

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/265599031>

# PERFILES AROMÁTICOS Y SENSORIALES DE TEQUILAS OBTENIDOS POR LEVADURAS DEL GÉNERO *Kloeckera* Y *Saccharomyces* EN CULTIVOS PUROS Y MIXTOS

Conference Paper · August 2010

DOI: 10.13140/2.1.1601.9848

CITATION

1

READS

1,676

5 authors, including:



**Ivonne Gonzalez-Robles**

Eurofins, Germany

10 PUBLICATIONS 33 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Mirna Estarrón-Espinosa**

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco

51 PUBLICATIONS 791 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Héctor B. Escalona-Buendía**

Metropolitan Autonomous University

111 PUBLICATIONS 1,557 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Enrique J. Herrera-López**

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco

61 PUBLICATIONS 510 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Nutraceuticals and functional foods of amaranth [View project](#)



Sensory studies in functional foods, meat and dairy products [View project](#)

# PERFILES AROMÁTICOS Y SENSORIALES DE TEQUILAS OBTENIDOS POR LEVADURAS DEL GÉNERO *Kloeckera* Y *Saccharomyces* EN CULTIVOS PUROS Y MIXTOS

Ivonne W. González-Robles<sup>1</sup>, Mirna Estarrón-Espinosa<sup>1</sup>, Héctor Escalona-Buendía<sup>1</sup>, Enrique Herrera-López<sup>1</sup> y Dulce M. Díaz-Montaña<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>: CIATEJ: CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO.

<sup>\*</sup><http://www.ciatej.net.mx>

<sup>\*</sup>[dmdm@ciatej.net.mx](mailto:dmdm@ciatej.net.mx)

**Palabras clave:** Cultivos puros y mixtos; Perfiles aromáticos y sensoriales.

## RESUMEN

Las primeras horas de la fermentación espontánea de jugo de agave esta dominada por levaduras no-*Saccharomyces* del género *Kloeckera/Hanseniaspora*. A pesar de su corto periodo activo, contribuyen a realzar el bouquet aportando notas frutales a la bebida. El objetivo del presente trabajo es realizar un estudio comparativo de los perfiles de compuestos volátiles y sensoriales del producto final obtenidos a partir de la fermentación de jugo de agave azul por levaduras tequileras del género *Kloeckera* (K1) y *Saccharomyces* (S1) en cultivo puro (CP) y mixto (CM). Diferencias significativas fueron encontradas en las concentraciones de: acetato de etilo, lactato de etilo, isobutanol y alcohol isoamilico en los destilados (95% LSD). Se determinaron más de 18 descriptores en las pruebas discriminativas encontrando diferencias entre CP-K1 y el CM ( $P < 0.05$ ). Los destilados de CP-K1 se caracterizaron por las notas: floral, anís, almendra, mentol y nuez; mientras que CM presento: mantequilla artificial, aceituna, fruta seca y plátano; siendo CP-S1 el que mayor grado de aceptación obtuvo ( $P < 0.05$ ).

## INTRODUCCIÓN

El tequila es una bebida alcohólica mexicana destilada obtenida de la fermentación del jugo de agave azul (*tequilana* Weber). Su producción conlleva múltiples pasos: cocimiento, molienda, fermentación y destilación. Durante la fermentación, por acción de las levaduras los azúcares del jugo de agave se convierten en etanol, CO<sub>2</sub> y compuestos volátiles que imparten notas aromáticas a la bebida final. En vinos, son comúnmente empleados los cultivos mixtos de levaduras no-*Saccharomyces*, en particular *Kloeckera apiculata*, *Candida stella*, *Torulaspora delbrueckii* y *Hanseniaspora uvarum*) con *S. cerevisiae*. Los cultivos mixtos ofrecen estabilidad de cultivo, resistencias a la contaminación y aumento de la riqueza aromática debido a la variedad de esteres liberados entre otros compuestos volátiles odorativamente importantes (Díaz-Montaña & Ramírez, 2009; Ciani & Picciotti, 1995). En el presente trabajo se analizaron los perfiles aromáticos y sensoriales obtenidos de los destilados de las fermentaciones del jugo de agave empleando levaduras tequileras en cultivos puros y mixtos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Microorganismos.** Los microorganismos utilizados fueron: *Saccharomyces cerevisiae* (S1) y *Kloeckera africana* (K1) pertenecientes al cepario del CIATEJ

