



**Centro de Investigación en  
Alimentación y Desarrollo, A.C.**

**PERFIL DE COMPUESTOS VOLÁTILES EN  
BACANORAS ARTESANALES Y COMERCIALES**

---

Por:

Rosalva Josefina Rodríguez Córdova.

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Rosalva Josefina Rodríguez Córdova la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias.



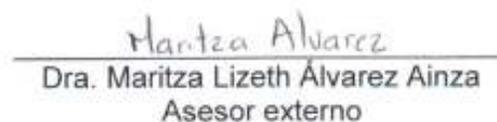
Dra. Evelia Acedo Félix  
Director de tesis



Dr. Humberto González Ríos  
Asesor



Dra. Ana Isabel Valenzuela Quintanar  
Asesor



Dra. Maritza Lizeth Álvarez Ainza  
Asesor externo

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



---

Dr. Pablo Wong González  
Director General

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgada durante la maestría.

Al **Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C)** por recibirme y permitirme realizar mis estudios de posgrado.

A la **Coordinación de Programas Académicos** por el apoyo brindado a lo largo de mi estadía como estudiante. Así como la ayuda económica brindada en la parte final del programa de posgrado

A la **Coordinación de Ciencias de los Alimentos** por aceptarme y brindarme el espacio para desarrollar mi trabajo de tesis. Un especial agradecimiento para los **Laboratorios de Toxicología de Plaguicidas y Residuos tóxicos**, por todas las facilidades otorgadas para llevar a cabo este trabajo de investigación.

Al **Laboratorio de Aseguramiento de la Calidad Microbiológica de los Alimentos (LACMA)** y al **Laboratorio de Microbiología Molecular** por el financiamiento de este trabajo de investigación.

A mi directora, la Dra. Evelia Acedo Félix por la confianza y su constante apoyo en mi formación profesional, no siendo la excepción este trabajo de maestría. También un sincero agradecimiento por brindarme su amistad y confianza.

A los miembros de mi comité de tesis, cuya dirección y aportes hicieron posible la finalización de este trabajo: Muchas gracias a la Dra. Maritza Álvarez quien me brindo su amistad y apoyo a cada paso en mi maestría, y nunca segó en su intento de formación. Un especial agradecimiento a la Dra. Ana I. Valenzuela quien tuvo la amabilidad de compartirme con suma paciencia, sus conocimientos en áreas hasta entonces desconocidas para mí, me llevo algo nuevo gracias a usted. Al Dr. Humberto Ríos, muchas gracias, no sólo por toda la asesoría y sus aportes al trabajo, sino también, a su invaluable aportación a mi formación académica, mil gracias! Es usted un excelente maestro.

Un agradecimiento de corazón a la Dra. Gabriela Ramos Clamont, quien me apoyo con sus consejos y sabias palabras en momentos cruciales durante este trabajo.

Un especial agradecimiento a la Maestra en Ciencias Patricia Grajeda Cota, por el apoyo técnico brindado para la realización de este trabajo en las técnicas de cromatografía de gases. También muchas gracias por toda la paciencia y confianza.

Un especial agradecimiento a la Dra. Belinda Vallejo y al Dr. Aarón González por las facilidades en el uso del équido de CG-Masas, para la identificación de alcoholes minoritarios e interpretación de resultados.

Gracias a la M.C. Carmen Estrada Montoya y al M.C. Ricardo Rodríguez, por el apoyo técnico brindado en la identificación de los alcoholes minoritarios por cromatografía de gasas acoplado espectrometría de masas.

Mil gracias a la Q.B Rosalva Pérez por todo el apoyo técnico logístico requerido para lograr la culminación de este trabajo, así como las levantadas de ánimo.

Mil gracias al Dr. Alfonso García por las correcciones al trabajo escrito y su apoyo en cada detalle, que no podría haberme dado cuenta sin su ayuda.

Muchas gracias a la Dra. Itzamná Baqueiro, por todas sus opiniones que enriquecieron el trabajo de tesis, y también por su valiosa ayuda en la preparación de la defensa de tesis.

Un especial agradecimiento a la Dra. Gloria Yepiz Placencia, Verónica Araiza, Laura García, Argelia Marín, Héctor Galindo, Héctor Cota y Gerardo Reyna. Por todo el apoyo brindado, a lo largo de 7 años de estancia en CIAD. Gracias por su calidez y atención.

A todos mis compañeros de laboratorio de Microbiología Molecular: la aceleradísima Iliana Guardiola (por las palabras de ánimo), Fernanda Cirene, Deynali Patricia, Manuel, Kenia, Briana y Francisco, gracias por compartir su tiempo conmigo y sus experiencias, hicieron el laboratorio muy llevadero.

Muchas gracias al grupo de trabajo de LACMA, Isabel Quintana, Claudia Iñiguez (por cada carcajada y cada porra), Alejandra Zamora, Arleth Cruz, German Jacquez (por compartir muchas veces el lunch), Alfonso García, Nohemí, e Isaura. No tienen una idea de cuantos recuerdos tengo con ustedes, todos los atesoro y agradezco.

Gracias Alejandra Zamora, José Antonio, y German Jaquez por el apoyo técnico durante la recolección de muestras y levantamiento de información realizado a los productores de bacanora. Sufrí con cada muestra pero no dolió tanto con tan buena plática.

Un especial agradecimiento a los productores de bacanora por el interés y apoyo mostrado en los estudios que nuestro grupo de trabajo ha realizado en la

búsqueda de mejorar la producción de la bebida y la calidad y seguridad de la misma.

Un especial agradecimiento a mis queridos amigos *Albert* Molina y Alonso López por su amistad y constante presencia.

Muchas gracias por mantener su apoyo, amistad, creación de nuevos recuerdos a mis estimadísimos: Javier Bacame, Bianca Ortega, Silvia Molina, Karla Monge, Flor Tarazón, y Saharaí Trejo

A todos mis compañeros de generación especialmente a Giovanna, Isidro, Oney, Leonardo Fox, Moises, Nitzia Arce, Carmen, Glenda, Darío, Nancy y Ernesto

A mi amiga y compañera de maestría Itzel E. Córdova Alvidrez, muchas gracias por ser tan linda, divertida y ocurrente persona y por todos los momentos compartidos.

A la familia Córdova Villegas y compañía 😊... la unión hace la fuerza!, por todo el apoyo y momentos compartidos. Lindos todos!!! uno por uno no acabaría de agradecerles (y lo saben).

## DEDICATORIA

A Dios por estar presente en mi vida, y haberme permitido concluir con este trabajo.

A mis *tatas*: †Ernesto Córdova y Francisco Rodríguez, por el tiempo compartido. A mis adoradissimas *nanas*: Rosalva Villegas, por compartir conmigo su fe, experiencias y sabias palabras. A Josefina Servín, por tratar siempre de cuidarme y brindarme lo mejor que podía.

A mis padres Rosalva y Francisco, cuyo amor y apoyo incondicional me ha dado fortaleza para seguir en cualquier situación. Los amo, admiro, agradezco y les dedico de corazón este trabajo!

A mis hermanos Cheque-Ticho, Julios, Geli, y Richi por ser mis mejores aliados y compañeros de vida.

A mis hijos: Josué mi platicador preferido y Jasibe, quien me acompaño en mis clases y trabajo de laboratorio. Sólo con ser, me dan tanta felicidad, los amo mis angelitos.

Al amor de mis amores Paco, gracias de aquí al cielo, por decidir estar conmigo y amarme tanto, Dios te bendiga siempre. Este logro también es tuyo mi corazón.

## CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	xii
<b>RESUMEN</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xv
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN</b> .....	3
II.I Bebidas Destiladas de Agave en México.....	3
II.II Bacanora .....	5
II.II.I Elaboración .....	7
II.II.II Tipos de Bacanora .....	8
II.II.III. Perspectivas sobre la Industria del Bacanora.....	8
II.III Fermentación Alcohólica .....	11
II. IV. Destilación Alcohólica.....	12
II.V Producción de Volátiles en Bebidas Alcohólicas Destiladas de Agave ...	14
II.V.I Metanol .....	19
II.V.II Acetaldehído .....	20
II.VI Técnicas Analíticas para el Análisis de Volátiles en Bebidas Alcohólicas .....	22
II.VI.I Cromatografía de Gases (CG) .....	22
II.VI.IV Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (CG-MS) .....	23
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	24
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	25
IV.I General .....	25
IV.II Particulares .....	25
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	26
V.I Recolección y Adquisición de Muestras .....	26
V.II Reactivos .....	26
V.III Determinación de Etanol .....	27
V.III Compuestos Volátiles Mayoritarios .....	27

## CONTENIDO (Continuación...)

V.IV. Parámetros de Calidad de los Análisis .....	28
V.IV.I. Linealidad del Sistema.....	28
V.IV.II. Límite de Detección y Cuantificación.....	30
V.IV.III Análisis Cualitativo y Cuantitativo .....	30
V.V Compuestos Volátiles Minoritarios.....	33
V.VI Diseño Experimental y Análisis Estadístico. ....	34
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>35</b>
VI.I Muestras.....	35
VI.II. Identificación y Cuantificación de Compuestos Volátiles Mayoritarios .....	38
VI.III Análisis de Compuestos Volátiles Mayoritarios.....	49
VI.III. Identificación de Compuestos Volátiles Minoritarios.....	56
VI.III.I Volátiles Minoritarios en Bacanoras Comerciales y Artesanales .....	58
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>VIII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>69</b>
<b>IX. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>71</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mapa de los municipios comprendidos dentro del Área con Denominación de origen Bacanora (ADOB).....	6
2	Rutas fermentativas en levaduras para la producción de etanol y otros compuestos que intervienen en la calidad organoléptica de las bebidas alcohólicas.....	13
3	Rutas metabólicas del etanol y metanol.....	21
4	Curva de calibración del alcohol amílico obtenida de la linealidad del sistema.....	29
5	Cromatograma representativo de la mezcla de estándares....	41
6	Cromatograma representativo obtenido de una muestra de bacanora.....	42
7	Muestras de bacanora y la NOM-168-SCFI-2005.....	46
8	Espectro de masas representativo de una muestra de bacanora.....	60

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Tipos de bacanora.....	9
2	Bebidas alcohólicas destiladas de mostos de agave en México.....	16
3	Especificaciones de la NOM-168-SCFI-2005 de compuestos volátiles en bacanora.....	18
4	Coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de la linealidad del sistema y curvas de calibración para la cuantificación de muestras.....	31
5	Límites de detección y cuantificación de los compuestos volátiles mayoritarios.....	32
6	Muestras comerciales de bacanora.....	36
7	Muestras artesanales de bacanora.....	37
8	Tiempos de retención obtenidos de la mezcla de estándares puros durante la estandarización del método.....	39
9	Contenido de compuestos mayoritarios (Media $\pm$ E.E) de bacanoras artesanales y comerciales.....	43
10	Identificación de compuestos volátiles mayoritarios por GC, en tequila, mezcal, sotol bacanora y su aportación organoléptica.....	50
12	Contenido de compuestos mayoritarios (Media $\pm$ E.E) de acuerdo a las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM-168-SCFI-2004)	52
13	Tiempos de retención obtenidos de los compuestos volátiles identificados por GC-Masas.....	61
14	Compuestos volátiles minoritarios identificados en tequila, mezcal, sotol y bacanoras y su aportación organoléptica.....	62

## RESUMEN

El bacanora es una bebida alcohólica destilada, elaborada a partir de la fermentación de los jugos del *Agave angustifolia* Haw. Actualmente existe el interés por industrializar su sistema de producción, para impulsar el desarrollo del área con denominación de origen Bacanora (ADOB), que abarca 35 municipios del estado de Sonora. Diversos estudios sobre la composición de volátiles indican que estos son importantes en la calidad organoléptica, por ser responsables de la preferencia del consumidor. Estos deben estar presentes por estar relacionados con la zona de procedencia. Además la concentración de algunos de ellos es vigilada por las Normas Mexicanas por sus implicaciones sanitarias. En este trabajo se caracterizó el perfil de compuestos volátiles en 49 muestras de bacanora, 16 comerciales y 33 artesanales. La identificación y cuantificación de compuestos volátiles mayoritarios se llevó a cabo por cromatografía de gases. Para comparar los bacanoras artesanal y comercial, se hizo un análisis estadístico con una prueba de t para dos muestras independientes. Se encontró que un alto porcentaje de las muestras analizadas de bacanoras comercial y artesanal no cumplieron con las especificaciones de la NOM-168-SCFI-2004. Sólo el 41% de las muestras analizadas cumplió con todas las especificaciones. De este porcentaje, el 27% correspondió a bacanoras artesanales y el 14% comercial. El 59% de las muestras analizadas no cumplieron con la normatividad: 16%, con el contenido etílico, 21% en acetaldehído, 2% en esteres, 20% en alcoholes superiores. No se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), en el perfil de volátiles mayoritarios entre los bacanoras artesanales y comerciales. La identificación de los compuestos volátiles minoritarios se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas. Se identificaron 21 compuestos minoritarios: Alcohol 2-feniletanol, ácido acético, ácido, ácido butanóico, 2-hidroxi-propanoico-etil-ester, ácido propanoico etil ester, ácido butanoico etil ester, ácido pentanoico étil ester ácido hexanóico etil ester, ácido octanoico etil ester, ácido decanoico etil ester, etil, ácido dodecanóico etil ester, lactato, furfural y/o 3-furaldehído, 5-

metil-2-furancarboxilaldehído, furanmetanol;  $\alpha$ -terpineol, limoneno, linalool, ciclopentanona y acetoína. El perfil de compuestos volátiles minoritarios identificados fue similar entre las muestras de bacanora artesanal y comercial. Se encontraron compuestos minoritarios comunes en tequila, mezcal y sotol. Además mostró que el consumidor al adquirir el bacanora comercialmente disponible no obtiene un valor agregado más allá del envase ya que no se encontraron diferencias en relación a la composición de volátiles, ni en cumplimiento con la NOM-168-SCFI-2005. Este estudio viene a reforzar la información sobre la composición de volátiles en bebidas étnicas, donde existe un claro rezago comparado con el tequila.

**Palabras clave:** bacanora, compuestos volátiles, cromatografía de gases, espectrofotometría de gases.

## ABSTRACT

Bacanora is a distilled alcoholic beverage its traditional production is performed using wild *Agave angustifolia* Haw. There is currently interest to industrialize its production system, to promote development of the area of origin denomination (AODB) which comprises 35 municipalities of the Sonora state. Volatile compounds are important in the organoleptic quality, for being responsible for consumer preference. These compounds must be present to be related to the area of origin. Also the concentration of some of them is monitored by the official Mexican Standards for their health implications. This work evaluate the mayor and minor volatile compounds in 49 samples of bacanora, 16 commercial and 33 artisanal. Identification and quantification of mayor volatile compounds was performed by gas chromatography. It was found that a high percentage of the analyzed samples of commercial and artisanal bacanoras not meet the specifications of the NOM-168-SCFI-2004. Only 41% of the samples met all specifications. Of this percentage, 27% corresponded to artisanal bacanoras and 14% commercial. 59% of the samples analyzed do not comply with regulations: 16% for alcohol content, 21% for acetaldehyde, 2% for esters, 20% for higher alcohols. No significant differences ( $P \leq 0.05$ ) in the major volatile profile between artisanal and commercial bacanoras were found. The identification of 21 minor volatile compounds was performed in a gas chromatography mass spectrometry: 2-phenylethyl alcohol, acetic acid, butanoic acid, 2-hydroxy ethyl propanoate, ethyl propanoate, ethyl butanoate, ethyl pentanoate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, lactate, furfural, 3-furaldehyde, 5-methyl-2-furancarboxildehyde, furanmethanol,  $\alpha$ -terpineol, limonene, linalool, cyclopentanone and acetoin. The composition of minor volatile compounds was similar between samples of artisanal and commercial bacanora. Common minor compounds in tequila, mezcal and sotol were found. This work also showed that the commercial bacanora not get added value beyond the container since no differences in the

composition of volatile, or in compliance with NOM-168-SCFI-2005 were found. This study reinforces the information on the composition of volatile ethnic drinks, where there is a clear lag compared with tequila.

**Keywords:** bacanora, volatile compounds, gas chromatography, gas chromatography-mass spectrophotometry.

## I. INTRODUCCIÓN

El bacanora es una bebida alcohólica regional del estado de Sonora, México. Se obtiene de la fermentación, destilación y rectificación de mostos cocidos con los azúcares extraídos de la molienda de las cabezas asadas de *Agave angustifolia* Haw. Actualmente la zona de producción de bacanora incluye 35 municipios situados dentro del área con denominación de origen Bacanora, ADOB (DOF, 2004). La producción del bacanora es artesanal destinándose principalmente al autoconsumo y comercialización local en menor medida a la exportación (Núñez, 2003). Sin embargo existe el interés por mejorar la calidad de la bebida, para convertirla en una importante industria que derive en el desarrollo económico del ADOB del estado de Sonora.

Las bebidas destiladas como el bacanora y el tequila tienen características distintivas, las cuales son determinadas por factores como: la microbiota, la materia prima, el proceso de elaboración, las condiciones climáticas y geográficas, entre otros. Estos factores influyen en la formación de compuestos volátiles como: aldehídos, ésteres, alcoholes superiores, responsables de las características organolépticas del producto final. En este sentido parte de la calidad final, dependerá de dichos volátiles que se generarían en cada etapa del proceso, por lo que es de suma importancia la caracterización de los mismos. Para el caso del bacanora se reconocen los mismos factores, al igual que el tequila y el mezcal, como responsables de la calidad organoléptica final. (Álvarez-Ainza *et al.*, 2009; Garde-Cerdán y Ancín-Azpilicueta, 2006; Gutiérrez *et al.*, 2007; Lappe-Oliveras *et al.*, 2008; Fleet, 2008; Pinal, *et al.*, 2008; Verdugo-Valdez *et al.*, 2011).

Un estudio sobre la composición de volátiles en bacanoras blancos artesanales, recolectados en 28 municipios del ADOB, mostró que el 44 % de las muestras evaluadas no cumplieron con las especificaciones de la NOM-168-SCFI-2005. DOF, 2004. Además se encontraron diferencias en los perfiles de volátiles entre regiones, incluso, entre muestras de los municipios dentro de la misma región. Esta variabilidad muestra la falta de estandarización en proceso, lo que dificulta que su producción pueda ser industrializada. Lo cual demuestra la importancia de evaluar y mejorar los procesos de producción del bacanora en sus diferentes etapas (Álvarez, 2013).

