

COMPUESTOS VOLÁTILES EN EL MEZCAL

VOLATILE COMPONENTS IN MEZCAL

J. A. Molina-Guerrero¹, J. E. Botello-Álvarez^{2*}, A. Estrada-Baltazar¹, J. L. Navarrete-Bolaños²,
H. Jiménez-Islas², M. Cárdenas-Manríquez² y R. Rico-Martínez¹

*Departamentos de Ingeniería¹ Química y² Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya. Av. Tecnológico y
García Cubas s/n. Celaya, Gto. C. P. 38010. México.*

Recibido 22 de Agosto 2006; Aceptado 15 de Marzo 2007

Resumen

Se estudiaron los compuestos volátiles en diez mezcales comerciales mediante extracción líquido-líquido con diclorometano y concentrando el extracto orgánico por evaporación. El análisis de los extractos se realizó por cromatografía de gases y espectrofotometría de masas (GC-MS). Se identificaron 85 componentes que se clasificaron por su naturaleza química en acetales, ácidos orgánicos, alcoholes, cetonas, aldehídos, ésteres, fenoles y terpenos, siendo los grupos más abundantes en constituyentes y presencia los alcoholes, ésteres y ácidos. Además, se encontraron 30 componentes previamente reportados en la literatura como importantes descriptores de aromas en bebidas alcohólicas. Los mezcales analizados presentan una gran variabilidad en presencia de constituyentes y en los porcentajes de área de sus picos en los cromatogramas obtenidos.

Palabras clave: mezcal, compuestos volátiles, naturaleza química, cromatografía de gases.

Abstract

In this work, the volatile compounds were studied in ten commercial mezcals (Traditional Mexican agave spirits) via extraction liquid-liquid with dichloromethane and concentrating the organic extract by evaporation. The analysis of the extracts was performed with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method. Eighty five components were identified that, subsequently were classified in function of its chemical behavior in acetals, organic acids, alcohols, ketones, aldehydes, esters, phenols and terpenes. The alcohols, esters and acids were the groups more abundant in constituent and quantity. Also, we found 30 components previously reported in the literature like important aroma describers in spirits. The analyzed mezcals present a great variability in quantity of constituent and in area percentages of the correspondent picks in the chromatograms.

Keywords: mezcal, volatile constituents, chemical behavior, gas chromatography.

1. Introducción

El mezcal es una bebida alcohólica tradicional de México, que se elabora de manera similar al tequila. El proceso comienza con la cosecha del agave después de 8 años de cultivo, en esta etapa las plantas son cortadas de su base y la mayor parte de sus hojas son retiradas, obteniéndose las piñas de agave, las cuales son cocidas en hornos o autoclaves. En esta etapa, los polisacáridos, principalmente los de reserva (fructanos), son hidrolizados térmicamente para obtener un jarabe rico en fructosa que, posteriormente se somete a fermentación alcohólica con levaduras nativas o cepas seleccionadas, finalmente el mosto con un contenido de etanol de 3- 6 % v/v aproximadamente se destila para obtener el mezcal blanco o joven (Cedeño, 1995).

El tequila solamente se produce a partir de la especie *Agave tequilana* (NOM-006-SCFI-1994),

mientras en el caso del mezcal, la Norma Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-1994 indica que se puede emplear en su elaboración una amplia variedad de agaves, siendo los más utilizados: *Agave angustifolia*, *Agave esperma*, *Agave weberi*, *Agave potatorum* y *Agave salmiana*. Otra diferencia importante entre el mezcal y el tequila es su procesamiento, en el primero, generalmente es un proceso artesanal, en cambio en el tequila se tiene un proceso tecnificado. También es importante aclarar que las zonas geográficas que cuentan con Denominación de Origen para el mezcal están más dispersas en el territorio mexicano, mientras que en el caso de tequila es una región más reducida, lo que agrega un factor de variabilidad en la elaboración de mezcal en cada región.

La calidad de una bebida alcohólica no solamente se basa en el cumplimiento de las especificaciones de las normas oficiales vigentes, debido a que también se deben considerar algunos

* Autor para la correspondencia: E-mail: joseb@itc.mx
Tel.: (461) 6117575 ext. 415

factores subjetivos, entre ellos, el más importante es la aceptación del consumidor en función de las características sensoriales que percibe, las cuales están asociadas a la composición de los productos, ya que la interacción de los componentes volátiles entre sí y con los receptores sensoriales del consumidor, producen las sensaciones *sui generis* de aroma y sabor (Tešević y col., 2005). El análisis de compuestos volátiles en bebidas alcohólicas es un problema analítico complejo, desde su aislamiento, caracterización e interpretación de su efecto sobre las características sensoriales finales. Ferreira y col. (2002) reportan que se han identificado aproximadamente 800 componentes en vinos mediante técnicas de detección olfatómica y cromatografía de gases, de los cuales, se han identificado de 40 a 50 compuestos como los principales agentes responsables de la producción de aromas. Aun así, la reconstitución de bebidas alcohólicas solamente se ha logrado en tres clases de vinos (Ferreira y col., 2002). Sin embargo, la caracterización de la composición de bebidas alcohólicas ofrece ventajas en su procesamiento y en sus propiedades sensoriales finales, en la selección de cepas de levaduras por la producción de terpenos (Carrau y col. 2005), en la selección de barricas para los procesos de reposo y añejamiento (Waterhouse y Towey, 1994) y en el efecto de la región de cultivo de la materia prima sobre el contenido de odorantes importantes (Arrhenius y col. 1996).

