

Tequila, Mezcal y Sotol:

VOLÁTILES MARCADORES DE ORIGEN y PLANTA (ESPECIE DE AGAVE)

Mercedes Guadalupe López Pérez*
Sandra Cecilia Guevara Yáñez **

RESUMEN

A partir de plantas de agave que se desarrollan en zonas geográficas bien definidas de México, se producen tres bebidas étnicas: tequila, mezcal y sotol, las cuales son muy consumidas tanto a nivel nacional como internacional. Según el tiempo que transcurre después de la elaboración de cada bebida hasta su comercialización, éstas se clasifican en blancos, reposados y añejos. Tanto el tequila como el mezcal cuentan con Denominación de Origen, que limita su elaboración a ciertas especies de agave y a ciertos estados de la República Mexicana. El principal objetivo del estudio fue la búsqueda de uno o varios compuestos volátiles que puedan ser utilizados como marcadores de origen y material biológico (especie de agave) con que fue elaborada cada bebida, que auxilien en la protección de la adulteración de las mismas. El estudio se llevó a cabo usando la técnica SPME (Microextracción en Fase Sólida), que se basa en el empleo de una fibra de sílica cubierta de un absorbente para capturar los compuestos

volátiles que se encuentran en el espacio vacío o de cabeza de una muestra. Dos ml de cada bebida se colocaron en un vial por 12 hrs. hasta alcanzar el equilibrio entre el espacio de cabeza y la matriz de la muestra; luego fueron analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS); usando una columna capilar HP-FFAP para la separación de los compuestos volátiles y un detector selectivo de masas para la identificación de los mismos. El tiempo de desorción de la fibra fue de 1 min. en el inyector del cromatógrafo de gases a una temperatura de 210 °C. A partir de esta investigación, se encontró que existen diferencias y similitudes entre las bebidas étnicas en este estudio, de modo que se estableció que todas las bebidas analizadas contienen algunos compuestos volátiles en común y otros que son característicos de cada una. Dentro de los compuestos volátiles comunes, se encontraron el 3-metilbutanol, el 2-metilpropanol, el ácido acético, el feniletanol y el etil éster de los ácidos octanoico y decanoico, entre otros. Sin embargo, a pesar de esto, se encontraron diferencias cuantitativas entre ellos, en los distintos tipos de bebidas. En los tequilas se identificaron un promedio de 15 volátiles, en los mezcales se encontraron un promedio de 18 volátiles; mientras que en los sotoles el número promedio de compuestos fue de 25. Los compuestos más

abundantes en los tres tipos de bebidas fueron los ésteres y los alcoholes, aunque también se encontraron algunos ácidos, cetonas y aldehídos, principalmente.

Finalmente, en cuanto a los compuestos volátiles marcadores puntuales del origen y planta se puede resumir que para el tequila se trata tanto del 4,9-decadien,4-amino,N-butil. El marcador de mezcal fue el 2-furancarboxialdehído y el marcador del sotol fue la 3-hidroxi-2-butanona. Además se observó que el ácido acético, 2-feniletil éster estaba presente tanto en mezcales y sotoles, pero no así en los tequilas. Tanto el etil éster del ácido dodecanoico como el etil éster del ácido propanoico, 2-hidroxi, fueron dos volátiles presentes tanto en tequila como en mezcal, que no se encontraron en sotol.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extracción de compuestos volátiles de bebidas étnicas por SPME.
- Identificación de marcadores volátiles en tequilas, mezcales y sotoles, en sus tres variedades blanco, reposado y añejo.
- Caracterización molecular de marcadores de origen por GC-MS en bebidas autóctonas de México.

OBJETIVO GENERAL

Búsqueda de marcadores aromáticos (volátiles) de bebidas étnicas mexicanas: Tequila, Mezcal y Sotol.

* Becaria del Verano de la Ciencia de la Región Centro. Estudiante del 10º Semestre de la Carrera de Análisis Químico Biológico de la UAA.

** Investigadora de la Unidad de Biotecnología e Ingeniería Genética de Plantas del CINVESTAV-Irapuato.

INTRODUCCIÓN

Los agaves no sólo están integrando el paisaje típico del país, sino que son parte importante de la economía actual (Muriá, 1996) al ser aprovechados según las características propias de cada especie para una diversidad de usos. Destaca, particularmente, el uso de agaves para la obtención de bebidas fermentadas; unas que derivan del escurrimiento de azúcares después del raspado de sus tallos y hojas (aguamiel o pulque) y otras que provienen de la fermentación de tallos y hojas cocidas, como tequila, mezcal y sotol, entre otras (Granados, 1993).

