruebas de este tipo únicamente aportan información sobre la composición (Identidad e intensidad) de las notas que integran las características de olor, gusto aroma y/o sensaciones trigeminales (sensaciones irritantes o agresivas). Estas pruebas las lleva a cabo un grupo de jueces seleccionados y entrenados que garanticen la exactitud y repetitividad de las mediciones. Además, en estas pruebas es indispensable contar con instalaciones adecuadas que permitan controlar factores que pudieran sesgar la medición (variables ambientales, intercambio de información entre jueces etc.) (CIATEJ, 2004).

6.11.3. Pruebas discriminativas

Permiten diferenciar dos muestras en función de algunas características sensoriales más evidentes existen varios tipos de pruebas como por ejemplo: prueba triangular, prueba de pares, Dúo-trío, Orden por rangos.

6.11.3.1. Prueba triangular

(ISO 4120:1983 Sensory analysis Methodology Triangular test): permite diferenciar entre dos muestras A y B. se presenta al juez una de las siguientes combinaciones AAB, BAA, ABA, BBA, ABB, BAB. Y se pregunta cuál de la muestra es diferente sobre la característica del interés, tomando en cuenta que A y B son diferentes.

6.11.3.2. Prueba de pares

(ISO 5495:1983 Sensory analysis Methodology Paired comparison test): al igual que la prueba anterior, permite discriminar entre A y B. se presenta al juez dos pares de muestras AB y BA y se le pregunta si son diferentes sobre la característica de interés.

6.11.3.3. Prueba dúo-trío

(ISO 10399:1991 Sensory analysis Methodology Dúo-trío test): en esta prueba, al igual que en las anteriores, se compara A y B, sin embargo, en este caso es importante que, una de las muestras sea bien conocida en la mayoría de sus características.

6.11.4. Pruebas descriptivas

Permite describir los detalles o características sensoriales que constituyen la carta de identidad de algún producto. Consiste en generar adjetivos que describan las distintas sensaciones producidas por propiedades físicas o químicas.

6.11.4.1. Escalas sensoriales

Las escalas sensoriales permiten, una vez identificada una o varias características sensoriales de interés, atribuir una intensidad relacionada con la concentración o la magnitud de la propiedad física o química.

Dependiendo del grado de entrenamiento que tenga un juez pueden usarse, escalas estructuradas, semiestructuradas (CIATEJ, 2004).

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. ETAPA I

7.1.1. Capacitación y realización de las pruebas descriptivas

La capacitación se realizó en el laboratorio de Evaluación Sensorial de la empresa Casa Sauza en Tequila Jalisco con un panel de 27 jueces entrenados, que ayudaron a establecer la técnica de pruebas de escala (Anexo 1), un Tequila añejo fue el que se utilizó para las pruebas, buscando encontrar un perfil aromático ya establecido para este tipo de Tequila. La preparación de la muestra se realizó reduciendo la cantidad de alcohol del Tequila de un 40% a 20% alcohol volumen, el Tequila se presentó a los jueces en copas tapadas para su posterior catado, que consistió en tomar la copa enfrente, oler y registrar la escala de los aromas captados. Esta prueba se realizó por duplicado con dos diferentes lotes.

7.1.2. Extracción de compuestos traza del tequila

La extracción de compuestos traza del mismo Tequila Añejo usado en el punto anterior se realizó mediante la técnica de líquido- líquido por lote consistiendo en la separación de fases como se explicará enseguida:

Primero se eligió la muestra de un Tequila Añejo (el mismo del punto anterior) con el cual se hizo la extracción, esta se reduce de 40% a 30% alcohol volumen, de ahí se sometió a una previa destilación ya que los pigmentos obtenidos durante la maduración son un factor que afecta directamente al equipo.

Una vez obtenido el destilado se realizó la separación agregándose 325ml de tequila en un embudo de separación junto con 0.2g de Cloruro de sodio y 45ml de Pentano: Diclorometano (3:1), agitando la muestra durante 5 min y se dejó en reposo durante 10 min para recuperar la fase orgánica en una Columna Snyder, a la cual antes fue añadido 4g de sulfato de sodio anhidro para eliminar posible agua, esta se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 min.

En seguida se realizó una destilación a baño maría a 40°C para evitar la volatilización de los compuestos orgánicos mediante un evaporador de Kuderna Danish, la muestra se concentró hasta obtener 1 ml, con Nitrógeno se evaporó hasta 0.5 ml, posteriormente se agregaron 1.5 ml de hexano y se homogenizó seguido de una evaporación con Nitrógeno a 0.5 ml, la muestra final fue recuperada en un vial y conservada en refrigeración hasta su uso en el cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas.

7.2. ETAPA II. Evaluación de la repetitividad en la aplicación del método de extracciones

Se analizó la extracción de muestras con solventes orgánicos, ya que los resultados de los compuestos que componen el tequila pueden alterarse fácilmente, por tal razón, se utilizó una previa capacitación para verificar si existió una constante o alguna variación en los compuestos encontrados en el GC-MS.

Esto se llevó a cabo con la técnica estadística coeficiente de variación:

$$\text{Coeficiente de variación} = \frac{100 * DES.E}{P}$$

DONDE

- *DES.E*: Desviación estándar de las áreas de los compuestos
- *P*: promedio de las áreas de los compuestos.

Las áreas de los compuestos se recopilan directamente del GC-MS, este nos arroja los resultados de los compuestos presentes en la muestra de Tequila.

Las muestras que se utilizaron fueron dos Tequila Añejos iguales pero de dos lotes diferentes, estas se sometieron al método de extracción líquido- líquido, aunque la segunda muestra tuvo el procedimiento normal de extracción como se menciona en

punto 6.1.2, esto se hace ya que los Tequilas Añejos contienen pigmentos conseguidos en el proceso de elaboración y maduración, y pueden afectar directamente el funcionamiento del equipo, por eso se optó por realizar una destilación previa y obtener el tequila puro sin color. Con esto comprobó la factibilidad de continuar con la siguiente etapa.

7.3. ETAPA III. Extracción de muestras de Tequila

Una vez que no se presentó una variación en el proceso y también conocido el método de extracción el cual se describió con anterioridad en el punto 6.1, se prosiguió a la extracción utilizando un Tequila Añejo el cual fue comparado sensorialmente.

7.4. ETAPA IV. Aplicación de pruebas olfatométricas

El análisis de las pruebas olfatométricas se realizó una vez inyectada la muestra en el GC-MS con un juez capacitado, este tiene la función de detectar la mayor cantidad de olores durante el tiempo que dura la muestra en el aparato, alrededor de 1h y 30min. El juez se sienta y se relaja colocando su nariz en el Sniffer o Nariz Electrónica, y deberá responder a un formato (Anexo 2), registrando los aromas que puede captar en dicho tiempo. Esta prueba la realizó 5 veces cada juez (7) hasta lograr reducir los descriptores de los compuestos aromáticos.

7.5. ETAPA V. Comparación de los perfiles aromáticos por olfatómetro y pruebas descriptivas

Los resultados obtenidos mediante GC-MS, olfatometría y evaluación sensorial de los aromas del Tequila Añejo fueron comparados cualitativamente.