En la literatura existe escasa información referente a la composición del mezcal, la mayoría de los reportes están relacionados con tequila y otras bebidas alcohólicas. Benn y Peppard (1996) analizaron mediante cromatografía de gases y espectrofotometría de masas (GC-MS) un extracto orgánico obtenido por extracción líquido-líquido con diclorometano de un tequila comercial, en donde identificaron más de 175 componentes que clasificaron por su naturaleza química en: acetales, ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres, furanos, fenoles, pirazinas, compuestos sulfurados, terpenos, entre otros; siendo los más abundantes los alcoholes, ésteres y ácidos, en una variedad amplia de constituyentes en cada familia. También determinaron los principales agentes odorantes del tequila analizado: isovaleraldehído, alcohol isoamílico, β -damascenona y vainillina. López y Dufour (2001) estudiaron la composición de orgánicos volátiles en tequilas blancos, reposados y añejos así como la identificación de los principales descriptores de aromas. López y col. (2003) hicieron un seguimiento de los compuestos volátiles generados durante el cocimiento de *Agave tequilana*, encontrando prácticamente los mismos grupos de compuestos mencionados antes, pero con un menor número de constituyentes, también reportan componentes con poder odorífico como β -damascenona, vainillina y linalool; en sus resultados se destaca la presencia elevada de 5-hidroximetil

furfural, que es un compuesto originado a partir de la degradación de fructosa. Peña-Álvarez y col. (2004) estudiaron la presencia de ácidos grasos y terpenos en tres variedades de agaves: *A. angustifolia*, *A. salmiana* y *A. tequilana*, encontrando 32 terpenos en *A. tequilana* y solamente 11 de éstos en las otras dos especies utilizadas para la elaboración de mezcal; en cambio en ácidos grasos *A. salmiana* es más rico. En general, el tequila y *A. tequilana* han sido objeto de muchos estudios en diversos aspectos: autenticidad, genética, composición y cultivo, debido a su importancia económica y comercial (Cedeño, 1995; Aguilar-Cisneros y col., 2002; Gil-Vega y col. 2006, Gobeille y col. 2006).

En el caso de mezcal y su composición, Lanckenmeier y col. (2006) estudiaron comparativamente la concentración de algunos componentes selectos que están declarados en las normas oficiales de bebidas mexicanas producidas de agave: tequila, mezcal, sotol y bacanora, encontrando que el tequila es el que presenta menor variabilidad y mayor observancia de las normas oficiales, seguido del mezcal, no así el sotol y el bacanora que muestran variabilidades altas. De León-Rodríguez y col. (2006) analizaron 16 mezcals producidos en el estado de San Luis Potosí, en variedades de blancos, reposados y añejados, con y sin gusano; su estudio se enfocó también en la valoración cuantitativa de componentes relacionados a la norma oficial e identificación de volátiles mediante aislamiento por microextracción en fase sólida y análisis por cromatografía de gases y espectrofotometría de masas, identificando 37 componentes, de los cuales nueve de ellos fueron clasificados como componentes mayoritarios, en donde se encuentran alcoholes saturados, acetato de etilo, 2-hidroxiopropanoato de etilo y ácido acético. Los componentes minoritarios fueron a su vez otro tipo de alcoholes, aldehídos, cetonas, etil-ésteres de cadena larga, ácidos orgánicos, furanos, terpenos, entre otros.

El análisis de componentes volátiles en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases es complicado debido a que el agua y el etanol representan casi el 98-99% del área de los picos cromatográficos, mientras que en el porcentaje restante se encuentra distribuido en más de un centenar de componentes, lo que dificulta su identificación y cuantificación (Sánchez-Arreguín, 2004). Para su análisis se deben implementar técnicas de separación y concentración de volátiles minoritarios como extracción líquido-líquido, adsorción, evaporación, destilación, entre otras (Díaz-Plaza y col., 2002; Caldeira y col., 2004; Piñero y col., 2004; Rocha y col., 2004). En todas las técnicas mencionadas, es inherente la complejidad de evaluar cuantitativamente los volátiles minoritarios por su baja presencia y diversidad, así como la dificultad de evaluar las pérdidas de cada componente en particular en los

procesos de separación y concentración. Sin embargo, es crucial evaluar su presencia ya que, como se describió anteriormente, muchos de estos componentes son responsables de las características sensoriales del producto final.

Con base en el contexto anterior, en este trabajo se analizó mediante la técnica de cromatografía de gases y espectrofotometría de masas los extractos orgánicos de 10 mezcales comerciales jóvenes, con el fin de incrementar el conocimiento de su composición y sobre todo, identificar los constituyentes que en la literatura se han descrito como componentes con características enológicas importantes.

San Felipe, municipio de Guanajuato fue incorporado dentro de la región con Denominación de Origen para producir mezcal en el año 2001 (Diario Oficial de la Federación), en virtud de este logro, el Gobierno Estatal ha implementado programas de plantación y cultivo de agave para aprovechar esta denominación y, a la vez, reactivar y fortalecer la producción de mezcal. Este estudio es parte de varias investigaciones científicas que se están realizando para apoyar el desarrollo de la industria mezcalera estatal y nacional.

2. Metodología

Se adquirió una colección de 10 mezcales comerciales jóvenes para ser analizados por cromatografía de gases y espectrofotometría de masas (GC-MS). Cada uno de estos mezcales fue analizado por duplicado. Se tomaron alícuotas de 60 mL de cada mezcal a las cuales se le adicionan 3 mL de una solución de NaCl al 25 % p/v para disminuir la solubilidad de los componentes orgánicos en la fase acuosa. A la solución obtenida se le agrega 6 mL de diclorometano en un embudo de separación, la dispersión formada se agita por 30 segundos y se deja reposar por 10 minutos para facilitar la separación de fases. La fase orgánica o extracto se lleva hacia otro embudo de separación donde es secada por la adición de 2 gramos de Na₂SO₄ anhidro. El extracto orgánico es concentrado por evaporación en un rota-evaporador Büchi Modelo REIII (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suiza) a 50 °C en el baño, el proceso de concentración se termina hasta un volumen aproximado de 1 mL.