El tequila no es la única bebida espirituosa que se produce en la República Mexicana; de hecho casi existe una para cada región: el Sotol en Chihuahua, la Charanda Michoacana, el Bacanora Sonorense, el Mezcal de Oaxaca y el Tequila oriundo de Jalisco. Puede hablarse de tres tipos, según el tiempo transcurrido desde su elaboración a su salida al mercado.

Un caso especial es el *Agave tequilana* Weber ya que, protegido por la Denominación de Origen firmada en Lisboa en 1997 por la Comunidad Económica Europea, exclusivamente en su variedad azul y crecida en zonas muy restringidas de nuestro país, es la única especie que puede usarse para la elaboración de tequila (Martínez, 1998). Las zonas incluidas son todo el estado de Jalisco, 6 municipios de Nayarit, 6 de Guanajuato, 29 de Michoacán y 11 de Tamaulipas (Luna, 1991).

Los agaves mezcaleros principalmente usados son el *Agave angustifolia*, *A. salmiana* y *A. karwinsii* (Granados, 1993). Hoy, esta bebida también tiene una cali-

dad reconocida internacionalmente, debido a que cuenta con una Norma Oficial Mexicana y con Denominación de Origen reconocida por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (Henestrosa, 1997). *Dasyilirion wheeleri*, es el agave utilizado para la obtención del sotol, y es preferentemente crecido en Chihuahua y Durango. Se llama Sotol a varias especies de plantas del género *Dasyilirion Ives*, de la familia de las agaváceas, cuyo tronco o cabeza (asado y fermentado) se utiliza en los estados del norte del país para la elaboración de la bebida alcohólica denominada Sotol, semejante al Tequila y al Mezcal (Bebidas Mexicanas, 2000).

La adulteración se refiere a una parcial o total sustitución de una especie por otra y frecuentemente involucra la mezcla de productos auténticos con unos alternativos similares, pero menos caros. Esta adulteración no es fácil de detectar, aunque frecuentemente hay marcadores naturales presentes en el material adulterado que pueden ser monitoreados. La detección de la autenticidad tiene particular importancia en bebidas alcohólicas, porque éstas generalmente están asociadas con una región de origen específico, lo que hace más importante al producto. La detección del origen geográfico es una tarea desafiante y es una área de investigación interesante, aunque hay poco progreso debido a su complejidad. La búsqueda de la autenticidad se puede hacer usando varios grupos de sustancias. Para la distinción de acuerdo al origen geográfico se pueden usar compuestos orgánicos volátiles como marcadores de bebidas alcohólicas de diferentes sitios o lugares de procedencia (Arshust y Dennis, 1996).

Existen, a la fecha, pocos estudios en la identificación de volátiles de be-

biditas étnicas en nuestro país, lo cual resulta de mucha importancia para poder inferir la calidad de un producto. La calidad de estas bebidas dependerá de los componentes volátiles que se generan en cada etapa del proceso de elaboración y, por lo tanto, es de gran trascendencia la caracterización química de los compuestos presentes en ellas. Hay algunos estudios relacionados con el aroma del tequila; en 1997 Pinal y col. analizaron los factores que intervienen en la fermentación para la generación de compuestos volátiles. Además Manjarréz y Llama en 1969, y luego en 1997, Incitti y col., hicieron estudios e identificaron algunos compuestos volátiles presentes en tequila. También Benn y Peppard en 1996 identificaron volátiles que son poderosos en cuanto al aroma, mediante análisis instrumental y sensorial. Después, López en 1999 hizo análisis químicos y olfatométricos para determinar los volátiles más impactantes en tequilas blancos, reposados y añejos, encontrándose diferencias cualitativas y cuantitativas entre ellos.

Sin embargo, hasta la fecha no existe ningún reporte acerca de compuestos volátiles que pueden considerarse como marcadores de origen en bebidas étnicas mexicanas. Es decir, algunos de estos compuestos volátiles deben estar presentes invariablemente o encontrarse dentro de cierto rango de abundancia en el material utilizado, para ser relacionada con la zona de procedencia. En este estudio, el objetivo principal fue establecer los compuestos que podrían ser utilizados con este fin; es decir, como marcadores de la zona geográfica, así como de la especie de agave con que son elaboradas las bebidas alcohólicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tequilas, mezcales y sotoles comerciales, cada uno en sus tres clases: blanco, reposado y añejo, adquiridos en el supermercado o donados.

1) Extracción: Microextracción en Fase Sólida (SPME)

El método de extracción utilizado fue el conocido como SPME por sus siglas en inglés Solid Phase Microextraction. Se introdujo una aguja con una fibra de Carbowax/Divinilbenceno y se absorbieron los volátiles contenidos en la fase de vapor o espacio de cabeza de un vial que contenía 2 ml de la bebida alcohólica, durante 30 minutos. Después de este tiempo se desabsorbió la fibra por un minuto a una temperatura de 210°C en el inyector del cromatógrafo de gases.