Un punto importante para la estandarización de una bebida alcohólica, es el caracterizar los compuestos volátiles minoritarios presentes para poder inferir sobre la calidad organoléptica del destilado, ya que la sola presencia de alguno de estos volátiles, puede ser importante en los atributos sensoriales. En relación a los compuestos volátiles mayoritarios su caracterización es tan importante como su cuantificación ya que algunos de ellos como, aldehídos y metanol, representan un riesgo potencial a la salud. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue la determinación del perfil de volátiles de bacanoras comerciales y artesanales con el fin de incrementar el conocimiento de su composición, por lo que se cuantificaron los volátiles mayoritarios para determinar su cumplimiento con la NOM-SCFI-168-2004 y se identificaron los constituyentes minoritarios para compararlos con los encontrados en la literatura, donde se han descrito como componentes con características organolépticas importantes.

## II. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

### II.I Bebidas Destiladas de Agave en México

El tequila y el mezcal son algunos productos destilados reconocidos de agave en México, que al conseguir el reconocimiento de Denominación de Origen (DO), limitó su elaboración a ciertas especies de agave y a ciertos estados de la república mexicana. Lo que permitió el mejoramiento en su producción a la par del mantenimiento de sus características únicas. El bacanora entra en el mismo grupo, sin embargo no cuenta con el mismo reconocimiento, ya que existe un rezago en la tecnificación del proceso, y obtención de la denominación de origen. Debido a la tardía modificación de la ley de alcoholes (1992) que prohibía y penalizaba su elaboración.

El tequila es obtenido a partir de la destilación de los jugos fermentados del *Agave tequilana* Weber var. Azul, siendo la bebida más representativa de México por su presencia y reconocimiento en todo el mundo. Su Denominación de Origen (DO) comprende 181 municipios de cinco estados de la República Mexicana: Jalisco con sus 125 municipios, Nayarit con 8, Guanajuato con 7, Tamaulipas con 11 y Michoacán con 30. Sólo en estas regiones se puede cosechar y utilizar la materia prima, para la producción de tequila. Actualmente son producidos diferentes tipos de tequila en 158 empresas certificadas, donde 1,293 marcas están vigentes en México y 254 en el extranjero. Lo que convierte al tequila el destilado más rentable en México (Cedeño, 2003; CRT, 2013).

El mezcal es obtenido de los jugos de *Agave potatorum*, *Agave angustifolia* y *Agave esperima*, cuya distribución natural cubre la mayor parte del territorio nacional al contar con una DO en 8 estados: Durango, Guerrero, Oaxaca, San Luis Potosí, Zacatecas, Guanajuato, Tamaulipas y Michoacán. Durante 2013 Estados Unidos, Chile, Australia, Reino Unido y Francia fueron los mayores importadores de mezcal, con un total de 617 mil litros. Respecto a su composición el mezcal esta hecho 100% de agave, a diferencia del tequila que permite hasta 49% de azúcares (excepto la variedad 100 por ciento agave). El proceso de elaboración del mezcal se hace de forma semitecnificada o artesanal (CRM, 2014; El financiero, 2014).

El sotol es elaborado a partir de una agavácea *Dasyilirion*, su DO se conforma por los estados de Chihuahua, Coahuila y Durango. Su elaboración es artesanal, y es producido de forma similar a los mezcales del centro y sur de México. Finalmente el Bacanora se obtiene a partir de los jugos de las piñas fermentada del *Agave angustifolia* Haw que se encuentren dentro del ADOB. Su tecnología de producción no ha sufrido cambios importantes y aún en la actualidad se produce de manera artesanal. El cultivo del agave se desarrolla de forma natural (Gutiérrez *et al*, 2007; NOM-168-SCFI-2004).

Existen diferencias en cada etapa de la producción de bebidas alcohólicas destiladas de Agave, que darán los atributos organolépticos de interés para cada caso. La información reportada sobre diversos aspectos relacionados con la fermentación ha mostrado que tanto la microbiota fermentativa como los metabolitos producidos son siempre influenciados por los factores de elaboración utilizados en el proceso (Cedeño *et al.*, 2003; Lappe-Oliveras *et al.*, 2008; Verdugo-Valdez *et al.*, 2011). Por lo que la microbiota nativa y otras características organolépticas son diferentes entre los destilados obtenidos de los distintos municipios que integran la respectiva DO ya que factores como clima, materia prima y proceso son también distintos.

México cuenta con 14 productos protegidos con la figura de la Denominación de origen, como es el café de Chiapas y de Veracruz, así como, las bebidas alcohólicas tequila, mezcal, sotol y bacanora. Estas bebidas nacionales, cuentan con una fama y calidad reconocida, son fuente de empleo o representan un ingreso extra a la economía de familias mexicanas. En el caso particular del bacanora, resulta importante el buscar desarrollar y aplicar mejores prácticas de elaboración y comercialización, que favorezcan al productor en su economía, a la vez que asegure que el consumidor pueda tener acceso a un producto característico de la región que cumpla con las normas requeridas evitando así posibles daños a la salud.

## II.II Bacanora

El bacanora es una bebida alcohólica regional que se obtiene de la destilación y rectificación de mostos preparados con los azúcares extraídos de la molienda de las cabezas asadas de *Agave angustifolia* Haw. Puede ser claro o amarillento cuando es madurado o cuando es abocado sin maduración previa, mediante la adición de uno o más productos naturales, saborizantes o colorantes (NOM-168-SCFI-2005). Actualmente la zona tradicional de producción de bacanora incluye 35 municipios situados dentro del Área de la Denominación de Origen Bacanora (ADOB), según la resolución publicada el 6 de noviembre del 2000 en el Diario Oficial de la Federación (Álvarez-Aínza *et al.*, 2009; Salazar *et al.*, 2009). En la figura 1 se muestra el ADOB.

El bacanora ha sido elaborado desde hace más de 300 años de forma artesanal. Su tecnología de destilación se mantuvo sin cambios notables, hasta



**Figura 1.** Mapa de los municipios comprendidos dentro del Área con Denominación de Origen Bacanora (ADOB)

**ADOB** Bacanora, Sahuaripa, Arivechi, Soyopa, San Javier, Cumpas, Moctezuma, San Pedro de la Cueva, Tepache, Divisaderos, Granados y Huásabas, Villa Hidalgo, Bacadehuachi, Nácori Chico, Huachinera, Villa Pesqueira, Aconchi, San Felipe de Jesús, Huépac, Banámichi, Rayón, Baviácora, Opodepe, Arizpe, Rosario, Quiriego, Suaqui Grande, Onavas, Yécora, Alamos, San Miguel de Horcasitas, Ures, Mazatán y La Colorada

la década de los noventa cuando el decreto que prohibía la producción y comercialización de bacanora fue suspendido. Entonces se incorporarían modificaciones al proceso de elaboración (Salazar *et al.*, 2009). Por esta razón se tiene poco avance tecnológico en la producción del bacanora; así como la falta de estudios para la estandarización de la bebida. A este respecto, Gutiérrez *et al.* (2007) mencionan que el bacanora no cuenta con un estándar de calidad reconocido y los conocedores aún discuten muchas de sus características fundamentales.

### **II.II.I Elaboración**

El proceso de elaboración del bacanora inicia con la recolección de las cabezas, que se colocan en el horno con piedras calentadas previamente por brasas de leña, mezquite en su mayoría, durante 3 o 4 días. El producto es un agave tatemado jugoso con sabor dulce y ahumado. Posteriormente, las cabezas son desfibradas y colocadas en hoyos de tierra o en contenedores bien cubiertos para dar inicio a un proceso de fermentación natural, sin cultivos iniciadores añadidos. La fermentación del mosto denominado "saite" puede llevar de 5 a 10 días dependiendo de la calidad de agua utilizada, temperatura y humedad ambiental. Después el "saite" es llevado a un contenedor metálico para su destilación. El producto es separado en tres partes; cabeza, vino y colas, y rectificado con las cabezas o colas, esto, dependiendo del sabor y del contenido alcohólico que se desee. Este segundo proceso de destilación es llamado la segunda pasada o segunda destilación y es un proceso de rectificación del bacanora muy importante ya que concentra los alcoholes. Los rendimientos varían, dependiendo del peso del agave recolectado (Gutiérrez *et al.*, 2007; Núñez, 2001).

### **II.II.II Tipos de Bacanora**

El bacanora se clasifica en una sola categoría y se debe denominar como bacanora 100% de agave, siendo obtenido de la destilación y rectificación de mostos de cabezas del *Agave angustifolia* Haw. El bacanora de acuerdo a su tipo, es incoloro o amarillento cuando es reposado o añejado en recipientes de madera de roble o encino, o cuando es abocado sin maduración previa. El abocamiento consiste en adicionar cualquier sustancia al producto final con el fin de cambiar, intensificar o suavizar las características organolépticas de la bebida destilada, estos pueden ser entre otros: extractos de madera, saborizantes o colorantes permitidos en las disposiciones legales (NOM-168-SCTI-2004).

Los atributos sensoriales finales de las bebidas destiladas como el bacanora, podrán verse influenciados de acuerdo al tipo y tiempo de maduración aplicado al producto destilado. En el cuadro 1 se muestran los tipos de bacanora de acuerdo a las características adquiridas en procesos posteriores a la destilación y rectificación, según la norma NOM-168-SCTI-2004.

### **II.II.III Perspectivas sobre la Industria del Bacanora**

Generalmente la producción del bacanora está limitada y destinada al autoconsumo o a la comercialización local. Se puede obtener una bebida de buena a alta calidad, con variaciones en sus características organolépticas, dependiendo del toque particular de cada productor. Se le puede considerar como una operación a pequeña escala, a diferencia de la consolidada industria

**Cuadro 1.** Tipos de bacanora

<b>Tipo de bacanora</b>	<b>Tratamiento</b>
Blanco (silver)	Producto cuya graduación alcohólica debe en su caso, ajustarse con agua de dilución.
Joven u oro (gold)	Es resultado de las mezclas de bacanora blanco con bacanora reposado y/o añejo. Susceptible de ser abocado
Reposado (aged)	Se deja por lo menos dos meses en recipientes de madera de roble o encino. En mezclas de diferentes bacanoras reposados, la edad resultante, es el promedio ponderado de las edades y volúmenes de sus componentes. Susceptible de ser abocado.
Añejo (extra-aged)	Se somete a un proceso de maduración de por lo menos un año en recipientes de madera de roble o encino. En mezclas de diferentes bacanoras reposados, la edad resultante, es el promedio ponderado de las edades y volúmenes de sus componentes. Susceptible de ser abocado.

NOM-168-SCTI-2004

tequilera. Sin embargo es del tequila, donde se han adquirido experiencias importantes para el bacanora, como es la domesticación del agave. Al domesticar el agave se considera la variabilidad genética de la planta para evitar problemas como los presentados en *A. tequilana*, Weber. En este caso al proceder de magueyes monoclonales tienen un riesgo muy alto de ser destruidos por patógenos adaptados a ese genotipo (Núñez, 2003).

Con el progreso de bebidas destiladas como el bacanora, se tiene una oportunidad para la preservación de la biodiversidad a través del aprovechamiento integral del *A. angustifolia*, Haw promoviendo un enfoque de sustentabilidad. Actualmente la materia orgánica sobrante del proceso se convierte en un desecho que no genera un beneficio para el productor. Las hojas cortadas y el bagazo cocido son desechados, ambos contienen fibras lignocelulósica y de acuerdo a lo reportado por investigaciones previas pueden ser aprovechados de múltiples formas, como alimento para ganado, papelera, composta, etc. (Hidalgo, *et al.* 2014; Parra, *et al.* 2010). De la penca se podría extraer inulina, que además de tener fibras alimentarias que regulan el tránsito intestinal, contribuye a la mejor absorción del calcio, estimula las defensas naturales de la flora intestinal, por su efecto prebiótico, entre otras (Gutiérrez, *et al.* 2007)

En el caso de la producción de la bebida bacanora, la exclusión de azúcares extraños a los del agave y el mantenimiento obligatorio del envasado de origen, es decir, que el bacanora debe ser envasado donde se produce, hace preservar las características apegadas a la tradición de varios siglos de producción. Tal filosofía de preservación lleva al bacanora a un creciente sector de consumidores que prefieren sabores y olores particulares, ligados a elementos naturales de su región. Por ello, la reglamentación y operatividad deben seguir la vía trazada originalmente a fin de mantener el medio en que la bebida es elaborada y la calidad que la distingue (Núñez y Salazar, 2010; Carrillo-Trueba, 2007).

### II.III Fermentación Alcohólica

La fermentación alcohólica es el proceso biotecnológico más antiguo realizado por el hombre. Presumiblemente, los pueblos nómadas de hace más de 6,000 o 7,000 años ya elaboraban vino a partir de uvas silvestres. Con el tiempo muchas culturas incorporaron el uso de bebidas fermentadas como parte esencial de sus costumbres. Esto se logró sin tener idea de la existencia de los microorganismos en el papel clave que desempeñaban (Dominé *et al.*, 2005)

La fermentación del mosto es un proceso bioquímico muy complejo, donde intervienen e interaccionan levaduras, mohos y bacterias, siendo las primeras las responsables de la fermentación alcohólica. Durante la primera parte de la fermentación alcohólica se dan una serie de reacciones que conducen a la formación del intermediario gliceraldehido-3-fosfato. En la segunda parte se tienen reacciones de óxido-reducción, donde se produce energía en forma de ATP, así como, el compuesto piruvato y por reacciones bioquímicas posteriores en ausencia de oxígeno, se produce etanol y CO<sub>2</sub>. Además de estos productos intermediarios, se obtienen gran cantidad de compuestos que contribuyen en gran medida al aroma y sabor de la bebida (Gschaedler *et al.*, 2004; Mercedes-Ferreyra, 2006). En la figura 2 se muestran las rutas fermentativas para la obtención de etanol y otros compuestos volátiles.

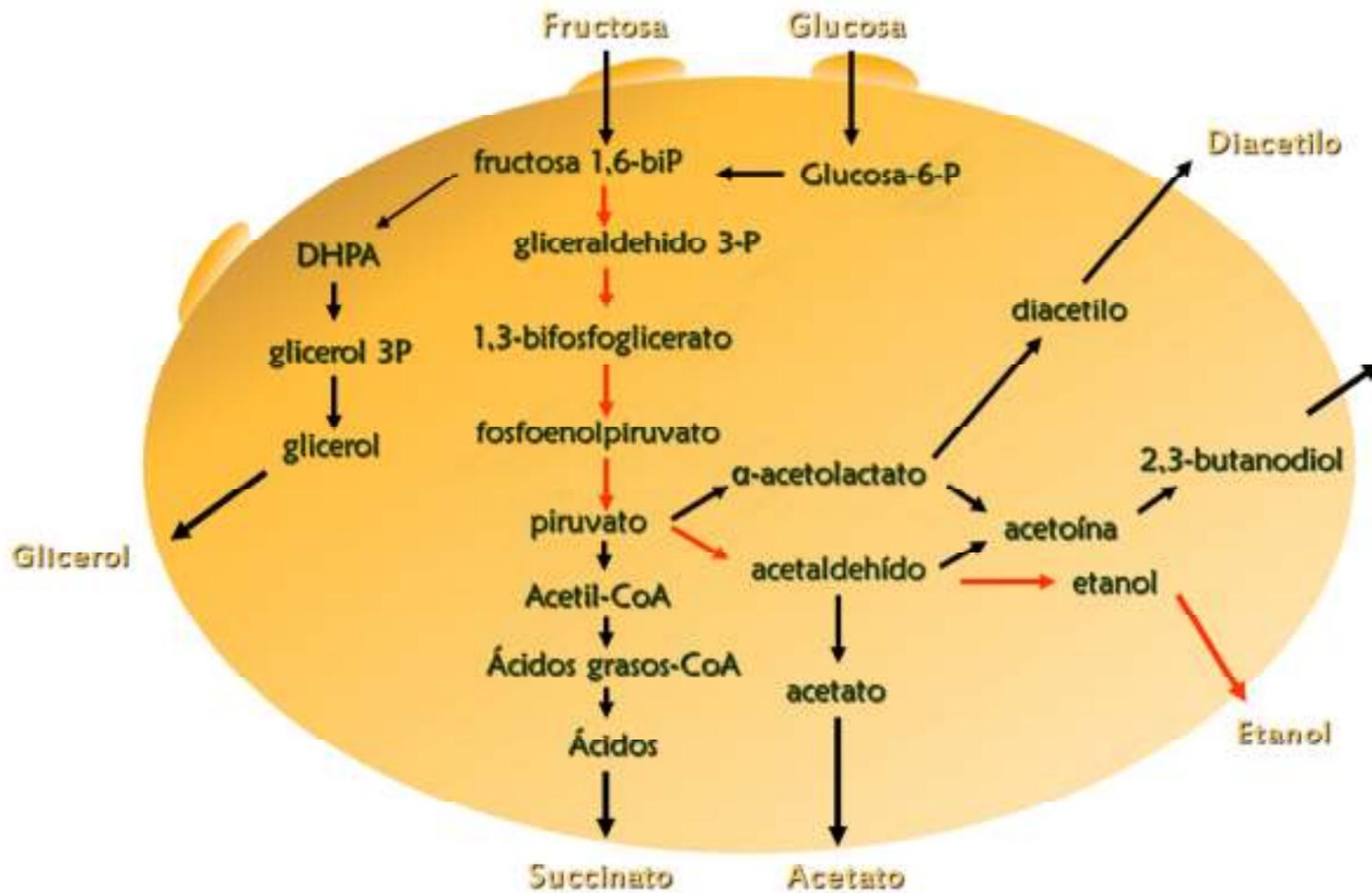
Las bebidas alcohólicas pueden ser obtenidas de distintos sustratos, dependiendo de la región geográfica y la materia prima. La importancia del proceso fermentativo es la obtención de etanol y productos secundarios que

influyen en la calidad del producto final, siendo, las levaduras las principales responsables de conferir esos atributos organolépticos distintivos (Zamora, 2006). Las levaduras pueden ser endógenas (provenientes de la superficie de las materias primas y bodegas) o exógenas (cultivos iniciadores seleccionados). De ahí que en las fermentaciones alcohólicas sean las levaduras presentes, las que al llevar a cabo el proceso fermentativo puedan influir en el producto final (Torija-Martínez *et al.*, 2002).