La GC-MS se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Clarus 500 GC acoplado a un espectrómetro de masas Clarus 500 MS, (Perkin-Elmer Inc., Wellesley, MA). Las separaciones se llevaron a cabo utilizando una columna capilar de 30 m x 0.25 mm de diámetro interno cubierta con una película de 0.5 µm de INNOWAX (Agilent Technologies, Inc. Palo Alto, CA). Se utilizó helio de ultra alta pureza, 99.999%, como gas portador, con una presión constante de 12 psig y un flujo de 1.21 mL/min. (Rojas-Mendoza, 2005)

Para el análisis, el programa de temperatura del horno utilizado fue de 40 a 250 °C a una razón de 5 °C/min, con la temperatura inicial mantenida por 8 minutos y la temperatura final mantenida por 30 minutos, resultando en un tiempo total por corrida de 80 minutos. Las inyecciones fueron hechas en modo de corriente dividida de la fase móvil, con una razón de división de 10:1. El volumen de inyección fue de 1 µL. La temperatura del puerto de inyección fue de 220 °C. El espectrómetro de masas operó en modo de impacto electrónico con un voltaje de ionización de 70 eV, con una temperatura de la fuente de iones de 180 °C y un voltaje de 294 V en el multiplicador de electrones y se realizó el barrido desde 10 m/z hasta 400 m/z con 0.1 s/barrido. El acoplamiento de ambos equipos requirió del software Turbomass Versión 5.0 (Perkin Elmer) para su operación completa. Se llevó a cabo la identificación química de componentes utilizando las bases de datos de espectros de masas del *National Institute of Standards and Technologies*, NIST2002, con ayuda del software Windows Search Program (Versión 2.0 Perkin Elmer). Los procedimientos descritos en la etapa de preparación de muestras fueron optimizados mediante diseños experimentales, en los cuales se consideró como variable de repuesta al porcentaje de recuperación de componentes típicos de bebidas alcohólicas de soluciones acuosas sintéticas sometidas a extracción y concentración (Rojas-Mendoza, 2005). La programación de temperatura en el horno del cromatógrafo y flujo de gas acarreador fueron seleccionadas para lograr la mayor nitidez de separación de los picos en los cromatogramas, lo cual es básico para obtener un espectro de masas bien definido, sin interferencias por el traslape de picos (Rojas-Mendoza, 2005).

3. Resultados y discusión

Las muestras de extractos orgánicos fueron analizadas por duplicado obteniendo un error experimental promedio en las áreas de los picos de 3.6%. En la Tabla 1 se presenta un compendio de los compuestos identificados en los 10 mezcales jóvenes estudiados, los cuales fueron agrupados en acetales, ácidos, alcoholes, cetonas, aldehídos, ésteres, fenoles y terpenos. En la primera y segunda columna se presentan los tiempos de retención (t_r) y el nombre de los compuestos encontrados, incluyendo los constituyentes reportados en mezcales potosinos por De León-Rodríguez y col. (2006). En la tercera columna se identifican las referencias bibliográficas citadas en la Tabla 2, que muestran en que bebidas alcohólicas se han encontrado los componentes identificados en este trabajo. La cuarta columna contiene el número de mezcales estudiados en donde se detectó la presencia de cada componente en particular. En la quinta columna se muestra el porcentaje de área promedio de pico en los cromatogramas y su desviación estándar (ds) para