2) Caracterización: Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS).

La caracterización y cuantificación de los compuestos obtenidos de cada análisis se realizó con un cromatógrafo de gases HP 5890 Serie II acoplado a un detector selectivo de masas (MSD) de la misma marca. En este equipo se realizó la separación, identificación y/o caracterización posterior de los compuestos volátiles presentes en cada una de las bebidas analizadas (tequilas, mezcales y sotoles en sus tres variedades: blanco, reposado y añejo). Las condiciones de operación fueron: Helio, como gas acarreador; se usó una columna capilar HP-FFAP, con una temperatura del horno de 45°C, tiempo inicial de 5 min, una rampa de 20°C/min hasta 100°C/min, seguido de una segunda rampa de 10°C/min hasta 220°C durante 5 min. La temperatura del inyector fue de 210°C y la del detector de 230°C.

Se utilizó una presión de 5 psi y un flujo de 2 ml/min.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se encontraron diferencias tanto cualitativas como cuantitativas entre los distintos tipos y clases de tequilas, mezcales y sotoles analizados.

En general, existen en promedio 15 volátiles en tequilas y 18 volátiles en mezcal, mientras que en los sotoles se encontraron 25 compuestos volátiles. Para los tequilas, la mayoría de los volátiles observados fueron ésteres y alcoholes, además de algunos ácidos y aldehídos. En los mezcales también el componente principal está representado por ésteres, sin embargo, también alcoholes de cadena corta, cetonas, aldehídos y ácidos. Por otra parte, de los 25 compuestos presentes en el sotol la gran mayoría son ésteres, alcoholes y ácidos, así como algunas cetonas y aldehídos, además de unos furanos.

Se observó que los sotoles son muy ricos en compuestos volátiles aromáticos, más que los tequilas y mezcales, de modo que esto también es importante para la caracterización y diferenciación de las bebidas. Los mezcales dan perfiles parecidos a los sotoles pero con menos compuestos, lo que da indicio de que son menos complejos en cuanto al aroma de los sotoles, seguido por los tequilas. Esto podría ser explicado en base a que, a diferencia de los tequilas, los mezcales y sotoles son bebidas que sólo se destilan una sola vez y, por tanto, no hay remoción de muchos de los compuestos volátiles existentes.

Analizando también las variedades de cada producto alcohólico, se

observó, que a medida que se almacenan éstas, se van generando más compuestos volátiles, de modo que las blancos presentan menos compuestos volátiles que los reposados, siendo los añejados los que presentan mayor variedad por reacciones que se dan durante el almacenamiento, principalmente debido al contacto con la madera y el tipo de la misma.

En general, se puede decir que hay una tendencia a incrementar el número de compuestos volátiles conforme aumenta el tiempo de almacenamiento, de modo que para las tres clases de bebidas, el número de volátiles de la bebida embotellada inmediatamente después de que terminó su elaboración (Blanco) es menor que para las reposadas o añejas, que tienen diferente tiempo de almacenamiento.

Sin embargo, los tres tipos de bebidas étnicas presentaron compuestos en común (7), tales como: 2-metil-1-propanol, 3-metil,1-butanol, etil éster del ácido octanoico y del decanoico, ácido acético, feniletanol y butirolactona. Sin embargo, se pudieron observar algunas diferencias cuantitativas entre ellos. En la Tabla 1 se muestran las concentraciones encontradas.

En la Tabla 1 se observa que el 2-metil-1-propanol, en los mezcales tiene un rango de abundancia más amplio con respecto a los sotoles y tequilas. Sin embargo, el porcentaje mínimo para los sotoles y tequilas es mayor, aunque el porcentaje más grande de la abundancia no alcance el nivel de 15 como es el caso de los mezcales. Por tanto, a pesar de que el compuesto sea común en todas las bebidas étnicas, las cantidades en que éste se encuentre, sigue siendo útil como marcador del origen de dicha bebida.