8. RESULTADOS Y DISCUSIONES

8.1. ETAPA I.

8.1.1. Realización de las pruebas descriptivas

En la figura 10 nos muestran los aromas que debe tener un Tequila añejo de la empresa. Esta descripción es propiedad de la empresa y fue obtenida en trabajos previos la cual tiene un perfil establecido para los Tequilas añejos. Como podemos observar los catadores tuvieron una mayor capacidad de percepción hacia el aroma de roble tostado (5.77) seguido de agave cocido (4.03), los demás aromas están en un rango (1.03 a 3.83).

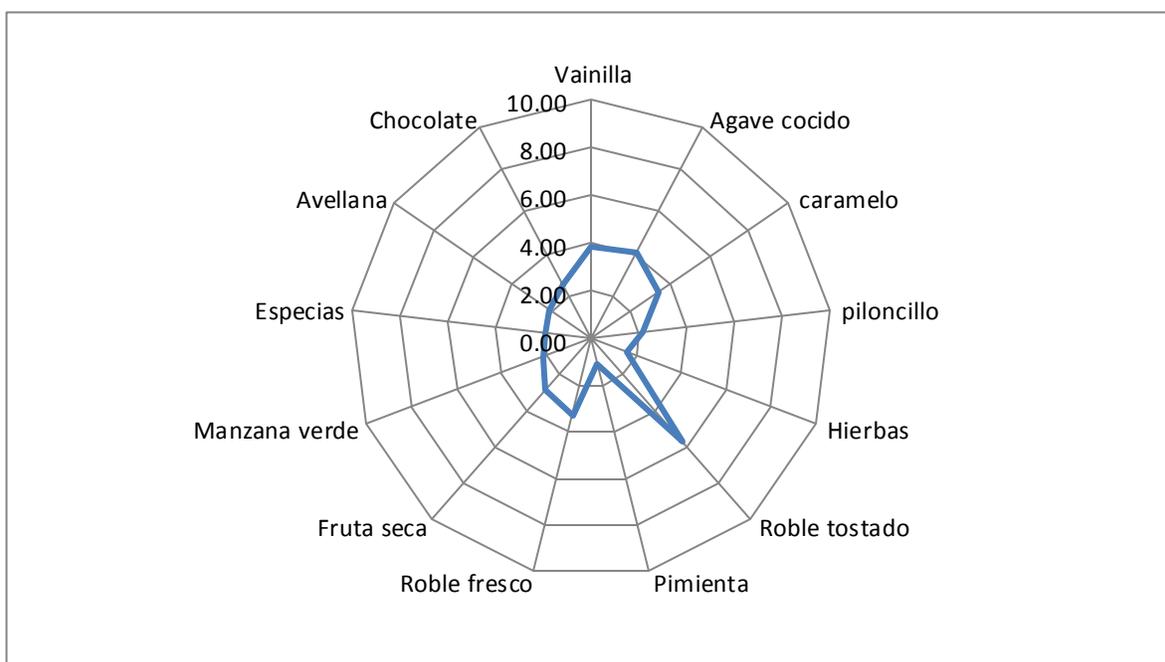


Figura 10. Promedio (27 observaciones) de los Descriptores del Perfil aromático del Tequila Añejo (lote 1) generados por el panel de jueces mediante evaluación sensorial.

Para poder corroborar si los catadores entrenados lograron el mismo criterio de evaluación para este tipo de Tequila, se sometió a una segunda prueba para segundo lote de un Tequila añejo, como se muestra en la Figura 11.

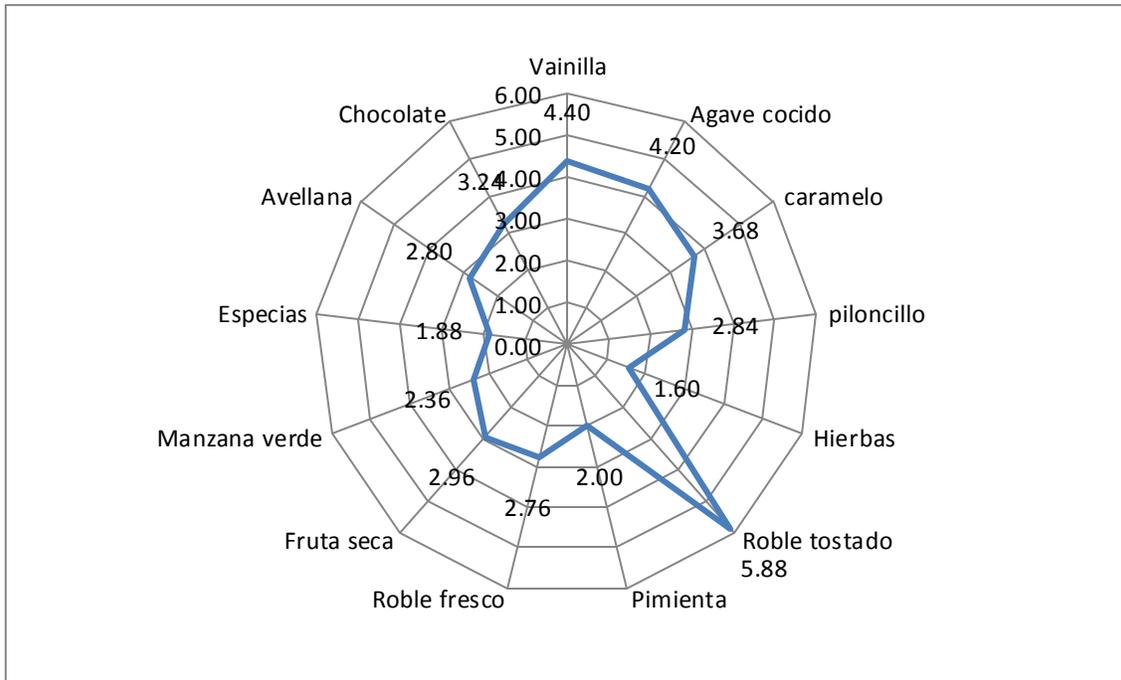


Figura 11. Promedio (27 observaciones) de los Descriptores del Perfil aromático del Tequila Añejo (lote 2) generados por el panel de jueces mediante evaluación sensorial.

En la Figura 11 se puede observar que existe una relación con la figura anterior, ya que los catadores tuvieron una percepción similar. En los aromas de roble tostado y agave cocido 5.88, 4.20 respectivamente, a diferencia del lote 1 en este lote se logró percibir en mayor cantidad el aroma a vainilla (4.40), el resto de los aromas no tuvieron variación.

Es importante hacer mención que cada panelista registra en su mente cada uno de estos aromas y que depende de cada uno de ellos la manera en que los perciben, es por ello que se presenta una variación en las respuestas de los panelistas.

8.2. ETAPA II

8.2.1. Evaluación de la repetitividad en la aplicación del método de extracciones

En el primer lote de Tequila Añejo el compuesto 1- butanol 3 methyl es aquel que tiene un comportamiento diferente a todos los demás compuestos encontrados, ya que fué detectado en diferente proporción a través de las repeticiones con por el GC-MS.. Como se observa, en la Figura 12.