**Medio de Fermentación y Condiciones de Cultivo.** El lote de jugo de agave fue donado por la destilería “La Caba de Oro” y almacenado a -20°C. El medio de propagación (pre-inoculo e inoculo) y de fermentación empleado fue jugo de agave ajustado a  $28 \pm 10 \text{ gL}^{-1}$  (3 °Bx) y  $100 \pm 10 \text{ g/L}$  (12 °Bx) de azúcares residuales (A.R.), respectivamente adicionado con  $1 \text{ gL}^{-1}$  de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Las condiciones de cultivo fueron: 30°C y 250 rpm por 24 h para el pre-inoculo, 12 h para el inoculo y 72 h para la fermentación. Los cultivos puros y mixtos se realizaron a nivel matraz Erlenmeyer de 1 L y biorreactor de 14 L (marca New Brunswick). Los medios de cultivo se esterilizaron a 121°C durante 15 min.

**Destilación y rectificación.** El destrozamiento y la rectificación se realizó en un destilador de acero inoxidable de 6 L con un volumen de operación de 5 L y 3-4 h por lote a  $100 \pm 10$  volts y 80-90°C.

**Compuestos volátiles.** Los compuestos volátiles fueron analizados por cromatografía de gases (CG-FID); empleando el método NOM-006-SCFI-2005.

**Evaluación Sensorial.** La prueba hedónica fue realizada con 37 consumidores. Se empleó la prueba “A” “No A”, para comparar las propiedades sensoriales de los 3 destilados con 8 jueces entrenados en 3 sesiones diferentes. El destilado K1 fue seleccionado como A. Las muestras fueron previamente preparadas a 35 % (v/v) y colocadas en frascos ámbar de 80 mL.

**Análisis de datos.** Los métodos estadísticos empleados fueron: análisis de varianza (ANOVA), la prueba de rangos múltiples (LSD) y la prueba  $\chi^2$  para comparar la concentración de compuestos volátiles entre cepas, la preferencia de los destilados y la prueba A no A, respectivamente (software Statgraphics Centurion Version 15.2.6).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Compuestos volátiles.** Las mayores concentraciones de acetaldehído, acetato de etilo, isobutanol y alcoholes amílicos se encontraron en los destilados CP-S1 y CM mientras que con CP-K1 fueron: ácido acético, lactato de etilo y furfural (Tabla 1). El Metanol presenta una mayor concentración en CP-S1 y el 1-propanol en CM. No hubo diferencias significativas en la concentración de 1-butanol entre los destilados (95 % LSD). Las diferencias obtenidas se deben principalmente a la biodiversidad que existe entre las especies de levaduras (Díaz-Montaña et al., 2008).

**Evaluación Sensorial.** En la prueba hedónica se analizó tacto en boca, aroma y olor de los destilados: D-CP-K1, D-CP-S1 y D-CM-S1+K1, mediante el apoyo de 37 panelistas. Los resultados señalan por una parte que las tres muestras de destilado son significativamente diferentes en olor, aroma y tacto ( $P < 0.05\%$ ) y la

prueba de rango múltiples (95% LSD) establece que entre D-CP-K1 y D-CM-S1+K1 no existen diferencias significativas en olor, aroma y tacto pero si las hay entre D-CP-S1 y D-CP-K1 y entre D-CP-S1 y D-CM-S1+K1, siendo D-CP-S1, el que mayor agrado en olor, aroma y tacto presentó (Fig. 1).

