



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA
PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**DIAGNÓSTICO DEL PROCESO ACTUAL DE ELABORACIÓN DE MEZCAL EN
LA EMPRESA "LAGUNA SECA" Y ALTERNATIVAS PARA MEJORAR SU
EFICIENCIA**

PRESENTA:

M.C. CYNTHIA ZAMORA PEDRAZA

DIRECTORA DE TESIS

DRA. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES

ASESORES

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

DR. GREGORIO ÁLVAREZ FUENTES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**DIAGNÓSTICO DEL PROCESO ACTUAL DE ELABORACIÓN DE MEZCAL EN
LA EMPRESA "LAGUNA SECA" Y ALTERNATIVAS PARA MEJORAR SU
EFICIENCIA**

PRESENTA:

M.C. CYNTHIA ZAMORA PEDRAZA

COMITÉ TUTELAR:

DIRECTOR: DRA. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES _____

ASESOR: DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ _____

ASESOR: DR. GREGORIO ÁLVAREZ FUENTES _____

SINODALES:

PRESIDENTE: Dra. Bertha Irene Juárez Flores _____

SECRETARIO: Dra. María Deogracias Ortiz Pérez _____

VOCAL: Dr. J. Rogelio Aguirre Rivera _____

VOCAL: Dr. Gregorio Álvarez Fuentes _____

VOCAL: Dra. Patricia Esther Lappe Oliveras _____

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

Este proyecto se realizó en el Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo la dirección de los Dres. Bertha Irene Juárez Flores y Juan Rogelio Aguirre Rivera.

El financiamiento fue otorgado por la Fundación Produce San Luis Potosí a través del proyecto denominado “Evaluación de las diferentes etapas del proceso de elaboración de mezcal” y por el Fondo de Apoyo a la Investigación de la UASLP C07-FAI-11-42.78.

Durante la realización de este trabajo la autora recibió una beca de estudios de posgrado por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), No. 162971.

El Programa de Doctorado en Ciencias Ambientales recibe apoyo a través del Programa Nacional de Posgrado de Calidad (PNPC).

Agradecimientos

Agradezco a Dios por lo que me ha dado, por guiar mis pasos y permitirme cumplir con esta meta.

A mi Padre (Q.E.P.D) por inculcarme el valor de superación y perseverancia, a mi madre por su apoyo incondicional, amor y bondad.

Gracias Rubén por formar parte del sacrificio, por tu estímulo y apoyo constante, porque sin ti esto no hubiera sido posible. Te Amo.

A mi hija por prestarme el tiempo que le pertenecía para poder realizar esta meta, gracias por alegrar mi vida con sus ocurrencias.

A mis hermanas América, Vegonia, Nancy y Elizabeth por el apoyo brindado, especialmente a Xóchitl por llevar más allá de su lazo sanguíneo la amistad, empatía, comprensión.

A mis sobrinos (as) por estar presente siempre con su actitud positiva, gracias Brandol por tu gran ayuda.

A mis suegros por facilitarme la estancia durante el trabajo de campo.

Dra. Bertha Irene Juárez Flores y Dr. J. Rogelio Aguirre Rivera por brindarme la oportunidad de aprender de ellos, por su paciencia, tiempo y enseñanza.

Dr. Gregorio Álvarez Fuentes y Dra. Deogracias Ortiz Pérez por sus valiosas aportaciones y apoyo durante el desarrollo de este trabajo. Así como a la Dra. Patricia Lappe por su valiosa crítica y aportaciones a este proyecto de tesis.

Jóse gracias por tu amistad, por tus sabias enseñanzas y apoyo desinteresado.

César, Florecita, Carlos, Desiré, Diana, Monse, Lidia y Rogelio gracias por su amistad y apoyo técnico a lo largo de este trabajo.

A mis amigos del PMPCA Paty, Jorge, Sandra, Rosy, Nelson, Paulina, Ángeles, Alejandra, David, Yosa, Carmen, Roció Priscila y Toño por su compañerismo y amistad.

A todos los trabajadores de la mezcalera en especial al Ing. Juan Manuel Pérez Juárez, Sr. Francisco Gallegos (Pipo, chorrero), Sr. Fernando Rodríguez (capitán de campo) por su enseñanza y apoyo durante mi estancia en la mezcalera. Así como al Sr. Jaime Moncada, Sra. Yessica Rodríguez Vargas, a los rejadores, cargadores y molineros.

A todo el personal del IIZD a la Dra. Erika García, Dr. José Luis Flores, Dr. Juan Antonio Reyes, Dr. Javier Fortanelli, Guadalupe Macías, Sr. Enrique Zavala, Sr. Evodio González, María Luisa Almendarez, Roxana Ramírez, Alba Flores, Yureida Castillo, Patricia Zavala, Sr. Jaime Silva, Sr. Alberto Hernández, Sra. Nancy Lerma e Ing. J. Carmen Rodríguez.

Agradezco a la QFB. Josefina Acosta, Q. Socorro Jasso y a las maestras Lily Batres y Leticia Vega Roque, y al M. C. Antonio Camacho por el apoyo técnico brindado.

Contenido

Resumen	1
Summary	5
1. Introducción general	8
2. Antecedentes	15
2.1 Magueyes.....	15
2.1.1 Usos.....	15
2.1.2 Metabolismo.....	17
2.1.3 Fructanos.....	18
2.1.3.1 Síntesis de fructanos.....	19
2.1.3.2 Tipos de fructanos.....	20
2.1.3.3 Aplicaciones.....	20
2.1.4 Saponinas.....	21
2.2 Mezcal y magueyes mezcaleros.....	22
2.3 Proceso de elaboración del mezcal potosino.....	26
2.4 Bibliografía citada.....	37
3. Variación de la concentración de azúcares y saponinas durante la cocción del maguey mezcalero potosino	44
3.1 Introducción.....	45
3.2 Materiales y métodos.....	46
3.2.1 Obtención de muestra.....	46
3.2.2 Abundancia de saponinas por el método de cantidad de espuma.....	46

3.2.3 Extracción de sapogeninas.....	46
3.2.4 Concentración de sapogeninas.....	47
3.2.5 Concentración de azúcares reductores (AR) por Fehling- Soxhlet.....	47
3.2.6 Concentración de azúcares reductores por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR).....	47
3.2.7 Diseño experimental.....	47
3.3 Resultados y discusión.....	47
3.4 Conclusiones.....	52
3.5 Referencias Bibliográficas.....	53
4. Eficiencia en la extracción de jugos de cabezas de maguey cocido.....	55
4.1 Introducción.....	57
4.2 Materiales y métodos.....	60
4.2.1 Obtención de muestras.....	60
4.2.2 Contenido de azúcares reductores totales (ART) estimado por el método de Fehling-Soxhlet.....	61
4.2.3 Concentración de glucosa y fructosa estimado por cromatografía líquida de alta presión (CLAP).....	61
4.2.4 Extracción de azúcares fermentables residuales en muestras de bagazo.....	62
4.2.5 Estimación del volumen de azúcares fermentables por carga.....	62

4.2.6 Diseño experimental.....	62
4.3 Resultados y discusión.....	63
4.4 Conclusiones.....	68
4.5 Bibliografía.....	69
5. Discusión general.....	71
6. Conclusiones y recomendaciones generales.....	80

Índice de cuadros y tablas

Cuadro 2.1. Especies de maguey utilizadas en la elaboración de mezcal en regiones que cuentan con la Denominación de Origen correspondiente.....	24
Tabla 3.1. Cuadrados medios del análisis de varianza y prueba de F para pH, temperatura (°C), columna de espuma (cm) concentración de sapogeninas (mg/mL de efluvo) y azúcares reductores (%) en los efluvios provenientes de la cocción de maguey.....	48

Índice de figuras

Fig. 2.1. Estructura del trisacárido 1-cetosa.....	20
Fig. 2.2. Castración del maguey. Después de cortar el cogollo el meristemo apical se extirpa con la misma barra o coa para castrar.....	27
Fig. 2.3. Maguey tierno o bruto, sin separación del meristemo apical.....	28
Fig.2.4. Maguey quiotillo. Al cortarse el cogollo, queda un hueco en el centro del meristemo apical, lo cual no ocurre en el maguey bruto o inmaduro. Este maguey es adecuado para ser aprovechado en el momento, o para ser castrado y poder diferir así su recolecta.....	28
Fig. 2.5. Piña de maguey con 18 meses aproximadamente de haber quiotado.	30
Fig. 2.6. Rejador afilando la barra desviradora.....	30
Fig. 2.7. Tumba o corte de la cabeza del maguey con la barra tumbadora.....	31
Fig. 2.8. Hornos elevados de mampostería abovedados. En la derecha destaca la escalinata de acceso al techo y en el fondo se aprecia la bóveda de la cámara de fermentación.....	31
Fig. 2.9. Molino, pileta de enjuague y prensa manual de tornillo para bagazo lavado. Fábrica “Laguna Seca”.....	33
Fig. 2.10. Equipo de destilación de la fábrica “Laguna Seca”.....	36
Fig. 3.1. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en la temperatura de salida de los efluvios de maguey.....	48
Fig. 3.2. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en el pH de salida en efluvios de maguey.....	49
Fig. 3.3. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en la concentración	

de saponinas en los efluvios de maguey.....	50
Fig. 3.4. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en la concentración de fructosa y glucosa en efluvios de maguey.....	51
Fig. 3.5. Porcentaje de azúcares reductores estimados con la técnica de Fehling-Soxhlet y por CLAR, en los efluvios generados durante la cocción de maguey.....	52
Fig. 4.1. Etapa de molienda del proceso de elaboración del mezcal en la fábrica Laguna Seca. a) Troceado del maguey en el piso de sillar. b) Prensado del maguey con la rueda de piedra o tahona. c) Enjuague del bagazo. d) Prensado del bagazo lavado. f) Bagazo residual.....	59
Fig. 4.2. Características de los jugos de maguey cocido en dos épocas del año. a) Azúcares fermentables (AF). b) pH. c) Volumen de jugo y cantidad de azúcares fermentables por carga procesada (n=3).....	64
Fig. 4.3. Características de la solución resultante del lavado del bagazo de molienda en dos épocas del año. a) Azúcares fermentables. b) pH. c) Volumen de solución y cantidad de azúcares fermentables. d) Temperatura del agua del lavado del bagazo de molienda.....	65
Fig. 4.4. Características de los mostos o jugos preparados para la fermentación en dos épocas del año. a) Azúcares fermentables (AF). b) pH. c) Volumen de mosto y cantidad de azúcares fermentables.....	67

Resumen

Mezcal es el nombre genérico que reciben los aguardientes obtenidos de la fermentación de los jugos azucarados extraídos de las cabezas o piñas (tallos y bases de pencas), maduras y cocidas, de los magueyes nativos de algunas regiones áridas y semiáridas de México. *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck es el maguey silvestre más abundante en el altiplano potosino zacatecano donde es utilizado principalmente para la elaboración del mezcal. Esta región cuenta con la Denominación de Origen "Mezcal". En el altiplano potosino se ha reconocido la existencia de tres épocas funcionales del año (épocas seca, lluviosa y fría), las cuales repercuten sobre la succulencia y riqueza de azúcares y saponinas del maguey recolectado para elaborar mezcal.

El proceso de elaboración del mezcal, ya sea en forma artesanal o semi-industrial, se inicia en el campo con la selección y recolección del maguey, seguido de la cocción, molienda, fermentación y finalmente la destilación.

En la fábrica Laguna Seca (ejido Miguel Hidalgo, Charcas, San Luis Potosí) el proceso de elaboración del mezcal es tradicional. Durante la cocción con vapor se genera gran cantidad de efluvios ricos en carbohidratos fermentables, los cuales regularmente son desechados por su riqueza de saponinas, ya que pueden influir de manera negativa en la fermentación y en las cualidades organolépticas del aguardiente. El color y aspecto del bagazo residual, revelan que probablemente aún contienen azúcares fermentables, lo cual representa una posible pérdida durante el proceso. Los objetivos de esta tesis fueron caracterizar dos etapas del proceso de producción del mezcal potosino para detectar ineficiencias en sus

puntos críticos y proponer su mejora, específicamente caracterizar los efluvios generados durante la cocción del maguey, particularmente su riqueza de azúcares y saponinas, y evaluar la eficiencia de la extracción de azúcares en la molienda. Para lograr estos objetivos se realizó un muestreo *in situ* en todas las etapas del proceso. Durante la cocción de maguey (36 h) se tomaron muestras de los efluvios generados cada 3 h, a los cuales se les midió pH, temperatura, sólidos totales (refractómetro digital), columna de espuma (saponinas), concentración de sapogeninas (técnica de Baccou) y concentración de azúcares fermentables (Fehling-Soxhlet, y cromatografía de líquidos de alta presión (CLAP)). También se evaluó la eficiencia de extracción de azúcares en la molienda; para ello se tomaron muestras del jugo de molienda, de la solución de lavado del bagazo, del bagazo de molienda, del bagazo lavado y exprimido y de la mezcla puesta a fermentar, integrada por el jugo de molienda, la solución de lavado y el caldo de fermento. A las muestras se les midió el pH, °Brix, azúcares fermentables (AF) (glucosa y fructosa) por el método de Fehling y por CLAP. Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

El pH (5.3 a 4.8) y la longitud de la columna de espuma (estimador de riqueza de saponinas) de los efluvios tendieron a disminuir con el tiempo de cocción. La persistencia de espuma y concentración de saponinas fueron más altas en la época seca. Sin embargo, el incremento de azúcares fermentables y la disminución de la columna de espuma hacia el final de la cocción, indican que estos efluvios podrían ser condensados y utilizados en la fermentación. En la época seca la concentración de carbohidratos fermentables en los efluvios se

incrementó, ya que la menor hidratación de la planta en esta época concentra sus componentes químicos.

Los contenidos de AF en los jugos de molienda de la época lluviosa (8.2 %) y la época fría (11.5 %) fueron estadísticamente diferentes, debido a la mayor hidratación de las plantas en la época lluviosa. El pH en los jugos de molienda también fue estadísticamente diferente entre épocas (lluviosa, 4.7; fría, 5.0) En el agua de lavado la concentración promedio de AF en la época lluviosa (2.31 %) y en la época fría (2.08 %), fue estadísticamente similar. La concentración de AF residuales en los bagazos provenientes del molino fue de 6.3 % en la época lluviosa y de 8.7 % en la época fría, valores diferentes estadísticamente. Los AF residuales en el bagazo lavado, fueron estadísticamente similares (3.9 % y 4.6 %) en ambas épocas, menores que en los bagazos de molienda, pero aun considerables como para contribuir a la ineficiencia del proceso. La concentración de AF en la mezcla dispuesta para fermentación, fue estadísticamente similar entre épocas, 4.55 % para la época lluviosa y 5.15 % en la época fría.

Como los AF de las cabezas de maguey son fundamentalmente fructosa y glucosa, estos glúcidos son los únicos realmente evaluados con el método de Fehling para azúcares reductores totales. Por ello, las estimaciones obtenidas con este método y las generadas por CLAP fueron estadísticamente similares, tanto en los efluvios como en los jugos de maguey, solución de lavado de bagazos y en la mezcla de estos dos con el caldo de fermento.

Aunque el volumen de jugo de molienda por carga fue estadísticamente diferente, 3429.3 L en la época lluviosa y 2233.5 L en la época fría, su aporte de AF para la fermentación (286.84 kg y 266.68 kg, respectivamente) fue estadísticamente

similar. Con los datos anteriores se logró estimar un promedio por lote de AF residuales sin extraer del bagazo de 75.1 kg y 71.7 kg en la época lluviosa y en la fría, respectivamente; con estos azúcares desperdiciados en teoría se produciría más que 100 L de mezcal con 45 °GL.

Así, solo con la mejora de la molienda y el aprovechamiento de los efluvios se podría incrementar el rendimiento por carga procesada en 165 L de mezcal con 45° GL.

Summary

Mezcal is the generic name given to spirits obtained from the fermentation of sugary juices extracted from cooked heads (stems and leaves bases) of ripe maguey species native of some arid, semiarid, and sub-humid regions of Mexico. *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck is the most abundant wild maguey in the highlands of Zacatecas San Luis Potosí highland, where is used mainly for the production of mezcal. This region has the Denomination of Origin "Mezcal". In the highlands of San Luis Potosi there are three functional seasons of the year (dry, rainy and cold season), which impact on the succulence and concentration of sugars and saponins of maguey heads collected to produce mezcal.