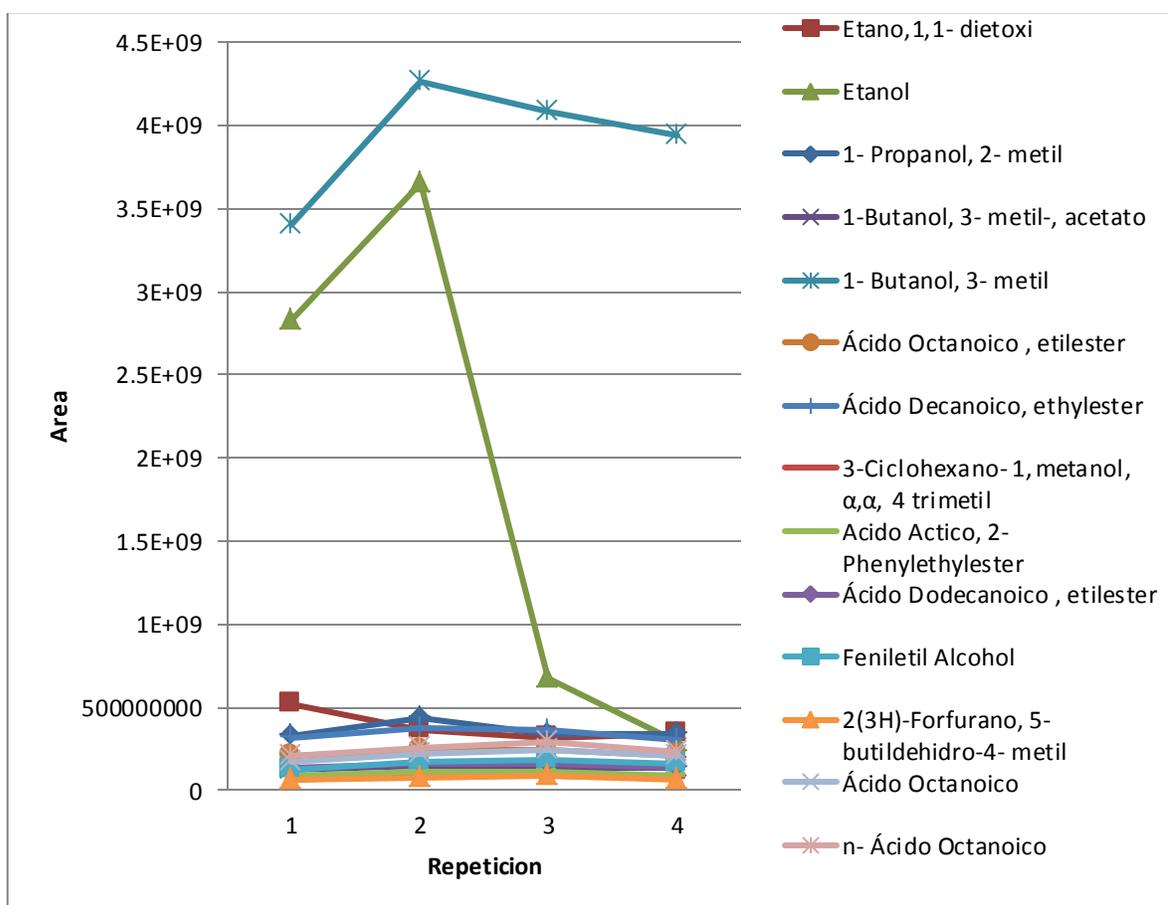


Figura 12. Frecuencia de compuestos volátiles detectados por el GC-MS presentes en el tequila añejo lote 1 por extracción normal.

En el gráfico anterior también se observa una consistencia en los compuestos encontrados por el equipo, el Etanol, se comporta diferente sin embargo no es de importancia, ya que es uno de los compuestos presentes en mayor concentración, por la naturaleza de las bebidas alcohólicas.

Los compuestos encontrados son comparados con la muestra de Tequila Añejo lote 2, con esto se busca encontrar si existe una similitud en ellos o llegan a comportarse de diferente manera.

En el lote 2 de Tequila Añejo, se presentó mayor variación de los compuestos, se identificaron tres compuestos con el mismo comportamiento, estos fueron 1- Popanol 2 metil, 1-Butanol 3 metil Acetato y 1,4 Anhidro -d- galactitol, este último compuesto no había sido detectado en el lote anterior sin embargo con la destilación apareció, fue detectado aun así este compuesto que se presenta en menor proporción. El resto de los compuestos se presentaron en proporciones similares en de Figura 14 de estos en el Tequila, debido a la metodología de extracción ya que la muestra fue previamente destilada.

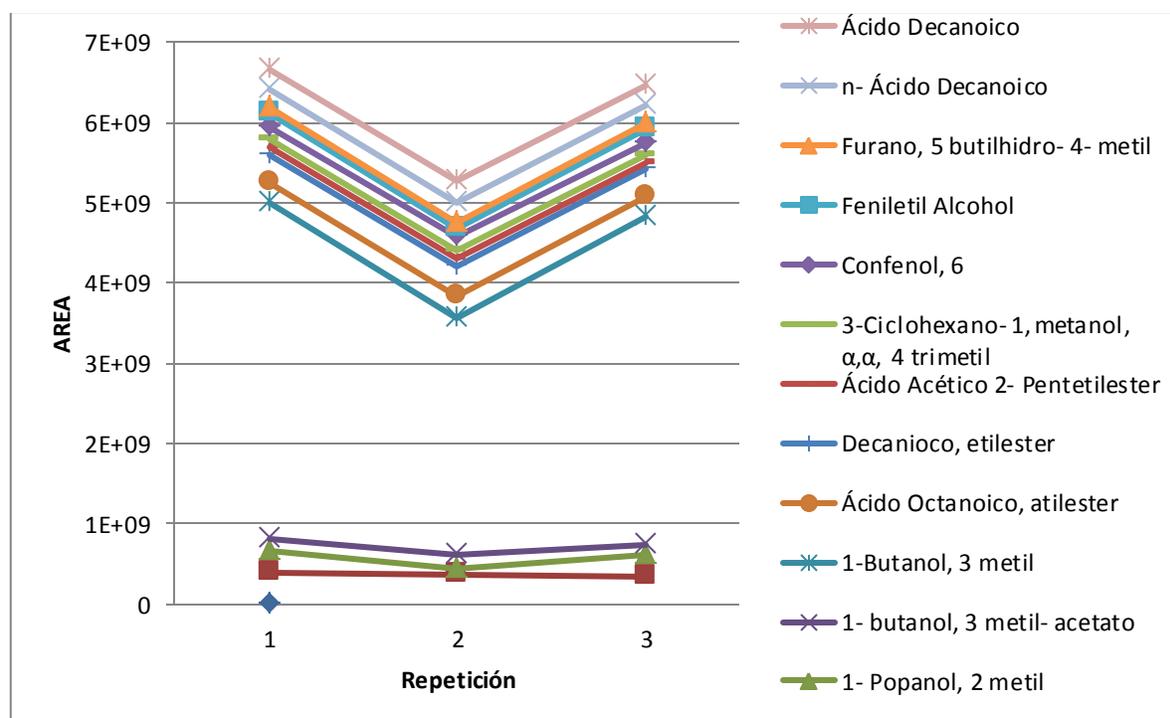


Figura 13. Frecuencia de compuestos volátiles detectados por el GC-MS presentes en el Tequila Añejo lote 2 por destilación previa.

Para corroborar los resultados de las Figuras 13 y 14 se puede observar el Anexo 4 donde se muestra el cromatograma de los dos lotes de Tequilas es ahí donde se aprecia la presencia de los mismos compuestos pero en diferente área, así mismo se observa que no hay contaminación de otra sustancia extraña.