**Tabla 1: Compuestos aromáticos producidos por *Kloeckera* y *Saccharomyces* en cultivo puro y mixto**

| Compuesto             | CP-K1       | CP-S1       | CM-S1+K1 <sup>a</sup> |
|-----------------------|-------------|-------------|-----------------------|
| Acetaldehído          | 4.52±0.79   | 9.77±1.58   | 8.70±0.08             |
| Ácido acético         | 26.87±0.63  | 12.00±0.44  | 12.63±1.29            |
| Acetato de etilo*     | 3.36±0.19   | 7.28±0.16   | 4.92±0.81             |
| Lactato de etilo*     | 1.79±0.47   | 3.32±0.24   | 0.03±0.04             |
| Metanol               | 101.88±1.23 | 123.03±2.89 | 108.39±6.46           |
| 1-propanol            | 43.65±2.30  | 43.33±0.93  | 51.09±1.38            |
| Isobutanol*           | 35.56±1.08  | 71.59±1.00  | 68.23±0.86            |
| 1-butanol             | 0.41±0.70   | 0.03±0.04   | 0.05±0.08             |
| Alcoholes isoamilico* | 105.06±0.24 | 230.83±3.41 | 206.85±1.75           |
| Furfural              | 3.92±0.12   | 1.69±0.29   | 1.63±0.20             |

\*: Compuestos con diferencias significativas en los tres grupos; <sup>a</sup>: Cultivo mixto de K1 y S1; cada valor representa el promedio ± la desviación estándar de dos determinaciones; las concentraciones están dadas en mg/100 mL de Alcohol anhidro (CG-FID).

Para confirmar las diferencias encontradas en la prueba de consumidores, se realizó la prueba discriminativa “A no A”. Los datos de las tres replicas se analizaron a través del estadístico de prueba  $\chi^2$ , con el mismo estudio fue posible definir un perfil sensorial en olor, aroma, gusto y sensaciones trigeminales (Fig. 2).

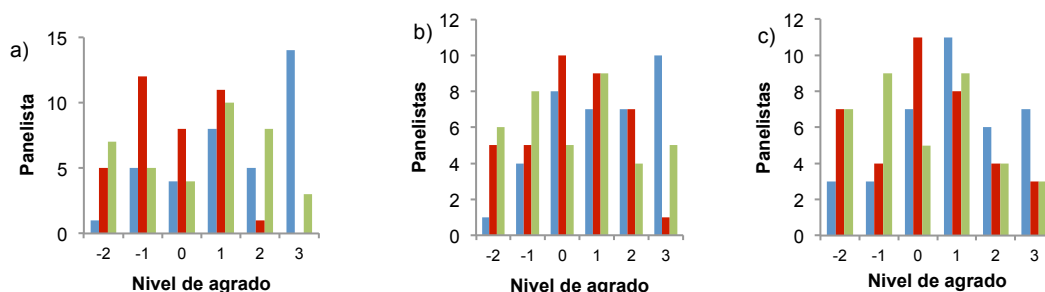


Figura 1. Perfiles de agrado en olor (a), aroma (b) y tacto (c) de los destilados en cultivo puro de S1 (azul), K1 (rojo) y del cultivo mixto de S1-K1 (verde).

Los resultados estadísticos de la prueba “A No A” indican que los jueces no encontraron diferencias significativas entre D-CP-S1 y D-CP-K1 mientras que D-CP-K1 y D-CM-S1+K1 si fueron diferentes ( $P < 0.05$ ); Se determinaron más de 18 descriptores; caracterizando al D-CP-K1 con las notas: floral, anís, almendra, mentol y nuez; mientras que el D-CM-S1+K1 se caracterizo por las notas a: mantequilla artificial, aceituna, fruta seca y plátano (Fig. 2).