Tabla 1. Compuestos identificados en mezcales y otras bebidas alcohólicas

t _r (min)	Compuesto	Mezcal/Tequila/Otros	Apariciones	% de Área (ds)	Nota aromática
Acetales					
3.48	Dietil acetal	1 / 3 / 10, 14	9	7.014 (10.354)	Frutal (14)
22.91	1,3-dietoxi propan-1-ol	1 // 8	4	0.059 (0.028)	
16.50	1,1-dietoxipentano	1 // 8	5	0.095 (0.055)	
19.89	1,1-dietoxiheptano	1 // 8	2	0.157 (0.079)	
22.91	1,1-dietoxioctano	1 // 8	2	0.200 (0.039)	
25.82	1,1-dietoxinonano	1 // 8	6	0.100 (0.078)	
Ácidos					
23.91	Ácido acético	1,2 / 3,4,5 / 8,9	10	2.797 (2.285)	Vinagre (12,13)
26.39	Ácido propanoico	1,2 / 4,5 / 8,9	10	0.288 (0.260)	Frutal, ácido, floral (13)
27.16	Ácido 2-metil propanoico (isobutírico)	1 / 3,4 / 8,9,11,12	2	0.131 (0.170)	Frutal, sudor, grasa fenólico, pies (3,12,13)
28.74	Ácido butanoico	1 / 4,5 / 8,9,11,12	10	1.110 (2.33)	Grasa, rancio, queso, dulce (12,13)
29.68	Ácido 2-metil butanoico	1 / 3 / 6,8	3	0.209 (0.180)	Frutal, sudor (3,6)
31.52	Ácido pentanoico	1,2 / 3,4,5 / 8	8	0.502 (0.889)	
34.07	Ácido hexanoico	1,2 / 3,4,5 / 6,8,9,12	10	1.274 (2.727)	Levadura, sidra, seta, pasto, frutal, queso (6)
36.50	Ácido heptanoico	1 / 5 /	6	0.185 (0.107)	
38.79	Ácido octanoico	1 / 3,4,5 / 6,8,9,11,12,13	10	0.700 (0.381)	Ácido graso, seco, sudor, queso (3)
40.94	Ácido nonanoico	1 / 5 / 11	6	0.290 (0.387)	
43.03	Ácido decanoico	1 / 3,4,5 / 6,8,9,11	9	0.570 (0.626)	Grasa, seco, madera (3,4)
Alcoholes					
	Metanol	2 //			
8.16	Propanol	1,2 / 3,4,5 / 7,8,9,10,11	10	6.385 (8.448)	
15.8	2-metil-1-propanol (alcohol isobutílico)	1,2 / 3 / 7,8,9,10,11,13	10	7.480 (3.390)	Dulce, químico, blanqueador, chocolate, mohoso (3,13)
13.25	1-butanol	1,2 / 3,5 / 6,8,9,10,11	10	0.643 (0.298)	Dulce, fusel(3)
7.62	2-butanol	1,2 // 6,8,10	9	1.692 (2.930)	
17.25	3-metilbut-3-en-1-ol	1 / 3,5 / 8,11	6	0.347 (0.366)	
19.93	3-metilbut-2-en-1-ol	1 // 6,8	7	0.139 (0.140)	Herbal (6)
17.72	3-metil -1-butanol (alcohol isoamílico)	1,2 / 3,4,5 / 6,7,8,9,10,11,13, 14	10	40.556 (17.729)	Dulce, frutal, fusel, plástico, alcohol, vino, pies, mohoso (3,4,6,12,13)
19.20	Pent-4-en-1-ol	1 / 3,4 / 8	1	0.2538 ()	
22.05	3-metil-3- penten-1-ol	1 // 8	4	0.888 (0.622)	
20.06	3-metil-1-pentanol	1 / 3 / 8,11	7	0.401 (0.824)	
19.65	4-metil-1-pentanol	1 / 3,4 / 8,11	10	0.182 (0.234)	
20.86	1-hexanol	1 / 3,4,5 / 6,8,9,10,12	2	0.124 (0.028)	Pasto verde, tostado (6,12)
21.93	4-hexen-1-ol	1 / 4 / 8	1	0.253 (0.044)	
	3-hexen-1-ol	2 //			
23.97	Heptanol	1 / 3 / 6,8,11	1	0.007 ()	
22.03	Octan-3-ol	1 / 3,4 / 6,8	2	0.124 (0.064)	
26.69	1-Octanol	1 / 3 / 6,8,9	4	0.107 (0.064)	
23.67	Oct-1-en-3-ol	1 / 3,5 / 6,8	3	0.0972 0.021)	Seta, tierra (3,6)
29.39	1-nonanol	1 // 6,8	8	0.163 (0.162)	
31.91	1-undecanol	1 / 4 /	1	0.303 ()	
41.03	1-hexadecanol	1 / 3 / 6,8	2	0.144 (0.078)	
35.76	2-feniletan-1-ol	1,2 / 3,4,5 / 6,7,8,9,10,11,12,13	10	2.886(1.457)	Floral, rosas, seta, dulce (3,4,6,11,12,13)

Tabla 1. Compuestos identificados en mezcales y otras bebidas alcohólicas. Continuación

t_r (min)	Compuesto	Mezcal/Tequila/Otros	Apariciones	% de Área (ds)	Nota aromática
Alcoholes					
42.95	6,9-pentadecadien-1-ol (Z-E) 9,12- Tetradecandien-1-ol	2 // 1 //	7	3.491 (2.966)	
Cetonas					
3.65	2-butanona	1 //	1	0.100 ()	
18.62	3-hidroxi-2-butanona	1,2 // 13	8	0.494 (0.412)	
14.75	3-metil ciclopentanona	1 / 3 /	3	0.161 (0.122)	
21.11	Ciclopent-2-en-1-ona	1 / 3 / 8	10	0.217 (0.144)	
12.53	Pent-3-en-2-ona	1 / 3 / 8	3	0.194 (0.118)	
14.73	Ciclopentanona	1 / 3 /	9	0.389 (0.182)	
15.03	Ciclohexanona	1 / 4 /	4	0.156 (0.135)	
22.87	Oct-1-en-3-ona	1 // 6	1	0.455 ()	Seta (6)
Aldehídos					
1.79	Acetaldehído	1,2/3 / 7	1	0.325 ()	químico(3)
25.05	2-metil hexanal	1 //	2	0.116 (0.030)	
Ésteres					
2.44	Acetato de metilo	1 / 3 /	7	0.216 (0.193)	
3.32	Acetato de etilo	1,2 / 3 / 6,7,10	10	7.257 (6.231)	
7.95	Butanoato de etilo	1,2 / 3 / 6,8,9,10,11,12,14	9	0.200 (0.237)	Frutal, banana, piña, fresa(3,6,11)
26.48	Pentanoato de etilo 2-hidroxi-4-metil pentanoato de etilo	2 // 14 1 / 3 /	2	0.177 (0.056)	
16.71	Hexanoato de etilo	1,2 / 3,4 /6,7,8,9,10,11,12,14	10	0.243 (0.183)	Frutal, manzana, banana, fresa (3)
20.18	Heptanoato de etilo	1 / 3 / 8, 14	2	0.103 (0.057)	
23.33	Octanoato de etilo	1,2 / 3,4 / 6,7,8,9,10,11,12, 14	10	0.371 (0.174)	Fruta madura, dulce, pera (12)
26.12	Nonanoato de etilo	1 / 3 / 8, 14	9	0.061 (0.067)	
30.35	9-decanoato de etilo	1 / 3 /	4	0.089 (0.055)	
28.95	Decanoato de etilo	1,2 / 3,4 / 6,7,8,9, 14	10	0.547 (0.325)	Dulce, lechería, canela, madera (3,6)
33.96	Dodecanoato de etilo	1,2 / 3 / 8,10,14	10	0.1660 (0.088)	
42.72	Hexadecanoato de etilo Octadecanoato de etilo	1,2 / 3,4 / 3,8,11 2 / 4 / 8	5	0.682 (0.566)	
29.95	Succinato de etilo	1 //	10	0.119 (0.080)	
20.64	Lactato de etilo	1,2 / 3,4 / 6,8,10,11	10	7.130 (6.001)	
27.26	Acetato de 3-metil butilo	1 / 3 / 6,7,8,11,13	2	0.110 (0.016)	Frutal, banana (6,11,13)
34.62	Butanoato de butilo	1 // 8,9	2	0.0305 (0.027)	
33.57	Butanoato de pentilo Acetato de 2-feniletilo	2 // 1 / 3,4 / 6,7,8,11,13	10	0.245 (0.154)	Floral, tepache, frutal, rosas (4,11,13)
35.93	Propionato de 2- feniletilo	1 // 6	5	0.083 (0.046)	
Fenoles					
39.49	Cresol	1/3,4/	9	0.087 (0.073)	Dulce (3)
36.78	Isocresol	1//	4	0.156 (0.094)	
41.18	Eugenol	1/3,4/3,8,12	6	0.308 (0.469)	Clavo, especias, medicina, bálsamo (3,4,6,12)
34.55	Mequinol (p-guaiacol)	1/3/	10	0.144 (34.55)	Humo, fenólico (3)
39.86	Cuminol	1//	3	0.195 (0.123)	
Furanos					
24.4	Furfural	1,2 / 3,4,5 / 6,8,10,12	3	0.997 (0.337)	Floral, frutal (12)