The mezcal elaboration process, either in artisanal, semi-industrial or traditional, or industrial way, begins in the field with the selection and collection of maguey heads, followed by their cooking, milling, juices fermentation and finally distillation. In the factory Laguna Seca (study site at Charcas, San Luis Potosí), the process of mezcal production is traditional one. During cooking with steam, a great amount of effluents are generated which are rich in carbohydrate to ferment which are discarded regularly because of its richness in saponins, and these compounds may produce a negative effect on fermentation and spirit quality. The color and appearance of the residual bagasse, reveal that probably it still contains significant amounts of sugars to ferment, which represent a possible decrease in the process efficiency. The objectives of this thesis were to characterize two steps of the mescal production process to detect their main inefficiencies and to propose their solution, specifically to characterize the effluents generated during the maguey

heads cooking, particularly their concentration of sugars and saponins, and to evaluate the milling efficiency of extraction of sugars. To achieve these objectives various samplings were performed *in situ* at all stages of these processes. During the cooking (36 h) samples were taken from the effluents generated every 3 h, in which pH, temperature, total solids, foam column height (saponins), concentration of saponins (for Baccou technique) and concentration of sugars to ferment (Fehling-Soxhlet and high pressure liquid chromatography (HPLC) were measured. Also the efficiency of extraction of sugars in milling was evaluated by sampling milling juice, bagasse washing solution, milling bagasse, washed and pressed bagasse, and from the mixture prepared for fermentation, integrated by milling juice, bagasse washing solution and fermentation broth. In all samples pH, °Brix, fermentable sugars to ferment (SF) (glucose and fructose) by Fehling and HPLC were measured. Analyses were conducted at the laboratories of the Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. The pH (5.3 to 4.8) and the length of the foam column of the effluents tended to decrease with cooking time. The persistence and height of the foam column were higher in the dry season. However, the increase in the amount of sugars to ferment and the decrease of the foam column height towards the end of cooking, indicate that these effluents may be condensed and used in the fermentation. In the dry season the concentration of sugars to ferment in the effluents increased since the loss of water at this time concentrates the chemicals in the plant. The contents of SF in the milling juices of the rainy (8.2 %) and cold season (11.5 %) were statistically different, due to the higher hydration of the plants in the rainy season. The pH in milling juices was also statistically different between seasons (wet, 4.7,

cold, 5.0). In the washing solution the average SF concentration during the rainy (2.31 %) and the cold season (2.08 %), was statistically similar. The concentration of residual SF in the milling bagasse was 6.3 %, and 8.7 % in the rainy and cold season respectively, percentages statistically different. The residual SF in the washing solution, were statistically similar (3.9 % and 4.6 %) in both periods, lower than in the milling bagasse, but still significant enough to contribute to the inefficiency of the process. The concentration of SF in the mixture prepared to fermentation, was statistically similar between seasons, 4.55 % for the rainy season and 5.15 % in the cold season. Since the SF in the maguey heads are essentially fructose and glucose, these sugars are the only ones actually tested with Fehling's method for total reducing sugars. Therefore, the estimates obtained with this method and those generated by HPLC specifically for fructose and glucose were statistically similar in the effluents and in the maguey juice, bagasse washing solution and the mixing of these two with the broth of yeast. Although the milling juice volume per load and season was statistically different (3429.3 L and 2233.5 L for the rainy and cold season, respectively), their contribution of SF (286.84 kg and 266.68 kg, respectively) was statistically similar. With the above data it was possible to estimate an average per residual SF in the bagasse of 75.1 kg and 71.7 kg for the rainy and cold season, respectively. With these wasted sugars in theory it is possible to produce more than 100 L of mezcal with 45 °GL. Thus, only by the improvement of the milling process and the effluents utilization the production by lot may be increased in 165 L of mezcal with 45° GL.

1. Introducción general

El maguey (*Agave spp.*) es un recurso natural renovable de gran importancia económica, ecológica y social (Eguiarte y Souza, 2007), y en México se encuentra el 75% de sus especies. Evidencias arqueobótanicas de su aprovechamiento como alimento se remontan a hace más que 10 000 años (Callen, 1965; Smith y Kerr, 1968; Zizumbo *et al.*, 2009). *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck es el maguey silvestre más abundante en el altiplano potosino zacatecano; en la actualidad en esta región su recolecta es destinada principalmente para la elaboración del mezcal, pero también es subutilizado como forraje (Tello y García, 1985; García, 1998; Aguirre *et al.*, 2001; Gómez *et al.*, 2009; Rzedowski, 2006). Mezcal es el nombre genérico que reciben los aguardientes obtenidos de la fermentación de los jugos azucarados extraídos de las cabezas o piñas (tallos y bases de pencas), maduras y cocidas, de los magueyes nativos de algunas regiones áridas y semiáridas de México (Aguirre *et al.*, 2001).

En el altiplano potosino el proceso de elaboración del mezcal es tradicional y se realiza en cinco etapas. El proceso se inicia en el campo con la selección, desvire o corte de pencas y tumba de las cabezas de magueyes maduros (quiotillos y castrados), los cuales presentan la mayor acumulación de polisacáridos de reserva (fructanos) (Aguirre *et al.*, 2001; Michel *et al.*, 2008). Las cabezas de maguey se cuecen para hidrolizar los fructanos en azúcares fermentables y con ello se consigue a la vez disminuir o eliminar las saponinas (guixe) al convertirse en sapogeninas (Cedeño, 2003; Waleckx *et al.*, 2008; Zamora *et al.*, 2010). La cocción se realiza por un tiempo aproximado de 36 h; se utilizan hornos elevados

de mampostería, que por la parte baja se abastecen de vapor proveniente de una caldera calentada con restos de maguey seco (mezote) y ocasionalmente con gasóleo (Pérez, 1997; Zamora *et al.*, 2010). Luego, las piñas cocidas y troceadas se exprimen en un molino de piedra rodante para extraer los jugos o mostos; el bagazo generado se rehidrata y lava con agua caliente en una pila para obtener buena parte de los azúcares remanentes entre las fibras (Aguirre *et al.*, 2001; Durán y Pulido, 2007). Posteriormente estos jugos se confinan en piletas y se inoculan con un caldo de cultivo de la microbiota nativa reciclada. Finalmente el vino resultante se destila por pasos en alambique de cobre (Pérez, 1997; Aguirre *et al.*, 2001; Aguirre, 2009).

Previamente se han reconocido y confirmado la existencia de tres épocas o estaciones funcionales del año en el altiplano potosino (épocas seca, lluviosa y fría), las cuales repercuten marcadamente sobre la succulencia y riqueza de azúcares del maguey, y por tanto, en las características de los jugos extraídos (Aguirre *et al.*, 2001). En el altiplano potosino el proceso de elaboración de mezcal se realiza en forma tradicional; al respecto, estudios realizados por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco mostraron una ineficiencia del 55 % sólo en la etapa de cocción, y de un 60 % en la fermentación (Núñez y Arellano, 2000) mientras que Aguirre *et al.* (2001) estimaron indirectamente una ineficiencia global del 100 %. Pero además de estos rendimientos bajos, el producto es de calidad variable, debido a la falta de estandarización y control de cada una de sus etapas de producción.

Este estudio se realizó en la fábrica de mezcal “Laguna Seca”, por ser representativa de la región, y porque desde su reapertura en 1990 ha logrado

trabajar de manera continua hasta el momento. Esta empresa mezcalera se ubica en el municipio de Charcas, San Luis Potosí, a 23° 17' 44" de Latitud Norte, 100° 55' 49" de Latitud Oeste y 1962 msnm.

La creciente demanda de los aguardientes de maguey en nivel nacional y en el mercado de exportación, el tratarse de un recurso natural abundante en la región, y que ésta cuenta con la Denominación de Origen "Mezcal", pueden ser una oportunidad para promover el desarrollo de las comunidades del altiplano potosino. Sin embargo, en el altiplano potosino se siguen utilizando los procesos tradicionales para la elaboración de mezcal, lo cual ha dificultado su adaptación a las exigencias de calidad, eficiencia y competitividad del mercado local y de exportación. En el área de estudio, esto podría lograrse partiendo del análisis de los puntos críticos del proceso de elaboración del mezcal, lo cual permitiría fundamentar cambios para estandarizar el proceso y la calidad, incrementar los rendimientos y mejorar la eficiencia en la producción de mezcal, y de manera concomitante generar las razones para conservar y explotar de forma adecuada las magueyeras potosinas.

Por lo precedente, los objetivos del presente estudio son:

- 1) Caracterizar el proceso de producción del mezcal potosino para detectar ineficiencias en sus puntos críticos y proponer su mejora.
- 2) Caracterizar los efluvios generados durante la cocción del maguey, particularmente su riqueza de azúcares y saponinas.
- 3) Evaluar la eficiencia de la extracción de azúcares en la molienda.

Para lograr la caracterización del proceso se obtuvieron muestras *in situ* en todas sus etapas, excepto en la fermentación, por ser el objeto de otra tesis simultánea. Por razones de tiempo la evaluación de la hidrólisis y la destilación se excluyeron de esta memoria de tesis. Durante la cocción de maguey (30 h) se tomaron muestras de los efluvios generados cada 3 h, a los cuales se les midió pH, temperatura, sólidos totales, columna de espuma (saponinas), concentración de saponinas y concentración de azúcares reductores totales (por Fehling-Soxhlet, y fructosa y glucosa por cromatografía de líquidos de alta presión) (Baccou *et al.*, 1977; Kirk *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2007; Michel *et al.*, 2008). También, se evaluó la eficiencia de extracción de azúcares en molienda. Se tomaron muestras del jugo de molienda, de la solución de lavado del bagazo, del bagazo de molienda, y del bagazo lavado y exprimido y de la mezcla puesta a fermentar, integrada por el jugo de molienda, la solución de lavado y el caldo de fermento a los que se les midió el pH, °Brix, azúcares con los métodos antes señalados. Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Esta tesis la integran tres partes. La primera es una revisión bibliográfica sobre el género *Agave*, sus usos, metabolismo, polisacáridos de reserva (fructanos), metabolitos secundarios (saponinas), así como el proceso de elaboración del mezcal potosino y sus diferencias con los de otras regiones mezcaleras. La segunda presenta la caracterización y el análisis de los efluvios generados durante la cocción del maguey. Y la tercera detalla la eficiencia de la extracción de los jugos del maguey con la prensa de piedra. Finalmente, se presenta una discusión general, conclusiones y recomendaciones.

Bibliografía

- Aguirre R., J. R.; H. Charcas S.; J. L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología. San Luis Potosí, S. L. P. México. 78 p.
- Aguirre R., J. R. 2009. Mezcal potosino un tesoro escondido. *Por Amor al Arte*. 50:8-9.
- Baccou, J. C.; F. Lambert; Y. Sauvaire. 1977. Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. *The Analyst*. 102: 448-465.
- Callen, E. O. 1965. Food habits of some Pre-Columbian Mexican Indians. *Economic Botany*. 19: 335-343.
- Cedeño C., M. 2003. Production of tequila from agave: historial influences and contemporary processes. In: K. Jacques; T. P. Lyons; D. R. Kelsall (Eds.). *The alcohol textbook*. (4th ed). Nottingham University. Nottingham, England. pp. 223-245.
- Durán, H. M.; J. L. Pulido. 2007. Análisis de la molienda en el proceso de elaboración de mezcal. *Información Tecnológica*. 18(1): 47-52.
- Eguiarte, L. E.; V. Souza. 2007. Historia del agave y sus parientes: evolución y ecología. En: P. Colunga G.; A. Larqué S.; L. E. Eguiarte; D. Zizumbo V. (Eds.). *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. CICY, CONACYT, CONABIO, SEMARNAT, INE. Mérida, Yucatán, México. pp 3-21.
- García M., A. 1998. Con sabor a maguey. Guía de la colección nacional de agaváceas y nolináceas del Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM. UNAM, SIGSA. México. 114 p.

- Gómez y G., A.; J. M. Pinos R.; J. R. Aguirre R. 2009. Manual de producción caprina. UASLP. San Luis Potosí. S.L.P., México. 186 p.
- Kirk R., S.; R. Sawyer; H. Edan. 2002. Composición y análisis de alimentos de pearson. Novena Edición. CECOSA. México. 777p.
- Michel C., C.; B. I. Juárez F.; J. R. Aguirre R.; J. M. Pinos R. 2008. Quantitative characterization of non-structural carbohydrates of mezcal agave (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick). Journal of Agricultural Food and Chemistry 56: 5753-5760.
- Núñez V., M. de la L.; M. Arellano P. 2000. Informe final de la asistencia técnica realizada en la empresa "Cía. Vinícola Alfa, S. A. de C. V.". CIATEJ. Guadalajara, Jal. Méxco. 24 p.
- Pérez Z., M. R. 1997. El mezcal en el altiplano potosino zacatecano. Bebidas Mexicanas. Febrero-marzo. 91-97.
- Rossi, C. A.; M. de León; G. L. González; A. M. Pereyra. 2007. Presencia de metabolitos secundarios en el follaje de diez leñosas de ramoneo en el bosque xerofítico del chaco árido argentino. Tropical and Subtropical Agroecosystems (7): 133-143.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. 1ra edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 504p.
- Smith, C. E.; T. Kerr. 1968. Pre-conquest plant fibers from the Tehuacán valley, Mexico. Economic Botany. 22(4):354-358.
- Tello B., J. J.; E. García M. 1985. The mezcal industry in the altiplano potosino-zacatecano of North-Central Mexico. Desert Plants. 7(2): 81-87.

- Waleckx, E.; A. Gschaedler; B. Colonna C.; P. Monsan. 2008. Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. *Food Chemistry*. 108: 40-48.
- Zamora P., C.; B. I. Juárez F.; J. R. Aguirre R.; D. Ortiz P.; C. I. Godínez H.; G. Álvarez F. 2010. Variación de la concentración de azúcares y saponinas durante la cocción del maguey mezcalero potosino. *e-Gnosis*. 8(7):1-11.
- Zizumbo V., D.; F. González Z.; A. Olay B.; R. Platas R.; M. Cuevas S.; L. Almendros L.; P. Colunga G. 2009. Archaeological evidence of the cultural importance of *Agave* spp. in Pre-Hispanic Colima, Mexico. *Economic Botany*. 63(3): 288:302.

2 Antecedentes

2.1 Magueyes

El género *Agave* (familia Agavaceae) se distribuye del sur de los Estados Unidos a Colombia y Venezuela; está conformado por alrededor de 200 especies, de las cuales aproximadamente el 75 % se encuentra en México, territorio considerado como su centro de origen y domesticación, donde estas plantas son llamadas comúnmente magueyes (Gentry, 1982; García, 1998 y 2007; Eguiarte y Souza, 2007). Las especies mexicanas de maguey pueden encontrarse desde el nivel del mar hasta los 3400 m de altitud y son especialmente abundantes en el matorral crasicaule (García, 2007; Rzedowski, 2006).

Los magueyes son plantas xerófitas, con hojas dispuestas en rosetas y formadas en el ápice de un tallo, el cual puede ser corto o largo; las hojas o pencas por lo general son suculentas, fibrosas, y su forma, margen y tamaño varía de acuerdo con las especies (García, 2007).

Agave salmiana Otto ex Salm-Dyck es una especie silvestre, abundante en buena parte de la vegetación natural del altiplano potosino zacatecano. En el altiplano potosino se ha reconocido la existencia de tres épocas funcionales del año (épocas seca, lluviosa y fría), las cuales repercuten sobre la succulencia y riqueza de azúcares y saponinas del maguey recolectado para elaborar mezcal (Aguirre *et al.*, 2001).

2.1.1 Usos

La primera forma de aprovechamiento del maguey fue como alimento (agua y

azúcares), como ha sido demostrado al encontrarse restos de fibras mascadas de hace más que 10 000 años. Seguramente al observarse que atraían a los animales durante la floración, los quiotes o escapos florales, comenzaron a ser cortados y consumidos por su jugo casi sin saponinas, para luego descubrir que asados, como resultado de incendios naturales, resultaban ser más dulces (Callen, 1965; Smith y Kerr, 1968; García, 1998; Blomberg, 2000; Aguirre *et al.*, 2001). Así, las cabezas de maguey (tallo y bases de pencas) comenzaron a ser recolectadas y asadas sistemáticamente, para sortear con ello la escasez estacional de alimento. El siguiente paso en la diversificación de las formas de consumo del maguey fue posiblemente descubrir que el jugo azucarado de las cabezas cocidas, macerándolas o exprimiéndolas, al fermentarse espontáneamente en condiciones naturales (humedad, temperatura y microbiota nativa) generaba una bebida alcohólica fermentada, a la que indistintamente se le llamó mezcal (Aguirre *et al.*, 2001; Aguirre, 2009). Pero no fue sino hasta la introducción clandestina del alambique filipino por marineros de la Nao de China en el siglo XVII, que se inició la destilación del vino de mezcal, para obtenerse los distintos aguardientes de maguey, entre los que se encuentran el bacanora, el tequila y el mezcal (García, 1998, 2007; Vázquez, 2007; Aguirre, 2009).