## CONCLUSIONES

Diferencias significativas en las concentraciones de acetato de etilo, lactato de etilo, isobutanol y alcoholes isoamilicos se encontraron entre los destilados (95%

LSD). La evaluación de preferencia sugiere que los destilados del cultivo puro y mixto, muestran diferencias en olor, aroma y tacto ( $P < 0.05$ ); siendo el destilado D-CP-S1 el que mayor nivel de aceptación generó (95% LSD). Por otro lado la prueba A no A confirma que el destilado D-CP-K1 seleccionado como A presenta diferencias significativas con el D-CM-S1+K1 ( $P < 0.05$ ), pero no con el D-CP-S1 ( $P < 0.05$ ).

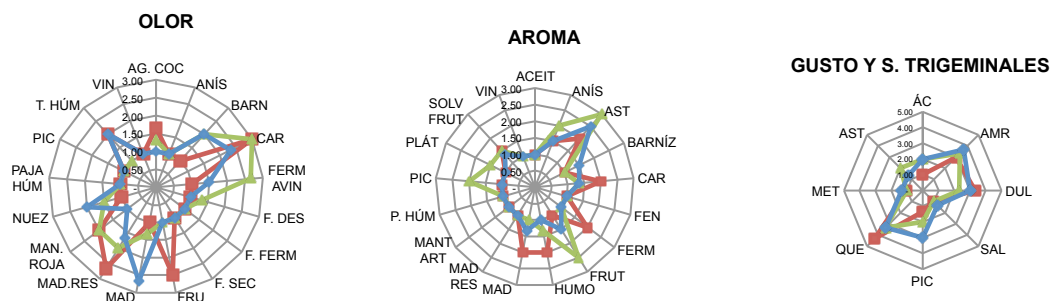


Fig. 2. Perfiles de olor, aroma, gusto y sensaciones trigeminales de los destilados de *S.cerevisiae* S1 (—■—), *K.africana* K1 (—▲—) y del Cultivo Mixto S1+K1 (—◆—).

AG.COC: Agave Cocido; ACEITE: Aceite; AC: Acido; AMR: amargo; AST: Astringente; BARN: Barniz; CAR: Caramelo; DUL: dulce; FERM AVIN: Fermentado avinagrado; FON: Fenólico; F DESCOMP: fruta descompuesta; F. FERM: Fruta fermentada; F. SEC: Fruta seca; FRU: Frutal; MAD: Madera; MAD RES: Madera resinosa, MAN. ROJA: Manzana roja, MANT ART: Mantequilla artificial MET: metálico, PAJA HÚM: Paja húmeda PLAT: plátano, PIC: picante; QUE: quemante; SOLV FRUTAL: Solvente frutal, SAL: Salado; T. HÚM: trapo húmedo y VIN: Vinagre.

## REFERENCIAS

- Cedeño M. (1995). 'Tequila Production'. *Critical Reviews in Biotechnology*. **15**:1- 11.
- Ciani M. y Picciotti G. (1995). The growth kinetics and fermentation behaviour of some non-*Saccharomyces* yeast associated with wine-making. *Biotechnology Letters*. **17**: 1247 -1250.
- Díaz-Montaño D. M. and Ramirez J. J. (2009). The Fermentative and Aromatic Ability of *Kloeckera* and *Hanseniaspora* Yeasts *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*. Satyanarayana T and Kunze G. (Eds), First Edition, 281-305. Springer Publishers. N.Delhi.
- Díaz-Montaño D., Délia M. L., Estarrón M. and Strehaiano P. (2008). Fermentative capability and aroma compound production by yeast strains isolated from *Agave tequilana* Weber juice. *Enzyme and Microbial Technology*. **42**: 608-616.
- Díaz-Montaño D. M., Favela-Torres E. and Córdova J. (2010). Improvement of growth, fermentative efficiency and ethanol tolerance of *Kloeckera africana* during the fermentation of *agave tequilana* juice by addition of yeast extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **90**: 321 - 328.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-006-SCFI-2005). *Bebidas alcohólicas Tequila Especificaciones*. [www.crt.org.mx](http://www.crt.org.mx).
- Romano P., Fiore. C., Paragiuo.M., Caruso. M. and Capece. A (2003). Function of yeast species and strains in wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*. **86**: 169 - 180.