Tabla 1. Compuestos identificados en mezcales y otras bebidas alcohólicas. Continuación 2

t _r (min)	Compuesto	Mezcal/Tequila/Otros	Apariciones	% de Área (ds)	Nota aromática
Furanos					
29.64	alcohol furfurílico	1/ 3,4,5 /	10	0.482 (0.258)	
27.55	5-metil furfural	1,2 / 3,4,5 / 8	10	0.876 (0.555)	
34.68	2-acetil-5-metil furano	1/ 4 /	6	0.080 (0.066)	
21.13	2-etil-5-metil-furano	1 //	10	0.150 ((0.088)	
47.57	5-Hidroximetil furfural	1/ 3,5 /	3	0.250 (0.148)	
	2-Pentilfurano	2 // 8			
Terpenos					
30.55	α -Terpineol	1,2 / 3 / 8,11	10	0.552 (0.570)	
32.16	Citronelol	1/ 3,4 / 8,11	4	0.244 (0.261)	Dulce, floral (3)
26.56	Linalool	1 / 3 / 8,11	5	0.346 (0.357)	Floral, frutal, dulce, especias (3,6,11,12)
23.65	Trans-linalool óxido	1 / 3 / 8	7	0.208 (0.204)	
23.54	Cis-linalool óxido	1 / 3 / 8	5	0.564 (0.043)	
44.67	Farnesol isómero a	1 // 6,8	1	0.113 ()	
38.20	Nerolidol	1 / 3,4 / 8	1	0.075 ()	
	Limoneno	2 // 8			
	α -Terpineno	2 //			
Varios					
	4-etil-1,2-dimetil benceno	2 //			
	Metil centeno	2 //			
	Naftaleno	2 // 9			
	1,8-nonadieno	2 //			
	1-dodecina	2 //			

Tabla 2. Referencias de la Tabla 1.

Autores	Producto analizado	Ref.
Este trabajo	Mezcal	1
De León-Rodríguez y col., 2006.	Mezcal	2
Benn y Peppard, 1996.	Tequila añejo	3
López y Dufour, 2001.	Tequilas blanco, reposado y añejo	4
López y col., 2002.	Cocimiento de <i>A. tequilana</i>	5
Ledauphin y col., 2003.	Calvados	6
Mallouchos y col., 2002.	Mostos de uva	7
Ledauphin y col., 2004.	Calvados y Coñac	8
Patel y Shibamoto, 2002.	Vino	9
Guichard y col., 2003.	Calvados	10
Selli y col., 2006.	Vino	11
Aznar y col., 2001.	Vino	12
Charles y col. 2000.	Vino	13
Nobrega, 2003.	Aguardiente de caña	14

cada compuesto, estos porcentajes están referidos al total de área de los picos de todos los compuestos en cada extracto orgánico analizado, sin considerar el área del etanol que en general representó el 71.59 % del área total. La última columna muestra los descriptores de aromas reportados en la literatura para algunos de los compuestos identificados.

En este trabajo se identificaron 22 de los compuestos reportados en mezcales por De León-Rodríguez y col. (2006) y 63 adicionales de los cuales, en su gran mayoría, ya han sido identificados

en tequilas y otras bebidas alcohólicas. En el grupo de los acetales se destaca la presencia elevada de dietil acetal en nueve extractos orgánicos de mezcales, este compuesto es resultado de la reacción de etanol y acetaldehído, su presencia en bebidas alcohólicas contribuye fuertemente a la generación de un olor fuerte, dulce y afrutado (Consejería de Agricultura y Pesca, 2002), también ha sido encontrado de manera abundante en aguardientes de caña de azúcar (Nobrega, 2003).

En el grupo de los ácidos se encontraron once compuestos de los cuales ocho se reportan como descriptores de aromas, primordialmente a grasa y queso; los compuestos más abundantes son los ácidos: acético, hexanoico y butanoico presentes en todos los mezcales estudiados. Otro grupo muy abundante lo constituyen los alcoholes con 22 compuestos identificados de los cuales, siete son reportados en la literatura como importantes descriptores de aromas, con notas aromáticas frutales y florales. La técnica de extracción y concentración desarrollada en este trabajo muestra una nula recuperación de metanol (Molina, 2005), sin embargo, en todas los mezcales comerciales analizados, la concentración de metanol está por debajo de la especificación de la norma ya citada (Zavala, 2004), lo cual coincide en mezcales analizados por Lachenmeier y col. (2006). El compuesto mayoritario de este grupo es el alcohol isoamílico, compuesto principal de los alcoholes superiores denominados aceites de fusel (Escalante-Minakata y col., 2006). También están presentes alcoholes con doble ligadura en su cadena, que son poco referenciados en otras bebidas alcohólicas, como lo son 3-metilbut-3-en-1-ol (α -prenol) y 3-metilbut-2-en-1-ol (prenol), los cuales han sido reportados en aceites esenciales de la flor de manzanilla (Sefidkon y Omidbaigi, 2004). Otro compuesto interesante encontrado en esta familia es el (Z-E) 9,12-tetradecadien-1-ol que es una feromona, encontrada en insectos (Phillips y col. 2005) semejante al 6,9-pentadecadien-1-ol encontrado por De León-Rodríguez y col. (2006) en mezcales con gusano. En general, se puede considerar que la presencia de todos los alcoholes encontrados son resultado de la fermentación por las levaduras, principalmente el etanol, que como se esperaba es el alcohol más abundante (Benn y Peppard, 1996; De León-Rodríguez y col., 2006). Sin embargo, algunos alcoholes como 2-butanol, 2-metilpropanol y 3 metil-propanol podrían haber sido producidos por el catabolismo de aminoácidos; mientras que algunos otros alcoholes pudieron haber sido formados por reducción de aldehídos por acción de la enzima alcohol deshidrogenasa (De León-Rodríguez y col., 2006; Pronk y col., 1996).