Debido a su polivalencia, el maguey también se ha aprovechado por las fibras duras de sus hojas (ixtle); sus espinas terminales, como clavos o agujas; el quiote y pencas para vigas y techumbres; como medicina (depurador de la sangre); combustible (plantas secas o mesiate); agroforestería (cercos vivos, control de erosión en laderas); así como por su alto contenido de saponinas en la elaboración de jabones y plaguicidas (Payno, 1864; Sánchez, 1979; Anónimo,

1997; Venero, 2006; García, 2007). Estudios recientes, proponen al maguey como materia prima para la obtención de biocombustible (etanol) (Davis *et al.*, 2011). Sin embargo, su uso principal en la actualidad es en la elaboración de bebidas alcohólicas fermentada (pulque) y destiladas, reconocidas en nivel mundial (Sánchez, 1979; Blomberg, 2000; López y Guevara, 2001).

Por lo anterior, en México los magueyes han tenido y tienen una gran importancia económica y cultural, particularmente en sus zonas áridas y semiáridas. Además, ecológicamente también son muy importantes, pues muchas de sus especies son dominantes en ecosistemas del país, y en algunos casos representan especies clave en la elaboración de numerosos productos (Eguiarte y Souza, 2007). Por ello, fue nombrado “el árbol de las maravillas” en el siglo XVI (Payno, 1864).

2.1.2 Metabolismo

Los magueyes presentan el metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC), característico de plantas xerófitas, el cual les confiere resistencia a sequedad extrema del suelo y del aire (Gentry, 1982; Aguirre *et al.*, 2001; Smith y Smith, 2001).

Este tipo de plantas durante la noche abre sus estomas, y del dióxido de carbono (CO₂) del aire incorporado se genera oxalacetato, por medio de la carboxilación del fosfoenolpiruvato (PEP) mediante las enzimas malato deshidrogenasa o asparto transaminasa este oxalacetato forma malato o aspartato (moléculas de cuatro átomos de carbono), los cuales se acumulan en las vacuolas. Estos ácidos orgánicos durante el día se descarboxilan produciendo CO₂, el cual entra al ciclo de Calvin para la síntesis de azúcares (Hopkins, 1999; Smith y Smith, 2001).

El ciclo de Calvin se inicia con la incorporación del CO_2 al carbonilo de la ribulosa 1,5 bisfosfato (RuBP), reacción catalizada por la carboxilasa de la rubisco, en la cual se producen dos moléculas de 3 fosfoglicerato (3PG). Cada molécula de 3PG es fosforilada por el trifosfato de adenosina (ATP); esta reacción es catalizada por la fosfoglicerato quinasa y produce 1,3 bifosfoglicerato, con liberación de un fosfato y reducción a gliceraldehído 3 fosfato (G3P); parte de este compuesto interviene en la formación de hexosas y finalmente polisacáridos, y la otra fracción regenera la ribulosa 1,5 bisfosfato (Mathews y Van Holde, 1998).

El G3P puede isomerizarse a dihidroxiacetona fosfato (DHAP) por la triosa fosfato isomerasa. Una molécula de G3P y una de DHAP se combinan mediante la enzima fructosa bisfosfato aldolasa, para producir fructosa 1, 6 bisfosfato (F1,6BP), que al desfosforilarse da lugar a la fructosa 6 fosfato (F6P). La F6P se isomeriza a glucosa 6 fosfato (G6P) y finalmente a glucosa 1 fosfato (G1P), precursora de la formación de oligosacáridos y polisacáridos en la planta. La glucosa y fructosa son las hexosas más importantes como material energético en la planta; su unión forma la sacarosa (Hopkins, 1999). La sacarosa es el producto fotosintético más utilizado para el transporte de carbohidratos a través de la planta; su síntesis la regula la sacarosa fosfato sintasa. La sacarosa también constituye un sustrato para la síntesis de fructanos (Wang y Nobel, 1998).

2.1.3 Fructanos

Los fructanos son carbohidratos de reserva de las plantas, formados por unidades fructosil y una molécula de glucosa terminal; pueden ser lineales, ramificados y con menor frecuencia cíclicos; son solubles en agua y no reductores. En la célula

se sintetizan y almacenan en la vacuola; en la planta se acumulan en tallos o raíces y tienen también funciones muy importantes como la osmoregulación, durante periodos de sequía o de bajas temperaturas (Wang y Nobel, 1998). El estudio de los fructanos comenzó en 1804 cuando Rose descubrió que el polisacárido almacenado en las raíces de *Inula helenium* no era almidón, sino lo que en 1818 Thomson llamó inulina (Suzuki y Chatterton, 1993; Livingston *et al.*, 2007). Sin embargo, su presencia en los magueyes se estableció hasta 1887 (Suzuki y Chatterton, 1993). En 1953, Sánchez Marroquín y Hope consignaron la presencia de inulina $\beta(1,2)$ en *A. tequilana* y *A. americana*. Para 1968, Edelman y Jefford ya propusieron un mecanismo de síntesis de fructanos (Vinj y Smeekens, 1999).

Wang y Nobel (1998), identificaron un pentofructano en tejido vascular de *A. deserti*. Por otro lado, López *et al.* (2003) describieron la presencia de una mezcla compleja de fructoligosacáridos del tipo fructano con enlaces $\beta(2-1)$, $\beta(2-6)$ y fracciones ramificadas en *A. tequilana*, a los cuales denominaron agavinas.

2.1.3.1 Síntesis de fructanos. En ciertas plantas, los fructanos son sintetizados a partir de la sacarosa por la acción de dos o más diferentes fructosiltransferasas. La primera enzima que inicia la síntesis es la sacarosa fructosil transferasa (1-SST), la cual cataliza la transferencia del residuo fructosil de una sacarosa a otra molécula de sacarosa, de donde resulta el trisacárido 1-cetosa (Figura 2.1) (Vinj y Smeekens, 1999).

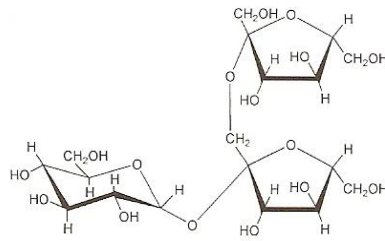


Fig. 2.1. Estructura del trisacárido 1-cetosa.

2.1.3.2 Tipos de fructanos. Actualmente, se conocen seis tipos de fructanos de la unión β -fructofuranocil: 1) Inulina, molécula lineal unida con $\beta(2-1)$ -fructofuranosil, común en las Asteraceae; 2) levanos, con uniones $\beta(2-6)$ en *Phleum pratense*; 3) graminanos, mezcla de inulina y levanos por lo general ramificados, encontrados en el trigo; 4) neoserias de inulina, que contienen una fracción de glucosa entre dos unidades fructosil $\beta(2-1)$, registrados en cebolla y espárragos; 5) neolevanos, formados por uniones $\beta(2-1)$ y $\beta(2-6)$ con unidades fructosil, encontrados en avena; y 6) las agavinas, que contienen principalmente enlaces $\beta(2-1)$ y $\beta(2-6)$, descritos en *A. tequilana* (López *et al.*, 2003; Mancilla y López, 2006; Waleckx *et al.*, 2008).

2.1.3.3 Aplicaciones. Los fructanos son oligosacáridos no digeribles por los humanos; por ello, son aprovechados como prebióticos (alimentos que proporcionan beneficios para la salud, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades), como la oligofructosa (FOS y agavinas) procedente de los fructanos del maguey, reconocida y utilizada para el control de la flora intestinal (López *et al.*, 2005). Además de regular el apetito, los fructanos

modifican el metabolismo hepático de lípidos y glucosa, ya que promueven la síntesis del glucopéptido 1 (GLP-1) en el colon (Delzene *et al.*, 2002; Urías *et al.*, 2008). El jarabe alto en fructosa generado por la hidrólisis de los fructanos de maguey, es utilizado como energético y edulcorante alternativo o especial, por su bajo índice glucémico y su alto poder edulcorante, entre otras propiedades (García, 2006).

Así mismo, la hidrólisis de los fructanos (fructosa y glucosa en menor proporción) es aprovechada por la industria alimentaria para la fabricación de vino (pulque) y aguardientes, como el mezcal, tequila y bacanora (Goncalves, 1985).

Los fructanos de maguey son de particular importancia, no sólo por su empleo en la obtención de aguamiel (savia elaborada), pulque y aguardientes, sino porque amplían las posibilidades de aprovechamiento integral de la planta (Anónimo, 2004).

2.1.4 Saponinas

Las saponinas son metabolitos secundarios presentes en más que 100 familias de plantas, así como en algunas bacterias y animales marinos, como los pepinos de mar (Güclü y Mazza, 2007). Estas sustancias están formadas por un núcleo no polar llamado aglicón, el cual puede ser triterpénico o esterooidal, unido por medio de enlaces glucosídicos o ésteres a una o más cadenas de monosacáridos (hidrofílicos), como la glucosa, arabinosa, ramnosa, galactosa y xilosa (Vincken *et al.*, 2007). Las saponinas esteroidales se encuentran por lo general en monocotiledóneas, como los magueyes. La síntesis de las geninas esteroídicas parte de un esqueleto hexacíclico de 27 átomos de carbón (núcleo espirostano).

Debido a su naturaleza química, las saponinas funcionan como energía almacenada; por ello, pueden ser hidrolizadas generando así azúcares importantes para el metabolismo. Cuando se hidrolizan, la parte polar (azúcares) se separa y el aglicón recibe la denominación genérica de sapogenina (es decir, la terminación ina se cambia a genina) y pierde todas sus características distintivas (Vincken *et al.*, 2007). Las saponinas se caracterizan por formar soluciones espumantes y emulsificantes con propiedades farmacológicas y medicinales, por aumentar la permeabilidad celular y destruir los glóbulos rojos, así como por presentar acción antimicrobiana, insecticida y molusquicida (Bruneton, 1991; Vincken *et al.*, 2007).

Algunas de las saponinas encontradas en el género *Agave* son: la hecogenina, manogenina, disogenina, yucagenina, agavogenina, sarsasapogenina, texogenina, esmilagenina, gitogenina, tigogenina y la clorogenina (Jian-Ming *et al.*, 2004; Hernández *et al.*, 2005). Durante la elaboración de mezcal, la presencia de saponinas le confiere un sabor amargo a los jugos de maguey cocido, el cual persiste en el aguardiente, y por su poder lítico, perjudica el proceso de fermentación.

2.2 Mezcal y magueyes mezcaleros

La palabra mezcal proviene del náhuatl mexcalli, del prefijo metl (maguey) e ixcalli (cocido o hervido) (Aguirre, 2009; Simeon, 1999). Por tanto, actualmente el nombre genérico “mezcal” es para cualquier bebida alcohólica generada de la destilación de los jugos hidrolizados y fermentados provenientes de las cabezas de cualquier especie de maguey (Aguirre *et al.*, 2001).

Las especies de maguey cultivadas y silvestres utilizadas para la elaboración de mezcal (Cuadro 2.1), deben por norma desarrollarse en las entidades federativas, municipios y regiones que se señalan en la Declaración General de Protección a la Denominación de Origen (DO) “Mezcal” (Anónimo, 1994; Aguirre *et al.*, 2001; Jacques *et al.*, 2007). Actualmente se reconocen 213 bebidas alcohólicas europeas con DO y sólo tres mexicanas provenientes del maguey (mezcal, tequila y bacanora) (Valenzuela, 2007). Lo anterior ha permitido su exportación a países de América, Europa y Asia, misma que se ha incrementado día con día.

En México, la DO de mezcal se encuentra regulada por las Normas Oficiales Mexicanas (NOM), y organismos de certificación acreditados que verifican y vigilan que el producto efectivamente mantenga los estándares de calidad establecidos, como son el Consejo Mexicano Regulador de la Calidad de Mezcal, A. C. (COMERCAM, A. C.) y el Patronato Nacional de la Industria del Mezcal, A. C.

Oficialmente la DO “Mezcal” sólo comprende los estados de Oaxaca, Durango, Guerrero, Zacatecas, San Luis Potosí y Tamaulipas, y parte del estado de Guanajuato (Anónimo, 1994; DOF, 2003; Valenzuela, 2007). De acuerdo con lo descrito por Aguirre *et al.* (2001) y la CONABIO (2006), las características generales de las especies más utilizadas para la elaboración de mezcal en regiones con DO se muestran en el Cuadro 2.1.

Los magueyes mezcaleros son monocárpicos, es decir, que florecen una sola vez en su vida y mueren al terminar la reproducción; el escapo floral o quiote sale del centro de la planta cuando se ha acumulado la mayor cantidad de fructanos posible para invertirse en la reproducción. El quiote es fuerte y está cubierto de brácteas grandes y triangulares (Macedo, 1950; García, 2007). Para la

Cuadro 2.1. Especies de maguey utilizadas en la elaboración de mezcal en regiones que cuentan con la Denominación de Origen correspondiente.

Localización	Especie	Descripción	Distribución
San Luis Potosí y Zacatecas	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i>	Roseta 2 m ancho y 1.5 m de alto Hojas lanceoladas gruesas, carnosas, color mate, verde grisáceo blanquecino Espinas terminal recta de 4 a 10 cm de longitud y de 7 a 11 mm de su base; laterales color castaño oscuro a castaño-grisáceo y miden de 3 a 20 mm y se apartan de 0.5 a 5.0 cm entre sí. Inflorescencia ramificada hasta 8 m de alto Reproducción semilla, hijuelo y bulbilos	Se encuentra desde 1 000 a 2 250 msm en climas que van de semiseco (BS ₁) a seco (BS ₀), precipitación pluvial de 320 a 720 mm anuales, temperaturas extremas en invierno de -12 °C y 35 °C en verano. El sustrato óptimo es de origen ígneo, somero o moderadamente profundo y puede encontrarse en el matorral desértico micrófilo, crasicaule y en pastizales.
	<i>A. scabra</i> ssp. <i>potosiensis</i>	Roseta 2 m ancho y 1 m de alto Hojas rígidas lanceoladas y escabrosa gris verdes Espinas grandes y anchas Inflorescencia ramificada hasta 5 m de alto Reproducción semilla e hijuelo	1200-1900 msnm
Oaxaca	<i>A. angustifolia</i>	Roseta 1.5 m ancho y 1 m de alto Hojas rectas, angostas y rígidas, verde claro a grisáceo Espinas pequeñas Inflorescencia ramificada hasta 5 m de alto Reproducción semilla, bulbito e hijuelo	Propia de la zona de transición entre los desiertos del noroeste y los bosques de la Sierra Madre Occidental
	<i>A. potatorum</i>	Roseta 1 m ancho y 70 cm de alto Hojas ovaladas, márgenes ondulados, verde blanzuzco Espinas curvas oscuras Inflorescencia ramificada hasta 4 m de alto Reproducción semilla	Característico de las partes interiores y secas de la Sierra Madre del Sur, valle de Tehuacán y las sierras de Oaxaca.
	<i>A. marmorata</i>	Roseta 2 m diámetro y 1.5 m de alto Hojas onduladas y abiertas horizontales sobre el verde oscuro Espinas grandes Inflorescencia ramificada hasta 4.5 m de alto Reproducción semilla	Se encuentra en selvas bajas y matorrales de la Sierra Madre del Sur, desde el extremo oriente del Balsas hasta el istmo de Tehuantepec.
	<i>A. karwinskii</i>	Roseta 1.5 m ancho y 1.5 m de alto sobre un tronco de hasta 2.5 m Hojas rectas y angostas, verde oscuro y pequeñas Espinas pequeñas Inflorescencia ramificada hasta 3.5 m de alto por encima de la planta. Reproducción semilla, bulbito e hijuelo	Su distribución se limita a las zonas áridas del valle de Tehuacán y los valles centrales de Oaxaca, entre los 750 y 2 000 msnm.
Guerrero	<i>A. cupreata</i>	Roseta 1m diámetro y 1.5 m de alto Hojas ampliamente lanceoladas verde brillante Espinas grandes y curvas de color cobre Inflorescencia ramificada hasta 6 m de alto Reproducción semilla	Endémico de la cuenca del Balsas; este maguey silvestre habita en bosque de pino y encino, en pastizales, palmares y selvas bajas.
	<i>A. angustifolia</i> y <i>A. salmiana</i>	Anteriormente descritas	

Cuadro. 2.1. Continuación

Localización	Especie	Descripción	Distribución
Durango	<i>A. duranguensis</i>	Roseta 1.8 m diámetro y 1.5 m de alto Hojas glauco grisáceas y ásperas Espinas grandes y prominentes Inflorescencia ramificada hasta 4.5 m de alto Reproducción semilla e hijuelo	Crecen en matorrales de las planicies desérticas y los bosques de pino-encino de las sierras de Durango y Zacatecas.
Guanajuato	<i>A. tequilana</i> y <i>A. salmiana</i>	Anteriormente descritas	
Tamaulipas	<i>A. salmiana</i> y <i>A. tequilana</i>	Anteriormente descritas	

Fuente: Aguirre *et al.* (2001); CONABIO, (2006); Vázquez *et al.* (2007).

reproducción sexual, es requerida la polinización efectuada por animales, principalmente murciélagos y con menor frecuencia aves e insectos (Tello y García, 1985; Aguirre *et al.*, 2001; García, 2007). Para hacer el mezcal, el maguey se aprovecha justo antes de que empiece a formarse el qurote, por ser cuando tiene mayor cantidad de azúcares almacenados en el tallo (Aguirre *et al.*, 2001). La mayor parte de los magueyes se propaga de manera asexual, pues generalmente por medio de sus rizomas producen clones alrededor de la planta madre llamados hijuelos, los cuales más tarde generan sus propias raíces y originan plantas independientes (García, 2007).