8.3. Etapa III

8.3.1. Extracción de muestras de Tequila

Una vez observada la repetividad en los dos métodos de extracción se trabajó con la de destilación para evitar daños en el equipo a causa de los residuos que genera la extracción de compuestos traza sin destilación.

8.4. Etapa IV

8.4.1. Aplicación de pruebas Olfatométricas.

Los compuestos químicos encontrados por el GC-MS en el tequila añejo, dieron un total de 63, estos fueron clasificados según su familia química haciendo referencia a el catalogo Favors & Fragances que es propiedad de la empresa y es utilizada como regencia para identificación de aroma de Tequila. Y se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Clasificación por familia de Compuestos Químicos del Tequila Añejo lote 2 identificados por Cromatografía de gases –Masas .

Compuesto Químico identificado por Cromatografía de gases - Masas	Aroma del compuesto según el catalogo (Favors & Fragances)
Alcoholes	
Etanol	Sin olor
1-propanol	Manzana, banana, albaricoque, cerveza, ginebra, pera, jerez y té
Propanol, 2 metil	Manzana, banana, albaricoque, cerveza, ginebra, pera, jerez y té
1-Butanol,3-metil-acetato	Plátano

1-Butanol	Plátano, dulce
1-Butanol,3- metil	Banana
4-pentanol	Queso, frutal
1-Hexanol	Graso, frutal
Metil-1-4-metil-3 pentenil oxinova metanol	Especiado, amaderado, dulce
3-etil-4-metil pentanol	Banana, verde
Benceno ,1-[1,1-dimetil etil]1-2 metoxi- metil	Cebolla, ajo
5.7-Octadien-2-ol-2,6-dimetil	Cítrico
Feniletil alcohol	Miel, floral, rosas
Hexadecono -1-ol,trans	Sin olor
Ácidos Orgánicos	
Ácido Propanoico, etil éster	Sin olor
Ácido Propanoico, 2-metil, etilester	Dulce
Ácido Acético, 2-metil propilester	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.
Ácido Butanoico, 2-metil, etilester	Frutal
Ácido Propanoico, etilester	Mantequilla, queso, frutoso
Butanoico, 1.1.- dimethoxy-2-methyl	Frutal
Ácido Hexanoico, etilester	Piña
Ácido Propanoico, 2-hidroxy, etilester	Dulce
Ácido Octanoico, etilester	Queso
Ácido Decanoico, etilester	Cítrico
Ácido Octanoico, 3-metil butilester	Queso
Ácido Octanoico, etilester	Queso
Ácido Acético , 2-metil propilester	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.
Ácido Decanoico, etilester	Cítrico
Ácido Pentadecanoico , 3-methylbutylester	Graso
Ácido Tetradecanoico , Ethylester	Sin olor
Ácido Octanoico	Queso

Hexanoico	Queso, graso, acido
n-Acido Pentanoico	Graso
Etil 9-hexadecanol	Manzana, banana,
Cetonas	
Ciclopentano	Menta
3-Bromo-1,1-dimethoxypropone	Sin olor
Ciclopentano, fenil	Menta
Ésteres	
Metano- dietoxy	Sin olor
Etil Acetato	Anís, etéreo, piña
Etanol 1.1. dietoxy	Sin olor
n-propil acetato	Apio
1,3-Dioxolano,2-etil	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.
Ácido Butanoico, etilester	Frutal
Ácido Carbónico , dietil ester	Sin olor
Propane,1.1, dietoxy- 2-metil	Sin olor
Salicilato de metilo	Picante, dulce
Furanos	
3 [2H]-furano,dihidro-2- metil	Café
Furfural	Almendra, dulce, leñoso
Etanona, 1- 2 furany	Almendras, carne, caramelo, humedad, café
2-furancarboxaldehido,5-metil	Caramelo, picante, dulce
2[3H]furano,5-butildi hidro-4-metil	Coco, apio, amaderado
2[3H]furano,5-butildi hidro-4-metil	Rosas
2 (3H) furanona, 5-butildi hidro-4-metil-, cis	Dulce-especiado, hierbas
Terpenos	
1,6,Octadieno 3-ol, 3,7-dimetil	Limón, naranja, cítricos, floral
2-Octeno -1-0l-3-7-dimetil	Manzana, arándano, guayaba, naranja, molón

2- Butano -uno	Dulce
Benceno,4-[1-metiletil]	Lavanda, jazmín
Cedrol	Picante
2.6.10.Nerorilol - 3.7.11- trimetil	Albaricoque, piel de naranja y el aceite, el jugo de toronja
Fenoles	
Fenol,2, metoxy-4-4 [1-propenil]	Clavo de olor, dulce, picante, amaderado
Fenol,2, metoxy-4-4 [1-propenil]	Clavo de olor, dulce, picante, amaderado
Fenol,2, metoxy-4-4 [1-propenil]	Clavo de olor, dulce, picante, amaderado
Hidro Carburos	
Pentano	Sin olor

Los Ácidos orgánicos son los compuestos con mayor presencia en el Tequila Añejo con destilación previa, con un 31.74% seguido de los Alcoholes con 22.22%, Ésteres con 14.28%, Furanos con 11.11%, Terpenos con 9.52%, Cetonas y Fenoles con 4.76% al final encontramos a hidrocarburos con 1.58%. Las características de cada tequila son diferentes, por eso se buscó identificar y clasificar los compuestos químicos, con esto la identificación del aroma de cada compuesto fue mucho más fácil de encontrar el aroma que expresa cada uno, estos aromas se obtuvieron del catálogo FLOVORS & FRAGRANCES que contiene más de 1700 aromas de productos químicos, de este catálogo se identificaron los aromas.

Después de la clasificación de los aromas se prosiguió a ordenar los aromas de acuerdo al tiempo de detección por el equipo GC-MS como se muestra en seguida en la Tabla 5.

Tabla 5. Tiempo de identificación en minutos por el GC-MS de los compuestos aromáticos del Tequila Añejo lote 2.

No	Tiempo (min) Detectado	Compuesto químico identificado por de GC-MS	Aroma que expresa el compuesto (Favors & Fragances)
1	10	Metano- dietoxy	Sin olor
2	10.8	Etil Acetato	anís, etéreo, piña

3	11	Etano 1.1. dietoxy	Sin olor
4	12	Etanol	Sin olor
5	13.4	Ácido Propanoico , etilester	Sin olor
6	13.7	Ácido Propanoico, 2-methyl, etilester	Dulce
7	15.1	n-propil acetato	Apio
8	15.6	1,3-Dioxolane,2-etil	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.
9	15.7	Ácido Acético, 2-metil propilester	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.
10	16.8	Ácido Butanoico, etilester	Frutal
11	17	1-propanol	Manzana, plátano, albaricoque, cerveza, ginebra, pera, jerez y té
12	17.6	Ácido Butanoico, 2-methyl, etilester	Frutal
13	18.5	Ácido Propanoico, etilester	mantequilla, queso, frutoso
14	19.1	Butanoico, 1.1.- dimetoxi-2-metil	Frutal
15	19.7	Propanol, 2 metil	Manzana, plátano, albaricoque, cerveza, ginebra, pera, jerez y té
16	20.3	Ácido Carbónico, etilester	Sin olor
17	20.6	Pentano	Sin olor
18	21.3	1-Butanol,3-methyl-acetate	Banana
19	22.3	1-Butanol	Plátano, dulce
20	24.4	Ciclopentano	Menta
21	26.9	1-Butanol,3- metil	Banana
22	27.6	Ácido Hexanoico, etilester	Piña
23	28.5	Propano,1.1, dietoxy- 2-metil	Sin olor
24	29	3 [2H]-furano,dehidro-2- metil	Café
25	31	4-pentanol	Queso, frutal
26	33.5	Ácido Propanoico, 2-hidroxy, etilester	Dulce
27	33.7	1-Hexanol	Graso, frutal
28	38.1	Ácido Octanoico , etilester	Queso
29	38.5	Metil-1-4-metil-3 Fenil oxinonametanol	Especiado, amaderado, dulce
30	39	Furfural	Almendra, dulce, leñoso
31	40	3-Bromo-1,1-dimetoxipropano	Sin olor
32	41.5	Etanone, 1- 2 furany	Almendras, carne, caramelo, humedad, café
33	41.8	3-ethyl-4-methylpentanol	Banana, verde