El metabolismo de las levaduras forma habitualmente alcoholes superiores, aldehídos, ácidos grasos, ésteres, compuestos azufrados, e incluso compuestos fenólicos de cadena sencilla y algunas cepas son capaces de formar terpenos. Esto condicionado por los agentes fisicoquímicos durante la fermentación y sus características genéticas (Suárez, 2002). Al cuidar factores como materia prima, proceso y microbiota involucrada es posible optimizar la obtención de estos compuestos de interés en la bebida alcohólica (Collado, 2001; Aranda *et al.*, 2005).

#### II.IV Destilación Alcohólica

La destilación alcohólica es fundamental en la elaboración de algunas bebidas espirituosas, una vez realizada la fermentación. Esta consiste en la separación de los constituyentes de una mezcla líquida por vaporización parcial de la misma y recuperación de los vapores y residuos; es decir la separación de una mezcla de sustancias en donde se fraccionan las volátiles de un residuo no volátil. La destilación alcohólica está basada en que el alcohol etílico siendo más ligero que el agua, vaporiza a una temperatura menor que el punto de ebullición del agua, los vapores que suben pueden ser condensados y convertidos a forma líquida con un alto contenido alcohólico (CRT, 2005).



**Figura 2.** Rutas fermentativas en levaduras para la producción de etanol y otros compuestos que intervienen en la calidad organoléptica de las bebidas alcohólicas  
 DHPA = dihidroxiacetona fosfato.

La historia de la destilación de bebidas espirituosas se remonta a la antigüedad, encontrado datos de la técnica de producir bebidas fermentadas y destiladas en Mesopotamia (4200 a.C.), en China (3000 a.C.), Egipto (2000 a.C.) y en Grecia (1000 a.C.). En un principio estas culturas produjeron un líquido, que los árabes después llamaron alcohol. Durante la invasión de los árabes en Europa (siglo VI) se cree se introdujo la técnica de destilación, reportándose los primeros vinos destilados en España y Francia (Prado-Ramírez, 2004).

Con la llegada de los españoles a México se introduce la destilación, el aprendizaje de esta técnica derivaría en el surgimiento de las bebidas de alto grado alcohólico obtenidas de agaves. En México la destilación de los productos de fermentación de distintas especies de agave ha generado la producción de bebidas alcohólicas, algunas de ellas con una fuerte identidad propia, como son el sotol, bacanora, tequila y el mezcal. Esto a su vez ha dado origen a actividades económicas que son fuente de empleo para muchas familias del medio rural y constituyen en muchos casos, su forma de vida (Bautista-Justo *et al.*, 2001).

#### II.V Producción de Volátiles en Bebidas Alcohólicas Destiladas de Agave

En la utilización del agave destaca, particularmente la obtención de bebidas fermentadas. La calidad de estas bebidas dependerá de los componentes volátiles que se generen en cada etapa del proceso de elaboración y por lo tanto, es de suma importancia la caracterización química de ellos. Algunos de estos compuestos volátiles deben estar presentes invariablemente o encontrarse en cierto rango de abundancia en el material utilizado, para ser relacionado con la zona de procedencia (López y Guevara, 2001).

Debido a lo anterior, los atributos sensoriales de las bebidas destiladas, como el bacanora, podrán presentar uno o más perfiles primarios; herbales, florales, frutales, perfumados, neutros y a especias. Características organolépticas se deben a una gran cantidad de circunstancias, que van desde la materia prima, las condiciones de cada paso de la elaboración, los equipos y todos los procesos posteriores a la fermentación y destilación, como son las filtraciones, el abocamiento, la maduración y las mezclas para obtener el producto final (Martínez. 2012).

Entre las principales familias de compuestos volátiles se encuentran: aldehídos, ésteres, alcoholes, ácidos orgánicos, acetales, fenoles, furanos, terpenos, entre otros. El etanol es el compuesto más abundante dentro de los alcoholes, en menores concentraciones las levaduras sintetizan alcoholes superiores como 1-propanol, isobutanol, alílico, 1-butanol, isoamílico, amílico, entre otros. Aunque la presencia de algunos de estos ha sido determinada desde el cocimiento, su concentración se favorece durante las primeras horas de la fermentación. En esta etapa pueden producirse a partir de aminoácidos por la ruta biosintética de las levaduras o mediante descarboxilación de los aminoácidos presentes en la misma fermentación (Mancilla y López, 2002; Pina, *et al.*, 2009).

En la fermentación de *A. salmiana*, para el mezcal, de León-Rodríguez *et al.* (2006) analizaron distintos tipos de mezcal joven, reposado y añejo, encontrando diferente composición de compuestos volátiles como alcoholes superiores, ésteres y terpenos. Se han realizado otros trabajos en agave para la determinación de metabolitos formados durante el proceso de fermentación en bebidas destiladas en México (Cuadro 2). Estos trabajos indican que la

**Cuadro 2.** Bebidas alcohólicas destiladas de mostos de agave en México

Bebida	Estado productor	Microbiota Funcional	Composición de volátiles	Referencias
Mezcal ( <i>A. tequilana</i> weber var. Azul)	Jalisco, regiones de: Nayarit, Michoacán, Tamaulipas Guanajuato	<i>Candida</i> spp., <i>C. magnolia</i> , <i>Hanseniaspora guilliermondii</i> , <i>H. uvarum</i> , <i>H. vineae</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>P. membranifaciens</i> , <i>T. delbrueckii</i> y <i>S. cerevisiae</i>	Etanol, ácidos orgánicos, aceites combustibles, ésteres, terpenos, furanos, cetonas, compuestos nitrogenados	Lachance, 1995 Cedeño, 2003, López, 2001, Mancilla-Margali y López, 2012
Tequila ( <i>A. salmiana</i> )	San Luis Potosí	<i>C. lusitaniae</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>P. fermentans</i> y <i>S. cerevisiae</i>	Etanol, ácidos orgánicos, aceites combustibles, ésteres	de León-Rodríguez y cols., 2006
Mezcal ( <i>A. fourcroydes</i> )	Yucatán	<i>C. parapsilosis</i> , <i>Clavispora</i> <i>lusitaniae</i> , <i>Debaromyces hansenii</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Pichia</i> <i>caribbica</i> , <i>P. guilliermondii</i> , <i>T.</i> <i>delbrueckii</i> y <i>S. cerevisiae</i>	Etanol	Lappe y cols., 2004
Bacanora ( <i>A. angustifolia</i> Haw)	Sonora	<i>Torulaspora delbrueckii</i> <i>Brettanomyces</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Kluyveromyces</i> spp., <i>Metchnikowia</i> spp., <i>Debaromyces</i> spp., <i>Pichia</i> spp., y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Etanol, aminoácidos, ésteres, aldehídos, cetonas, terpenos, metanol.	Álvarez, 2006 y 2011 Vallejo-Córdoba y cols., 2005

interacción entre la materia prima, el proceso de elaboración y la microbiota involucrada, son los responsables de las propiedades organolépticas de las bebidas alcohólicas, provenientes de la fermentación (Lappe-Oliveras *et al.*, 2008). En el caso particular del bacanora los estudios relacionados con la destilación y rectificación son escasos o nulos. Por lo que es importante estudiar estas etapas debido a que en ellas se originan compuestos que repercuten sobre la composición del destilado final, así como en sus características organolépticas.

Actualmente se cuenta con una norma mexicana NMX-V-005-NORMEX-2013 y la NOM-168-SCFI-2005. La primera surge como opción para la evaluación de la composición de volátiles mayoritarios de destilados elaborados a partir de agave. Mientras que la segunda se refiere a las especificaciones de elaboración, envasado y etiquetado. El cuadro 3, extraído de la NOM-168-SCFI-2005, para el bacanora, se especifican los límites en la concentraciones de algunos compuestos volátiles potencialmente dañinos a la salud.

En un trabajo previo, Álvarez (2011), determinó los compuestos volátiles en 77 bacanoras artesanales, obtenidos de 28 municipios del ADOB. Se encontró que 44 % de las muestras evaluadas no cumplían con las especificaciones de la norma oficial mexicana. Tres de ellas en contenido de etanol, 6 en aldehídos (como acetaldehído), 1 en ésteres (concentraciones de acetato de etilo y butirato de etilo), 11 muestras en metanol, y 17 en alcoholes superiores (la suma de 2-butanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-propen-1-ol, 1-butanol y 2-3-metil-1-butanol). En cada caso se excedió el límite permisible señalado en la Norma 168 para el Bacanora.

El estudio de Álvarez (2011), sobre la formación de compuestos volátiles en la producción artesanal mostró la gran variabilidad existente, al obtener diferencias en la composición de volátiles mayoritarios entre las distintas regiones, incluso, entre las muestras procedentes de los municipios de la

**Cuadro 3.** Especificaciones de la NOM-168-SCFI-2005 de compuestos volátiles en bacanora.

<b>PARAMETROS</b>	<b>Especificaciones Mínimas</b>	<b>Especificaciones Máximas</b>
Contenido Alcohólico a 293 K (20°C) (% Alc. Vol.)	38	55
Metanol (mg/100 ml de alcohol anhidro)	30	300
Alcoholes superiores (mg/100 ml de alcohol anhidro)	100	400
Aldehídos (mg/100 ml de <u>alcohol</u> anhidro)	---	40
Furfural (mg/100 ml de alcohol anhidro)	---	4
Ésteres (acetato de etilo)	2	200 (250 si es reposado o añejo)

misma región. Esto pone de manifiesto la falta de homogeneidad en la elaboración del producto, con lo que se demuestra la importancia de evaluar y mejorar los procesos de elaboración del bacanora en las diferentes etapas del proceso, siendo la fermentación, y la destilación de los más importantes (Álvarez, *et al.*, 2013).

## II.V Producción de Compuestos Volátiles y sus Repercusiones en la Salud

La calidad de una bebida alcohólica no solamente se basa en la aceptación por parte del consumidor en función de las características sensoriales que percibe; las cuales, están asociadas en gran medida a la composición de los productos volátiles (Vallejo, *et al.* 2005). También es importante considerar la inocuidad del producto, en lo que a composición de volátiles se refiere, se debe tener presente que las bebidas alcohólicas destiladas, contienen etanol como principal componente responsable de las repercusiones orgánicas. Sin embargo, también tiene otros compuestos volátiles que en episodios de consumo elevado o adulteraciones en la bebida son un riesgo a la salud del consumidor, tal es el caso de alcoholes de bajo peso molecular (metanol y butanol), de aldehídos, y esterres (Izquierdo, 2002).

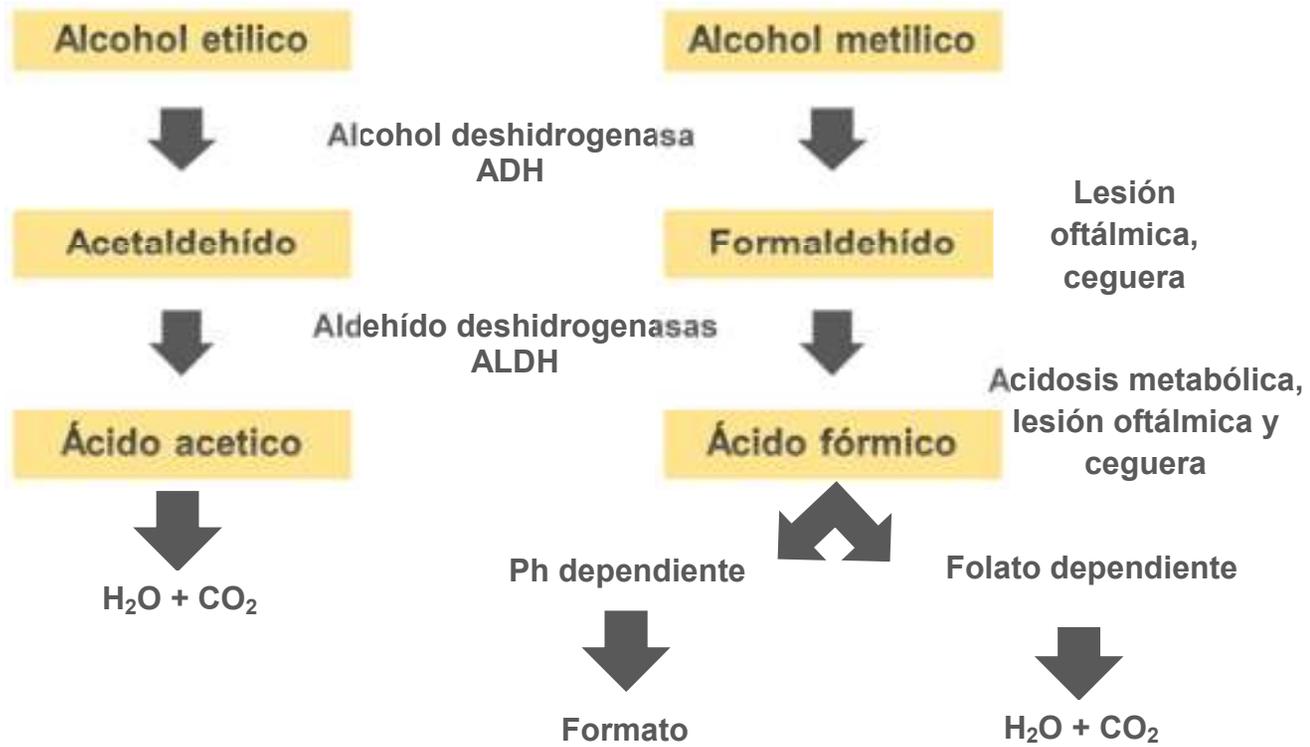
### II.V.I Metanol

El metanol es un líquido incoloro y volátil a temperatura ambiente y después del etanol es el principal alcohol cuyas repercusiones son de gravedad muy conocidas y frecuentes. Tiene usos en la industria, laboratorios y en el propio hogar como componente de productos comerciales. Además existe su uso

fraudulento como sustituto de etanol en bebidas alcohólicas fabricadas ilegalmente. En la intoxicación leve o moderada se produce cefalea, mareo, letargia, ataxia o un estado de embriaguez similar al de la intoxicación etílica. En casos graves, además de la ceguera, pueden presentarse convulsiones, coma y edema cerebral. Los efectos tóxicos de la sobredosis se deben a la formación de formaldehído y ácido fórmico, siendo el ácido fórmico el principal responsable de la toxicidad ocular, y de la acidosis metabólica (Roldan *et al.*, 2003). En la figura 3 se muestran las rutas metabólicas del etanol y metanol.

## **II.V.II Acetaldehído**

Las bebidas alcohólicas son una fuente significativa de exposición al acetaldehído, este se forma durante la fermentación alcohólica por medio de la descarboxilación del piruvato, que constituye el eslabón final de la glucólisis, por la actividad de la enzima piruvato deshidrogenasa. La oxidación de alcoholes o la descarboxilación de otros cetoácidos también pueden conducir a la formación de aldehídos, por la acción de la enzima alcohol deshidrogenasa. El acetaldehído es un carcinógeno que se encuentra además del alcohol, en el tabaco y en muchos tipos de alimentos, de manera natural o como aditivo, debido a su olor agradable similar a la manzana. Evidencia epidemiológica limitada lo señala como un factor de riesgo independiente del etanol para el desarrollo de cáncer, debido a la exposición conjunta por su uso como aditivo alimentario y el consumo de tabaco (Lachenmier, *et al.*, 2009). Es tóxico para los hepatocitos por varias vías: al inhibir la reparación de nucleoproteínas alquiladas, reducir la utilización de oxígeno por las mitocondrias, aumentar la muerte celular por disminución de los niveles de glutatión y aumentar la peroxidación de lípidos y los efectos tóxicos de los radicales libres de oxígeno (Gómez, *et al.*, 2002).



**Figura 3.** Rutas metabólicas del etanol y metanol

## II.VI Técnicas Analíticas para el Análisis de Volátiles en Bebidas Alcohólicas

En la elaboración de bebidas alcohólicas, las adulteraciones, la falta de homogeneidad en la materia prima y en las prácticas de elaboración, hacen necesario métodos analíticos fiables que sean sencillos y rápidos. Estos deben permitir detectar variaciones en la fracción volátil, ayudando a determinar la calidad organoléptica de una bebida y la seguridad de su consumo. En el contexto anterior, están las técnicas por cromatografía de gases (CG) y cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (CG-MS), que permiten identificar y cuantificar las sustancias volátiles presentes en los destilados provenientes de agave u otro tipo de materias primas (Biernacka y Wardencki, 2013; De León Rodríguez, *et al.*, 2008; Ziółkowska y Jeleń, 2012).

### II.VI.I Cromatografía de Gases (CG)

La cromatografía de gases es una técnica analítica utilizada para separar componentes por sus diferencias de partición entre la fase móvil gaseosa y la fase estacionaria en la columna a una determinada temperatura. La fase móvil no interactúa con las moléculas del analito, su única función es la de transportar el analito a través de la columna. En el cromatógrafo de gases el inyector vaporiza la muestra, que es transportada a la columna recubierta en el interior por una película de un líquido de alto punto de ebullición (fase estacionaria). Posteriormente la muestra pasa a través de un detector generando una señal eléctrica para cada componente de la muestra, cada señal se transmite a un sistema de registro e integración, obteniéndose un cromatograma (Jiménez, 2009).