En particular en el altiplano potosino, *A. salmiana* es una especie silvestre que se reproduce principalmente por hijuelos. Su aprovechamiento actual para la elaboración de aguardiente sólo representa una parte mínima de la cantidad disponible. El fundamento de su manejo sustentable radica en la utilización restringida a plantas maduras, las cuales se identifican por tener el cogollo adelgazado en su base, pencas sin desplegar de menor tamaño, con espinas

terminales negras y brillantes, y se les conoce como **maguay quiotillo** o **maguay acarrillado** (Tello y García, 1985; Aguirre *et al.*, 2001).

Anteriormente lo común era que, cuando el maguay alcanzaba su madurez deseable (quiotillo), se le castraba (Figura 2.2). La castración consiste en retirar el meristemo apical de la planta, con la finalidad de evitar la reproducción sexual y la pérdida de carbohidratos de reserva; estas plantas castradas pueden entonces recolectarse gradualmente, de acuerdo con la demanda, durante un periodo hasta de 24 meses, con ciertas pérdidas de reservas debidas a la senescencia foliar y suspensión de la formación de hojas (Aguirre *et al.*, 2001). Esta actividad sólo se sigue llevando a cabo en la región del altiplano potosino zacatecano, pero ha dejado de practicarse en los ejidos que abastecen a la fábrica Laguna Seca, debida a la escasa demanda actual de materia prima.

2.3 Proceso de elaboración del mezcal potosino

El proceso de elaboración de aguardientes de maguay puede ser artesanal, tradicional o industrial; sus diferencias comienzan con la especie de maguay a utilizar (materia prima) y siguen con la infraestructura y tecnología empleada; pero en general en el proceso se reconocen cinco etapas o pasos (Cedeño, 2003). En la región mezcalera potosina este proceso se realiza en forma tradicional, de acuerdo con la siguiente secuencia (Tello y García, 1985; Pérez, 1997; Aguirre *et al.*, 2001).

1) Se inicia con la **selección y recolección del maguay en el campo**, donde naturalmente se presenta gran variación en los estados de madurez de la planta, a



Fig. 2.2 Castración del maguey. Después de cortar el cogollo el meristemo apical se extirpa con la misma barra o coa para castrar.

pesar de su tamaño; así se reconoce el maguey tierno o bruto (Figura 2.3), inadecuado para ser utilizado, pues aún requiere de uno a dos años para alcanzar la madurez (mayor acumulación de reservas y menor de saponinas), aunque presente un tamaño similar o mayor que algunos maduros; el maguey quietillo (Figura 2.4) aprovechable, pues florecerá en menos de un año (con aproximadamente 12 años de edad); y el maguey castrado que ya puede ser aprovechado cuando se requiera (maguey quietillo, al cual se le retiró el meristemo apical para evitar el uso de las reservas en la floración y la producción de semillas (con aproximadamente 14 años de edad) (Aguirre *et al.*, 2001). Esta variación en la madurez y calidad de la materia prima explica en parte la deficiencia global del proceso estimada en cerca del 100% (Aguirre *et al.*, 2001).



Fig. 2.3. Maguey tierno o bruto, sin separación del meristemo apical.

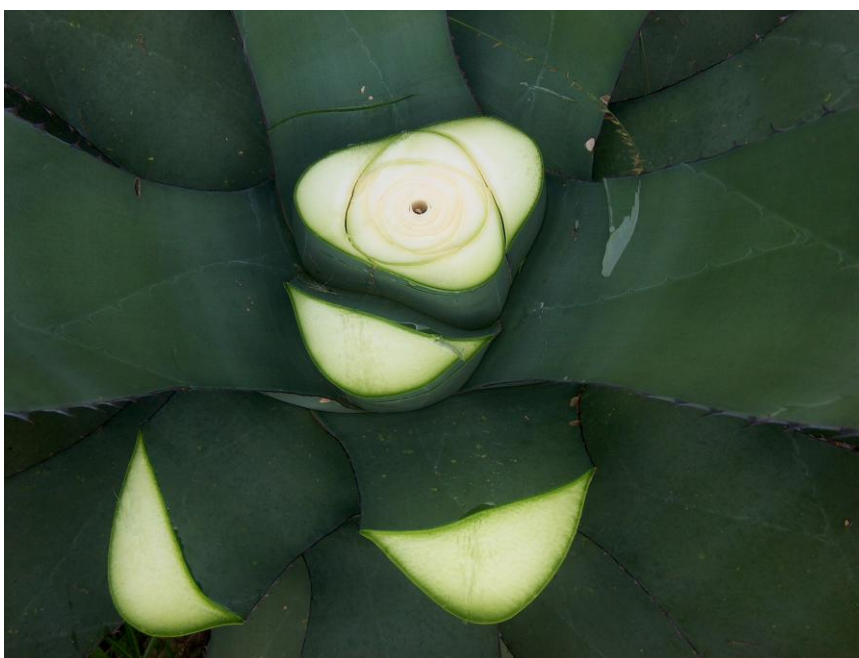


Fig. 2.4. Maguey quietillo. Al cortarse el cogollo, queda un hueco en el centro del meristemo apical, lo cual no ocurre en el maguey bruto o inmaduro. Este maguey es adecuado para ser aprovechado en el momento, o para ser castrado y poder diferir así su recolecta.

Actualmente en el área de la fábrica Laguna Seca se recolectan principalmente plantas quiotillas (Figura 2.4), y en menor proporción magueyes quiotados que fueron luego castrados por animales o desquiotados (Figura 2.5), lo cual es adecuado pues las cabezas de quiotillos tienen la mayor concentración de fructanos (Aguirre *et al.*, 2001; Michel *et al.*, 2008). Una vez que el capitán de campo identifica las plantas a ser aprovechadas, los rejadores cortan o desviran las pencas de la planta en pie y lo más próximo a su base, con una coa redonda de hierro forjado llamada barra desviradora (Figura 2.6). Con esta misma herramienta y el resto de la planta aún en pie, los rejadores apuran el recorte de las pencas lo más posible por recomendaciones técnicas recientes, para conformar así una estructura compuesta por el tallo y las bases de pencas nombrada cabeza o piña. Luego, con la ayuda de una barra tumbadora, similar a la barra desviradora pero más pesada y con hoja de menor diámetro, los rejadores realizan un corte o bocado en la parte baja de la cabeza para poder cortarlas desde su base (Figura 2.7) (Aguirre *et al.*, 2001; Pinos *et al.*, 2008).

2) Una vez que las piñas se encuentran en la fábrica se introducen a los hornos para su **cocción**, la cual tiene como objetivo hidrolizar o transformar los fructanos en fructosa y glucosa (monosacáridos fermentables), y generar compuestos organolépticos característicos del mezcal (Pérez, 1997; Mancilla y López, 2002). Las piñas enteras se cuecen en hornos elevados de mampostería (18 t aproximadamente) con techos de bóveda; los hornos presentan una entrada al frente por donde se carga, y una claraboya en la parte superior por donde se completa la carga (Figura 2.8). El piso del horno presenta un entarimado con tabloncillos separados para la recolección de efluvios, los cuales drenan por



Fig. 2.5. Piña de maguey con 18 meses aproximadamente de haber quiotado.



Fig. 2.6. Rejador afilando la barra desviradora.



Fig. 2.7. Tumba o corte de la cabeza del maguey con la barra tumbadora.



Fig. 2.8. Hornos elevados de mampostería abovedados. En la derecha destaca la escalinata de acceso al techo y en el fondo se aprecia la bóveda de la cámara de fermentación.

gravedad y salen a través de un caño. Los hornos son calentados por la parte inferior de la tarima con vapor proveniente de una caldera (2 kg/cm^2) durante 27 a 36 h, alcanzando una temperatura entre 110 y 119 °C. Durante las primeras 16 h se generan cerca de 2 000 L de efluvios amargos y ricos en saponinas, los cuales son desechados. Luego (17-36 h) se produce otra cantidad similar de efluvios, que en algunas épocas del año es recuperada, condensada y adicionada al jugo para fermentar. En época de lluvias el total de efluvios se desecha. Terminado el tiempo de cocción, el horno se deja enfriar por lo menos 8 h, hasta que la temperatura de las cabezas es soportable (entre 60 y 70 °C) para poder sacarlas y pasarlas a la siguiente etapa.

La cocción de las piñas enteras y el tiempo de cocción contrastan con lo que actualmente se hace en la industria tequilera, donde las cabezas se seccionan o desgarran antes de cocerlas, ya sea en hornos de mampostería o en autoclave (12 h), o bien se extrae el jugo en crudo y luego se cuece con mayor eficiencia energética (Cedeño, 2003). También difiere de los procesos realizados en los palenques de Oaxaca y Guerrero, donde la cocción se realiza en hornos de pozo (3 a 5 días) calentados con leña, donde se pierde gran cantidad de azúcares fermentables por caramelización y carbonización (Granados, 1993; Anónimo, 1997; Carrillo, 2007).

3) Las piñas cocidas son transportadas por medio de un carro montado sobre rieles, a una prensa o molino de piedra (Figura 2.9), en cuyo piso inclinado de sillar labrado se descargan y se parten en trozos, para la **extracción de los jugos** por compresión del paso de la rueda de piedra o volandera, atravesada por el centro con un tubo metálico jalado por medio de un tractor (Durán y Pulido, 2007);



Fig. 2.9. Molino, pileta de enjuague y prensa manual de tornillo para bagazo lavado. Fábrica “Laguna Seca”.

los jugos extraídos drenan por gravedad fuera del molino y se canalizan directamente a las pilas de fermentación. De la molienda queda el bagazo fibroso como subproducto, el cual aún contiene una cantidad considerable de azúcares, por lo que es remojado con agua caliente en una pila de lavado (Pérez, 1997). El bagazo lavado se coloca en una prensa tipo tornillo para extraer los jugos que quedaron entre las fibras (Figura 2.9). La graduación de estos jugos es de 3-6 °Brix. El color de este bagazo prensado permite suponer, que probablemente aún contiene azúcares fermentables. En cambio, en la industria tequilera la utilización de desgarradoras, molinos y aspersiones de agua caliente en serie o difusores de aire, optimizan la extracción de azúcares de los bagazos; por el contrario, en Oaxaca y Guerrero la extracción suele hacerse a golpes de mazo, lo cual resulta una actividad pesada y muy deficiente.

4) Los jugos del maguey, el agua de lavado del bagazo y, en algunas épocas del año, los efluvios provenientes de la cocción se juntan en pilas de mampostería con capacidad de 8 000-12 000 L para realizar la **fermentación**, una de las etapas más importantes del proceso, ya que en ella se genera el etanol y los compuestos

característicos y distintivos de cada mezcal natural. La fermentación es un proceso bioquímico en la ruta metabólica de la glucólisis (Embden-Meyerhof), por medio del cual los azúcares (fructosa y glucosa) contenidos en los jugos de maguey son transformados en alcohol y CO₂, mediante la acción de ciertos microorganismos, principalmente levaduras fermentadoras como *Saccharomyces cerevisiae* en un medio semianaerobio (Vine *et al.*, 1997; Walker, 1998).

Hace varios años la fermentación se indujo con una cepa nativa seleccionada liofilizada por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. (CIATEJ). Sin embargo, actualmente el caldo de fermentación se prepara a partir de 12 L que se conservan del total preparado para el proceso precedente en una pileta. Con la finalidad de seleccionar y multiplicar los microorganismos que realizarán la fermentación, los 12 L del fermento reciclado o conservado son vertidos en una cuba de plástico, y se aforan aproximadamente a 100 L con jugo fresco proveniente de la molienda, se les ajusta a 10.5 °Brix, se adicionan 1.5 g/L de fosfato diamónico y se mantienen a 30°C durante 12 h con aeración constante para obtener así lo que se denomina “pie de cuba”. Para continuar con la multiplicación de los microorganismos, los 100 L de fermento se trasvasan a una pileta de piedra y nuevamente se aforan a 1 000 L con jugo fresco proveniente de la molienda y 0.5 g/L de fosfato diamónico manteniéndolos a 30 °C, durante 12 h. Luego, de este fermento se toman los 12 L que serán conservados en refrigeración para una nueva preparación del fermento, y el resto se incorpora a los jugos de las pilas de fermentación, cuya concentración de sólidos se ajusta de 8 a 10 °Brix y se dejan fermentar durante 30-39 h, hasta la desaparición de burbujas en la parte superior del vino, lo cual ocurre cuando la

lectura de °Brix es < 4 (Pérez, 1997). La variación del tiempo de fermentación se debe principalmente a la composición de los jugos de maguey; así, una alta concentración de saponinas por la alta proporción de maguey tierno en la carga correspondiente, puede inhibir el desarrollo de las levaduras y generar un bajo rendimiento de mezcal (Aguirre *et al.*, 2001).

En la industria tequilera el proceso de fermentación se lleva a cabo en tinas elevadas de acero inoxidable, bajo condiciones algo controladas, que permiten homogenizar más la calidad del producto (Cedeño, 2003; Valenzuela, 2003). En el proceso artesanal de Oaxaca, Guerrero, Durango y en algunas de las mezcaleras de San Luis Potosí, las condiciones variables de fermentación (pilas al aire libre, fermentación de jugos con bagazo y ausencia de controles) permiten la proliferación de microorganismos no especializados en fermentación de azúcares y el posible incremento de compuestos indeseables, como el metanol y sustancias fúngicas, obteniendo productos con toxinas y propiedades organolépticas indeseables (Fleet, 2003).

5) El vino resultante es canalizado a un alambique de cobre para practicarle una sola **destilación**, la cual se realiza por etapas controladas en forma práctica por medio de la temperatura apreciada palpando la olla, la presión de vapor del serpentín interior regulada con un válvula de paso y un manómetro, las vibraciones del rectificador y el flujo del líquido condensado (Figura 2.10). En la primera etapa se separan las “cabezas”, compuestas principalmente por metanol (55 a 80° GL). Posteriormente se obtiene el “corazón” o mezcal, compuesto principalmente por etanol (45° GL) y por último, se condensan las “colas” ($< 25^{\circ}$ GL), compuestas por alcoholes pesados, como el propanol y butanol, y por agua;



Fig. 2.10. Equipo de destilación de la fábrica “Laguna Seca”.

esta porción es incorporada al rectificador con la finalidad de mantenerlo cargado e incrementar los aromas en el siguiente lote a destilar.