34	43	Benceno,1-[1,1-dimetileti]1-2 metoxy-metil	Cebolla, ajo
35	44	1,6,Octadien 3-ol, 3,7-dimethyl	Limón, naranja, cítricos, floral
36	44.4	Ciclopentano, Fenil	Sin olor
37	44.8	2-furancarboxaldehido,5-metil	Caramelo, picante, dulce
38	48	Ácido Decanoico, etilester	Cítrico
39	48.5	5.7-Octadien-2-ol-2,6-dimetil	Cítrico
40	48.9	Ácido Octanoico, 3-metilbutilester	Queso
41	49.6	Ácido Octanoico, etilester	Queso
42	51	2-Octeno-1-0l-3-7-dimetil	Manzana, arándano, guayaba, naranja, molón
43	52.8	Silicio de Metilo	Picante, dulce
44	56.6	Ácido Acético, 2-metil propilester	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.
45	58	2- Buteno -one	Dulce
46	58.3	Ácido Decanoico, etilester	Cítrico
47	58.8	Ácido Pentadecanoico , 3-metilbutilester	Graso
48	60	2[3H]furano,5-butildihidro-4-metil	Coco, apio, amaderado
49	61	Feniletil alcohol	Miel, floral, rosas
50	61.7	2[3H]furano,5-butildihidro-4-metil	Rosas
51	64.5	2 (3H) furanona, 5-butildihidro-4-metil-, cis	Dulce-especiado, hierbas
52	68.2	Ácido Tetradecanoico , Etilester	Sin olor
53	69.5	Ácido Octanoico	Queso
54	71.5	Benceno,4-[1-metil etil]	Lavanda, jazmín
55	75.3	Fenol,2, metoxy-4-4 [1-propenil]	Clavo de olor, dulce, picante, amaderado
56	75.8	Hexanoico	Queso, graso, acido
57	76.2	Cedrol	Picante
58	77	Fenol,2, metoxy-4-4 [1-propenil]	Clavo de olor, dulce, picante, amaderado
59	77.8	Fenol,2, metoxy-4-4 [1-propenil]	Clavo de olor, dulce, picante, amaderado
60	80.3	Hexadecan -1-ol,trans	Sin olor
61	81.3	n- Ácido Pecanoico	Graso
62	81.8	Etil 9-hexadeceno	Manzana, plátano.
63	85.6	2.6.10. Dodecatrien -3.7.11- trimetil	Albaricoque, piel de naranja y el aceite, el jugo de toronja

En la Tabla 5 se muestra que la mayoría de los compuestos químicos encontrados expresan uno o varios aromas. Los compuestos químicos se detectan de acuerdo a su volatilidad es por eso que se indica el tiempo en el que el equipo logró captarlos, esto se muestra en la Anexo 3 con un cromatograma.

Se detectó una gran cantidad de compuestos mediante el GC-MS, fueron fáciles de detectar mediante esta técnica, se buscó que la nariz del ser humano fuera capaz de detectar de igual manera todos estos aromas, sin embargo no tiene la misma sensibilidad, por lo tanto los resultados obtenidos pueden ser variables.

El tiempo donde se localizó cada compuesto químico es un punto importante a considerar a tomar ya que es donde se logra captar por el cromatógrafo, donde se buscará que los jueces logren detectar el aroma que expresa este compuesto en el mismo tiempo de igual manera que el equipo, esto se llevará a cabo mediante corridas de la muestra, el tiempo que dura la corrida es alrededor de 90 min. Cada juez se sometió a un catado durante 5 corridas y así se trató de encontrar una reproducibilidad de datos.

Tabla 6. Aromas identificados por los jueces al someterse en la prueba de evaluación SNIFFER.

Evaluación SNIFFER								
No	Min/aroma							
1	11	Chile	29	34	Desconocido	57	58	Jugo Fermentado
2	11	Desconocido	30	34	Herbal	58	58	Desconocido
3	12	Caramelo	31	35	Afrutado	59	60	Desconocido
4	13	Dulce	32	37	Caramelo	60	60	Quemado
5	13	Desconocido	33	37	Hierva	61	61	Coco
6	14	Frutal	34	37	Bosque	62	61	Rosas
7	15	Solvente	35	38	tierra	63	64	Barricas
8	15	Amargo	36	38	Humedad	64	64	Roble tostado
9	16	Fresa	37	39	Desconocido	65	65	Tierra
10	17	Dulce	38	40	Manzana	66	68	Dulce
11	17	Hierva	39	43	Amargo	67	69	Humedad
12	17	Frutal	40	43	Vainilla	68	69	Limón
13	17	Limón	41	45	Naranja	69	70	Detergente

14	18	Nuez	42	47	Hierba	70	74	Fresa
15	18	Frutal	43	47	Papaya	71	74	Jabón
16	20	Desconocido	44	48	Hierba	72	75	Shampoo
17	21	Dulce	45	49	Ac. Sulfúrico	73	76	Piloncillo
18	21	Quemado	46	49	Etanol	74	76	Parafina
19	22	Fresa	47	49	Desconocido	75	78	Clavo
20	22	Plátano	48	50	Pimienta	76	80	Tierra
21	25	Vainilla	49	52	Miel	77	81	Cítrico
22	26	Plátano	50	52	Plástico	78	81	Solvente
23	26	Desconocido	51	54	Hiervas	79	81	Etanol
24	27	Cítrico	52	56	Cerveza	80	84	Desconocido
25	27	Desconocido	53	56	Dulce	81	86	Manzana
26	28	Menta	54	56	Menta	82	88	Plátano
27	30	Desconocido	55	56	Ocote	83	90	Etanol
28	32	Quemado	56	57	Chamoy	84	90	Vainilla

En la Tabla 6 se muestra todos los aromas que se obtuvieron al someter a los jueces a la prueba en el cromatógrafo de gases acoplado con olfatometría (SNNIFER), se obtuvieron 84 aromas, de estos algunos se repitieron ya que los sentidos de las personas no están sistematizados.

La nariz humana no es capaz de tener una reproducibilidad compleja, ya que esta es muy variada y depende mucho del desarrollo del olfato, así como el estado de ánimo de cada persona, este último es el principal factor que afecta la evaluación sensorial porque los aromas que se perciben no pueden ser sensibles o muy notorios, esto ocasionó que no se logró detectar con exactitud el aroma específico o bien la nariz llega a un punto de saturación durante varios minutos y en ese lapso se dejan de percibir algunos aromas.