Entre los detectores más frecuentemente utilizados se encuentra el Detector de ionización de flama o FID. Éste consiste en una flama hidrógeno/aire y una placa colectora, donde las muestras que salen de la columna pasan a través de la flama que rompe las moléculas orgánicas y produce iones que producen una señal eléctrica, que puede ser medida. La respuesta está basada en el número de carbonos y otros elementos tales como halógenos y el oxígeno presentes que reducen la combustión. Este es un método destructivo de la muestra, con selectividad para compuestos orgánicos. (Olguín *et al.*, 2004)

#### **II.VI.IV Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (CG-MS)**

La CG-MS combina la capacidad de separación de la cromatografía de gases, con la sensibilidad del detector de masas. Esto permite analizar y cuantificar compuestos trazas en mezclas complejas de sustancias volátiles y semivolátiles, lo que permite elucidar la estructura química de las moléculas. La separación depende de la diferente distribución de las sustancias estudiadas entre las fases móvil y estacionaria, que conforman el sistema. Una vez separadas las sustancias son fragmentadas y analizadas en función de su patrón de fragmentación, el cual es comparado con información contenida en una base de datos de espectros de masas para su identificación preliminar. La identificación definitiva y la cuantificación de cada sustancia debe hacerse mediante el empleo de sustancias de referencia (Gutiérrez y Droguet, 2002)

### **III. HIPÓTESIS**

Debido a las prácticas de elaboración artesanales prevalentes, condiciones de almacenamiento y formas de envasado en la producción de bacanora el perfil de compuestos volátiles del bacanoras comerciales es mejor comparado a los producidos artesanalmente.

## **IV. OBJETIVOS**

### IV.I General

Comparar y analizar el perfil de volátiles en muestras de bacanoras comercial y artesanal.

### IV.II Particulares

- Cuantificar los volátiles mayoritarios especificados por la NOM-168-SCFI, en varios tipos de bacanoras comercial y artesanal por CG-FID y confirmar por CG-MS
- Identificar los volátiles minoritarios en varios tipos de bacanoras comercial y artesanal por CG-MS
- Comparar los perfiles de compuestos volátiles en bacanoras artesanal y comercial

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### V.I Recolección y Adquisición de Muestras

Se llevó a cabo la recolección y adquisición de muestras artesanales y comerciales elaboradas a partir de *Agave angustifolia* Haw en distintos municipios dentro del ADOB. Sin embargo, las muestras comerciales fueron adquiridas en el municipio de Hermosillo en diferentes establecimientos autorizados para la venta de bebidas alcohólicas en Hermosillo y en algunos casos las muestras fueron donadas.

### V.II Reactivos

Para la identificación y cuantificación de los alcoholes volátiles mayoritarios se utilizaron volátiles comerciales como estándares de la marca Merck®, JT. Baker® y Sigma-Aldrich®. Los compuestos determinados fueron: acetaldehído 99%, acetal 99%, acetato de etilo 99.5%, metanol 99.95%, sec-butanol 99%, butirato de etilo 99%, n-propanol 99.5%, isobutanol 99%, alcohol alílico 99%, n-butanol 99.5%, isoamílico 98.5%, amílico 98.5%.

### V.III Determinación de Etanol

La determinación de etanol de las muestras se realizó con un alcoholímetro Gay Lussac TDM Robsan 0-100. En los casos donde el volumen de la muestra no permitió la utilización del alcoholímetro la medición se realizó por refractometría, al sustituir el valor en la siguiente ecuación, para estimar el grado alcohólico. En estos casos se utilizó el refractómetro HANNA instruments® HI 96816. Todas las mediciones se realizaron en un rango de temperatura de 19-21° C, por lo que, en los casos donde no fue posible efectuar la medición a 20° C, se procedió al uso de tablas de corrección.

Ecuación para estimar el grado alcohólico a partir de los grados brix:

$$(\text{Grados brix})(2.81) = \% \text{ Alc. Vol.}$$

### V.III Compuestos Volátiles Mayoritarios

La determinación cuantitativa de los compuestos volátiles mayoritarios se realizó en un cromatógrafo de gases (CG) Agilent 7890A con un detector de ionización de flama (FID) y un inyector automático G4513A. La separación de los alcoholes se realizó con una columna capilar (US5247141H DB-WAX J. W. Scientific) de 60 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de grosor de película. El programa de calentamiento en la columna para la separación de los alcoholes fue el siguiente: temperatura inicial de columna de 34° C permaneciendo a esta temperatura durante 12.5 minutos. Después se inició un calentamiento gradual de 4° C/min hasta una temperatura de 105° C, un segundo calentamiento gradual de 15° C/min hasta una temperatura final de 150° C permaneciendo a esta temperatura durante un minuto. La temperatura

del puerto de inyección fue de 200° C. El gas acarreador fue nitrógeno, con flujo en columna de 1 mL/min y flujo auxiliar de 25 mL/min.

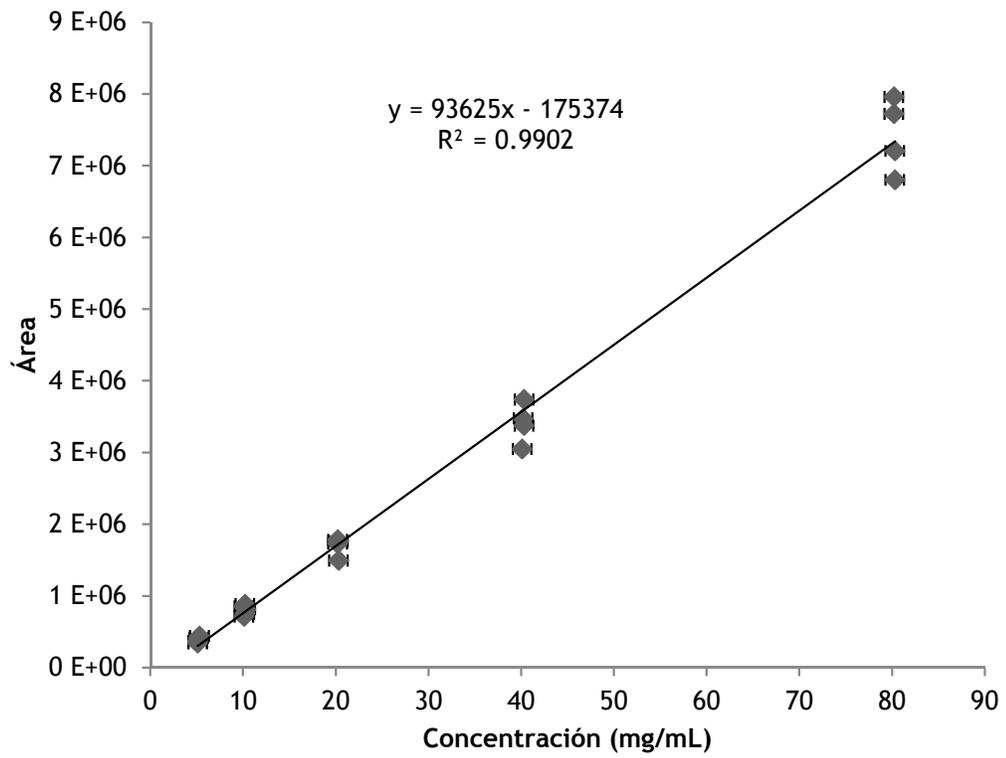
#### V.IV. Parámetros de Calidad de los Análisis

La estandarización se realizó con el fin de asegurar la confiabilidad de los datos generados, evaluando los parámetros de Linealidad del sistema (LS), además se determinaron los límites de detección (LD) y cuantificación (LC)

##### V.IV.I Linealidad del Sistema

La linealidad del sistema (LS) corresponde a la respuesta del cromatógrafo de gases (GC) al analizar los estándares a diferentes concentraciones, ésta se realizó consecutivamente por tres días. La LS se determinó por la inyección de 1 µL al CG de los alcoholes que componen la curva de calibración para la medición de la linealidad. Las concentraciones fueron: 12.5, 25, 50, 100 y 200%, donde el 100% corresponde a una concentración de 40 mg/100mL, las inyecciones de cada nivel fueron por triplicado. Para ello se graficó la concentración y las áreas, donde la concentración es directamente proporcional al área, y a medida que aumenta la concentración, incrementa la respuesta. En la figura 4 se muestra la curva de calibración para el alcohol amílico con una  $R^2$  0.9902, obtenida de la regresión lineal.

La linealidad del sistema para los compuestos volátiles evaluados obtuvo valores de  $R^2$ , por arriba del 0.9900. Las  $R^2$  obtenidas para las curvas de



**Figura 4.** Curva de calibración del Alcohol amílico obtenida de la linealidad del sistema

calibración obtuvieron valores por arriba del 0.96, siendo el acetaldehído el valor más bajo (0.9664) y el acetal con el más alto (0.9977). El cuadro 4 muestra los coeficientes de determinación de la LS y curvas de calibración para cada compuesto volátil analizado.

#### **V.IV.II Límite de Detección y Cuantificación**

El límite de detección (LD) es la concentración (3 veces mayor) dada por la señal de un instrumento significativamente diferente a la señal de un blanco o del ruido de la base. Mientras que el Límite de Cuantificación (LC) es la menor cantidad del analito, que se puede determinar cuantitativamente con un cierto límite de confianza.

La concentración mínima detectada está dada por la señal de un instrumento, diferente a la señal de un blanco (10 veces mayor) (Ribani *et al.*, 2007). Para determinar los LD y los LC del sistema se realizaron diluciones de a partir de la mezcla de alcoholes al 12.5%. Las diferentes concentraciones fueron inyectadas en el cromatógrafo de gases (CG) para obtener la concentración mínima del detector y la concentración mínima de cuantificación, los límites de detección y cuantificación se muestran en el cuadro 5.

#### **V.IV.III Análisis Cualitativo y Cuantitativo**

Para el análisis cualitativo de los compuestos volátiles mayoritarios se compararon los tiempos de retención (TR) en el que eluyeron cada uno de los estándares, y los picos de los cromatogramas que presentaron las muestras de

**Cuadro 4.** Coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de la linealidad del sistema y curvas de calibración para la cuantificación de las muestras.

<b>Compuesto volátil</b>	<b>Linealidad del sistema <math>R^2</math></b>	<b>Curva de calibración (<math>R^2</math>)</b>
Acetaldehído	0.9950	0.9664
Acetato de etilo	0.9956	0.9793
Metanol	0.9940	0.9841
Acetal	0.9905	0.9977
Butirato de etilo	0.9910	0.9305
Sec-butanol	0.9914	0.9862
n-propanol	0.9960	0.9778
Isobutanol	0.9963	0.9803
Alílico	0.9930	0.9941
n-butanol	0.9936	0.9888
Isoamílico	0.9964	0.9806
Amílico	0.9978	0.9902

**Cuadro 5.** Límites de detección y cuantificación de los compuestos volátiles mayoritarios.

<b>Compuesto volátil</b>	<b>Límite de cuantificación (mg/100mL)</b>	<b>Límite de detección (mg/100mL)</b>
Acetaldehído	4.88E-15	6.25E-27
Acetato de etilo	1.95E-09	1.95E-12
Metanol	1.95E-08	1.95E-12
Acetal	1.95E-09	1.95E-12
Butirato de etilo	1.95E-08	1.95E-12
Sec-butanol	6.25E-25	6.25E-27
n-propanol	1.56E-20	1.56E-23
Isobutanol	0.01	5.00E-03
Alílico	0.01	5.00E-03
n-butanol	0.01	5.00E-03
Isoamílico	0.01	5.00E-03
Amílico	0.01	5.00E-03

bacanora. Para la cuantificación, se realizaron curvas de calibración a partir de los estándares donde se comparó el área de cada alcohol detectado en las muestras de bacanora con el área de cada estándar de concentración de trabajo al 100% de los alcoholes. Para calcular la concentración [C] de los compuestos volátiles se utilizó la siguiente ecuación:

$$[C] \text{ Alcohol} = (\text{área M}) * ([C] \text{ St}) / (\text{área St})$$

*Donde, [C] Alcohol: es la concentración del alcohol, área M: es el área de la muestra, [C] St: es la concentración de la solución de trabajo al 100% del compuesto, área St: es el área de la [C] St.*

#### V.V Compuestos Volátiles Minoritarios

Las muestras fueron inyectadas directamente en un cromatógrafo de gases Agilent 5975C con una columna capilar (US5247141H DB-WAX J. W. Scientific) de 60 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de grosor de película y un detector de ionización de flama. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: temperatura inicial de columna de 34° C permaneciendo a esta temperatura durante 12.5 minutos. Después se inició un calentamiento gradual de 4° C/min hasta una temperatura de 105° C, un segundo calentamiento gradual de 15° C/min hasta una temperatura final de 150° C permaneciendo a esta temperatura durante un minuto. La temperatura del puerto de inyección fue de 200° C. Se utilizó helio como gas acarreador, con flujo en columna de 1mL/min

La confirmación de los alcoholes mayoritarios y la identificación de los metabolitos volátiles minoritarios se realizaron mediante un detector de masas

cuadripolo de triple eje HED-EM (Agilent), operado mediante una energía de ionización de 70eV y un rango de masa de 35-400  $m/z$ . Las temperaturas de la línea de transferencia y de la trampa de iones fueron 250 y 180° C, respectivamente. Se compararon los espectros obtenidos de las muestras contra los reportados en la biblioteca NIST Agilent ChemStation 2011 del detector de masas.

#### V.VI Diseño Experimental y Análisis Estadístico.

Los datos obtenidos durante el análisis cromatográfico de los compuestos volátiles mayoritarios, fueron analizados empleando estadística descriptiva, considerando la media aritmética y el error estándar. Se realizó una comparación de las muestras de bacanoras comercial y artesanal, mediante estadística inferencial con una prueba de t de student, para muestras independientes. Los datos fueron procesados utilizando el paquete estadístico NCSS<sup>7</sup> 2007 (Kaysville, Utah, USA), las significancias se estimaron a un nivel por debajo de 0.05 en el error.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VI.I Muestras

Se obtuvo un total de 49 muestras de bacanora, de los cuales 16 fueron muestras comerciales y 33 artesanales. En los cuadros 6 y 7 se detalla la procedencia, tipo de bacanora, y número de muestras de bacanoras comerciales y artesanales respectivamente. Los bacanoras comerciales fueron adquiridos en el municipio de Hermosillo, en varios establecimientos autorizados para la venta de bebidas alcohólicas, y procedían de 6 municipios diferentes dentro del ADOB, sólo en 2 muestras no fue posible el determinar el municipio, debido a que la etiqueta no contaba con la información.

Los bacanoras artesanales fueron recolectados de 14 municipios del ADOB, y en este caso no se determinó el origen de 4 muestras. Como se mencionó anteriormente algunas muestras fueron donadas, por lo que no fue posible establecer el origen, debido a que la persona no recordaba en qué municipio había sido elaborada la bebida. Cabe mencionar que se muestrearon varios tipos de bacanoras, aunque no se consideraron en el comparativo estadístico, por no contar con un número representativo de muestra, por lo que la información solo se usó con el propósito de conocer los compuestos minoritarios presentes.

**Cuadro 6.** Muestras comerciales de bacanora

<b>Municipio</b>	<b>Tipo de bacanora</b>	<b>Total de muestras</b>
Baviácora	blanco	1
Ures	añejo	1
Bacanora	blanco	1
	reposado	1
La Colorada	blanco	1
San Pedro de la Cueva	blanco	1
Villa Pesqueira	blanco	1
	abocado	6
	blanco	1
Procedencia no especificada	reposado	1
	añejo	1
	<b>Total de muestras</b>	<b>16</b>

**Cuadro 7.** Muestras artesanales de bacanora

<b>Municipio</b>	<b>Tipo de bacanora</b>	<b>Muestras</b>
Baviácora	blanco	1
	abocado	1
Cumpas	blanco	1
Divisaderos	blanco	3
	abocado	1
Huásabas	blanco	1
Bacanora	blanco	1
La Colorada	blanco	1
Nácori Chico	blanco	1
Quiriego	blanco	2
Sahuaripa	blanco	1
Suaqui Grande	blanco	5
	reposado	1
Soyopa	reposado	1
Tepache	blanco	2
Villa Pesqueira	blanco	5
Yécora	blanco	2
Procedencia no especificada	blanco	2
Procedencia no especificada	reposado	1
	<b>Total de muestras</b>	<b>33</b>

Durante la recolección de los bacanoras artesanales se observaron las prácticas particulares de algunos productores, en cuanto a la forma de envasado y almacenamiento. En algunos casos se observó que las condiciones de almacenamiento no eran las adecuadas, ya que el productor no utilizaba un envase adecuado y/o no resguardaba adecuadamente de la temperatura los envases. Hay que considerar que en nuestra región las temperaturas son extremas, sobre todo en época de verano. Además se debe considerar que el bacanora había sido elaborado en el ciclo anterior, por lo que contaba con un par de meses almacenado en condiciones no adecuadas. Algunos productores tenían las botellas en los anaqueles de su cocina sin protección alguna del calor o la luz. La forma de almacenamiento de una bebida es importante ya que puede favorecer la pérdida de compuestos volátiles de interés para los atributos sensoriales de la bebida. Por lo que se debe implementar prácticas que protejan al producto destilado de la pérdida de su calidad, y ayuden en el mantenimiento de su composición volátil.

## VI.II. Identificación y Cuantificación de Compuestos Volátiles Mayoritarios

Para la identificación de los compuestos volátiles mayoritarios se compararon los tiempos de retención (TR) en el que eluyeron cada uno de los estándares, y los picos de los cromatogramas que presentaron las muestras de bacanora. Durante el análisis cromatográfico se logró buena separación y resolución, con un tiempo de corrida de 34.4 minutos. El primero compuesto volátil en eluir fue el acetaldehído a los 6.11 min y el último fue el alcohol amílico a los 30.67 min. Los tiempos de retención (TR) individuales de los compuestos volátiles analizados, se muestran en el cuadro 8. El orden de salida de los compuestos volátiles analizados coinciden con trabajos publicados sobre mezcal, tequila y bacanora (Arellano, *et al.*, 2012; de León Rodríguez, *et al.*, 2008; Prado-Rámirez, *et al.*, 2004; Vallejo-Córdoba, *et al.*, 2007).