El mezcal obtenido se almacena en contenedores de acero inoxidable y se refina (filtrado, dilución, maduración o abocado) de acuerdo con los requerimientos del cliente, criterio del fabricante y lo establecido en la NOM-070–SCFI-1994. En la industria tequilera, se lleva a cabo tradicionalmente una doble destilación, el cual equivale casi a una destilación por pasos poco controlada; para ello, a la primera destilación le llaman “destrozar”, donde después de las cabezas se genera un líquido con una graduación alcohólica del 20 °GL aproximadamente, el cual se

somete a la segunda destilación llamada “rectificación”, de la cual, después de separar las cabezas, se obtiene el tequila blanco con una graduación de alrededor 50 °GL. En cambio, en los palenques de Oaxaca, Guerrero y Durango la destilación se realiza usualmente en ollas de barro o alambiques de cobre, calentados directamente con leña, por lo que el control de la temperatura resulta aun más difícil (Jiménez, 2009).

2.4 Bibliografía

- Aguirre R., J. R.; H. Charcas S.; J. L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología. San Luis Potosí, S. L. P. México. 78 p.
- Aguirre R., J. R. 2009. Mezcal potosino un tesoro escondido. Por Amor al Arte. 50:8-9
- Anónimo. 1997. Mezcal, elixir de larga vida. Gobierno del Estado de Oaxaca, Cámara Nacional de la Industria del Mezcal, BANCOMEXT y CVS. México. 120 p.
- Anónimo. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-2000, Bebidas Alcohólicas- Mezcal-Especificaciones.
- Anónimo. 2004. Plan Rector del sistema producto maguey-mezcal. Consulta realizada el 10 de enero de 2008. <http://www.amsda.com.mx/PREstatales/Estatales/OAXACA/PREmezcal.pdf>
- Blomberg, L. 2000. Tequila, mezcal y pulque lo auténtico mexicano. Editorial Diana. México. 314 p.

- Bruneton, J. 1991. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Acribia. Zaragoza, España. 594 p.
- Callen, E. O. 1965. Food habits of some Pre-Columbian Mexican Indians. *Economic Botany*. 19: 335-343.
- Carrillo T., L. A. 2007. Los destilados de agave en México y su denominación de origen. *Ciencias*. 87: 41-49.
- Cedeño C., M. 2003. Production of tequila from agave: historial influences and contemporary processes. In: K. Jacques; T. P. Lyons; D. R. Kelsall (Eds.). *The alcohol textbook*. (3rd ed). Nottingham University Press. pp. 225-241.
- CONABIO. 2006. Mezcales y biodiversidad. 2ª ed. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México (Mapa).
- Davis, S. C; F. G. Dohleman; S .P. Long. 2011. The global potential for *Agave* as a biofuel feedstock. *Global Change Bioenergy*. 3:68–78.
- Delzenne M., N.; C. Daubioul; A. Neyrinck; M. Lasa; H. S. Taper. 2002. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. *British Journal of Nutrition*. 87: 255-259.
- DOF. 2003. Modificación a la declaración general de protección de la denominación de origen mezcal, publicada el 28 de noviembre de 1994. pp. 3-28.
- Durán G., H. M.; J. L. Pulido. 2007. Análisis de la molienda en el proceso de elaboración de mezcal. *Información Tecnológica*. 18(1): 47-52.
- Eguiarte, L. E.; V. Souza. 2007. Historia natural del agave y sus parientes: evolución y ecología. En: P. Colunga G.; A. Larqué S.; L. E. Eguiarte; D. Zizumbo-Villareal. (Eds.) *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los*

- mezcales y otros agaves. CICY, CONACYT, CONABIO, SEMARNAT, INE. Mérida, Yucatán, México. pp. 3-21.
- Fleet, G. H. 2003. Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*. 86:11-22.
- García M., A. 1998. Con sabor a maguey. Guía de la colección nacional de agaváceas y nolináceas del Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM. UNAM, SIGSA. México. 114 p.
- García M., A. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. 87: 14-23.
- García P., L. G. 2006. Evaluación de jarabe de maguey mezcalero (*Agave salmiana*) en ratas diabéticas. Tesis de Maestría. PMPCA. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, SLP. México. 85 p.
- Gentry, H. S. 1982. Agaves of continental North America. University of Arizona. Tucson, Arizona. USA. 670 p.
- Goncalves de L., O. 1985. El maguey y el pulque en los códigos mexicanos. Fondo de Cultura Económica. México. 278 p.
- Granados S., D. 1993. Los agaves en México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 252 p.
- Güclü-Üstündag, O.; G. Mazza. 2007. Saponins: Properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 47:231-258.
- Hernández S., R.; G. C. Lugo C.; L. Díaz J.; S. Villanueva. 2005. Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla* Torrey. *Revista Digital Científica y Tecnológica e-Gnosis* 3: 1-9.
- Hopkins, W. G. 1999. Introduction to plant physiology. 2a ed. Wiley. New York. USA. 512 p.

- Jacques H., C.; O. Herrera P.; J. A. Ramírez de L. 2007. El maguey mezcalero y la agroindustria del mezcal en Tamaulipas. En: P. Colunga G; A. Larqué S.; L. E. Eguiarte; D. Zizumbo V. (Eds.). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. CICY, CONACYT, CONABIO, SEMARNAT, INE. Mérida, Yucatán. México. pp. 287-317.
- Jian-Ming, J.; Z. Ying-Jun; Y. Chong-Ren. 2004. Four new steroid constituents from the waste residue of fibre separation from *Agave americana* leaves. Chemical Pharmaceutical. 52: 654-658.
- Jiménez M., J. A. 2009. Identificación y cuantificación de algunos alcoholes en la destilación y rectificación del mezcal obtenido de *Agave potatorum* Zucc. Tesis de Ingeniero en Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Huajapan de León, Oaxaca. México. 54 p.
- Livingston D., P.; D. K. Hinch; A. G. Heyer. 2007: The relationship of fructan to abiotic stress tolerance in plants. In: S. Norio; B. Noureddine; O. Shuichi (Eds.). Recent advances on fructooligosaccharides. Research Signpost. Trivandrum, Kerala. India. pp. 181-199.
- López P., M. G.; S. C. Guevara Y. 2001. Tequila, mezcal y sotol: volátiles marcadores de origen y planta (especie de *Agave*). Investigación y Ciencia. Enero–Junio. 28-32.
- López, M. G.; N. A. Mancilla M.; G. Mendoza D. 2003. Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 7835-7840.
- López M., D.; M. D. Navarro M.; F. Rojas M.; A. N. Hiner P.; S. Chazarra; J. N. Rodríguez L. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin

- obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry*. 66 (12): 1476-1484.
- Macedo E., M. 1950. Manual del magueyero. Trucco. México, D. F. 160 p.
- Mancilla M., N. A.; M. G. López. 2002. Generation of maillard compounds from inulina during the thermal processing of *Agave tequilana* Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 806-812.
- Mancilla M., N. A.; M. G. López. 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from agave and dasylirion species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 7832-7839.
- Mathews K., C.; K. E. Van Holde. 1998. Bioquímica. 2ª Edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. 1283 p.
- Michel C., C.; B. I. Juárez F.; J. R. Aguirre R.; J. M. Pinos R. 2008. Quantitative characterization of non-structural carbohydrates of mezcal agave (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick). *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 56: 5753-5760.
- Payno, M. 1864. Memoria sobre: El maguey mexicano y sus diversos productos. México. 132 p.
- Pérez Z., M. R. 1997. El mezcal en el altiplano potosino zacatecano. *Bebidas Mexicanas*. Febrero-marzo. 91-97.
- Pinos R., J. M.; M. Zamudio; S. S. González. 2008. The effect of plant age on the chemical composition of fresh and ensiled *Agave salmiana* leaves. *South African Journal of Animal Science*. 38(1): 43-50.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. 1ra edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 504p.

- Sánchez M., A. 1979. Los agaves de México en la industria alimentaria. Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo. México. 525 p.
- Simeón, R. 1999. Diccionario de la lengua náhuatl o mexicana. Siglo XXI. México. 783 p.
- Smith, C. E.; T. Kerr. 1968. Pre-conquest plant fibers from the Tehuacán valley, Mexico. *Economic Botany*. 22(4):354-358.
- Smith, R. L.; T. M. Smith. 2001. *Ecología*. 4ª Ed. Addison Wesley. Madrid, España. 642 p.
- Suzuki, M.; N. J. Chatterton. 1993. Science and technology of fructans. CRC Press. Boca Raton, Florida. USA. 365 p.
- Tello B., J. J.; E. García M. 1985. The mezcal industry in the altiplano potosino-zacatecano of North-Central Mexico. *Desert Plants*. 7(2):81-87 p.
- Urías S., J. E.; P. D. Cani; E. Delmée; A. Neyrinck; M. G. López; N. M. Delzenne. 2008. Physiological effects of dietary fructans extracted from *Agave tequilana* Gto. and *Dasyilirion* spp. *British Journal of Nutrition*. 99: 254-261.
- Valenzuela Z., A. G. 2003. El agave tequilero. Cultivo e industria de México. Mundi Prensa. México. 215 p.
- Valenzuela Z., A. G. 2007. Las denominaciones de origen y la biodiversidad en el género *Agave* sp. Consulta realizada el 3 de mayo de 2008. http://www.esac.pt/cernas/comunicacoes_BioDO/3.%20Ana%20Valenzuela_PDF.pdf
- Vázquez G., J. A.; M. J. Cházaro B.; G. Hernández V.; E. Flores B.; Y. L. Vargas R. 2007. Agaves del occidente de México. UDG, CRT, CIATEJ, LUS, CONAFOR. Guadalajara, Jalisco. México. 221 p.

- Venero J., L. 2006. Formas de uso de maguey (*Agave americana*), Agavaceae en el humedal Lucre Hucacarpay. *Choris Chilensis*. 2: 1-7.
- Vinje, I.; S. Smeeckens. 1999. Fructan: more than a reserve carbohydrate?. *Plant Physiology*. 120: 351-359.
- Vincken J., P.; L. Heng; A. Groot; H. Gruppen H. 2007. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*. 68: 275-297.
- Vine R., P.; E. M. Harkness; T. Browning; C. Wagner. 1997. Winemaking from grape growing to marketplace. Chapman & Hall. New York. USA. 439 p.
- Waleckx, E.; A. Gschaedler; B. Colonna C.; P. Monsan. 2008. Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. *Food Chemistry*. 108: 40-48.
- Walker M., G. 1998. Yeast physiology and biotechnology. Wiley. Chichester. England. 350 p.
- Wang, N.; P. Nobel S. 1998. Phloem transport of frutans in the crassulacean acid metabolism species *Agave deserti*. *Plant Physiology*. 116: 709-714.

VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES Y SAPONINAS DURANTE LA COCCIÓN DEL MAGUEY MEZCALERO POTOSINO

VARIATION OF THE CONCENTRATION OF SUGAR AND SAPONINS DURING THE COOKING OF MAGUEY EZCALERO POTOSINO

Cynthia Zamora P.¹, Bertha I. Juárez F.², Juan R. Aguirre R.², Deogracias Ortiz P.³, Cesar I. Godínez H.¹ y Gregorio Álvarez F.².

czamorapedraza@yahoo.com.mx/berthajf@uaslp.mx/iizd@uaslp.mx/mdortiz@uaslp.mx/navingod_@hotmail.com/gregorio.alvarez@uaslp.mx

Recibido: abril 27, 2010 / Aceptado: noviembre 25, 2010 / Publicado: diciembre 2, 2010

Resumen. El 75 % de las especies del género *Agave* se encuentran distribuidas en el territorio mexicano. *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick es la más abundante en el altiplano potosino - zacatecano y se utiliza principalmente para la elaboración de mezcal. En la región potosina el proceso tradicional de producción de mezcal se realiza en cinco etapas: selección de la materia prima, cocción, molienda, fermentación y destilación. Durante la cocción con vapor se genera gran cantidad de efluvios ricos en carbohidratos fermentables que regularmente son desechados por la presencia de saponinas, ya que pueden influir de manera negativa en la fermentación. Se obtuvieron muestras de efluvios cada 3 h durante el tiempo de cocción de las cabezas enteras de maguey, y se les midió el pH, temperatura, sólidos totales y abundancia de saponinas por la espuma durante agitación. La concentración de azúcares reductores se obtuvo por método de Fehling-Soxhlet y por CLAR. La cuantificación de saponinas se realizó por el método descrito por Baccou. Se registró una disminución gradual del pH y la concentración de saponinas, y un incremento en los azúcares reductores. Hubo una tendencia similar entre las dos técnicas para saponinas. No hubo diferencias significativas entre las técnicas de Fehling-Soxhlet y CLAR.

Palabras clave Mezcal potosino, *Agave salmiana*, saponinas y azúcares reductores.

Abstract. The 75 % of the species of the genus *Agave* are distributed the Mexican territory. *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick, the most abundant in the highlands of San Luis Potosi and Zacatecas, is primarily used for making mezcal. In this region the traditional process of mezcal production has five steps: selection of raw material, cooking, squeezing, fermentation and distillation. During steam cooking, a great amount of fermentable carbohydrate rich effluents and regularly discarded because its saponins, may produce a negative effect on fermentation. In effluents samples collected every 3 h during the cooking of heads of maguey, we measured pH, temperature, total solids and the abundance of saponins by the column of foam formed by agitation. Reducing sugar concentration was obtained by Fehling-Soxhlet method and by HPLC. Quantification of saponins was performed by the method described by Baccou. The results show a gradual decrease in pH, concentration of saponins and an increase in reducing sugars during cooking time. There were no significant differences between Fehling and HPLC techniques.

¹Programa Multidisciplinario de Posgrado de Ciencias Ambientales, UASLP. Av. Manuel Nava 201, 2do piso Zona Universitaria, 78210, San Luis Potosí, S.L.P., México. <http://ambiental.uaslp.mx/pmpca>

²Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, UASLP. Altair 200, El llano, 78377, San Luis Potosí, S.L.P., México. <http://www.uaslp.mx/Spanish/Investigacion/institutos/IIZD>

³Facultad de Medicina, UASLP IIZD-UASLP. Av. Venustiano Carranza 2405, Zona Universitaria, 78210, San Luis Potosí, S.L.P., México. <http://www.uaslp.mx/Spanish/Academicas/FM/Medicina>



Keywords: Mezcal potosino, *Agave salmiana*, saponins reducing carbohydrates.

Introducción

Maguey es el nombre común aplicado a las especies del género *Agave* (familia Agavaceae, endémica de América). El género comprende alrededor de 200 especies de las cuales la mayor parte se encuentran en México, territorio considerado como su centro de origen y domesticación [1-4]. Las especies mexicanas de maguey pueden encontrarse desde el nivel del mar hasta los 3400 m de altitud y son especialmente abundantes en las comunidades vegetales xerofíticas [3].

En el altiplano potosino crece en forma silvestre *Agave salmiana* (maguey mezcalero), y por su abundancia en la región representa un elemento importante de la vegetación natural [5,6]. Su aprovechamiento es diverso y ha jugado un papel importante en la vida de los ancestros y de los actuales pobladores de la región; actualmente, en el área de estudio su principal aprovechamiento es para la elaboración de mezcal [6]. El mezcal es una bebida alcohólica que se obtiene de la fermentación y destilación de los jugos extraídos de piñas o cabezas (tallos y bases de pencas) de maguey maduro previamente cocidas [6]. Se carece de información detallada del proceso de cocción en la elaboración del mezcal en esta zona. Sin embargo, Aguirre *et al.* [6] estimaron indirectamente una ineficiencia global de 50% en el proceso, el cual podría mejorarse al menos en un 100 % al corregir limitaciones de cada una de sus etapas.