Los ésteres son un grupo abundante con 18 componentes, con seis odorantes importantes que principalmente proporcionan notas aromáticas frutales y florales a las bebidas alcohólicas. Los componentes más abundantes son el acetato y el lactato de etilo. El acetato es siempre un componente abundante en bebidas alcohólicas, no así el lactato que generalmente es la manifestación de una contaminación por bacterias lácticas durante la fermentación. Es probable que la mayoría de los ésteres identificados sean producto del metabolismo de las levaduras, o bien, podrían haber sido formados durante su almacenamiento por la esterificación de

los ácidos grasos en presencia de concentraciones altas de etanol (Benn y Peppard, 1996).

El grupo de los furanos y fenoles, son compuestos de origen variado, pero en general provienen del procesamiento térmico de las materias primas utilizados en la elaboración de la bebida alcohólica, como es el caso del furfural y el 5-hidroximetil furfural que se originan principalmente por la degradación térmica de carbohidratos durante el cocimiento del agave (López y col., 2002). Los terpenos son un grupo que aportan características sensoriales muy importantes. Como ya se mencionó, Peña-Alvarez y col. (2004) encontraron 32 terpenos en los agaves principalmente utilizados para producir tequila y mezcal, sin embargo, de acuerdo a lo reportado por Benn y Peppard (1996), De León-Rodríguez y col. (2006) y los resultados de este trabajo, solamente se identificaron algunos terpenos en el producto final como lo son el limoneno y el linalool. Algunos autores han reportado que la presencia de terpenos es el resultado de la acción de β -glicosidasas de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* y *Kluveromyces lactis* durante el proceso de fermentación (De León-Rodríguez y col., 2006; King y Dickinson, 2000, 2003), lo que indica, al parecer, que la presencia de los terpenos en el mezcal está asociada a la materia prima utilizada y al proceso de producción (Escalante-Minakata y col., 2006). Sin embargo, de acuerdo a algunos otros autores, no podemos descartar que estos compuestos pudieran también formarse durante los procesos de cocimiento, fermentación, destilación o almacenamiento del mezcal (Benn y Peppard, 1996) o provienen de la materia prima utilizada (Tešević y col., 2005) para el caso de brandy de ciruela. Por otra parte, algunos compuestos como aldehídos, cetonas, furanos y fenoles podrían generarse durante los procesos de cocimiento y/o destilación (Benn y Peppard, 1996). Algunos autores mencionan que, de manera alternativa, los fenoles podrían formarse por la ruptura de ácidos fenólicos presentes en la planta del agave (Benn y Peppard, 1996).

En el análisis de la Tabla 1 se observa una variabilidad muy alta en la composición de los mezcales estudiados, puesto que un porcentaje alto de componentes no están presentes en todos los extractos analizados, así como presentan desviaciones estándares muy altas en el porcentaje de área de sus respectivos picos en los cromatogramas. En la Tabla 3 se presenta un resumen de los porcentajes promedio de áreas y sus desviaciones estándares por familias químicas encontradas en este trabajo y se comparan con los porcentajes de áreas reportados por Benn y Peppard (1996) en un extracto orgánico de tequila, mientras en la Fig. 1 se presentan estos mismos porcentajes así como su distribución en los diferentes mezcales estudiados identificados como M1...M10. Se puede observar que, en ambas bebidas, los alcoholes, los ésteres, los

ácidos y los acetales son los grupos orgánicos más abundantes. Sin embargo, en el caso del tequila, la familia de alcoholes es muy dominante. Lachenmeier y col. (2006) mencionan que el tequila es la bebida con menor variabilidad en su composición (considerando solamente algunos componentes relevantes) de las bebidas elaboradas en México con agave. Esta variabilidad encontrada en el mezcal puede considerarse como consecuencia de la variedad de especies de agaves utilizados, las prácticas locales de elaboración en las diferentes zonas con Denominación de Origen, las diferencias tecnológicas de cultivo y procesamiento, mientras que el caso de tequila solamente se utiliza *Agave tequilana* y la zona productora autorizada está muy concentrada con procesos de producción tecnificados con pocas variantes.

Tabla 3. Porcentajes de área por familias químicas.