**Cuadro 8.** Tiempos de retención obtenidos de las muestras de bacanora

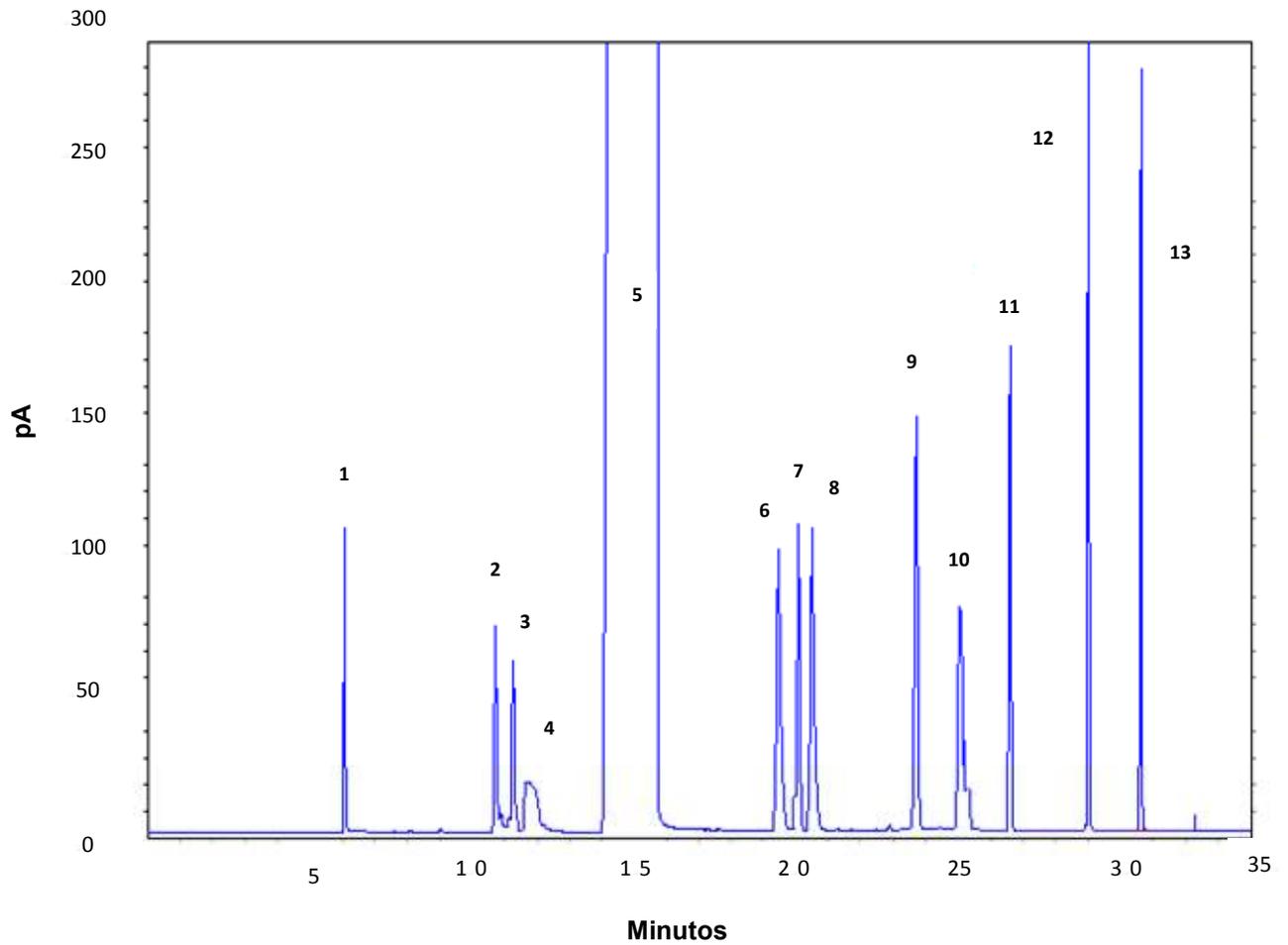
<b>Numero de pico</b>	<b>TR (min)</b>	<b>Metabolitos volátiles</b>
1	6.11	Acetaldehído
2	10.82	Acetato de etilo
3	11.84	Metanol
4	10.94	Acetal
5	14.92	Etanol
6	19.77	Butirato de etilo
7	19.94	Sec-butanol
8	20.54	n-propanol
9	23.84	Isobutanol
10	25.15	Alílico
11	26.66	n-butanol
12	29.07	Isoamílico
13	30.67	Amílico

TR = Tiempos de retención en minutos de la muestra

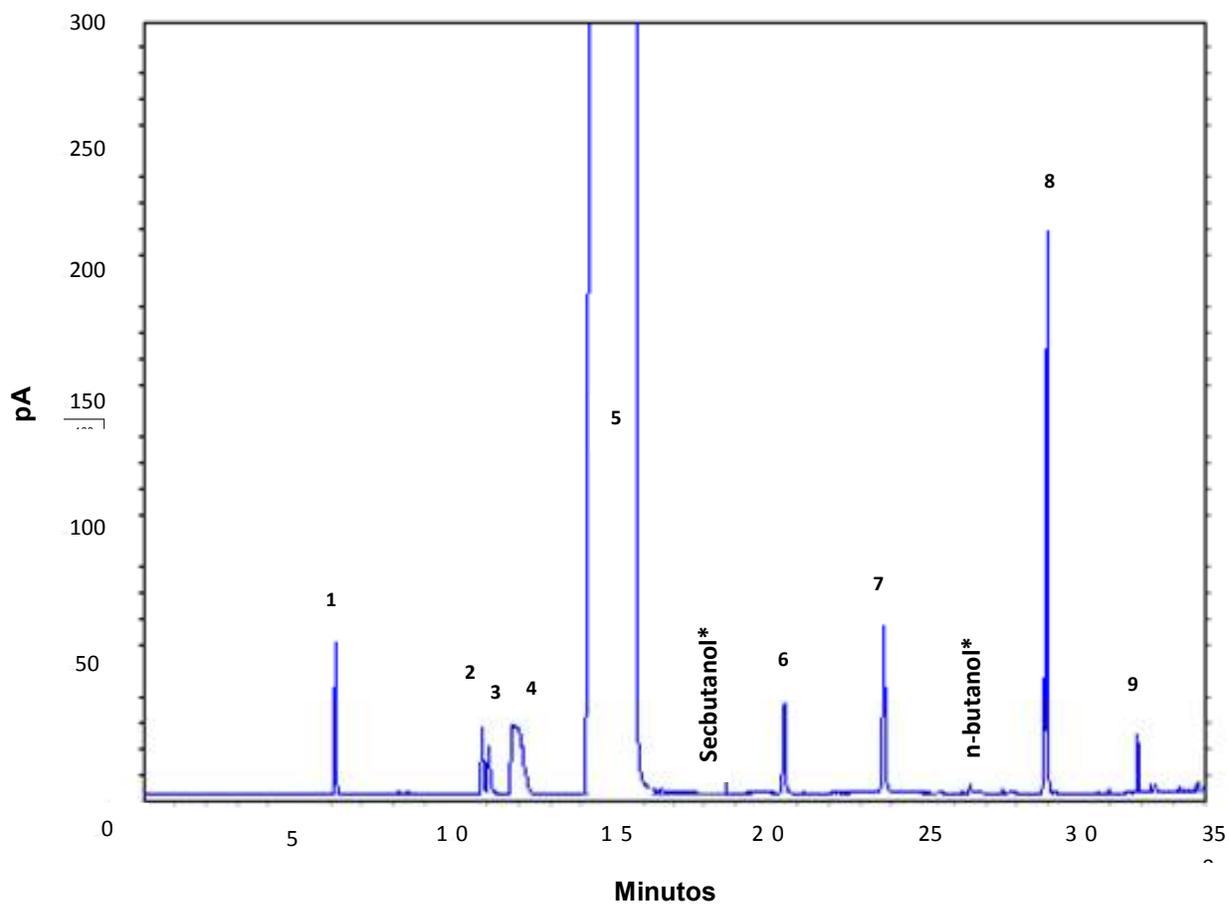
Este comportamiento también coincide con Vera-Guzmán (2004), en un estudio para conocer la composición de los compuestos del mezcal, en las diferentes fracciones destiladas. En las figuras 5 y 6 se pueden observar los cromatogramas representativos de los estándares puros en mezcla y una muestra de bacanora respectivamente.

Una vez identificados los compuestos se cuantificaron por curvas de calibración elaboradas a partir de los estándares puros. El cuadro 9 muestra el contenido de compuestos mayoritarios y la media  $\pm$  E.E (error estándar) de bacanoras artesanales y comerciales. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los compuestos volátiles mayoritarios analizados entre ambos grupos. Al comparar el contenido de volátiles mayoritarios obtenidos en las muestras con los valores especificados en la NOM-168-SCFI-2005, se encontró que de las 49 muestras, sólo 21 bacanoras (41%) cumplieron con todas las especificaciones. Estos fueron 13 bacanoras artesanales (27%) y 7 comerciales (14%).

De las 28 muestras restantes (59%) 8 muestras (16%), 4 muestras comerciales y 4 artesanales no cumplieron con el contenido etílico. En cada caso no se cumplió con el mínimo requerido (38% Alc.Vol.). Es importante señalar que dos de las muestras comerciales procedían de la misma marca, en ambos casos se obtuvo 7° de alcohol por debajo de lo indicado en su etiqueta. De las dos muestras restantes una de ellas tuvo una concentración menor de 8° de alcohol en relación al valor indicado en su etiqueta. En estos casos se debe considerar la posibilidad de que la bebida este siendo adulterada mediante la adición de agua para aumentar los rendimientos. Esta posibilidad se refuerza con el resultado obtenido para la media en el contenido alcohólico de las muestras comerciales, el cual fue inferior comparado con las muestras artesanales.



**Figura 5.** Cromatograma representativo de la mezcla de estándares. Acetaldehído, 2) Acetato de etilo, 3) Acetal, 4) Metanol, 5) Etanol, 6) Butirato de etilo, 7) Secbutanol, 8) n-propanol, 9) Isobutanol 10) Alílico 11) n-butanol, 12) Isoamílico, 13) Amílico



**Figura 6.** Cromatograma obtenido de una muestra de bacanora 1) Acetaldehído, 2) Acetato de etilo, 3) Acetal, 4) Metanol, 5) Etanol, 6) n-propanol, 7) Isobutanol 8) Isoamílico, 9) Amílico

\*Estos compuestos no fueron identificados en la muestra

**Cuadro 9.** Contenido de compuestos mayoritarios (Media  $\pm$  E.E) de bacanoras artesanales y comerciales

Compuesto volátil mayoritario (mg/100mL)	Bacanora Media $\pm$ E.E.		Valor P
	Artisanal	Comercial	
(%) Vol. Etanol <i>Min-Max</i>	42.69 $\pm$ 0.78 (26-48)	40.8 $\pm$ 1.25 (35-46)	0.10
Acetaldehído <i>Min-Max</i>	28.50 $\pm$ 5.62 (5.6-158.5)	33.31 $\pm$ 7.27 (7.8-120.9)	0.61
Acetato de etilo <i>Min-Max</i>	32.24 $\pm$ 7.10 (2.9-204.1)	34.17 $\pm$ 10.32 (6.6-179.2)	0.93
Acetal <i>Min-Max</i>	17.82 $\pm$ 4.16 (0.8-132.6)	17.50 $\pm$ 4.17 (1.7-65.8)	0.96
Metanol <i>Min-Max</i>	109.63 $\pm$ 9.64 29.9-227.3	102.16 $\pm$ 14.17 5.4-215.3	0.66
Sec-butanol <i>Min-Max</i>	4.06 $\pm$ 0.81 (0-11.9)	3.21 $\pm$ 0.39 (0-6.1)	0.38
Butirato de etilo <i>Min-Max</i>	15.16 $\pm$ 7.49 (0-20.4)	8.14 $\pm$ 1.44 (0-23.8)	0.32
1-propanol <i>Min-Max</i>	16.34 $\pm$ 2.86 (3.4-78.5)	11.29 $\pm$ 1.01 (6.5-20.1)	0.24
Isobutanol <i>Min-Max</i>	30.03 $\pm$ 3.59 (3.0-82.0)	23.18 $\pm$ 1.82 (10.0-35.4)	0.20
Alílico <i>Min-Max</i>	1.95 $\pm$ .11 (0-2.9)	4.35 $\pm$ 2.45 (0-19.5)	0.07
1-butanol <i>Min-Max</i>	3.09 $\pm$ 0.36 (2.0-12.6)	2.79 $\pm$ 0.12 (2.3-3.6)	0.58
Isoamílico <i>Min-Max</i>	144.18 $\pm$ 15.80 (7.7-326.1)	110.45 $\pm$ 9.49 (53.1-190.5)	0.16
Amílico <i>Min-Max</i>	2.19 $\pm$ 0.10 (0-4.4)	2.33 $\pm$ 0.22 (0-4.9)	0.50

E.E = Error estándar

Min: Valor mínimo de las muestras

Max: Valor máximo de las muestras

Otra razón para la concentración inferior de etanol es que el comerciante busque suavizar el sabor y olor de bacanora, para obtener la aprobación del consumidor que está más familiarizado con destilados como el tequila que generalmente tiene graduación alcohólica inferior. En ambos casos se compromete la calidad sensorial de la bebida al ser modificadas las concentraciones en su fracción volátil. Además el bacanora se caracteriza por ser un destilado fuerte, de graduación alcohólica alta, por lo que se estarían comprometiendo principalmente dichos atributos característicos del bacanora.

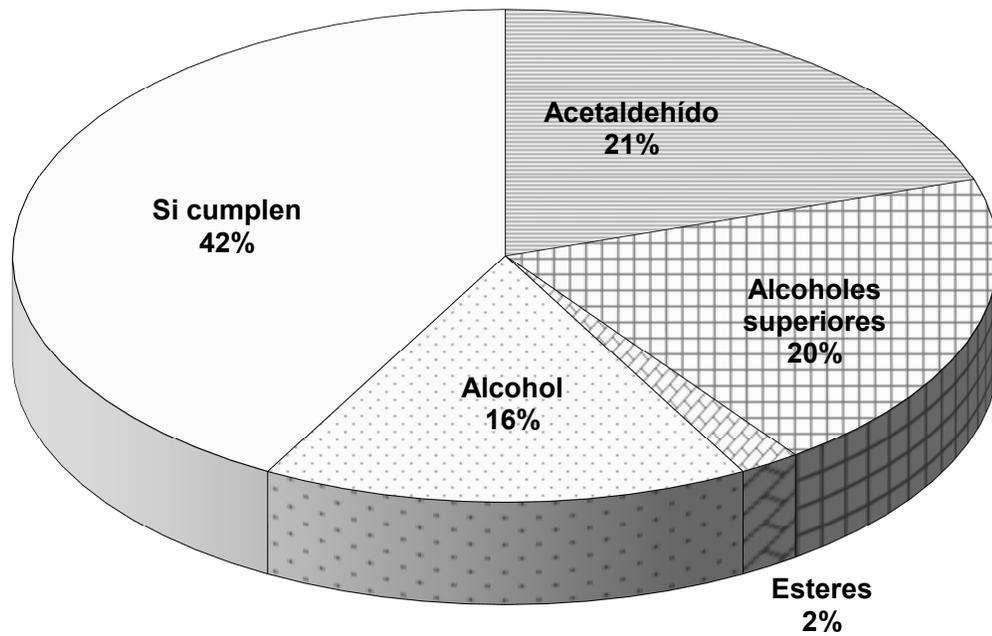
La muestra comercial restante fue una donación con alrededor de un año de almacenamiento, el destilado ya se había comenzado a beber y el envase tenía un tapón de corcho. Probablemente el tiempo y condición de almacenamiento provocó la pérdida del grado alcohólico. En relación a las muestras artesanales y su cumplimiento con el contenido alcohólico, se contó para 3 de ellas con un volumen de 50mL la restante era de 1L. En estos casos el tiempo, el envasado y condiciones de almacenamiento debieron influir en la pérdida del grado alcohólico ya que al ser muestras artesanales, las condiciones antes mencionadas no fueron cuidadas. En la figura 7, se muestran los porcentajes generales en relación al cumplimiento de la NOM-168-SCFI-2005 para las 49 muestras de bacanora.

En relación al contenido de acetaldehído (21%) 4 comerciales y 6 artesanales, en todos los casos se excedió el límite permitido (40mg/100mL); en relación al contenido de esteroides solo 1 muestra comercial (2%) excedió el límite permisible. Sin embargo en este caso se trató de una muestra abocada, por lo que, se podría pensar que las reacciones de esterificación se vieron favorecidas por los ácidos orgánicos aportados por la fruta. El 20% de las muestras no cumplió con las especificaciones en alcoholes superiores; 2 comerciales y 8 artesanales, en este caso sólo una muestra artesanal incumplió por exceder el límite máximo permisible (400mg/100mL).

Esto implica que la mayoría al no contar con el mínimo especificado en la Norma, podrían estar comprometidos varios descriptivos aromáticos y de sabor importantes también conocidos como notas. Estas notas están relacionadas con este tipo de alcoholes, tales como, la rispidez y notas herbáceas. Ambas características, entre otras, son distintivas del bacanora, el cual es identificado por ser una bebida suave, de buen olor y sabor y con cuerpo. Estos atributos se encuentran relacionados con la concentración de estos alcoholes superiores, los cuales son producidos principalmente durante la fermentación, por las levaduras (Álvarez-Ainza, *et al.*, 2011). Varios trabajos realizados en bacanora reportan que este destilado contiene altas concentraciones de estos alcoholes superiores, donde el alcohol isoamilico se encuentra en una proporción mayor al resto, esto también se observó en este trabajo (Álvarez-Ainza, *et al.*, 2013; de León-Rodríguez, *et al.*, 2008; Lachenmier, *et al.*, 2006)

La variabilidad mostrada en los resultados y las bajas concentraciones obtenidas en algunos de los compuestos volátiles analizados puede deberse a que el bacanora se elabora de manera artesanal incluso el comercial. Hasta el momento no existe una industria o algún productor que este altamente tecnificado en el proceso de elaboración de esta bebida, sólo existen algunas variantes en el molido y modo de fermentar o destilar. Es importante señalar que en algunos casos los destilados comerciales podrían provenir de mezclas a partir de bacanoras artesanales de diferentes productores. La producción de bacanora es una práctica que no se encuentra regulada y en general el comerciante formula el producto final de acuerdo a su gusto particular, manteniendo el contenido alcohólico dentro de los lineamientos correspondientes a la norma.