El proceso de elaboración de mezcal en la región potosina es tradicional y se realiza en cinco etapas [7]. 1) Se inicia en el campo con la recolección de plantas quietillas, castradas o quietadas, de las cuales las primeras presentan mayor concentración de fructanos (polisacáridos de reserva del maguey) [6, 8]. Una vez seleccionadas las plantas, se desviran (eliminación de las hojas desde su base, con mayor concentración de saponinas) y finalmente se tumban [6, 9]. 2) Posteriormente se realiza la cocción para hidrolizar los fructanos en fructosa y glucosa (monosacáridos fermentables), y posiblemente generar compuestos organolépticos que le confieren el aroma característico al mezcal [7, 10]. Las piñas enteras se cuecen en hornos elevados de mampostería ordinaria (20 t aproximadamente), con techos de bóveda, una abertura mayor al frente (donde se inicia la carga) y otra menor en la bóveda (donde se termina la carga); el piso está cubierto con una tarima ranurada para la recolección de efluvios. Los hornos son calentados de manera intermitente desde abajo de la tarima con vapor proveniente de una caldera (2 kg/cm²) durante 27 a 36 h, alcanzando una temperatura máxima de 119 °C. Durante las primeras 16 h se generan cerca de 2000 L de efluvios que son desechados por la presencia de saponinas. Después de este tiempo (17-36 h) se produce otra cantidad igual, que en algunas épocas del año es recuperada, condensada y adicionada al jugo extraído de las cabezas cocidas. En época de lluvia el total de efluvios se desecha. Las saponinas son metabolitos secundarios presentes en varias especies vegetales; por sus propiedades químicas, forma soluciones espumantes, aumenta la permeabilidad celular y destruye las membranas celulares [11,12]. En el maguey se ha reconocido la presencia de saponinas esteriodales [13,14]. 3) La extracción de jugos se realiza durante la molienda, mediante un molino de piedra con forma circular, el cual se hace girar sobre un piso de sillar con drenaje para los jugos [15]. El subproducto generado (bagazo) se lava con agua caliente en una pila de lavado y luego se exprime en una prensa de tornillo; esta solución azucarada se incorpora a los jugos de molienda. 4) La fermentación de azúcares y formación implícita de alcoholes forma parte del metabolismo de microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae*, y otros como *Clavispora lusitaniae*, *Pichia fermentans* y *Kluyveromyces marxianus* como levaduras, y algunas bacterias *Zymomonas mobilis subsp. mobilis* y *Z. mobilis subsp. pomaceae*, *Weisella cibaria*, *W. paramesenteroides*, *Lactobacillus kefir*, *L. plantarum*, *L. pontis* y *L. farraginis* encontrados en el inóculo para la producción de mezcal de *A. salmiana*. [16,17,18]. Sin embargo, la presencia de saponinas en los jugos de maguey, incrementa el tiempo de fermentación, produce mal sabor y genera un rendimiento pobre del mezcal. Estos efectos probablemente se deben a que la propiedad histolítica de las saponinas destruye las levaduras [19]. La fermentación se

realiza en pilas de mampostería ordinaria con una capacidad aproximada de 8000 a 12000 L a 35 °C durante 36 h, y es inducida por una cepa nativa reciclada [7]. 5) La destilación del vino se realiza por etapas en alambiques de cobre, para lo cual la temperatura se controla de manera rudimentaria a través de la presión de vapor de un serpentín interior. En la primera etapa se separan las “cabezas”, compuestas principalmente por metanol (55 a 80 °GL). Posteriormente se condensa el “corazón” o mezcal, compuesto principalmente por etanol (45 °GL) y por último se obtienen las “colas” (< 25 °GL) compuestas por alcoholes superiores y agua [7].

El estado de San Luis Potosí cuenta con la Denominación de Origen para la producción de mezcal, por ello el uso racional del recurso es de vital importancia, así como la implementación de mejoras en el proceso actual de producción del mezcal en sus diferentes fases, principalmente en la de cocción. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue conocer la variación de la concentración de azúcares y saponinas en los efluvios generados durante la cocción del maguey mezcalero potosino en la empresa Laguna Seca, con la finalidad de fundamentar su aprovechamiento para mejorar el rendimiento de mezcal por unidad de materia prima.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en 2009, durante las épocas seca y lluviosa en la empresa mezcalera “Laguna Seca” ubicada en el municipio de Charcas, San Luis Potosí (23° 17' 44" de Latitud Norte, 100° 55' 49" de Latitud Oeste y 1962 msnm). Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas (IIZD) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Obtención de la muestra

Durante la cocción se tomaron muestras de efluvios por triplicado de dos cargas completas (unas 20 t cada una), en dos diferentes épocas del año, seca (marzo-junio) y lluviosa (julio-octubre). Al tomar las muestras en el registro del drenaje de efluvios, se les midió la temperatura (Termómetro Brannan, Termolab, México) y el pH (Potenciómetro HANNA instruments, 98127). Las muestras obtenidas se filtraron y se les registró el contenido de sólidos suspendidos (Refractómetro Leica AR200) y la altura de la espuma que se formaba. Posteriormente las muestras fueron congeladas y trasladadas al IIZD para cuantificar los azúcares fermentables y las saponinas.

Abundancia de saponinas por el método de cantidad de espuma

Inmediatamente después de recolectar los efluvios, 1 mL de ellos se colocó en un tubo de ensaye con rosca, se agitó vigorosamente durante 30 seg y se dejó reposar por 15 min, posteriormente se midió el grosor de la capa de espuma persistente [20].

Extracción de saponinas

Hidrólisis

En un tubo de ensaye se colocaron 5 mL del efluvio y 2 mL de ácido sulfúrico 2 N, posteriormente, se calentaron a 110 °C durante 1.5 h en un baño seco. Luego, se llevaron a temperatura ambiente y se realizó la extracción con acetato de etilo. Para ello, se agregaron 5 mL del disolvente, se sonicaron durante 1 min y se separó la capa orgánica en otro tubo de ensaye para posteriormente medir la concentración de las saponinas. Este procedimiento se realizó por duplicado.

Concentración de sapogeninas

La medición de la concentración de sapogeninas se realizó con el método descrito por Baccou *et al.* [21], para lo cual se utilizó una curva estándar de 5, 10, 20, 30 y 40 µg/mL de diosgenina (Sigma, St. Louis Mo) y 430 nm de longitud de onda, en un espectrofotómetro (Agilent HP 8453 UV visible Deutschland, Alemania).

Concentración de azúcares reductores (AR) por Fehling-Soxhlet

La concentración de azúcares reductores se obtuvo por el método de Fehling, mezclando volúmenes iguales (2 mL) de los reactivos “A” y “B”, en presencia del indicador azul de metileno y 60 mL de agua. El título se midió con las muestras.

Concentración de azúcares reductores por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Los AR (glucosa y fructosa) se cuantificaron por CLAR, en un cromatógrafo Agilent HP serie 1100 (Waldbronn, Alemania); para ello en fase reversa se utilizó una columna no polar Zorbax C₈ específica para carbohidratos (4.6 mm i.d. x 250 mm x 5 µm de tamaño de partícula), y acetonitrilo agua 75:25 (v/v) como fase móvil polar [8]. La identificación y cuantificación de la glucosa y fructosa en los efluvios se efectuó comparando los tiempos de retención con los obtenidos por los estándares de referencia (Sigma, St. Louis Mo). Se construyó una curva de calibración lineal de 0.5, 1, 2, 3, 4 y 5 % de glucosa y fructosa. Las muestras fueron pasadas a través de filtros de nylon de 0.45 µm de diámetro y aforadas a 500 µL con una solución de 50:50 acetonitrilo:agua [8].

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar, con un arreglo factorial de tratamientos (2 x 2 x 10) y mediciones repetidas en el tiempo; donde el factor A es la época funcional (seca y lluviosa), B son los lotes (uno y dos) y C el tiempo de muestreo cada 3 h. Los datos fueron analizados con el procedimiento PROC GLM de SAS [22] y las medias se compararon con la prueba de Tukey. Se consideró la $p \leq 0.01$ como el nivel de significación estadística.

Resultados y discusión

En la empresa Laguna Seca se utilizan como combustible principalmente restos de magueyes e izotes (*Yucca spp.*) muertos, recolectados en los agostaderos circundantes. Con este material se alimenta la caldera que provee de vapor al horno donde se cuecen las cabezas de maguey. Si no se cuenta con suficiente combustible o si está húmedo, la presión de la caldera es insuficiente y el tiempo de cocción es mayor, porque el flujo del calor no es constante y el proceso de cocción es discontinuo. Esta puede ser una de las causas del bajo rendimiento (hidrólisis incompleta) señalado por Aguirre *et al.* [6].

Tabla 1. Cuadrados medios del análisis de varianza y prueba de F para pH, temperatura (°C), columna de espuma (cm) concentración de saponinas (mg/mL de efluvio) y azúcares reductores (%) en los efluvios provenientes de la cocción de maguey.

F.V.	GL	Temperatura	pH	Columna de espuma	Concentración de saponinas	AR Fehling	AR CLAR
Lote	1	48.0500	0.0004	0.0151	88599.9661	0.3386	0.7857
Época	1	832.0500**	0.0806**	57.2911**	472.0208**	0.00004	0.9453
Tiempo	9	224.8277**	0.1879**	1.9911**	860.3076*	9.2243**	8.9254**
Época x tiempo	9	152.1611**	0.0204**	0.6136**	196.5940**	0.6558**	0.1345**
Error	59	18.4906	0.0029	0.1705	162.7225	0.03878	0.1086
C.V. %		5.8484	1.0606	14.3956	20.82	8.4872	15.1127

**Altamente significativo en los niveles de probabilidad de 0.01, G.L.=Grados de libertad; CV=Coefficiente de variación

Temperatura

Las temperaturas registradas entre épocas en los efluvios de salida fueron diferentes estadísticamente (Tabla 1). En la hora 15 y 18 se observó una caída brusca de temperatura en los lotes de la temporada seca (55 y 51 °C, respectivamente). Esta disminución se debió a una insuficiencia de combustible para la caldera sin embargo, en las horas subsecuentes la temperatura se recuperó y se mantuvo constante (75 a 79 °C) hasta el final de la cocción. En las temperaturas del lote de la temporada lluviosa no se observaron cambios tan marcados (Figura 1). La mayor temperatura registrada en este periodo probablemente se debió a la mayor temperatura ambiental prevaleciente en esta época del año.

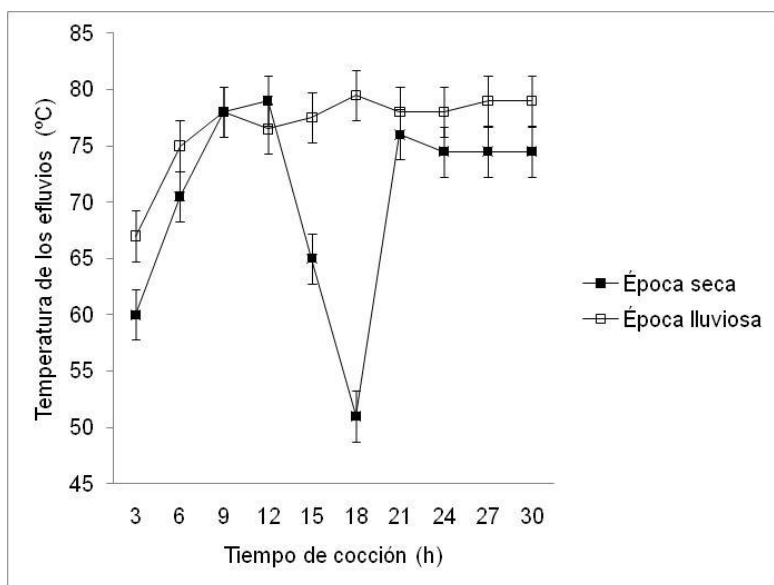


Figura 1. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en la temperatura de salida de los efluvios de maguey.

pH

En los valores de pH se registraron diferencias significativas (Tabla 1) entre las dos épocas. El pH tendió a disminuir con el tiempo de cocción, pues comenzó en 5.3 y terminó en 4.8, solamente se presentó un incremento en la época de seca, a las 18 h (Figura 2), posiblemente debido a la disminución de vapor de la caldera, con la caída consecuente de la temperatura de los efluvios a la misma hora. Esta tendencia registrada en la disminución del pH (5.3 a 4.8), concuerda con lo obtenido por Mancilla-Margalli y López, M. G [10] y Waleckx *et al.* [23], al monitorizar la cocción de *A. tequilana*. De acuerdo con Mancilla-Margalli y López, M. G [10], la disminución de pH puede deberse a la formación de ácidos orgánicos, o a la incapacidad de los grupos amino para actuar como bases en el proceso de hidrólisis, cuando los compuestos amino si han reaccionado. Cedeño y Álvarez-Jacobs [24], mencionan que uno de los resultados favorables de la cocción es la reducción del pH a 4.5 ya que junto con la temperatura ello influyen positivamente en la hidrólisis de los fructanos. Por lo tanto es posible que el valor mínimo de pH observado en esta investigación (4.8), se deba al propio proceso de la cocción.

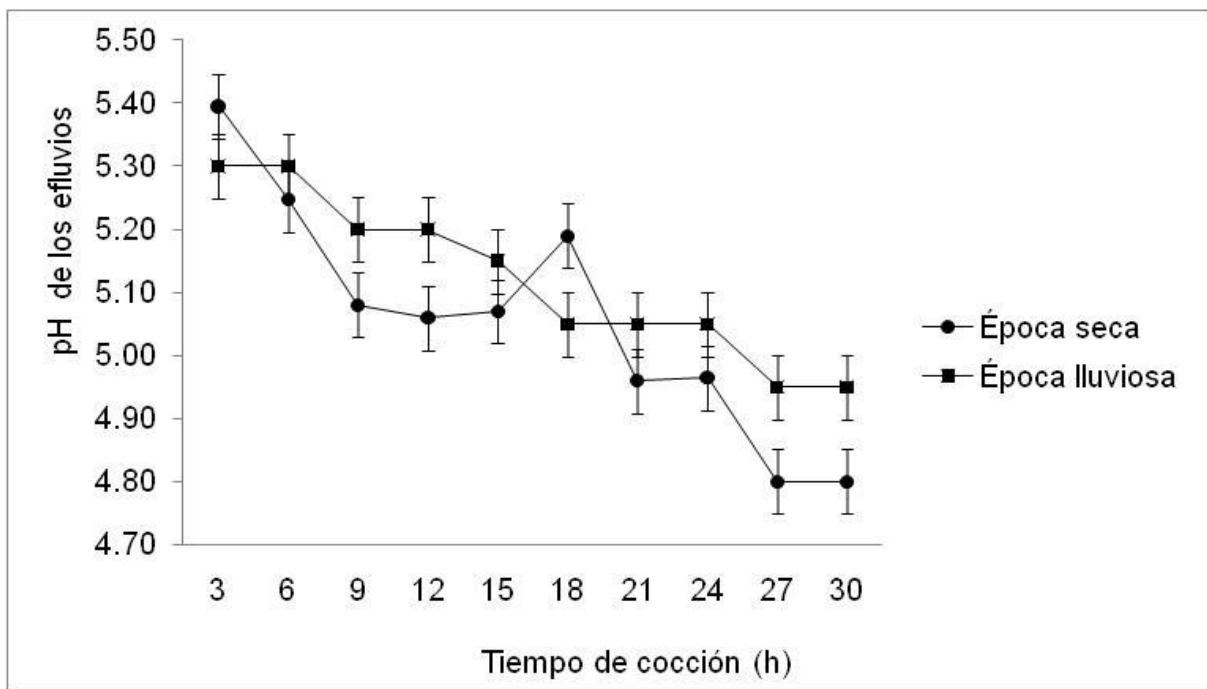


Figura 2. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en el pH de salida en efluvios de maguey.

°Brix

Las mediciones registradas de sólidos totales en los efluvios, mostraron un incremento conforme avanzó el tiempo de la cocción en las dos épocas analizadas.

Cuantificación de saponinas

La persistencia de espuma en los efluvios por más de 15 min después de agitarlos indica la presencia de saponinas. A pesar de que el calor puede hidrolizarlas, la cocción actual resulta insuficiente, pues las

muestras de efluvios aún formaron espuma. Durante las primeras horas del proceso de cocción las piñas se lavan con el vapor inyectado, lo cual permite liberarlas de las saponinas y toda clase de partículas libres (suelo y materia orgánica) contenidas en su superficie. En la Figura 3 se observa que la longitud persistente de la columna de espuma en los efluvios iniciales fue de 3.5 y 2.35 cm en la época húmeda y seca, respectivamente, pero estos valores se incrementaron a partir de las seis horas. Esto se debe probablemente a que en las primeras horas los efluvios contienen diversos materiales que estaban adheridos a las piñas, los cuales son los primeros en ser arrastrados por el agua. A partir de la hora nueve se alcanzó el valor máximo en la longitud de la columna de espuma en ambas estaciones (4.5 y 2.5 cm, respectivamente). Luego, en dicha longitud tendió a disminuir, hasta 2.5 y 1.25 cm respectivamente. En las muestras de la época seca, en la hora 18, la longitud de la columna de espuma presentó una marcada disminución, debido a la deficiencia de vapor por la falta de combustible anteriormente mencionada. El hecho de que la concentración se incremente a partir de las 9 h y hasta las 15 h, se debe a que en la base de pencas la concentración de saponinas es mayor que en el tallo [6, 25] y éstas están más expuestas al contacto con el vapor.