Los aromas detectados por los jueces se correlacionaron en la con los descritos por el GC-MS en la Tabla 7, aquí se tomó el aroma y el minuto expresado tanto por el catador como por el equipo. Esto nos llevó a identificar los principales aromas que detecto el juez en un Tequila Añejo ya que a pesar de que el GS-MS es exacto en la

detección de los compuestos, quien determina el gusto sobre un buen tequila es el ser humano.

Buscando una correlación entre los aromas de los compuestos químicos con aquellos aromas que los jueces percibieron e identificaron, nos indicaron que existe una relación entre ambos, gracias a la evocación del ser humano para identificar e interpretar a través de su entorno mediante vivencias, cosas o sinónimos que pueden presentar o igualar el mismo aroma, es por eso que se obtuvo una relación de aquellos aromas percibidos sensorialmente con aquellos compuestos encontrados por el equipo de GS-MS.

Tabla 7. Relación en el tiempo de aromas identificados por jueces contra los detectados por GC-MS.

No	Tiempo (min)	Compuesto de GC-MS	Aroma del compuesto	Aromas Evaluación SNIFEER Jueces
1	10.8	Etil Acetato	anís, etéreo, piña	Frutal
2	13.7	Acido Propanoico, 2-metil, etilester	dulce	Dulce
3	15.6	1,3-Dioxolane,2-etil	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.	Frutal
4	15.7	Ácido Acético , 2-metil propilester	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.	
5	16.8	Ácido Butanoico, etilester	frutal	Frutal
6	17	1-propanol	Manzana, plátano, albaricoque, cerveza, ginebra, pera, jerez y té.	
7	17.6	Ácido Butanoico , 2-metil, etilester	frutal	
8	18.5	Ácido Pentanoico, etilester	mantequilla, queso, frutoso	Nuez
9	19.1	Butanoico, 1.1.- dimetoxi-2-metil	frutal	Frutal
10	19.7	Propanol, 2 metil	manzana, plátano, albaricoque, cerveza, ginebra, pera, jerez y té	
11	20.3	Ácido Carbónico , dimetilester	desconocido	Desconocido
12	20.6	Pentano	desconocido	
13	21.3	1-Butanol,3-metil-acetato	banana	Dulce
14	22.3	1-Butanol	Plátano, dulce	Plátano
15	24.4	Ciclopentano	Menta	Vainilla
16	26.9	1-Butanol,3- metil	Banana	Plátano

17	27.6	Ácido Hexanoico, etilester	Piña	Cítrico
18	29	3 [2H]-furano,dehidro-2- metil	Mantequilla	Desconocido
19	39	Metil-1-4-metil-3 pentanil oxinonametanol	Especiado, amaderado, dulce	Dulce, Almendrado
19	39	Furfural	Almendra, dulce, leñoso	
20	40	3-Bromo-1,1-dimetoxipropone	Desconocido	Manzana
21	44	1,6,Octadien 3-ol, 3,7-dimetil	Limón, naranja, cítrico, floral	Naranja
22	51	2-Octen-1-ol-3-7-dimetil	Manzana, Arándano, guayaba, naranja, molón	Afrutado
23	52.8	Silicio de metilo	Picante, dulce	Picante
24	56.6	Ácido Acético, 2-metil propilester	Manzana, plátano, coco, uva, pera, cereza.	Frutas
25	60	2[3H]furano,5-butildehidro-4-metil	mantequilla	Quemado
26	61	Feniletil alcohol	miel, floral, rosas	Rosas
27	61.7	2[3H]furano,5-butildihidro-4-metil	rosas	
28	64.5	2 (3H) furanona, 5-butildihidro-4-metil-, cis	Mantequilla	Amaderado
29	75.3	Fenol,2, metoxi-4-4 [1-propano]	Clavo de olor, dulce, picante, amaderado	Dulce, amaderado
30	75.8	Hexanoico	Queso, graso, acido	Queso
31	77	Fenol,2, metoxi-4-4 [1-propano]	clavo de olor, dulce, picante, amaderado	Clavo
3	77.8	Fenol,2, metoxi-4-4 [1-propano]	clavo de olor, dulce, picante, amaderado	
33	80.3	Hexadecano -1-ol,trans	Desconocido	Tierra
34	81.8	Etil 9-hexadecenoat	Manzana, plátano	Cítrico
35	85.6	2.6.10. Dodecatrien - 3.7.11-trimetil	Albaricoque, piel de naranja y el aceite, el jugo de toronja	Desconocido
				Manzana
				Plátano

Fueron 35 compuestos químicos los que tienen relación con los aromas descritos por los jueces al catar en el Sniffer como se muestra en la Tabla 7, las personas no son capaces de identificar con exactitud cada aroma pero lograron percibir una sustancia que no saben describir con precisión por tal razón la identifican como desconocido. Por otra parte existen compuestos químicos que se expresan con más de un aroma, por esta razón es más fácil de relacionar en algunos casos con los encontrados por los jueces.

8.5. ETAPA V

8.5.1. Comparación de los perfiles aromáticos por olfatómetro y pruebas descriptivas

Tabla 8. Correlación de los perfiles aromáticos por Pruebas Sensoriales, Evaluación SNIFFER y GC-MS del Tequila Añejo.

Descriptor de aroma por evaluación sensorial	Aromas de Evaluación SNIFFER	Compuestos Químicos identificado por GC-MS
Roble tostado (5.88)	Quemado, Amaderado	<ul style="list-style-type: none"> • 2[3H]furano,5-butildehidro-4-metil • 2 (3H) furanona, 5-butildihidro-4-metil-, cis • Fenol,2, metoxi-4-4 [1-propano • Furfural
Vainilla (4.40)	Vainilla	<ul style="list-style-type: none"> • Ciclopentano
Agave Cocido (4.20)	Dulce	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido Propanoico 2-metil, etilester • 1-Butanol,3-metil-acetato • Furfural
Caramelo (3.68)	---	---
Chocolate (3)	---	---
Fruta seca (2.96)	---	---
Piloncillo (2.84)	Dulce	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido Propanoico 2-metil, etilester • 1-Butanol,3-metil-acetato

		<ul style="list-style-type: none"> Furfural
Avellana (2.80)	Dulce, Almendrado, Nuez	<ul style="list-style-type: none"> Furfura Ácido Pentanoico, etilester
Roble fresco (2.76)	Amaderado	<ul style="list-style-type: none"> 2[3H]furano,5-butildehidro-4-metil 2 (3H) furanona, 5-butildihidro-4-metil-, cis Fenol,2, metoxi-4-4 [1-propano Furfural
Manzana verde (2.36)	Frutas, Manzana	<ul style="list-style-type: none"> Etil Acetato 1,3-Dioxolane,2-etil Ácido Acético , 2-metil propilester 1-propanol Ácido Butanoico , 2-metil, etilester Butanoico, 1.1.- dimetoxi-2-metil Propanol, 2 metil 3-Bromo-1,1-dimetoxipropone Ácido Acético, 2-metil propilester 2.6.10. Dodecatrien - 3.7.11-trimetil
Pimienta (2.0)	Picante	<ul style="list-style-type: none"> Picante, dulce
Especies (1.88)	Clavo	<ul style="list-style-type: none"> Fenol,2, metoxi-4-4 [1-propano

En la Tabla 8 se muestra la correlación de los 13 descriptores de aromas para un Tequila Añejo evaluados por pruebas descriptivas sensoriales así como con los aromas por olfatometría y compuestos químicos identificados por GC-MS. Cabe destacar que los descriptores de Caramelo, Chocolate y Fruta Seca no fueron detectados por Olfatometría y en consecuencia Tampoco por el GC-MS. Sin embargo existieron compuestos desconocidos al minuto 20.3, 20.6, 29 y 85.6 que pudieran tratarse de estos aromas. Algunos de los factores que evita que los jueces capture la mayoría de los olores es la saturación nasal, estrés.