Este estudio mostró que el consumidor al adquirir el bacanora comercialmente disponible no obtiene un valor agregado más allá del envase, ya que no se encontraron diferencias en relación a la composición de volátiles, ni en



**Figura 7.** Muestras de bacanora y la NOM-168-SCFI-2005

cumplimiento con la NOM-168-SCFI-2005, debido a las razones anteriormente señaladas. Además deja en evidencia las posibles prácticas de adulteración que pudieran estar realizándose con la intención de aumentar los rendimientos. Por lo que sería muy importante el desarrollo de programas y proyectos de apoyo al productor que ayuden en la implementación de medidas que sean útiles no sólo en la obtención de una bebida característica, sino en la conservación de su calidad.

En relación al tiempo del almacenamiento, el cual también pudo tener influencia en las bajas concentraciones de los compuestos volátiles, se debe mencionar que las muestras recolectadas para este estudio en su mayoría no fueron de elaboración reciente (6-12 meses), y la producción fue escasa. Esto debido a que las condiciones climáticas durante los ciclos 2011 y 2012 fueron adversas. En ambos ciclos se registraron *heladas*, donde las bajas temperaturas provocaron la pérdida de la mayor parte del agave que se tenía destinado para los ciclos siguientes. Lo anterior fue lo que declararon varios productores del ADOB al momento de adquirir las muestras de bacanora. Se sabe que a medida que la temperatura disminuye puede ocurrir un daño irreversible o la muerte de la planta, a medida que la formación de cristales de hielo extracelular conduce a una deshidratación de las células (Nobel, 1994).

En el año 2013 la temporada de precipitaciones se extendió en Sonora debido a la presencia de huracanes cercanos a la zona del ADOB, lo que comprometió nuevamente la elaboración de la bebida al ser recorridos los tiempos de cosecha y elaboración usuales. Lo anterior propició que las muestras no fueran recientes, lo que pudo haber favorecido la disminución de la concentración de algunos volátiles. Esto ocurre, cuando no se realiza de manera correcta el envasado y almacenamiento posterior a la destilación. Aunado a las altas temperaturas registradas en el estado de Sonora, lo que puede afectar el contenido de volátiles dado a que el productor generalmente las almacena a temperatura ambiente.

En relación al envasado y almacenamiento Núñez (2001), describe que es costumbre guardar el bacanora en el cuarto de los *tiliches*, que es una pequeña habitación destinada de almacén en muchas casas serranas. Al ser una forma de proteger la bebida del calor, donde la temperatura es más baja que en el exterior y la oscuridad ayudan a conservar la calidad del bacanora más tiempo, o tal vez por la reminiscencia de la prohibición. Sin embargo al ser todo de acuerdo a costumbres, no se puede asegurar si las condiciones del envasado y almacenamiento fueron o no favorables para la conservación de los compuestos volátiles. En base al contexto anterior, se pueden explicar parcialmente las relativamente bajas concentraciones de algunos de los compuestos volátiles obtenidas en varias muestras de bacanora.

Los problemas climáticos anteriormente descritos, ocasionaron la escasez de agave en el ADOB, por lo que varios productores no pudieron elaborar bacanora. Mientras que otros pocos resolvieron el problema a través de la compra de agave proveniente de la localidad de Masiaca en el municipio de Navjoa. Aunque esta última no se encuentra dentro del ADOB. Por lo que caen en una clara violación a la norma. Otros productores adquieren el agave de un rancho ubicado en Alamos Sonora, municipio que si es reconocido por el ADOB. Varios productores también declararon que ya cuentan con nuevos plantíos de agave y que esperan su madurez para elaborar la bebida a partir de su propia materia prima. Por las razones anteriores la producción de bacanora disminuyó significativamente, complicando la recolección de un mayor número de muestras de bacanora, para el presente estudio. Como dato adicional se observó un aumento en el costo de la bebida en los casos donde es necesario pagar el transporte del agave desde los municipios mencionados anteriormente.

### VI.III Análisis de Compuestos Volátiles Mayoritarios

En las bebidas alcohólicas destiladas como el bacanora, el aroma es constituido por diversos compuestos volátiles que se encuentran en concentraciones altas, denominados compuestos mayoritarios y otros en menor concentración denominados minoritarios. Los cuales tienen un gran impacto en el aroma y sabor, de acuerdo a la armonía de su combinación. Como se esperaba, los espectros detectados para los compuestos mayoritarios tuvieron abundancia elevada, comparada con los espectros de los minoritarios.

Actualmente, en nuestro país se realizan controles de calidad a bebidas alcohólicas como el tequila, sin embargo se dan casos en los que éstas se encuentran adulteradas y contienen mezclas de otros alcoholes como metanol, o alcoholes superiores. Este tipo de compuestos tienen repercusiones negativas en la salud de los consumidores provocando daños a nivel ocular, sistema nervioso central y hepático. Por esta razón es necesario tener un control de estos alcoholes en la elaboración del bacanora, ya que son responsables de las características sensoriales del producto final y su contenido está relacionado con la seguridad del producto.

Como se describió anteriormente se determinaron las concentraciones de varios volátiles mayoritarios de interés para el bacanora, por ser importante su aporte organoléptico y al estar algunos de ellos especificados en la norma. Entre ellos está el grupo de los aldehídos, que se forman como producto intermedio de la fermentación y constituyen un compuesto clave en la formación de alcoholes superiores a partir de aminoácidos y azúcares. Se favorecen en la fermentación y durante la oxidación en el reposado y añejamiento, entre los cuales destaca el acetaldehído, que se caracteriza por su aroma a manzana. En el cuadro 10 se indican los compuestos volátiles mayoritarios analizados en

**Cuadro 10.** Identificación de compuestos volátiles mayoritarios determinados por GC, en tequila, mezcal, sotol y bacanora y su aportación organoléptica

<b>Familia Compuesto</b>	<b>Notas</b>	<b>Referencias</b>
<b>Aldehídos</b>	<b>Frutal, manzana madura/pasada</b>	1-13
Acetaldehído	Frutal, manzana, químico, picante	
<b>Ésteres</b>	<b>Olores florales y de fermentación</b>	
Butirato de etilo	Afrutado, banana, manzana, mora	13
Acetato de etilo	Cola de pegar, picado	1, 6, 11, 13,
<b>Alcoholes superiores</b>	<b>Sensaciones herbáceas (aceites de fusel, olor a papas fermentadas)</b>	
Metanol	Alcohol	1-6 y 9-13
Sec-butanol	Herbáceo, rancio, fusel	
Propanol	Alcohol, penetrante, picante	
Isobutanol	Alcohol, penetrante, químico, dulce	
Alílico		
1-butanol	Medicinal	
Isoamílico	Herbáceo, vegetal, fúsel, almendra amarga, dulce, frutal	
Amílico	Herbáceo, vegetal	
<b>Acetales</b>		
Acetal	Picante	1, 11 y 13

**Trabajos en Tequila:** 1) Benn y Peppard, 1996, 2) de León-Rodríguez, *et al.*, 2008, 3) Lachenmier, *et al.*, 2006, 4) López-Álvarez, *et al.*, 2012; 5) Peña-Álvarez, *et al.*, 2006, 6) Prado-Rámirez, *et al.*, 2004; 7) Vallejo-Córdoba, *et al.*, 2004; 8) Vallejo-Córdoba, *et al.*, 2007.

**Trabajos en mezcal:** 2), 3), 6), 8), 9) Arellano, *et al.*, 2012; 10) de León Rodríguez, *et al.*, 2006, 11) Molina-Guerrero, *et al.*, 2006, 12) Vera-Guzman, *et al.*, 2009

**Trabajos en Sotol:** 2), 3) y 8)

**Trabajos en bacanora:** 2), 10, 7), 8) y 13) Álvarez, *et al.*, 2011

**Descriptivos de aroma y sabor (notas):** 1-4 y 10-13.

este estudio y en otros destilados de agave por GC y GC-MS, y su aportación organoléptica.

En éste trabajo, solo 10 muestras presentaron concentraciones superiores a los 40mg/100mL para el acetaldehído. Un dato interesante es que 8 de ellas fueron procedentes del municipio de Villa Pesqueira, entre éstos bacanoras se encontraron las concentraciones máximas. Lo anterior sugiere que en este municipio las especies de levaduras durante la fermentación favorecen la producción de este compuesto. Por otra parte la variedad en la concentraciones y las bajas concentraciones de acetaldehído, coinciden con lo reportado por Álvarez, *et al.* (2013), donde sólo el 8% de las 77 muestras que se tuvieron concentraciones altas en acetaldehído. Este estudio no coincidió con el trabajo realizado por Lachenmier, *et al.* (2006) en bebidas espirituosas, ya que el bacanora se encontró como una bebida rica en acetaldehído. En ninguna muestra se obtuvieron valores por debajo de los 20mg/100mL.

Además del acetaldehído destacan otros volátiles, presentes en los destilados, al ser su concentración importante por su aportación organoléptica o altamente tóxica. Estos compuestos son etanol, metanol y los volátiles agrupados en esterés y alcoholes superiores, cuyas concentraciones permitidas se encuentran especificadas en la NOM-168-SCFI-2004. Las concentraciones de estos alcoholes debe vigilarse debido a que en el sistema tradicional del bacanora, no se encuentra estandarizada su destilación, sino que dependen principalmente del productor.

En este estudio se observó que las muestras de bacanora presentaron niveles de ciertos volátiles por debajo a los límites especificados en la norma, 100 mg/dL (Cuadro 12). Lo que no coincide con el trabajo realizado por Álvarez, *et al.* (2013), donde el 9% de las muestras excedieron los 400 mg/dL. Lo anterior se puede atribuir parcialmente a las condiciones de almacenamiento posteriores a su elaboración. Como se ha discutido anteriormente, la forma de

**Cuadro 12.** Contenido de compuestos mayoritarios (Media  $\pm$  E.E) de acuerdo a la NOM-168-SCFI-2004

Compuesto	TIPO		Valor P
	Media $\pm$ E.E.		
	Artisanal	Comercial	
Etanol	42.69 $\pm$ 0.78	40.8 $\pm$ 1.25	0.10
Aldehídos	28.50 $\pm$ 5.62	33.31 $\pm$ 7.27	0.61
Metanol	32.24 $\pm$ 7.10	34.17 $\pm$ 10.32	0.93
Esteres	35.97 $\pm$ 7.23	35.18 $\pm$ 10.67	0.95
Alcoholes superiores	198.21 $\pm$ 20.63	152.75 $\pm$ 11.25	0.14

E.E = Error estándar

envasar y almacenar el bacanora durante largo tiempo y a temperaturas extremas puede influir en su perfil volátil.

Los alcoholes superiores se producen a partir de descarboxilación y desaminación de los aminoácidos del mosto, o por la ruta biosintética de las levaduras a partir de aminoácidos. En concentraciones muy altas pueden afectarse organolépticamente. Boulton, *et al.* 2003, mencionan que concentraciones superiores a 350 mg/L pueden aportar al destilado un olor punzante y sabor picante al gusto. Esto pudiera explicar, de alguna manera las notas de astringente, ríspido y quemante, descritas en el estudio realizado por Álvarez, 2011, donde se evaluaron sensorialmente muestras de bacanora. Dichos atributos son debidos tanto a la materia prima, como al proceso de fermentación, en este último se producen mayormente los compuestos de aroma por las levaduras presentes (de León- Rodríguez, *et al.*, 2006; Díaz-Montaña, *et al.*, 2008).

Los alcoholes superiores poseen un rol importante a nivel sensorial, destacando el isoamilico e isobutanol. Al reaccionar con los ácidos orgánicos forman ésteres y acetatos, como acetato de isoamilo, butanato de etilo, hexanato de etilo, hexanato de isoamilo entre otros, muchos de ellos con aromas vegetales. En vino se sabe que se obtienen mayor cantidad de estos productos esterificados con temperaturas elevadas de fermentación, mayores a 20° C, condición prevalente en la fermentación del *sáite* para el bacanora.

Los resultados para isobutanol mostraron que la mayoría de los bacanoras (n=35) obtuvieron concentraciones debajo de los 40mg/100mL, mientras que para el alcohol isoamílico se obtuvo un valor mínimo de 7.7mg/100mL y máximo de 190.5mg/100mL. Este alcohol fue determinado en todas las muestras, lo que concuerda con otros estudios para el bacanora al ser de los principales alcoholes presentes en la fracción de alcoholes superiores (Álvarez, *et al.*, 2013; Lachenmier, *et al.*, 2006). Los valores de 1-propanol, se ubicaron

entre 3.4-78.5 mg/100mL estos valores y su variabilidad concuerdan con investigaciones realizadas en bebidas como el tequila, el mezcal y el bacanora (Álvarez, *et al.*, 2013; Lachenmier, *et al.*, 2006; Vera-Guzmán, *et al.*, 2009). El 1-propanol, además de ser un producto de la fermentación por acción de las levaduras, puede ser un indicador de una posible contaminación bacteriana debido a condiciones inadecuadas de almacenamiento de la materia prima antes de su procesamiento (Apostolopoulou, *et al.*, 2005).

Otros alcoholes superiores o mayoritarios producidos en la fermentación alcohólica son el butanol y secbutanol. Sus concentraciones en este estudio coincidieron con los reportados en la literatura. En este estudio sus concentraciones oscilaron entre 0-2.6mg/100mL y de 0-4.9mg/100mL, respectivamente. La baja concentración o ausencia de estos alcoholes depende de la presencia de levaduras en la fermentación (Díaz-Montaña, *et al.*, 2008). Otros estudios han reportado valores similares para el butanol; en tequila, 0.5-1.5mg/100mL; mezcal elaborado a partir de *Agave angustifolia* Haw, 0.02-1.2mg/100mL; y bacanora, 0-2.48mg/100mL. En el caso del secbutanol este comportamiento es similar, pudiendo encontrar concentraciones 0-2.48 en otros estudios realizados también en bacanora (Álvarez, *et al.*, 2013; Lachenmier, *et al.*, 2006; Vera-Guzmán, *et al.*, 2009)

Entre los principales compuestos evaluados destaca el metanol. Su importancia no está ligada con los atributos organolépticos, sino con su toxicidad, pudiendo provocar en casos severos ceguera, o incluso la muerte. Éste se produce a partir de la demetilación de pectinas presentes en el agave durante la etapa de cocimiento por el efecto del pH y las altas temperaturas. También por algunas cepas de levaduras nativas con enzimas metil estereasas, cuya actividad posiblemente se ve favorecida durante la fermentación, hidrolizando las pectinas presentes en el mosto (Tellez-Mora y Cedeño-Cruz, 1997). En este estudio todas las muestras cumplieron con las especificaciones señaladas en la NOM-168-SCFI-2004, para el metanol, debido a que se encontraron

concentraciones relativamente bajas, si se compara con los resultados obtenidos en otros destilados como mezcal y tequila (Lachenmier, *et al.*, 2006).

Otro de los grupos de compuestos volátiles evaluados fueron los ésteres. Estos son compuestos volátiles asociados a aromas agradables a frutas y flores. Que provienen de la combinación de ácidos orgánicos y alcoholes, reacción inicialmente catalizada por enzimas propias de las levaduras. Se les considera entre los grupos más importantes de compuestos aromáticos. Existe una correlación positiva entre la producción de ésteres y los factores de temperatura de fermentación y composición nutritiva del medio.

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados en la literatura, tanto para bacanora como para bebidas más estudiadas como el tequila. Solo una muestra comercial, no cumplió con los parámetros especificados en la norma. Es importante señalar que se trató de una muestra abocada por lo que se pudieron haber favorecido las reacciones de esterificación entre los alcoholes y los ácidos orgánicos de la fruta. También por la presencia de bacterias en la fermentación que favorecieron la producción de ácido acético, que por esterificación con el etanol producirían acetato de etilo. Este último fue el que se encontró en cantidades fuera de la norma (204.15mg/100mL).

Por último se evaluó la concentración de acetal presente en el bacanora. El acetal se forma por reacción de un aldehído con un alcohol, formando un hemiacetal, como compuesto intermedio, que posteriormente, se combina con otra molécula de aldehído, formándose el acetal. Los valores coincidieron parcialmente con Álvarez, *et al.*, 2013. Cabe mencionar que las muestras procedentes de Villa Pesqueira donde se encontraron las concentraciones relativamente altas de acetaldehído, fue donde se obtuvieron los valores más altos para el acetal. Los que concuerda con la bibliografía.

Para fundamentar los resultados anteriores, no sólo el tipo de envase y almacenamiento fueron determinantes. Otros factores que se deben considerar para justificar la variabilidad mostrada en los resultados, es por falta de homogeneidad en cada etapa del proceso por su condición artesanal. Al ser el resultado de conocimientos transmitidos de generación en generación, siendo los productores los que han conservado la esencia en el sistema aprendido siglos atrás, por lo que la calidad del producto es muy variable, aun cuando en todas las regiones productoras los fundamentos en la fabricación son similares. Estas variaciones también fueron reportadas por Álvarez, *et al.* (2013), al evaluar los mismo compuestos volátiles, de muestras de bacanora blanco obtenido de 28 municipios dentro del ADOB. Donde se encontró que no sólo existen variaciones en las muestras de diferente región, incluso entre muestras de los municipios de la misma región y el mismo productor.

### VI.III. Identificación de Compuestos Volátiles Minoritarios

La caracterización total de los componentes volátiles en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases no es tarea fácil, debido a que los compuestos minoritarios se encuentran en una baja concentración que vuelve muy complicada su identificación y cuantificación (Sanchez-Arreguín, 2004). Sin embargo, es crucial evaluarlos, ya que, la sola presencia de muchos de estos componentes son en parte, responsables de las características sensoriales del producto final (Molina-Guerrero, *et al.*, 2007).