TABLA 1. ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS VOLÁTILES COMUNES EN TEQUILA, MEZCAL Y SOTOL

COMPUESTO	RANGOS DE ABUNDANCIA (%)		
	TEQUILAS	MEZCALES	SOTOLES
2-metil-1-propanol	9.6 – 12.2	7.3 – 15.0	10.6 – 12.0
3-metil-1-butanol	42 – 51.5	38.6 – 49.6	23.2 – 32.7
Acido octanoico etil éster	4.1 – 6.9	4.7 – 6.7	3.7 – 8.0
Acido acético	9.4 – 11.0	8.3 – 14.0	11.7 – 32.2
Feniletanol	0.5 – 1.6	1.7 – 2.6	0.6 – 0.88
Butirolactona	0.8 – 3.0	1.6 – 2.4	0.8 – 2.1

En relación al 3-metil-1-butanol según los porcentos de la misma Tabla, claramente se observa que son menores en el caso de los sotoles que para tequilas y mezcales, estos últimos, aunque muy cercanos, tienden a ser mayores en el caso de los tequilas. El feniletanol, es otro volátil común en las tres bebidas étnicas analizadas, sin embargo es también su abundancia la que determina las diferencias entre ellas; para este compuesto las abundancias son mayores en el caso de los mezcales, luego en los tequilas y por último en los sotoles en donde el rango de abundancias tiende a estar en valores más pequeños. En el caso del ácido acético, que está presente tanto en tequilas como en mezcales y sotoles; se puede ver que las abundancias son mayores para los sotoles, pos-

teriormente para mezcales y finalmente para tequilas. Por otra parte, en la Tabla 2 se puede ver que existen algunos volátiles que sólo se encontraron en una bebida determinada, lo cuál es sumamente útil como marcador único de dicha bebida, probablemente esto esté determinado por la materia prima y el lugar de origen. En el caso del tequila se encontró que el marcador molecular es el 4,9-decadien,2-amino,N-butil, para el sotol el marcador puntual es la 3-hidroxi-2-butanona y finalmente para el mezcal el 5-metil-2-furancarboxialdehído. Además se encontró que el 2-feniletal éster es un marcador común para los mezcales y sotoles ya que no se encontró en ningún tequila de los analizados.

TABLA 2. MARCADORES ÚNICOS EN LAS BEBIDAS ÉTNICAS

BEBIDA	MARCADOR
Tequila	4,9-decadien,2-amino,N-butil
Mezcal	5-metil-2-furancarboxialdehído
Sotol	3-hidroxi-2-butanona

Por otra parte, en la Tabla 3 se puede ver que hay dos compuestos que se encuentran tanto en mezcal como en tequila pero que no existe en sotol, que son el etil éster del ácido dodecanoico y el ácido 2-hidroxi-propanoico.

TABLA 3. MARCADORES COMUNES, QUE EXCLUYEN A UNA DE LAS TRES BEBIDAS ÉTNICAS

COMPUESTO	TEQUILA	MEZCAL	SOTOL
Acido dodecanoico etil éster	+	+	-
Acido 2-hidroxi-propanoico etil éster	+	+	-
Acido áctico 2-feniletíl éster	-	+	+

CONCLUSIONES

- Por la técnica de SPME se logró caracterizar los compuestos volátiles tanto en tequilas como en mezcales y sotoles, en sus tres variedades blanco, reposado y añejo; encontrándose diferencias cualitativas y cuantitativas entre ellos.
- En los tequilas se identificaron 15 compuestos en promedio, en los mezcales 18, mientras que en los sotoles se encontraron 25, siendo estos últimos más ricos en cuanto a los volátiles aromáticos existentes.
- Se encontraron varios compuestos en común en todas las bebidas étnicas mexicanas, entre los que se encuentran el 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, ácido acético, algunos etil ésteres y feniletanol, principalmente, los cuales a pesar de, se distinguieron por sus rangos de abundancia entre las tres bebidas analizadas.
- Se observó la presencia de compuestos volátiles exclusivos (marcadores) para una bebida en particular, siendo para el tequila el 4,9-decadien,4-amino,N-butil; el marcador del mezcal es el 5-metil-2-furancarboxialdehído y la 3-hidroxi-2-butanona para el sotol.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez de la Cuadra J.J., "¿Gusta Usted Tequila?", Inf. Cient. y Tec. 18, p44-51, 1996.
- Arshust P.R. y Dennis M.J., «Food Authentication», First Edition, p1-12, 1996.
- Benn S.M. y Peppard T.L., Characterization of Tequila Flavor by Instrumental and Sensory Analysis. *J Agric. Food Chem.* 44, 557-566, 1996.
- Granados S.D., «Los Agaves en México», Universidad Autónoma de Chapingo, 1993.
- López M.G., «Tequila Aroma», En: Flavor Chemistry of Ethnic Foods, (Shahidi-Ho ed), Plenum Publishers, p211-217, 1999.
- Luna Z.R., «La Historia del Tequila, de sus Regiones y sus Hombres», Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, 1991.
- Martínez, «Tequila, Tradición y Destino», Revimundo, 1998.
- Muriá J.M., «Una Bebida Llamada Tequila», Ed.Agata, 1996.

NOTA:

Este trabajo se realizó durante el Segundo Verano de la Ciencia de la Región Centro.