Cabe mencionar que a pesar que el aroma a manzana verde en la evaluación sensorial no es tan sobresaliente la intensidad de este aroma en el caso de olfatometría y GC-MS pero ha sido el que más cantidad de compuestos.

También se puede observar que algunos aromas no fueron tan representativos pero si se lograron identificar tanto por olfatometría y pruebas sensoriales descriptivas como son la vainilla, avellana y especias. en algunas ocasiones por medio de GC-MS algunos aromas se pueden expresar en diferentes compuestos y en estos casos solo los podemos encontrar de 1 a 2 relativamente.

9. CONCLUSIONES

La capacitación y la realización de las pruebas sensoriales descriptivas fueron clave para la correlación de compuestos aromáticos por olfatometría y GC-MS.

La extracción de los compuestos orgánicos del tequila con previa destilación fue la mejor metodología dado que se eliminaron los contaminantes que pudieran dañar en un futuro el equipo.

El método olfatométrico o del SNIFFER no necesariamente identifica el 100% de los compuestos identificados por el GC-MS esto se debe a que la sensibilidad de la nariz huma depende de cada juez.

Se identificaron 63 compuestos químicos por GC-MS de los cuales solo 35 fueron identificados por olfatometría pero 3 de ellos son desconocidos, es decir que el juez fue incapaz de describir el aroma.

Según las pruebas sensoriales descriptivas el Tequila Añejo fue descrito con un perfil aromático donde predomina el Roble tostado, Vainilla, Agave cocido y Caramelo como componentes principales, mientras que chocolate, fruta seca, piloncillo, avellana entre otros se encuentran en menor cantidad integrando este perfil aromático.

De los 13 compuestos aromáticos descritos por evaluación sensorial solo 10 fueron identificados por el SNIFFER y por consecuencia también en GC-MS.

Con este estudio se generó información base que correlacione el tipo de compuesto identificado por GC-MS y el aroma que corresponde por olfatometría y evaluación sensorial, esta información tiene como objetivo generar perfiles de GC-MS del Tequila Añejo para sustituir las pruebas sensoriales de rutina.

10. BIBLIOGRAFIA

- ❖ Adda, J. y Richard, H. (1991). Dosage des aromes. En Techniques d'Analyse et de controle dans les Industries Agroalimentaires, IV. Analyse des Constituants Alimentaires. Multon, J.L. coordonnateur. Ed. Lavoisier Technique et Documentations, Paris: 271-284.
- ❖ Adda, J y Richard, H., (1992). Analeyse des Aromes: Preparation des Extraits en Vue de l'Analyse. En Les Arômes Alimenaires. Richard, H. y Multon, J.L. Cordinateurs. Ed. Tec & Doc Lavoisier APRIA, Paris. Cap. 12. 258-273.
- ❖ Angelent Technologies, 2007. Guía de selección de columnas Angelet J&W para GC. <http://www.chem.agilent.com/library/selectionguide/public/5989-6159es.pdf>.
- ❖ Beata Plutowska, Waldemar Wardencki. Application of gas chromatography–olfactometry (GC–O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages – A review. 22 Agosto 2007.
- ❖ Benjamín Eduardo Ibarra Hernández, José Fernando Botero. González Carlos. Cortes Amador. Eduardo Benjamín. Ibarra Hernández. Ingeniería de Tequilas. 29 de Julio del 2010. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=SythZWErOv8C&pg=PA53&dq=el+tequila&hl=es&sa=X&ei=18cNVLGSBOiF8gGT9oDADw&ved=0CD0Q6AEwBA#v=onepage&q=el%20tequila&f=false>.
- ❖ Benn, S. M., & Peppard, T. L. (1996). Characterization of tequila flavor by instrumental and sensory analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 557–566.
- ❖ Booth D.A. (1994). Flovor quality as cognitive psychology: the applied science of mental mechanisms relating flavour description and physical stimulation patterns. Food Qual. Pref.5(1): 41-54.
- ❖ CIATEJ. A.C, Ciencia y Tecnología del Tequila; Avances y Perspectivas. Av. Normalista No.800, Col. Colinas de la Normal, 44270, Guadalajara, Jalisco. Cap. 6. 173-250. Disponible en: <http://www.ciatej.net.mx>.
- ❖ Consejo Regulador del Tequila, DECLARACIÓN GENERAL DE PROTECCIÓN A LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN "TEQUILA", 22 de noviembre de 1974. Disponible en

http://www.crt.org.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=169&Itemid=178&lang=es.

- ❖ Dulce M. Díaz Montano, Marie-Line Delia, Mirna Estarron Espinosa, Pierre Strehaiano. Fermentative capability and aroma compound production by yeast strains isolated from *Agave tequilana* Weber juice. 28 Diciembre 2007.
- ❖ Estarrón Espinosa, M. (1998). La calidad aromática de las Bebidas Alcohólicas. Estudios Realizados en Tequila. *Bebidas Mexicanas* 6(1). 23-26.
- ❖ Ferreira, V., Lopez, R., Escudero, A., & Cacho, J. F. (1998). The aroma of Grenache red wine: Hierarchy and nature of its main odorants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 259–267.
- ❖ Francisco C. Ibáñez Moya. Yolanda Barcina Angulo. Análisis sensorial de alimentos: métodos y aplicaciones. Springer Verlag Ibérica. Barcelona 2001.
- ❖ Guadalupe Rodríguez Gómez. La Denominación de Origen del Tequila: Pungas del Poder y la Especificidad Sociocultural del Agave Azul. Disponible en: <http://www.juridicas.unam.mx/>
- ❖ Granados, S.D. (1993). Los agaves en México, Universidad Autónoma Chapingo, México, pp, 102, 108,112.
- ❖ Hochereau, C., & Bruchet, A. (2004). Design and application of a GC/MS system for solving taste and odour episodes in drinking water. *Water Science and Technology*, 49, 81–87.
- ❖ Dr.C. Julia Espinosa Manfugás. Evaluación Sensorial. Ministerio de Educación Superior, 2007. Disponible en: <http://revistas.mes.edu.cu/EDUNIV/legalcode-ar.htm>
- ❖ Laura Aceña Muñoz. Aplicación de la cromatografía de gases-olfatometría en la caracterización del aroma del vinagre de vino, de los pistachos y del aceite de oliva. Universitat rovir i virgili.
- ❖ Martha Dalila Jara Martínez, “Implementación de método olfatométrico para aplicarse en tequila blanco y tequila blanco 100% agave”, Tequila, Jalisco, 25 de enero del 2010.