En comparación al vino, son pocos los estudios sobre el sabor y aroma de las bebidas destiladas como el bacanora, en todos ellos se sabe que cada etapa del proceso de producción contribuye al perfil volátil final. Algunos componentes provienen directamente del agave empleado, sin embargo otros estudios sugieren que la mayor parte de sus precursores se forman durante el

proceso de cocción. Otros compuestos son generados durante la fermentación por acción de la microbiota involucrada, principalmente por acción de las levaduras. En la destilación se define la constitución final, al depurarse el *saite*, el cual es el resultado de los jugos del mosto fermentado. Finalmente en algunos casos, las maduración o abocado aportarían nuevos componentes provenientes de la madera o la fruta empleada, respectivamente o se transforman los ya existentes mediante reacciones de oxidoreducción (Escalona, *et al.*, 2004)

En un trabajo realizado en tequila por Benn y Peppard (1996), se determinaron más de 175 componentes por medio de GC-Masas. Los cuales se clasificaron en acetales, ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres, furanos, compuestos sulfurados, terpenos, entre otros. Otros autores determinaron los compuestos volátiles generados durante el cocimiento del *Agave tequilana* Weber, donde se encontró menor variabilidad en comparación con otras bebidas de elaboración rudimentaria, como el sotol (Lachenmier, *et al.*, 2006). Esto se atribuye parcialmente a que en el tequila el proceso de destilación se encuentra ampliamente estandarizado y tecnificado, lo que favorece una mayor remoción de varios compuestos volátiles. Mientras que en bebidas con procesos menos tecnificados como el mezcal o artesanales como el sotol y bacanora, la remoción de estos compuestos es parcial (Guevara y Lopez, 2001).

Vera-Guzman, *et al.* (2009), determinaron los compuestos aromáticos producidos la elaboración de mezcal durante las etapas de cocimiento y fermentación de los mostos de *Agave angustifolia* Haw y *Agave potatorum*. Molina, *et al.*, 2007, estudiaron los compuestos volátiles de diez mezcales comerciales, identificando 85 compuestos entre los que se encontraron 8 grupos funcionales diferentes: acetales, ácidos orgánicos débiles, alcoholes, cetonas, aldehídos, ésteres, fenoles y terpenos.

En base al contexto anterior, en este trabajo se analizó mediante la técnica de cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas las muestras de bacanora, 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 organolépticas importantes. Cabe señalar que existe una alta diversidad de compuestos volátiles minoritarios en el bacanora, sin embargo, en este estudio se lograron identificar sólo algunos de ellos. Esto en concordancia con otros estudios realizados en tequila, mezcal y bacanora, los cuales encontraron compuestos, que no fue posible determinar en este trabajo. Lo anterior seguramente se debió a los parámetros establecidos en el sistema de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, de ahí la necesidad de seguir trabajando en este campo para obtener un perfil de volátiles más completo. Por otro lado esto también puede ser consecuencia de que el contenido de volátiles de las muestras analizadas estaba por debajo de lo esperado, sobre todo en el caso de volátiles superiores. Si estos volátiles se ven afectados en su concentración, con más seguridad se pueden tener pérdidas en los minoritarios que en la mayoría de los casos son trazas.

### **VI.III.I Volátiles Minoritarios en Bacanoras Comerciales y Artesanales**

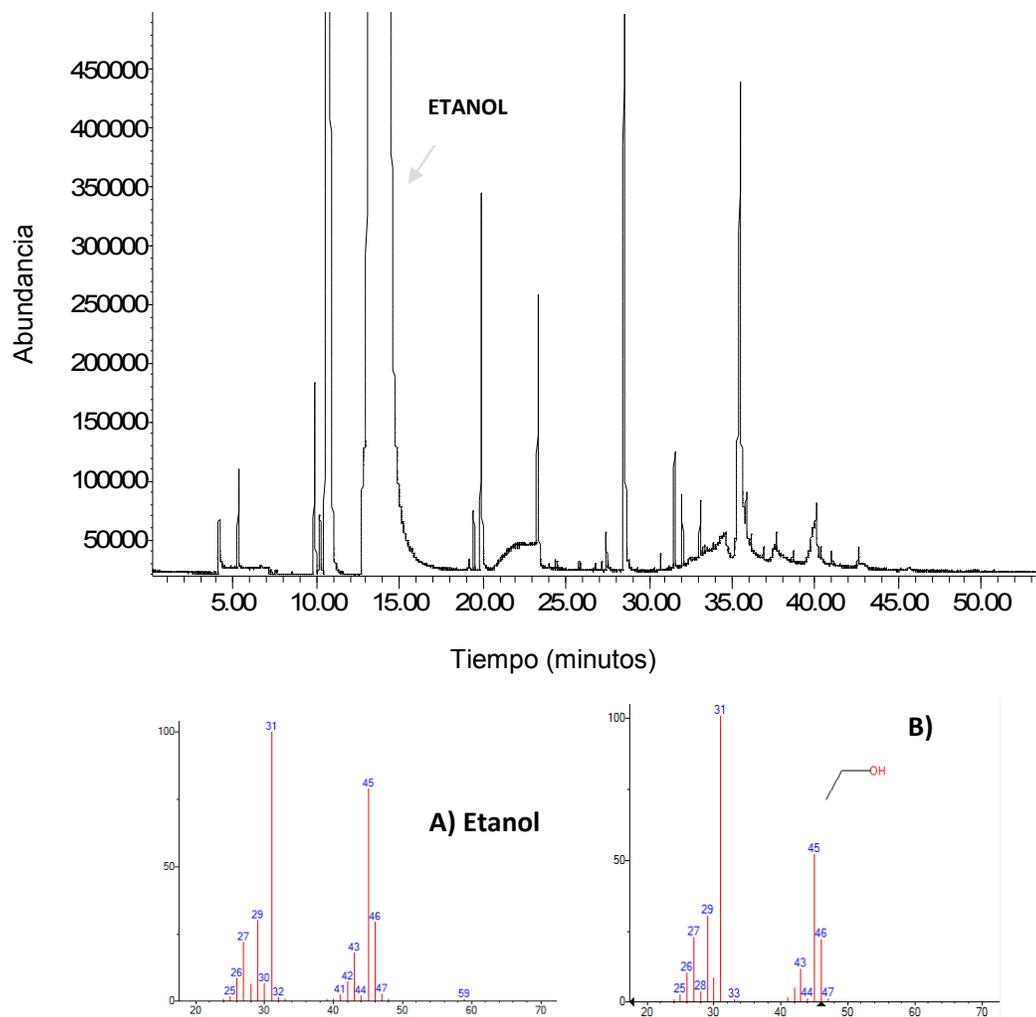
La identificación de los minoritarios fue mediante la comparación de los patrones de fragmentación de la muestra con la biblioteca NIST, aunque la similitud encontrada para la mayoría de los minoritarios fue baja (50-78%), no fue un impedimento para la identificación ya que los parámetros empleados en CG sirvieron de base para ajustar las condiciones de separación para la determinación de minoritarios en las muestras de bacanora. Esto se confirmó, al reproducirse el orden de salida de los compuestos mayoritarios, determinados anteriormente. Además los resultados obtenidos de la biblioteca coincidieron

con los reportados en otros trabajos. En la figura 8 se muestra el espectro de los compuestos volátiles detectado en una muestra de bacanora blanco, se puede apreciar que se identificaron alrededor de 21 compuestos volátiles y de estos 10 presentaron mayor abundancia.

En la determinación de los compuestos volátiles minoritarios se confirmaron en todos los casos, los compuestos mayoritarios: acetaldehído, acetato de etilo, acetal, metanol, n-propanol, e isoamílico. Con los parámetros empleados para la técnica de GC-MS, fue posible identificar 21 compuestos minoritarios en los bacanoras artesanales y comerciales. Estos fueron: Alcohol 2-feniletanol, ácido acético, ácido butanóico, ácido 2-hidroxy-propanoico-etil-ester, ácido propanoico-etil-ester, ácido butanoico etil ester, ácido pentanoico étil ester ácido hexanóico etil ester, ácido octanoico etil ester, ácido decanoico etil ester, etil, ácido dodecanóico etil ester, lactato, furanmetanol;  $\alpha$ -terpineol, limoneno, linalool, ciclopentanona y acetoína, furfural, 3-furaldehído, 5-metil-2-furancarboxilaldehído.

Los tiempos de retención relativos de los compuestos volátiles identificados por GC-MS en muestras de bacanora artesanal y comercial, se indican en el cuadro 13. Es importante señalar que las marcas comerciales analizadas, no mostraron diferencias en cuanto a la variedad de compuestos volátiles mayoritarios o minoritarios en comparación con los bacanoras artesanales. Como se mencionó anteriormente, esto pudo deberse a la falta de estandarización del proceso en la elaboración del bacanora, que en ambos casos es artesanal. O bien a que las muestras comerciales, no tienen un tratamiento adicional al recibido en el caso de los bacanoras artesanales.

Así como a la deficiencias en el envasado y almacenamiento. Sin embargo en el caso particular de los compuestos volátiles minoritarios no se llevó a cabo la cuantificación, por lo que no podríamos asegurar que no existen diferencias en la concentración. En el cuadro 14 se indican los compuestos volátiles



**Figura 8.** Compuestos volátiles detectados por GC-MS. A) Patrones de fragmentación de la muestra etanol (pico 5), B) Patrones de fragmentación del etanol de la biblioteca NIST 2011. C) Patrones de fragmentación de la muestra de alcohol isoamílico (pico 11), D) Patrones de fragmentación del isoamílico de la biblioteca NIST 2011.

**Cuadro 13.** Tiempos de retención de los compuestos volátiles identificados por GC-MS

<b>Numero de pico</b>	<b>TR (min)</b>	<b>Compuestos volátiles</b>
1	5.30	Acetaldehído
2	9.81	Acetato de etilo
3	10.19	Acetal
4	10.58	Metanol
5	14.44	Etanol
6	19.47	Butirato de etilo
7	19.14	Sec-butanol
8	19.45	Ácido butanóico, etil ester*
9	19.91	n-propanol
10	23.32	Isobutanol
11	24.19	Alfílico
12	25.82	n-butanol
13	26.73	Ciclopentanona*
14	27.47	Limoneno*
15	28.52	Isoamílico
16	30.23	Amílico
17	31.52	Acetoína*
18	31.79	Alcohol 2-feniletanol*
19	32.00	Etil lactato*
20	33.06	Ácido 2-hidroxy-propanoico-etil-ester*
21	35.12	Ácido propanoico*, pentanoico*, hexanoico* y octanoico*, etil ester
22	35.46	Ácido acético*
23	35.84	Furfural*
24	35.86	3-furaldehido*
25	37.64	Linalool*
26	38.64	5-metil-2-furancarboxilaldehído*
27	40.04	Ácido butanoico*
28	40.35	Ácido decanoico, etil ester*
29	40.98	Furanmetanol*
30	42.59	$\alpha$ -terpineol*

\*Compuestos volátiles minoritarios

**Cuadro 14.** Compuestos volátiles minoritarios identificados en tequila, mezcal, sotol y bacanora

Familia	Compuesto	Notas	Referencias
Alcoholes	Alcohol 2-fenil etil	Rosa	1, 6, 7 y 11
	Ácido propanóico etil ester		
Esteres	Ácido butanóico etil ester	mantequilla	
	Ácido pentanóico etil ester	Raíz de valeriana	
	Ácido hexanóico etil ester	Hierba fresca, queso	1, 3, y 4
	Ácido octanóico etil ester	Aceitoso afrutado	
	Ácido decanóico etil ester	Aceitoso cítricos	
	Ácido dodecanóico etil ester		8
	Ácido 2-hidroxy-propanoico-etil-ester*		
Ácidos	Etil lactato	Láctico, leche, nata, agrío	2, 8, y 11
	Ácido acético	Vinagre	1, 2 y 10
	Ácido butanóico		
Cetonas	Acetoína	Láctico, mantequilla	1, 2 y 10
	Ciclopentanona	Mantequilla, almendras, menta	1
Terpenos	Limoneno	Cítricos	
	Linalool	Floral, menta	1-4 y 6-11
	$\alpha$ -terpineol	Floral, lilas, fresco, romero	
Furanos	Furfural	Dulce, almendra, pan tostado	
	3-furaldehido		
	Furanmetanol		1-11
	5-metil-2-furancarboxilaldehido		

**Trabajos en Tequila:** 1) Benn y Peppard, 2) López-Álvarez, 2012; 3) Prado-Rámirez, et al., 2004; 4) Vallejo-Córdoba, et al., 2004; 5) Vallejo-Córdoba, et al., 2007.

**Trabajos en mezcal:** 5), 6) Arellano, et al., 2012; 7) de León Rodríguez, et al., 2006; 8) López y Guevara, 2001; 9) Lachenmier et al., 2006; 10) Molina-Guerrero, et al., 2006

**Trabajos en Sotol:** 5) y 9)

**Trabajos en bacanora:** 5), 9) y 11) Álvarez, et al., 2011;

**Descriptivos de aroma y sabor (notas):** 1), 2), 6) y 10)

Aunque no se cuenta con un estándar de calidad del bacanora, en cuanto a los parámetros organolépticos y preferencia del consumidor. Sí se reconocen varios factores responsables en la obtención de bebidas alcohólicas destiladas, con calidad organoléptica uniforme, distintiva, de buen rendimiento y además segura para el consumidor. Estos son: microbiota involucrada, localización y edad de la planta agave, la cocción de las piñas de agave, la fermentación, la destilación, el madurado, y en algunos casos la formulación el producto final (Garde-Cerdán y Ancín-Azpilicueta, 2006; Gutiérrez *et al.*, 2007; Pinal *et al.*, 2008; Verdugo-Valdez *et al.*, 2011).

En el bacanora la fermentación espontánea, sin cultivos añadidos, contribuye significativamente en la obtención de una bebida alcohólica característica de nuestra región, sin embargo, en paralelo se tienen problemas con los rendimientos y la calidad sensorial final, lo cual no favorece al productor económicamente. Por otra parte existen variaciones en la fermentación por la presencia de varias especies endémicas de microorganismos, como las levaduras, que transforman los azúcares del medio en una gran cantidad de compuestos orgánicos, como el etanol. Esta diversidad de microorganismos contribuye a la distinción del producto final, pero también puede generar una disminución en la producción de etanol, derivando en un bajo rendimiento. Además esta variabilidad afecta de manera directa en la obtención de un producto estandarizado, complicando el llevar la producción de la bebida a niveles industriales.

Entre los compuestos determinados en este estudio se encontraron derivados de ácidos orgánicos como el ácido pentanóico etil ester, ácido hexanóico etil ester, ácido octanóico etil ester y el ácido decanóico etil ester. A excepción del ácido butanóico no se identificó su ácido precursor. Sin embargo el ácido acético también fue identificado, probablemente porque más del 90% de los ácidos volátiles corresponden a ácido acético, incluso una pequeña parte se esterifica con el etanol para formar acetato de etilo cuyo descriptor es el aroma

a pegamento, este último fue detectado en todas las muestras en el análisis de compuestos mayoritarios. Además se encontró el etil ester del ácido propanóico, 2-hidroxi; presente en mezcal y sotol junto al etil ester del ácido dodecanoico y el etil ester del ácido propanóico (Benn y Peppar, 1996; López y Guevara).

Vallejo, *et al.*, 2007 encontró en un estudio en caracterización de volátiles en varios tipos de tequila, mezcal, sotol y bacanora, que dentro de los esteres, los etil esteres fueron los que se encontraban en mayor concentración de acuerdo al tiempo de maduración, siendo el extra añejo el que presento mayor concentración de estos compuestos. Esto lo atribuyeron a que los etil esteres se producen, además de la fermentación, en el proceso de madurado. Además encontraron que el bacanora, mezcal y sotol presentan un comportamiento similar al tequila en la presencia y proporción en la concentración de estos compuestos, los cuales se encuentran después de los alcoholes.

Entre los compuestos cetónicos, destaca la acetoina (3-hidroxiбутanona), el diacetilo (2,3-butanoidiona) y la 2,3-pentanodiona. Suelen formarse por acción de las bacterias lácticas. En este estudio sólo se identificó la acetoina. La acetoina también puede ser producida por las levaduras del género *Saccharomyces* durante la fermentación alcohólica por la descarboxilación de 2 moléculas de ácido pirúvico. Tiene un ligero olor a mantequilla o almendras, y participa en el buqué del vino. En un estudio de López y Guevara (2001), se compararon los minoritarios obtenidos en tequila, mezcal y sotol ubicando a este compuesto como marcador de origen de la bebida sotol, al no encontrarse en el resto.

Los terpenos son catalogados usualmente como metabolitos secundarios de las plantas. Dentro de los terpenos los monoterpenos son los más importantes ya que son volátiles y odorantes, como el nerol, geraniol, citronelol, linalool, limoneno y  $\alpha$ -terpineol, este estudio sólo identificaron los tres últimos. El  $\alpha$ -

terpineol fue el más recurrente, al detectarse en y 9 de las 16 muestras comerciales, encontrándose en 3 bacanoras blancos, 3 curados, y un añejo. Mientras que sólo se detectó en 6 muestras de bacanoras blancos artesanales, de las cuales una de ellas procedente de Tepache también presentó el compuesto linalool. El compuesto limoneno se detectó en dos muestras artesanales procedentes de Villa Pesqueira.

Durante el proceso de cocción de las piñas de agave, se producen compuestos volátiles, además de los azúcares fermentables, mediante la reacción de Maillard que ocurre entre los grupos amino y el grupo funcional de los azúcares (aldehído o cetona), en presencia de calor y agua. Estos compuestos volátiles aunados a los producidos en la fermentación asociados a las levaduras pueden tener un impacto significativo sobre las características organolépticas finales del producto. Esto también sucede para el bacanora.

En este estudio se identificaron el furfural y 3-furaldehído, este hallazgo concuerda con los estudios sobre minoritarios en otras bebidas destiladas como tequila y mezcal, ya que sus procesos son similares e involucran el cocimiento de las piñas, proceso al que se le atribuye principalmente la generación de estos volátiles. Además se identificó el 5-metil-2-furancarboxilaldehído, que se considera un marcador de origen en Mezcal (López y Guevara, 2001). En un estudio sobre caracterización de volátiles en tequila, mezcal, sotol y bacanora, Vallejo, *et al.*, 2007, encontraron una concentración similar de furfural y 2-furaldehído en tequila y mezcal (>1ppm), mientras que el bacanora presentó concentraciones ligeramente más altas (1.2-1.3ppm). La concentración de furfural se encuentra vigilada por la Norma, debido a que dichos compuestos son considerados carcinogénicos.