Familia	Mezcal Promedio % Área(ds)	Tequila (Benn y Peppard, 1996) %Área
Cetonas	1.187 (0.673)	0.2000
Esteres	17.512 (9.898)	3.850
Alcoholes	63.544 (14.973)	88.450
Ácidos	7.685 (6.963)	1.300
Aldehídos	0.055 (0.106)	0.030
Furanos	1.930 (1.138)	0.850
Terpenoides	1.043 (1.172)	0.640
Fenoles	0.528 (0.587)	0.130
Acetales	6.511 (10.208)	3.150

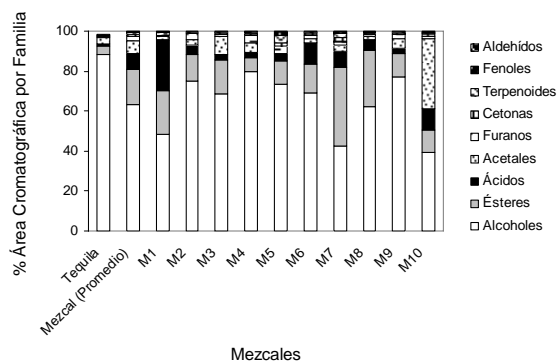


Fig. 1. Distribución de porcentajes de áreas cromatográficas de las familias químicas en los mezcals estudiados.

En resumen, la composición del mezcal y su variabilidad es compleja y cada componente requiere estudios adicionales para elucidar su origen y sus consecuencias en el cumplimiento de las normas oficiales y en las características sensoriales en el producto final. Esta meta aun no se ha alcanzado en vinos, que han sido ampliamente estudiados, ni en tequila que está respaldado con una industria fuerte y

desarrollada. En el caso de mezcal son aun escasos y dispersos los estudios sobre su procesamiento y composición; la industria mezcatera necesita procesos estandarizados para obtener productos con calidad uniforme y constante. Un primer paso es conocer no solamente los compuestos mayoritarios cuya presencia está reglamentada, sino también aquellos componentes minoritarios que conforman una huella distintiva de cada producto, propia de un agave, de una región, de un procesamiento; que permita elucidar pruebas de autenticidad y diferenciación de las distintas zonas mezcateras ubicadas dentro de la Denominación de Origen.

Conclusiones

Se identificaron 85 componentes en extractos orgánicos obtenidos por extracción líquido- líquido con diclorometano de 10 mezcals comerciales jóvenes, de los cuales 30 han sido reportados como odorantes importantes en otras bebidas alcohólicas. Un 76 % de los componentes han sido encontrados también en tequilas. Las familias de compuestos con mayor presencia son los alcoholes, los ésteres y los ácidos orgánicos. Se encontró una gran variabilidad en presencia de constituyentes y en sus porcentajes de área cromatográfica. Esta variabilidad significa que el mezcal es una bebida con rasgos característicos de las distintas especies de agaves y de los procesos tradicionales locales empleados en su elaboración. Esta variabilidad no debe ser entendida necesariamente como sinónimo de falta de calidad, sino como la expresión de particularidades propias y distintivas de cada una de las marcas comerciales. En este sentido es necesario conocer cuales son esos compuestos que constituyen el mapa químico de cada mezcal originario de las distintas regiones productoras, de los agaves y procesos utilizados en su elaboración con el fin de caracterizar apropiadamente al mezcal.

Agradecimientos

Al Fondo FOMIX CONACYT-GUANAJUATO 2003 por el apoyo al proyecto GTO-2003-C02-11512.

Referencias

Aguilar-Cisneros, B. O., López, M. G., Richling, E., Heckel, F. y Schreier, P. (2002). Tequila authenticity assessment by headspace SPME-HRGC-IRMS analysis of 13C/12C and 18O/16O ratios of ethanol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 7520-7523.

Arrhenius, S. P., McCloskey, L.P. y Sylvan, M. (1996). Chemical Markers for Aroma of *Vitis vinifera* Var. Chardonnay Regional Wines.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 10855-1090.
- Aznar, M., López, R., Cacho, J. F. y Ferreira, V. (2001). Identification and Quantification of Impact Odorants of Aged Red Wines from Rioja. GC-Olfactometry, Quantitative GC-MS and Odor Evaluation of HPLC Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 2924-2929.
- Benn, M. S y Peppard, L. T. (1996). Characterization of Tequila Flavor by Instrumental and Sensory Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 557-566.
- Caldeira, I., Pereira, M. R., Climaco, C., Belchior, A. P. y De Sousa, R. B. (2004). Improved method for extraction of aroma compounds in aged brandies and aqueous alcoholic wood extracts using ultrasound. *Analytica Chimica Acta* 513, 125-134.
- Charles, M., Martin, B., Ginies, C., Etievant, P., Coste, G. y Guichard, E. (2000). Potent Aroma Compounds of Two Red Wine Vinegars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 70-77.
- Carrau, F. M., Medina, K., Boido, E., Fariña, L., Gaggero, C., Dellacassa, E., Versini, G. y Henschke, P. (2005). De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *FEMS Microbiology Letters* 243, 107-115.
- Cedeño, M. C. (1995). Tequila production. *Critical Reviews in Biotechnology* 15, 1-11.
- Consejería de Agricultura y Pesca. (2002). Diagnóstico del sector vitivinícola y de las bodegas en el Marco de Jerez. Sevilla, España.
- De León-Rodríguez, A., González-Hernández, L., Barba de la Rosa, A. P., Escalante-Minakata, P. y López, M. G. (2006). Characterization of volatile compounds of mezcal, an ethnic alcoholic beverage obtained from Agave salmiana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 1337-41.
- Díaz-Plaza, E. M., Reyero, J. R., Pardo, F. y Salinas, M. R. (2002). Comparison of wine aromas with different tannic content aged in French oak barrels. *Analytica Chimica Acta* 458, 139-145.
- Escalante-Minakata, P., González-Hernández, L., Barba de la Rosa, A.P. De León-Rodríguez, A. (2006). El mezcal, una mezcla natural de alcoholes y feromonas. *Revista Bebidas de Alfa Editores Técnicos*. Edición Junio-Julio, 10-18.
- Ferreira, V., Ortián, N., Escudero, A., Loápez, R y Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of grenache rosé wines. Aroma Extract Dilution Analysis, quantitative determination and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(14), 4048-4054
- Gil-Vega, K., Díaz, C., Nava-Cedillo, A. y Simpson, J. (2006). AFLP analysis of Agave tequilana varieties. *Plant Science* 170, 4, 904-909.
- Gobeille, A., Yavitt, J., Stalcup, P. y Valenzuela, A. (2006). Effects of soil management practices on soil fertility measurements on Agave tequilana plantations in Western Central Mexico. *Soil and Tillage Research* 87, 1, 80-88.
- Guichard, H., Lemesle, S., Ledauphin, J., Barillier, D., y Picoche, B. (2003). Chemical and Sensorial Aroma Characterization of Freshly Distilled Calvados. 1. Evaluation of Quality and Defects on the Basis of Key Odorants by Olfactometry and Sensory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 424-432.
- King A. J., Dickinson J. R. (2000). Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. *Yeast* 16, 499-506.
- King A. J., Dickinson J. R. (2003). Biotransformation of hop aroma terpenoids by ale and lager yeast. *FEMS Yeast Research* 16, 499-506.
- Lachenmeier, D.W., Sohnius-Rainer, E. M., y López, M. G. (2006). Quantification of Selected Volatile Constituents and Anions in Mexican Agave Spirits (Tequila, Mezcal, Sotol, Bacanora). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 3911-3915.
- Ledauphin, J., Saint-Clair, J.F., Lablanquie, O., Guichard, H., Fournier, N., Guichard, E. y Barllier, D. (2004). Identification of Trace Volatile Compounds in Freshly Distilled Calvado and Cognac Using Preparative Separations Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 5124-5134.
- Ledauphin, J., Guichard, H., Saint-Clair, J.F., Picoche, B. y Barillier, D. (2003). Chemical and Sensorial Aroma Characterization of Freshly Distilled Calvados. 2. Identification of Volatile Compounds and Key Odorants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 433-442.
- López, M. G. y Dufour, J. P. (2001). Tequilas: Charm Analysis of Blanco, Reposado, and Añejo tequilas. *ACS Symposium Series* 2001, 782, 63- 72.
- López, M.G., Mancilla-Margalli, N.A., Mendoza-Díaz, G. (2003). Molecular structures of fructans from Agave tequilana Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (27): 7835-7840
- Mallouchos, A., Komaitis, M., Koutinas, A. y Kanellaki, M. (2002) Investigation of Volatiles Evolution during the Alcoholic