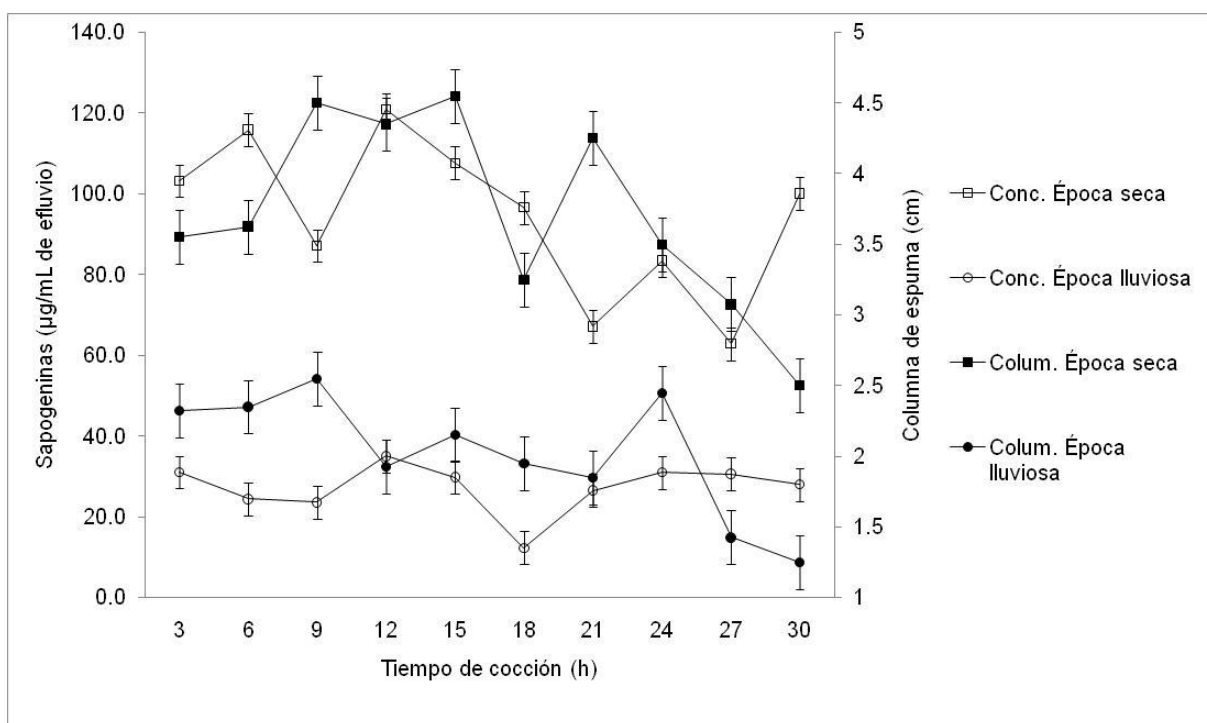


Figura 3. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en la concentración de saponinas en los efluvios de maguey.

En la Figura 3 se presentan las concentraciones de saponinas obtenidas por el método de Baccou [21]. Se observa una reducción en la concentración de saponinas de los efluvios conforme avanza el proceso de cocción en la época seca; sin embargo, en la época lluviosa las concentraciones fueron más estables. En la época seca las concentraciones fueron más altas, lo cual puede ser una reacción de la planta al estrés hídrico, y posiblemente pérdida de agua en dicha época [26]. En la Figura 3 se aprecia que las tendencias de los datos obtenidos con las dos técnicas (Baccou y longitud de la columna de espuma persistente) fueron similares en las dos épocas. La técnica de la espuma indirecta, representa una opción viable para estimar *in situ* la cantidad de saponinas en los efluvios, y así decidir a partir de qué momento utilizarlos en la fermentación y evitar el desperdicio de azúcares.

Azúcares reductores

Con base en los resultados de los análisis por CLAR, se observó una diferencia significativa (Tabla 1) en la concentración de fructosa y glucosa en los efluvios conforme avanzó la cocción, aunque fue mucho mayor el incremento registrado en la fructosa, lo cual evidenció, la hidrólisis térmica de los fructanos [27]. En la época seca la concentración de los carbohidratos fermentables en los efluvios se incrementó (Figura 4), lo cual coincide con lo registrado por Aguirre *et al.* [6], ya que la pérdida de agua en esta época concentra los componentes químicos de la planta [26]. En época de lluvias dichos componentes se diluyen debido al incremento en la succulencia del maguey.

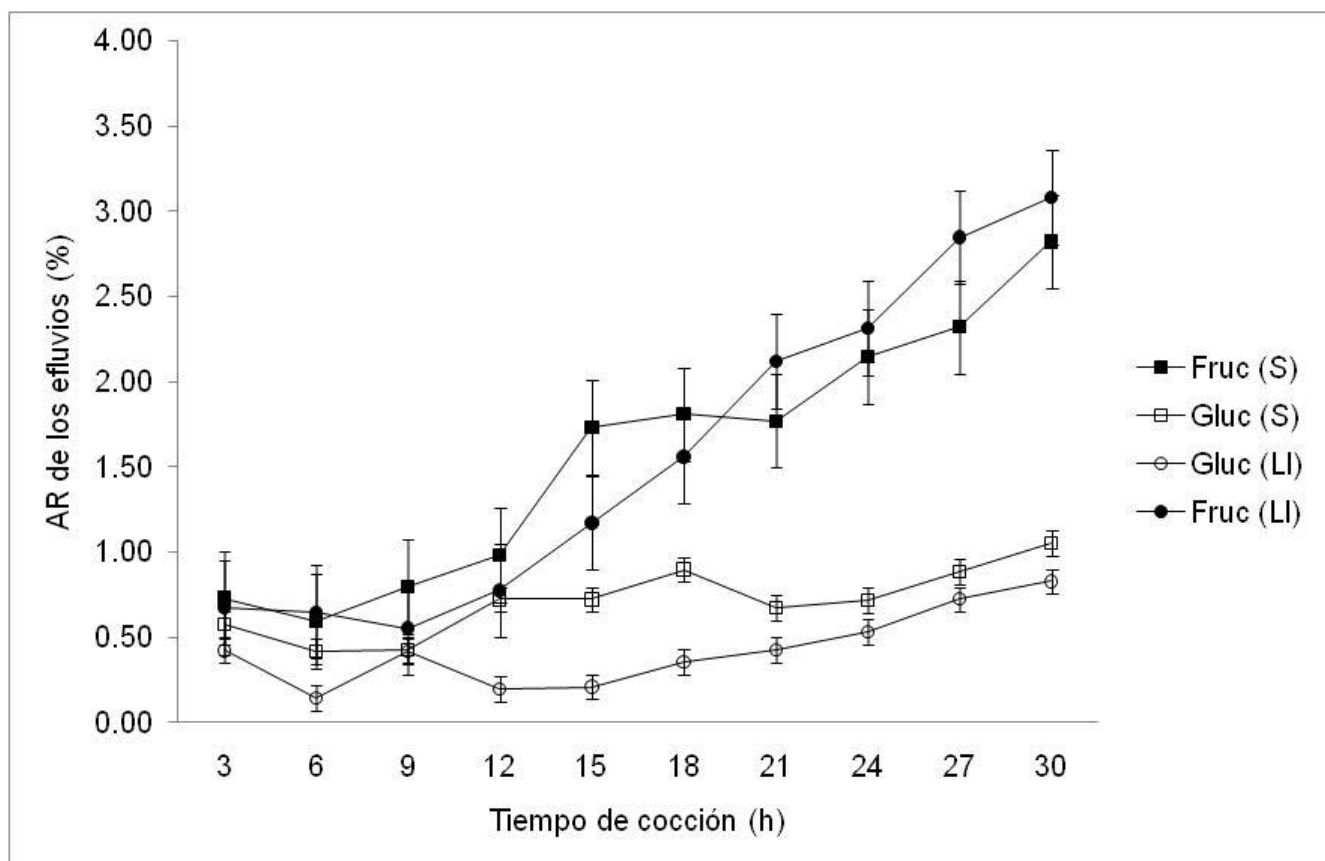


Figura 4. Efecto del tiempo de cocción y la época del año en la concentración de fructosa y glucosa en efluvios de maguey.

Para la cuantificación de AR se utilizaron dos técnicas, una semicuantitativa, sin necesidad de equipo sofisticado (Fehling-Soxhlet), y otra cuantitativa en donde se requiere de un equipo costoso y sofisticado (CLAR). No se observó diferencia significativa ($p > 0.01$) en los resultados generados con ambos métodos (Figura 5), por lo que el método de Fehling-Soxhlet resultó ser una prueba práctica y confiable con fines de control en diferentes etapas del proceso.

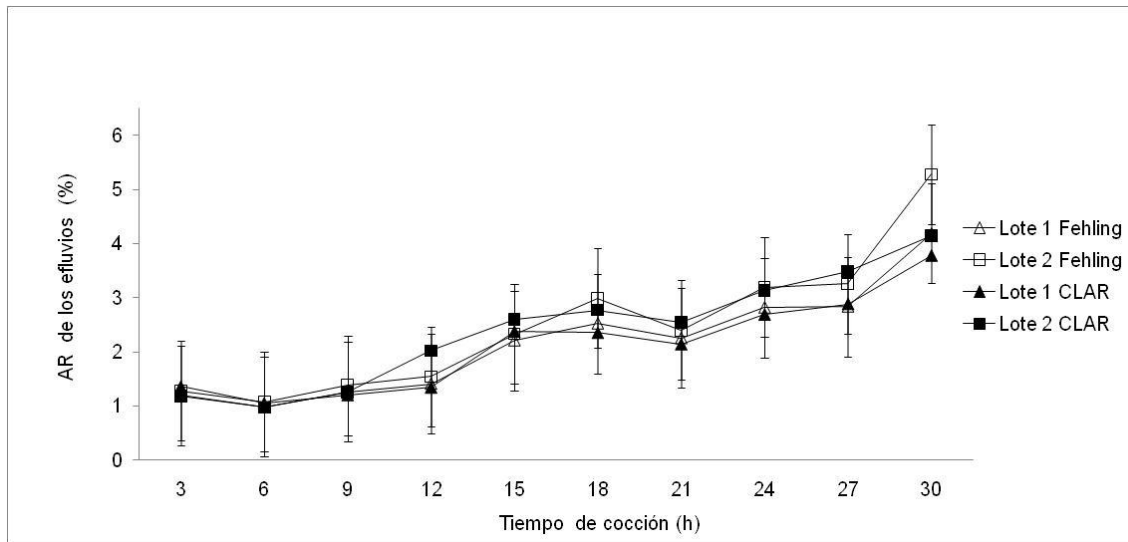


Figura 5. Porcentaje de azúcares reductores estimados con la técnica de Fehling-Soxhlet y por CLAR, en los efluvios generados durante la cocción de maguey.

Conclusiones

El proceso de cocción en la empresa Laguna Seca es tradicional, para lo cual utiliza combustibles orgánicos de la región (restos secos de maguey e izotes). La temperatura de los hornos es variable durante el proceso, depende de la presión de la caldera y esto a su vez de la disposición de combustible. Los valores de pH de los efluvios tienden a bajar durante la cocción. Los azúcares reductores aumentan conforme avanza el tiempo de cocción; las dos técnicas empleadas para estimar su concentración (Fehling-Soxhlet y CLAR) generaron resultados similares. La concentración de saponinas en los efluvios disminuyó hacia el final de la cocción. La técnica de la espuma representa una técnica confiable para la cuantificación de saponinas. Por lo anterior, consideramos la utilización de los efluvios a partir de las 15 h de cocción.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el apoyo financiero C07-FAI-11-42.78. CZP agradece al Centro Nacional de ciencia y Tecnología por la beca (162971) para estudios de doctorado.

Referencias Bibliográficas

1. Gentry H. S. (1982). *Agaves of Continental North America*. 267-269. The University of Arizona, Tucson Arizona USA.
2. García M. A. (1998). *Con sabor a maguey. Guía de la colección nacional de agaváceas y nolináceas del Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM*. 114. Artes de México y el mundo UNAM, México.
3. García M. A. (2007). Los Agaves de México. *Ciencias*. (87): 14-23
4. Eguiarte L. E., Souza V. (2007). Historia natural del Agave y sus parientes: evolución y ecología. *En lo Ancestral hay Futuro: del Tequila, los Mezcales y otros Agaves*. Colunga-García Marín P., Larqué A. S., Eguiarte L. E., Zizumbo-Villareal D. (Eds.), Primera Edición, 3-21. CICY, CONACYT, CONABIO, SEMARNAT, INE. Mérida, Yucatán.
5. Tello-Balderas J. J., García M. E. (1985). The Mezcal Industry in the Altiplano Potosino-Zacatecano of North-Central Mexico. *Desert Plants*. 7 (2):81-87.
6. Aguirre R. J. R., Charcas S. H., Flores F. J. L. (2001). *El Maguey Mezcalero Potosino*. 78. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología. San Luis Potosí, S. L. P. México.
7. Pérez Z. M. R. (1997). El mezcal en el altiplano potosino zacatecano. *Bebidas Mexicanas*. Febrero-marzo. 91-97.
8. Michel-Cuello C., Juárez-Flores B. I., Aguirre-Rivera J. R., Pinos-Rodríguez J. M. (2008). Quantitative characterization of non-structural carbohydrates of mezcal Agave (*Agave salmiana* Otto ex. Salm-Dick). *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 56(14): 5753-5760.
9. Pinos-Rodríguez J. M., Zamudio M., González S. S. (2008). The effect of plant age on the chemical composition of fresh and ensiled *Agave salmiana* leaves. *South African journal of animal Science*. 38(1): 43-50.
10. Mancilla-Margalli, López M. G., (2002). Generation of Maillard Compounds from Inulin during the Thermal Processing of *Agave tequilana* Weber var. azul. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 50(4): 806-812
11. Bruneton J. (1991). *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*. 305-306. ACRIBIA, S. A. España.
12. Vincken J. P., Heng L., Groot A., Gruppen H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* 68(3): 275-297.
13. Jian-Ming J., Ying-Jun Z., Chong-Ren Y. (2004). Four new steriod constituents from the waste residue of fibre separation from *Agave americana* leaves. *Chemical Pharmaceutycal* 52(6): 654-658.
14. Yokosuka A., Mimaki Y. (2009) Steroidal saponins from the whole plants of *Agave utahensis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*. 70(6):807-815.
15. Durán M. H., Pulido J. L. (2007). Análisis de la molienda en el proceso de elaboración de mezcal. *Información Tecnológica*. 18(1): 47-52.
16. Vine R. P., Harkness E. M., T. Browning, C. Wagner. (1997). *Winemaking from Grape Growing to Marketplace*. 73-88. Chapman & Hall. New York.
17. Walker, M. G. (1998). *Yeast Physiology and Biotechnology*. 204-264. John Wiley & Sons. England
18. Escalante-Minakata P., Blaschek H. P., Barba De la R. A. P., Santos L., De León R. A. (2008). Identification of yeast and bacteria involved in the mezcal fermentation of *Agave salmiana*. *Letters in Applied Microbiology*. 46: 626-630.
19. Hopkins W. G. (1999). *Introduction to Plant Physiology*. 2a ed. 512. John Wiley. New York.
20. Rossi C. A., De León M., González G. L., Pereyra M. A. (2007). Presencia de metabolitos secundarios en el follaje de diez leñosas de ramoneo en el bosque xerofítico del chaco árido Argentino. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* (7): 133-143.
21. Baccou, J. C., Lambert F., Sauvaire Y. (1977). Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. *The Analyst*. 102: 448-465.

22. Littell, R. C., Henry P. R., Ammerman C.B. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedure. *Journal Animal Science*. (76): 1216-1231
23. Waleckx E., Gschaedler A., Colonna-Ceccaldi B., Monsan P. (2008). Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. *Food Chemistry*. **108**(1): 40-48.
24. Cedeño C. M., Jacobs-Alvarez J. (1999). Production of tequila from agave: historical influences and contemporary processes. *The Alcohol Textbook*. Jacques K., Lyons T. P., Kelsall D. R. (Eds.). 3rd ed. 225-241. Nottingham University. Inglaterra.
25. Nobel P. S., (1998). *Los incomparables agaves y cactus*. 56-58. Primera edición. Trillas. México.
26. Livingston D. P., Hinch D. K., Heyer G. A. (2007). The relationship of fructan to abiotic stress tolerance in plants. *Recent Advances in Fructooligosaccharides*. Norio S., Boureddine, Shuichi O. (Eds.). 181-199. Research Signpost. Kerala, India.
27. López G. M., Mancilla-Margalli N. A., Mendoza-Díaz G. (2003). Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**(27): 7835-7840.