A diferencia de otros estudios, los parámetros implementados en este trabajo no permitieron la identificación de fenoles. A este respecto Álvarez (2011) encontraron en bacanora los volátiles minoritarios etil guaiacol y fenil guaiacol

relacionados con los descriptores o atributos de humo y ahumado, los cuales fueron estadísticamente diferentes en los diferentes perfiles de bebidas de bacanora evaluadas. Ambos compuestos pueden ser producidos a partir de la descarboxilación de los ácidos ferúlico y p-cumárico, durante la fermentación por acción de levaduras *S. cerevisiae* (Suárez-Lepe, *et al.*, 2002).

Este estudio viene a reforzar la información sobre la composición de volátiles en bebidas étnicas, donde existe un claro rezago entre el tequila y el resto de las bebidas de este tipo. Se encontraron compuestos minoritarios comunes en tequila, mezcal y sotol, como el etil ester del ácido octanóico, el 2-feniletanol, el furfural, 5-metil-2-furancarboxilaldehído, ácido acético, entre otros. Además mostró que el bacanora tiene más similitud en su composición volátil, sobre todo la fracción minoritaria, con el mezcal y el sotol, probablemente por su condición artesanal, a diferencia del tequila que cuenta con un proceso industrializado en sus diferentes etapas de elaboración. Un ejemplo de esto es la doble destilación que se aplica en el tequila, lo que ocasiona una mayor remoción de compuestos volátiles. Además a diferencia de otros estudios realizados en bacanora, este incluyó el análisis de varios tipos de muestras, permitidos en la norma, donde si bien es cierto no se observaron diferencias en cuanto a la variedad de compuestos, no podemos asegurar que no existan diferencias en la concentración.

Se podría decir que la dificultad de evaluar las pérdidas de cada componente en el proceso y la complejidad de evaluar cuantitativamente los volátiles minoritarios debida a su baja presencia y diversidad, son superados si consideramos que la caracterización del perfil volátil de las bebidas alcohólicas, ofrece ventajas en su procesamiento y en sus propiedades sensoriales finales (Molina-Guerrero, *et al.*, 2007). El determinar este perfil volátiles, ayuda en la selección de cepas de levaduras por la producción de ciertos compuestos (Carrau, *et al.*, 2005), en la selección de barricas para los procesos de reposo y añejamiento (Waterhouse y Towey, 1994) en el efecto de la región de cultivo de

la materia prima sobre el contenido de odorantes importantes (Arrhenius y col. 1996).

En general este tipo de estudios sobre la composición volátil vienen a informar sobre las variantes en el proceso, ya que estas inciden directa o indirectamente en su composición. Es por ello que es de suma importancia el realizar estos trabajos que ayuden a establecer las diferencias en el perfil volátil a través del tiempo para poder inferir acerca de las necesidades de la naciente producción de bacanora. Como es este trabajo, del cual se puede concluir como ayudar a prevenir la pérdida de la identidad de nuestra bebida, por los posibles riesgos de adulteraciones, al cuidar el envasado y almacenamiento. Todo esto encaminado a garantizar el cumplimiento de la norma, y la preservación de la calidad organoléptica ampliamente aceptada por el consumidor.

## VII CONCLUSIONES

- Un alto porcentaje de las muestras evaluadas de bacanoras comercial y artesanal no cumplen con las especificaciones de la NOM-168-SCFI-2004, para la composición de volátiles mayoritarios.
- No se encontraron diferencias en el perfil de volátiles mayoritarios entre los bacanoras artesanales y comerciales.
- El perfil de compuestos volátiles minoritarios identificados es similar entre las muestras artesanales y comerciales.
- Las condiciones de envasado y almacenamiento puede modificar el perfil volátil del bacanora independientemente del tipo de muestra, artesanal o comercial.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Implementación de un programa de monitoreo del perfil de volátiles durante la elaboración, envasado y almacenamiento de los bacanoras, para garantizar el cumplimiento de la norma, y preservación de su calidad organoléptica.
- Vigilancia en la aplicación de la Normatividad en la producción del bacanora, para evitar posibles daños a la salud.
- Optimización de los parámetros para la determinación de minoritarios en bacanora, a través de la modificación de las condiciones de corrida y/o el uso de microfibras para la concentración de los volátiles.
- Un estudio de seguimiento de las muestras analizadas para registrar las variaciones del perfil volátil a través del tiempo. Esto para evaluar las variaciones en su composición volátil por el tiempo de almacenamiento.
- Un estudio del perfil volátil generado en cada etapa de elaboración del bacanora, para establecer las medidas necesarias para evitar o favorecer su producción de acuerdo a los aportes organolépticos o problemas sanitarios relacionados.

- Impartición de un folleto con recomendaciones a los productores sobre las prácticas de envasado y almacenamiento de la bebida con el fin de garantizar el cumplimiento de la norma, y la preservación de la calidad organoléptica.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, M. 2006. Caracterización polifásica de cepas *Saccharomyces* que llevan a cabo la fermentación alcohólica, durante la elaboración del Bacanora. Tesis Maestría en Ciencias. Coordinación de Ciencias de los Alimentos. Hermosillo, Sonora. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
- Álvarez-Ainza, M. 2009. Perspectivas para el uso de levaduras nativas durante la elaboración de bacanora. *Rev Latinoam Microbiol* 51:58-63
- Álvarez, M. 2011. Parámetros de calidad, características sensoriales del bacanora y selección de un cultivo iniciador para la fermentación de azúcares de *Agave angustifolia* Haw. Tesis de Doctorado en Ciencias. Coordinación de Ciencias de los Alimentos. Hermosillo, Sonora. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
- Álvarez-Ainza, M., González-Ríos, H., González-León, A., Ojeda-Contreras, A.J., Valenzuela-Quintanar, A.I., Acedo-Félix, E. 2013. Quantification of mayor volatile compounds from artisanal agave distilled: bacanora. *American Journal of analytical chemistry*. 4:683-688
- Aranda, A., Matallana, E., del Olmo, M. 2005. Levaduras. *Saccharomyces* I. Levaduras de primera fermentación. En: Carrascosa, A.V., Muñoz, R., y González, R (eds). *Microbiología del Vino*. AMV, Madrid. 1-38 p.
- Arellano, M., Gschaedler, A y Alcazar, M. 2012. Mayor volatile compounds analysis produced from mezcal fermentation using gas chromatography equipped headspace (GC-HS). *Gas chromatography in plant sciencie*,

wine technology toxicology and some specific applications. Bekir, S (ed). Intech, 77-88 p.

Apostolopoulou, A.A.; Flouros, A.I.; Demertzis, P.G. & Akrida-Demertzi, K., 2005, Differences in concentration of principal volatile constituents in traditional greek distillates. *Food Control*. 16, 157-164.

Bautista-Justo, M., García-Oropeza, L., Barboza-Corona, J., Parra-Negrete, L. A. 2001. El Agave tequilana Weber y la producción de tequila. *Acta Universitaria*. 11:26-34

Been, S. y Peepard, T. 1996. Characterization of tequila flavor by instrumental and sensory analysis. *J. Agric. Food Chem.* 44:557-566.

Biernaka, P., Wrdencki, W. 2012. Volatile composition of raw spirits of different botanical origin. *J. Inst. Brew.* 118:393-400.

Boulton, R., Singlenton, Vernon; Bisson, Linda; Kankee, Ralph (1995). *Principles and practices of winemaking*. Chapman and Hall. New York.

Carrillo-Trueba, L. A. 2007. Los destilados de agave en México y su denominación de origen. *Ciencias* 87:40-49.

Cedeño, M. 2003. Tequila production from agave: historical influences and contemporary processes. En: Jaques KA, Lyons TP & Kelsall DR (eds) *The Alcohol Textbook*. Pp. 225-24. Nottingham University Press.

Collado, Q. 2001. Levaduras y la Fermentación Alcohólica (I) (II). Consulta en Abril 2013. Disponible en Web: [www.verema.com](http://www.verema.com)

CRT (Consejo Regulador del Tequila). 2005. *Inducción al Tequila. Una tradición refinada*. CRT A.C. Segunda edición. México. 176

CRT (Consejo Regulador del Tequila). 2013 Comunicado de prensa 005 del 2013. Disponible en web:

[http://www.crt.org.mx/idex.php?option=com\\_content&view=category&layout=blog&id=103&Itemid=300&lang=es](http://www.crt.org.mx/idex.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=103&Itemid=300&lang=es)

- De León-Rodríguez, A., González-Hernández, L., Barba de la Rosa, A., Escalante-Minakata, P., López, M. 2006. Characterization of volatile compounds of mezcal, an ethnic alcoholic beverage obtained from *Agave salmiana*. *J Agric Food Chem* 54:1337-1341
- De León-Rodríguez, A., Escalante-Minakata, P., Jiménez-García, L.G., Ordoñez-Acevedo, J.L., Barba de la Rosa, A., P. 2008. Characterization of volatile compounds from ethnic Agave alcoholic beverages by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Technol. Biotechnol.* 46(4):448-455.
- Díaz-Montaña, M.D., Estarrón-Espinoza, y Strehaiano. 2008. Fermentative capability and aroma compound production by yeast strains isolated from *Agave tequilana* Weber juice. *Enzyme microbiology and technology.* 2(44):608-616
- Dominé, A., Supp, E., Ulbricht, Donja. 2005. Introducción al Vino. En: Andre Dominé., Ed. Köneman (eds). *El vino.* Könemann, Alemania. 927 p.
- Gutiérrez, M.C. y Droget, M. 2002. La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Identificación de compuestos volátiles por CG-MS. *BOLETÍN INTEXTER (U.P.C.).* N° 122
- Escalante-Minakata, P., Blaschek, H.P., Barba de la Rosa, A., Santos, L., De León, A. 2008. Identification of yeast and bacteria involved in the mezcal fermentation of *Agave salmiana*. *Appl Microbio* 46:626-630.
- Escalona-Buendía, 2004. Tequila como producto terminado. *Ciencia y tecnología del tequila, avances y perspectivas.* CIATEJ. 204 p.

- Fiore, C., J. Arrizon, A. Gschaedler, J. Flores and P. Romano. 2005. Comparison between yeasts from grape and agave musts for traits of technological interest *World J Microbiol Biotechnol* 21: 1141-1147.
- Fleet, G. H., 2008. Wine yeast for the future. *FEMS Yeast Res* 8: 979-995.
- Garde-Cerdan, T., Ancín-Azpilicueta C. 2006. Contribution of wild yeast to the formation of volatile compounds in inoculated wine fermentation. *Eur Food Res Technol* 222:15-25.
- Gutiérrez, M.L., Acedo, E., Valenzuela, A. 2007. Industria del bacanora y su proceso de elaboración. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5:394-404.
- Gschaedler, A., Ramírez, J., Díaz, D., Herrera, J., Arellano, M., Arrizon, L and Pinal Z. 2004. Fermentación. Etapa clave en la elaboración del tequila. En: Gschaedler, A (ed). *Ciencia y Tecnología del Tequila, Avances y perspectivas*. Centro de Investigación y Asistencia Tecnológica y Diseño del Estado de Jalisco. México. 63-120 p.
- Izquierdo, M. 2002. Intoxicación alcohólica aguda. *Adicciones*. 14:(1)175-193.
- Jiménez, A. 2009. Identificación y cuantificación de algunos alcoholes en la destilación y rectificación del mezcal obtenido del *Agave potatorum* Zucc. Tesis de licenciatura. Huajuapán de León, Oaxaca. Universidad Tecnológica de la Mixteca. 8-11 p.
- Lachance. M. A. 1995. Yeast communities in natural tequila fermentation. *Journal Antonie Van Leeuwenhoek* 68(2): 151:160
- Lachemier, D., Sohnius, E. M., Attig, R., López, M. 2006. Quantification of selected volatile constituents and anions in Mexican *Agave* spirits (tequila, mescal, sotol, bacanora). *J. Agric. Food Chem.* 54:3911-3915.
- Lappe-Oliveras, P., Ulloa, M., Arce, G., Cáceres, M., Tapia, R., Pérez, D., Larque, A. 2004. Insolation and identification of the mycobiota present in *Agave fourcroydes*. Poster PE 11, p. 175, 111f International Congress on

Yeasts. Yeast in Science and Technology, The quest for Sustainable Development. Rio de Janeiro, Brazil.

Lappe-Oliveras, P., Moreno, R., Arrizón, J., Herrera, T., García, A. and Gschaedler, A. 2008. Yeasts associated with the production of Mexican alcoholic non distilled and distilled *Agave* beverages. FEMS Yeast Research 8:1037–1052.

Lachance. M. A. 1995. Yeast communities in natural tequila fermentation. Journal Antonie Van Leeuwenhoek 68(2): 151:160

Lachenmier, D., Kanteres, F., Rehm, J. 2009 Carcinogenicity of acetaldehyde in alcoholic beverages: risk assessment outside ethanol metabolism. doi:10.1111/j.1360-0443.2009.02516.x

López-Álvarez, J.A., Díaz-Pérez, A.L., Campos-García, J. 2012. Estudio comparativo de rendimiento y contenido de compuestos volátiles en un proceso de elaboración de tequila a nivel industrial. Ciencia Nicolaita. 113(57):614-618.

López, G., y Guevara, S. 2001. Tequila, mezcal y sotol: volátiles marcadores de origen y planta (especie de agave). Investigación y Ciencia. 24:28-32.

Mancilla-Magalli, N y López, M. 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasyliirion* species. J Agri Food Chem 54:7832-7839.

Martínez-Cano, J. 2012. Proceso de preparación del tequila. Tecno Agave. 17:18-19

Mercedes-Ferreyra, M. 2006. Estudio del Proceso Biotecnológico para la elaboración de una bebida alcohólica a partir de jugo de naranjas. Tesis Doctoral. Valencia, España. Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Tecnología de Alimentos.

- Molina-Guerrero, J.A., Botello-Álvarez, J.E., Estrada-Baltazar, J.L., Navarrete-Bolaños, J.L., Jiménez-Islas, H., Cárdenas-Manríquez, M., Rico-Martínez, R. 2007. Compuestos Volátiles en el mezcal. *Revista Mecivana de Ingeniería Química*. 1(6):41-50
- NOM-168-SCTI-2004. Norma Oficial Mexicana, bebidas alcohólicas-bacanora-especificaciones de elaboración, envasado y etiquetado. *Diario oficial*, 2005.
- NMX-V-005-NORMEX-2005. Bebidas Alcohólicas-Determinación de Aldehídos, Esteres, Metanol y Alcoholes Superiores-Métodos de ensayo (Prueba). Publicación de declaratoria de vigencia en el Diario Oficial de la Federación el 23 de junio de 2005
- Núñez, L. 2001. La producción del mezcal bacanora: una oportunidad económica para Sonora. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. México. 218 p.
- Núñez, L. 2003. "Estrategias para el Desarrollo de la Industria del Bacanora". Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. México. 236 p.
- Núñez, L., Salazar, V. 2010. La producción y comercialización de bacanora como estrategia de desarrollo regional en la sierra sonorense. *Estudios Sociales*. 17:206-219.
- Pinal, L., Cornejo, E., Arellano, M., Herrera, E., Núñez, L., Arrizon, J., Gschaedler. 2008. Effect of Agave tequilana age, cultivation field location and yeast strain on tequila fermentation process. *J Int Microbiol Biotechnol* 36:655-661.
- Prado-Ramírez, R. 2004. Destilación. En: Gschaedler, A (ed). *Ciencia y Tecnología del Tequila, Avances y perspectivas*. CIATEJ. México. Pp. 122-167

- Ribani M., Collins, C. y Bottoli, C. 2007. Validation of chromatographic methods: evaluation of detection and quantification limits in the determination of impurities in Omeprazole. *Journal of chromatography*. Volume: 1556, Issue: 1-2, Elsevier. 201-205 p.
- Roldan, J., Frauca C., Dueñas A. 2003. Intoxicación por alcoholes. *ANALES Sis San Navarra* 26(1):129-139
- Salazar, V., Mungaray, A. 2009. La industria informal del mezcal bacanora. *Estudios Sociales* 17(33):164-198
- 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.
- Suárez, L.J., 2002, Impacto de las levaduras y bacterias en los aromas vínicos fermentativos. Análisis sensorial, Universidad Rovira de España, 523 p.
- Téllez-Mora, P.; Cedeño-Cruz, M. 1997. El Tequila y su elaboración. *Biotecnología* 2(2), 55-63.
- Torija-Martínez, M. J. 2002. Ecología de Levaduras, selección y adaptación a fermentaciones vínicas. Tesis doctoral. Terragona, España. Universitat Rovira i Virgili. Departamento de Bioquímica y Biotecnología
- Vallejo-Córdoba, B., González-Córdoba, A. F., Estrada-Montoya, M. C. 2004. Tequila Volatile Characterization and ethyl ester determination by solid microextraction gas chromatography/mass spectrometry analysis. *J. Agric. Food Chem.* 52:5567-5571
- Vallejo-Córdoba, B., González-Córdoba, A. F., Estrada-Montoya, M. C. 2005. Latest advances in the characterization of Mexican distilled agave beverages: tequila, mezcal and bacanora. AGFD-113 229th ACS meeting, San Diego, CA.

- Verdugo, A., Segura, L., Kirchmayr, M., Ramírez, P., Gonzáles, A., Coria, R., Gschaedler, A. 2011. Yeast communities associated with artisanal fermentations from *Agave salmiana*. *Antonie van Leeuwenhoek*. DOI 10.1007/s10482-011-9605-y
- Vera-Guzmán, A.M., 2004, Principales compuestos volátiles del mezcal de *Agave angustifolia* Haw y *Agave potatorum* Zucc del estado de Oaxaca. Tesis de Maestría en Ingeniería Bioquímica.
- Vera-Guzmán, A.M., Santiago-García, P.A., y López, M.G. 200. Compuestos volátiles aromáticos generados durante la elaboración de mezcal de *Agave angustifolia* y *Agave potatorum*. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 32 (4): 273 – 279.
- Zamora, A. 2006. Caracterización Fenotípica de levaduras presentes durante el proceso de fermentación el Bacanora. Tesis de licenciatura. Hermosillo, Sonora. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas.
- Ziółkowska, A., Jeleń, H.H. 2011. Differentiation of raw spirits of rye, corn and potato using chromatographic profiles of volatile compounds. *J. Sci. Food Agric.* 9:2630-2637.