- Fermentation of Grape Must Using Free and Immobilized Cells with the Help of Solid Phase Microextraction (SPME) Headspace Sampling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3840-3848
- Molina, G. J. A. (2005). *Análisis de Compuestos en Mostos Fermentados de A. salmiana y Mezcales Comerciales Mediante Cromatografía de Gases – Espectrofotometría de Masas*. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química, Instituto Tecnológico de Celaya. México
- Nobrega, I. C. D. C. (2003). The analysis of volatile compounds from Brazilian sugar cane spirit by dynamic headspace concentration and gas chromatography-mass spectrometry. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 23, 2, 210-216.
- NOM-006-SCFI-1994. (1994). Norma Oficial Mexicana: Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones. Dirección General de Normas. Secretaría de Economía. México
- NOM-070-SCFI-1994. (1994). Norma Oficial Mexicana: Bebidas alcohólicas-Mezcal-Especificaciones. Dirección General de Normas. Secretaría de Economía. México
- NOM-142-SSA1-1995. (1996). Norma Oficial Mexicana: Bienes y servicios. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial. Secretaria de Salud. México
- Patel, S. y Shibamoto, T. (2002). Effect of Different Strains of *Saccharomyces cerevisiae* on Production of Volatiles in Napa Gamay Wine and Petite Sirah Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 5649-5653.
- Peña-Alvarez, A., Díaz, L., Medina, A., Labastida, C., Capella, S. y Vera, L. E. (2004) Characterization of three Agave species by gas chromatography and solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1027, 131–136.
- Phillips, W. T., Congan, M. P. y Fedamiro, Y. H. (2005). *Insect Management, Chapter 10 Pheromones*. SPREC Publications, Oklahoma State University.
- Piñeiro, Z., Palma, M. y Barroso, C. G. (2004). Determination of terpenoids in wines by solid phase extraction and gas chromatography. *Analytica Chimica Acta* 513, 209–214.
- Pronk J. T., Steensma H. Y., Van Dijken J.P. (1996). Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 12, 1607-1633.
- Rocha, S. M., Rodrigues, F., Coutinho, P., Delgadillo, I. y Coimbra, M.A. (2004). Volatile composition of Baga red wine Assessment of the identification of the would-be impact odorants. *Analytica Chimica Acta* 513, 257–262.
- Rojas-Mendoza, C. E. (2005). *Implementación de la Cromatografía de Gases y Espectrofotometría de Masas para el análisis del proceso de mezcal*. Tesis de licenciatura en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Celaya. México.
- Sánchez-Arreguin, J. A. (2004). *Estudio de la Destilación de Mostos Fermentados para la elaboración de Mezcal*. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Tecnológico de Celaya. México.
- Sefidkonl, F. y R. Omidbaigi, R. (2004). Essential oil composition of *Cephalophora aromatica* cultivated in Iran. *Flavour Fragra* 19, 153–155.
- Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., Erten, H., y Gunata, Z. (2006). Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment. *Food Chemistry* 94, 319-326.
- Tešević, V., Nikićević, N., Jovanović, A., Djoković, D., Vujisić, L., Vučković, I. y Bonić, M. (2005). Volatile Components from Old Plum Brandies. *Food Technology and Biotechnology* 43 (4), 367–372
- Waterhouse, A. L. y Towey, J. P. (1994). Oak Lactone Isomer Ratio Distinguishes between Wines Fermented in American and French Oak Barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42, 1971-1974.
- Zavala, S. M. J. (2004). *Implementación de la Cromatografía de Gases en el Estudio de la Producción de Mezcal*. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya. México.