- ❖ Nobel, P.S. (1998), *Los Incomparables Agaves y Cactus*. La edición en español. Editorial Trillas S.A de C.V. México, D.F. pp. 37.
- ❖ Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2012, *Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones*.
- ❖ Patricia Romo, *Tequila sufre resaca en su producción de este año* EL ECONOMISTA. Disponible en: <http://eleconomista.com.mx/>.
- ❖ Plutowska, B., & Wardencki, W. (2007). *Aromagrams – Aromatic profiles in the appreciation of food quality*. *Food Chemistry*, 101, 845–872.
- ❖ Skoog L. (1994). *Metodos de separacion. Química analítica*. McGraw Hill. México. 4ª edición: 715-780.
- ❖ Villanueva S. (2003). *Evaluación Sensorial. Herramientas Básicas para Mejor Calidad en la Elaboración de Alimentos*. CIATEJ. Guadalajara Jalisco, Mexico.
- ❖ Arq. Yolanda Torres López. “*Ciencia y Cultura a través del tequila*”. Tlaquepaque, Jalisco. Noviembre 2012.

11. ANEXOS

Anexo 1. Prueba de escala de atributos en nariz para tequila reposado/añejo

TEQUILA SAUZA	
LABORATORIO DE ANALISIS SENSORIAL	
PRUEBA DE ESCALA	
NOMBRE: _____	FECHA: _____
Instrucciones: Analice la muestra y califique en una escala de 1 al 10 de acuerdo a la intensidad del olor/sabor percibido de cada uno de los atributos.	
TEQUILA REPOSADO / AÑEJO	
SENTIDO: <u>OLFATO</u>	
PRODUCTO: _____	
Vainilla	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Agave cocido	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Caramelo	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Piloncillo	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Hierbas	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Roble Tostado	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Pimienta	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Roble fresco	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Fruta seca	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Manzana Verde	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Especias	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Avellana	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Chocolate	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
_____	_____
REALIZO	REVISO

Anexo 2. Prueba en Olfatometría.

Programa para entrenamiento
de jueces en olfatometría.



Elaboró: Fernando Nonato

S5 Prueba en Olfatometro

Nombre: _____

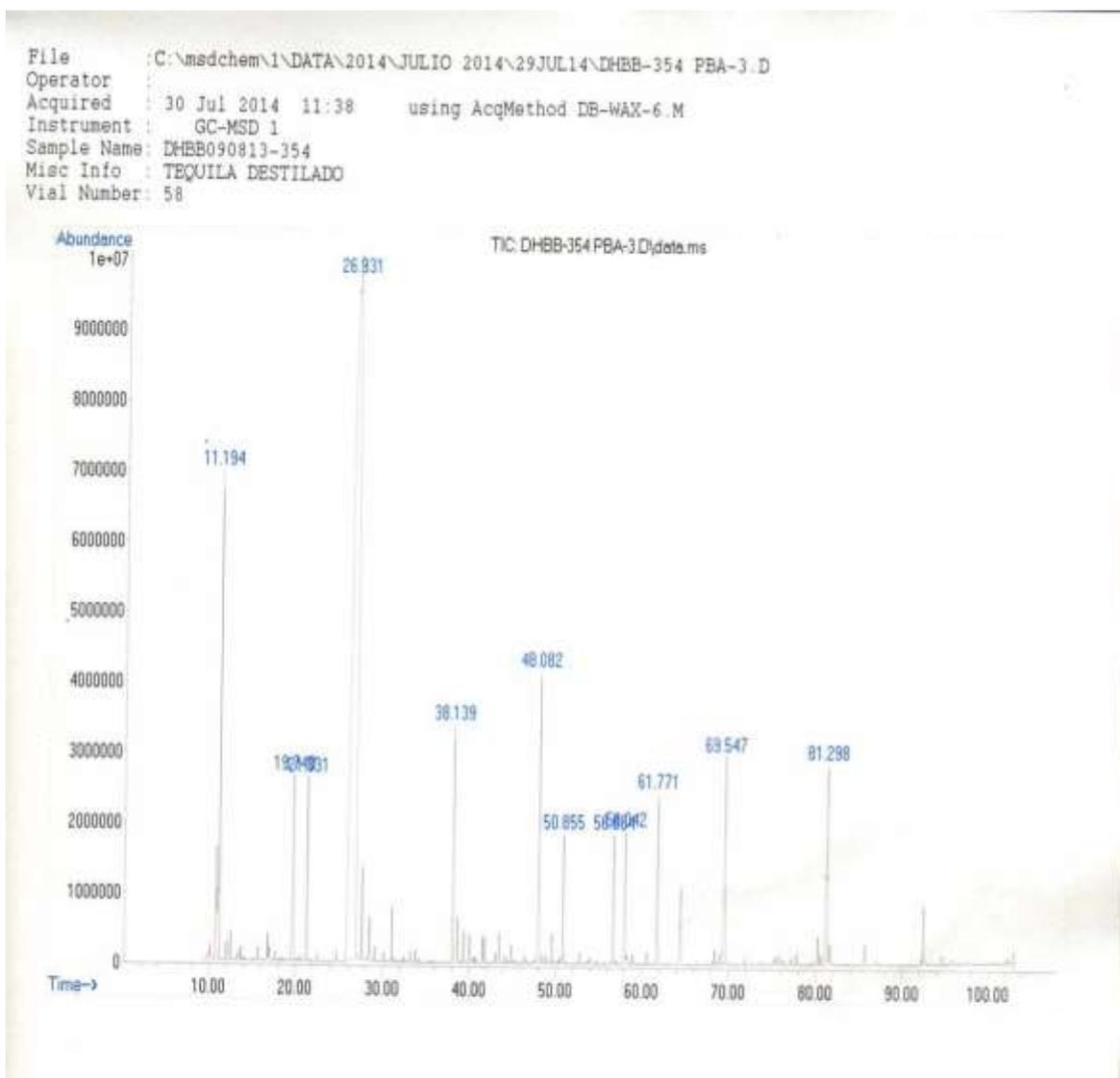
Fecha: _____

Instrucciones: Percibir los olores y anotar el tiempo en que se empieza a detectar cada uno así como describir el olor con lo que percibes en el mundo real. Para esta prueba es muy importante estar relajado ya que de no estarlo se puede sesgar la prueba.

1	_____	25	_____
2	_____	26	_____
3	_____	27	_____
4	_____	28	_____
5	_____	29	_____
6	_____	30	_____
7	_____	31	_____
8	_____	32	_____
9	_____	33	_____
10	_____	34	_____
11	_____	35	_____
12	_____	36	_____
13	_____	37	_____
14	_____	38	_____
15	_____	39	_____
16	_____	40	_____
17	_____	41	_____
18	_____	42	_____
19	_____	43	_____
20	_____	44	_____
21	_____	45	_____
22	_____	46	_____
23	_____	47	_____
24	_____	48	_____

La información de este documento es confidencial y no puede ser reproducida sin autorización previa del responsable del proyecto.

Anexo 3. Cromatograma de tequila añejo.



Anexo 4 cromatograma de dos tequilas añejos

File : C:\msdchem\1\DATA\2014\OCTUBRE\02OCT14\DHBB-434-7.D
Operator :
Acquired : 3 Oct 2014 10:55 using AcqMethod DB-WAX-6.M
Instrument : GC-MSD 1
Sample Name : DHBB210814-434
Misc Info : DHBB-434-6
Vial Number : 58