4. EFICIENCIA EN LA EXTRACCIÓN DE JUGOS DE CABEZAS DE MAGUEY COCIDO

Resumen

En el altiplano potosino, *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick es un maguey silvestre utilizado principalmente para producir mezcal; el rendimiento de esta materia prima varía de acuerdo con las condiciones ambientales de las épocas funcionales (seca, fría y lluviosa) del año. En el proceso de elaboración del mezcal en la fábrica “Laguna Seca”, ubicada en Miguel Hidalgo, Charcas, San Luis Potosí, la molienda o extracción de jugo del maguey cocido se realiza prensando trozos de cabezas con una rueda de piedra o tahona; luego, como complemento, el bagazo generado se lava en una pila con agua caliente y se exprime en una prensa de tornillo. Se tomaron muestras del jugo de molienda, de la solución de lavado del bagazo, del bagazo de molienda, del bagazo lavado y exprimido y de la mezcla puesta a fermentar, integrada por el jugo de molienda, la solución de lavado y el caldo de fermento. A las muestras se les midió el pH, °Brix, azúcares fermentables (AF) (glucosa y fructosa) por el método de Fehling y por cromatografía líquida de alta presión (CLAP). Los contenidos de AF en los jugos de molienda de la época lluviosa (8.2 %) y la época fría (11.5 %) fueron estadísticamente diferentes, debido a la mayor hidratación de las plantas en la época lluviosa. El pH en los jugos de molienda también fue estadísticamente diferente entre épocas (lluviosa, 4.7; fría, 5.0) En el agua de lavado la concentración promedio de AF en la época lluviosa (2.31 %) y en la época fría

(2.08 %), fue estadísticamente similar. La concentración de AF residuales en los bagazos provenientes del molino fue de 6.3 % en la época lluviosa y de 8.7 % en la época fría, valores diferentes estadísticamente. Los AF residuales en el bagazo lavado, fueron estadísticamente similares (3.9 % y 4.6 %) en ambas épocas, menores que en los bagazos de molienda, pero aun considerables como para contribuir a la ineficiencia del proceso. La concentración de AF en la mezcla dispuesta a fermentación, fue estadísticamente similar entre épocas, 4.55 % para la época lluviosa y 5.15 % en la época fría.

Abstract

In the highlands of San Luis Potosí, *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick is a wild maguey mainly used to produce mezcal. The spirit yield of this raw material varies according to the environmental conditions of the functional periods (dry, cold and rainy) of the year. For making mezcal in the "Laguna Seca" factory, the juice extraction from head pieces of cooked maguey is performed by pressing the pieces with a stone wheel or flourmill. The bagasse left over is washed in a masonry pond with hot water and squeezed in a manual grape press. Samples of juices, bagasse wash solution, milling bagasse, washed and pressed bagasse and mixing to ferment, made with the juice of milling, washing solution and fermentation broth were obtained. In all samples pH, °Brix, and sugars to ferment (SF) (glucose and fructose) by Fehling-Soxhlet and high pressure liquid chromatography (HPLC) were recorded. SF contents in juices of the rainy (8.2%) and cold seasons (11.5%) were statistically different, due to higher hydration of the plants in the rainy season.

The pH in milling juices was also statistically different between seasons (4.7 and 5.0 in the rainy and cold season, respectively). In the wash solution the SF concentration was statistically similar, 2.31% in the rainy season, and 2.08% in the cold season. The residual SF in the milling bagasse was 6.3% and 8.7% in the rainy y cold seasons, respectively, values statistically different. The residual SF in the washed bagasse, were statistically similar (3.9% and 4.6%) in both seasons, lower than in the milling bagasse, but still significant enough to contribute to the inefficiency of the process. The concentration of SF in the mixing ready to fermentation was statistically similar, 4.55% in the rainy season and 5.15% in the cold one.

Key words: *Agave salmiana*, milling, sugar to ferment.

4.1 Introducción

Mezcal es el nombre genérico que reciben los aguardientes obtenidos de los jugos de las cabezas cocidas de magueyes. En México se ha reservado la denominación de origen “mezcal”, para los estados de Durango, Guanajuato, Oaxaca, Tamaulipas, Zacatecas y San Luis Potosí. En el altiplano potosino zacatecano la especie más abundante es *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick, maguey silvestre utilizado principalmente para la producción de mezcal (Tello y García, 1985). Con base en observaciones de campo y los patrones climatológicos se han identificado tres épocas o estaciones funcionales (seca, fría y lluviosa) durante el año, cuyas condiciones ambientales repercuten en el rendimiento de esta materia prima. El proceso de elaboración del mezcal, ya sea en forma

artesanal o semi-industrial, se inicia en el campo con la selección y recolección del maguey, seguido de la cocción, molienda, fermentación y finalmente la destilación (Aguirre *et al.*, 2001). La molienda o extracción de jugo del maguey puede ser en forma manual con mazos de madera, con prensa de rueda de piedra o tahona, o con prensas o molinos de caña de azúcar (Torrentera, 2000; Durán y Pulido, 2007). En la región de la fábrica Laguna Seca, ubicada en Charcas, SLP, la extracción de los jugos de las cabezas de maguey cocido se hace con una prensa de piedra rodante, donde el maguey es troceado, para ser aplastado y desgarrado sobre el piso de sillar inclinado de una pileta redonda de piedra labrada, al paso de la piedra accionada por medio de un tractor (Figura 4.1a) (Durán y Pulido, 2007; Pérez, 1997). En la parte más baja del piso sillar, por gravedad, se concentran los jugos y por medio de un canal son conducidos hasta una de las pilas de fermentación. Los trabajadores que se encuentran dentro del área del molino retiran el bagazo con rastrillos y lo depositan en una pila próxima con agua tibia para su lavado (Figura 4.1b,c). Una vez enjuagados, los bagazos se colocan en un cubo de rejas de madera donde son exprimidos con una prensa manual de tornillo para extraer los jugos que quedaron entre las fibras (Figura 4.1d) (Aguirre *et al.*, 2001). La solución proveniente del lavado del bagazo es utilizada para diluir el jugo de la molienda y ajustar, con un refractómetro del tipo densímetro, la concentración de sólidos totales indicada para iniciar la fermentación. El bagazo residual es utilizado como forraje o para sellar las juntas de las puertas o tapas de los hornos durante la cocción del maguey. Por el color y aspecto del bagazo



a)



b)



c)



d)



e)

Fig. 4.1. Etapa de molienda del proceso de elaboración del mezcal en la fábrica Laguna Seca. a) Troceado del maguey en el piso de sillar. b) Prensado del maguey con la rueda de piedra o tahona. c) Enjuague del bagazo. d) Prensado del bagazo lavado. e) Bagazo residual.

residual, es probable que aún retenga azúcares fermentables, lo cual representa una posible pérdida durante el proceso (Figura 4.1e).

En los bagazos residuales de las cabezas cocidas, sólo deberían quedar cantidades mínimas de azúcares fermentables que resulte incosteable extraerlas. Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar la cantidad de azúcares en el jugo de molienda, en el agua de lavado del bagazo, en el bagazo de molienda y en el bagazo lavado y exprimido, con la finalidad de estimar las pérdidas de azúcares reductores en esta etapa del proceso.

4.2 Materiales y métodos

Esta investigación se realizó sólo durante dos épocas del año, la lluviosa y la fría, en la empresa mezcalera “Laguna Seca”, ubicada en el municipio de Charcas, San Luis Potosí (23° 17' 44" de Latitud Norte, 100° 55' 49" de Latitud Oeste y 1962 msnm). Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas (IIZD) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

4.2.1 Obtención de muestras

Durante las dos épocas estudiadas, la lluviosa (julio-octubre) y la fría (noviembre-febrero), se tomaron muestras (500 mL) por triplicado para tres cargas completas (una carga equivale a unas 17 a 18 t, capacidad aproximada de cada horno) del jugo de molienda, del agua de lavado del bagazo y de la mezcla de estos dos con el caldo de fermento añadido; en el sitio a estas muestras se les midió la temperatura (termómetro Brannan, Termolab, México), y el pH (potenciómetro

HANNA Instruments, 98127). Las muestras obtenidas se filtraron y se les registraron el ° Brix (refractómetro Leica AR200). Posteriormente estas muestras fueron congeladas y trasladadas al IIZD para cuantificar los azúcares fermentables por CLAP y Fehling-Soxhlet, como se detalla posteriormente. Además, se recolectaron muestras de bagazo (100 g) proveniente del molino y de la prensa de tornillo, las cuales también se congelaron hasta su análisis.

4.2.2 Contenido de azúcares reductores totales (ART) estimado por el método de Fehling-Soxhlet

La concentración de ART se obtuvo por el método de Fehling, para lo cual se mezclaron volúmenes iguales (2 mL) de los reactivos “A” y “B”, en presencia del indicador azul de metileno y 60 mL de agua (licor Fehling). Las muestras fueron diluidas y con ellas se valoró el licor de Fehling (Kirk et al., 2002).

4.2.3 Concentración de glucosa y fructosa estimada por cromatografía líquida de alta presión (CLAP)

De acuerdo con Michel *et al.* (2008), los jugos hidrolizados de cabezas de esta especie de maguey contienen casi solamente fructosa y glucosa; por ello solamente se cuantificaron estos dos azúcares reductores. Estos dos monosacáridos se cuantificaron en un cromatógrafo Agilent HP serie 1100 (Waldbronn, Alemania); para ello se utilizó una columna no polar Zorbax C8, específica para carbohidratos (4.6 mm i.d. x 250 mm x 5 µm de tamaño de partícula), en fase reversa y como fase móvil polar acetonitrilo: agua 75:25 (v/v). La concentración de glucosa y fructosa se cuantificó a través de los tiempos de

retención y su comparación con los obtenidos para los estándares de referencia (Sigma, St. Louis Mo) (Michel *et al.*, 2008). Se construyó una curva de calibración lineal de 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 y 6.0 % de glucosa y fructosa. Las muestras fueron pasadas a través de filtros de nylon de 0.45 μm de diámetro y aforadas a 1 mL con una solución de 50:50 acetronitrilo:agua (Michel *et al.*, 2008).

4.2.4 Extracción de azúcares fermentables residuales en muestras de bagazo

Se pesaron 100 g de bagazo de molienda y de bagazo exprimido con la prensa de tornillo, se aforaron a 1 L con agua destilada a 50 °C, y se midieron los azúcares fermentables por Fehling y por CLAP, como se describió previamente. Este procedimiento se realizó una o dos veces, hasta que el agua de lavado resultara incolora (°Brix y Fehling negativos).

4.2.5 Estimación del volumen de azúcares fermentables por carga

El volumen del jugo de molienda, de la solución de lavado del bagazo, y de su mezcla con el caldo de fermento se calculó con base en las medidas ocupadas por el líquido en las pilas de fermentación (anchura, longitud y profundidad).

4.2.6 Diseño experimental

Los dos periodos estudiados (tratamientos) se compararon por medio de un diseño experimental completamente al azar. Los datos fueron analizados con el

PROC GLM de SAS (SAS 2000), y las medias se compararon con la prueba de Tukey. Se consideró la $P \leq 0.05$ como nivel de significación.

4.3 Resultados y discusión

Como los azúcares fermentables (AF) de las cabezas de maguey son fundamentalmente fructosa y glucosa (Michel *et al.*, 2008), estos glúcidos son probablemente los únicos realmente evaluados con el método de Fehling-Soxhlet, específico para azúcares reductores totales. Por ello, las estimaciones obtenidas con este método y las generadas por CLAP fueron estadísticamente similares (Fig. 3.5). Esto también respalda la pertinencia del método Fehling-Soxhlet para evaluar los azúcares fermentables en los procesos de otras especies de maguey para la elaboración de aguardientes.

El contenido de AF en los jugos de molienda de la época lluviosa (8.2 %) fue estadísticamente menor que el correspondiente a la época fría (11.5 %), debido a la mayor hidratación de las plantas (Figura 4.2a). Los datos anteriores coinciden con lo descrito por Zamora *et al.* (2010), quienes documentaron que los efluvios provenientes de la cocción de maguey tenían menor cantidad de AF en la época lluviosa que en la época seca, aunque en este trabajo no se evaluó la época seca. La composición de azúcares en estos jugos de molienda fue de 74.2 % de fructosa y 25.8 % de glucosa en la época lluviosa, y 68.3 % fructosa y 31.7 % de glucosa para la época fría; las diferencias para cada glúcido debidas a la época fueron estadísticamente significativas (Figura 4.3a) y podrían deberse a consumo de fructanos por una menor fotosíntesis de la planta.

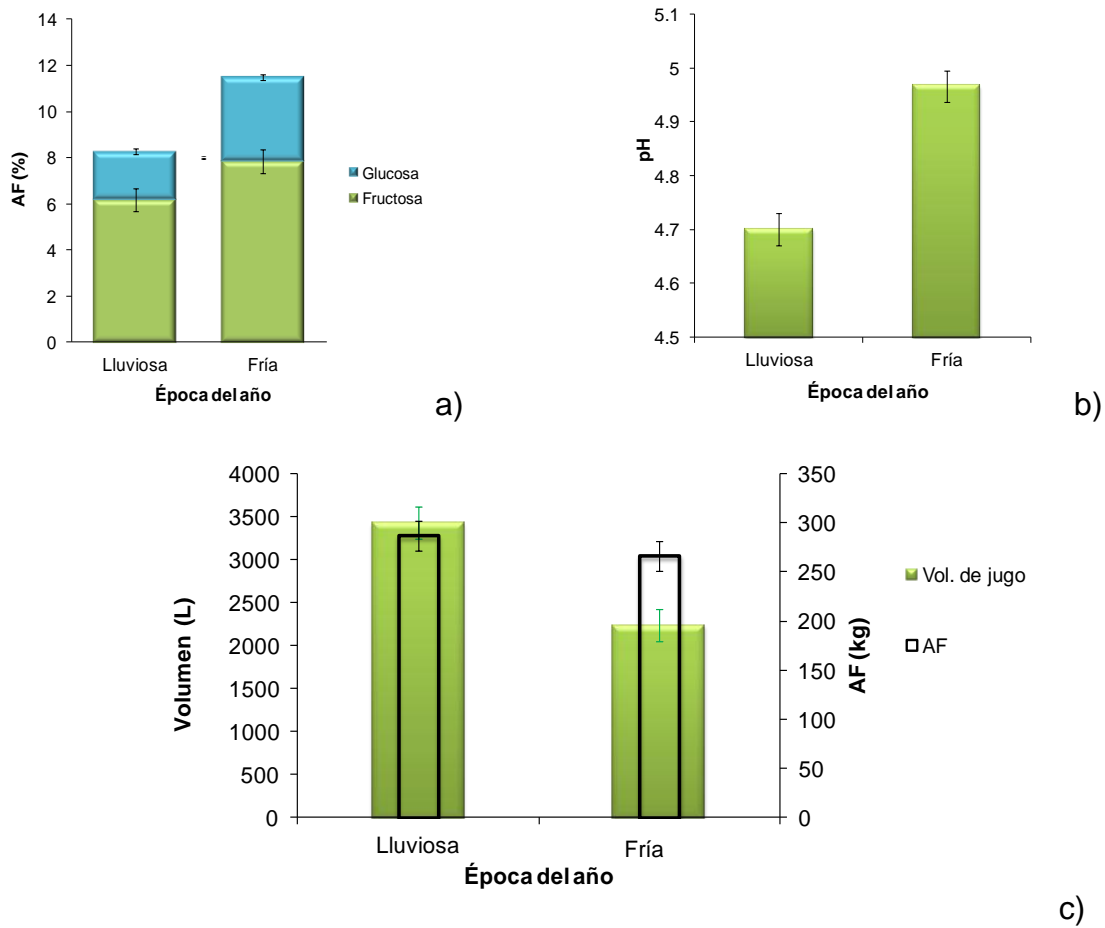


Fig. 4.2. Características de los jugos de maguey cocido en dos épocas del año. a) Azúcares fermentables (AF). b) pH. c) Volumen de jugo y cantidad de azúcares fermentables por carga procesada (n=3).

Durante la época lluviosa el maguey es metabólicamente más activo, por lo que probablemente la concentración de ácidos orgánicos sea mayor y esto se reflejó en el pH del jugo, 4.7 en la época lluviosa y 5.0 en la época fría, respectivamente (Figura 4.3b) (Nobel y Hartsock, 1986; Aguirre *et al.*, 2001; Rengel, 2002). Aunque el volumen de jugo de molienda por carga fue estadísticamente diferente, 3429.3 L

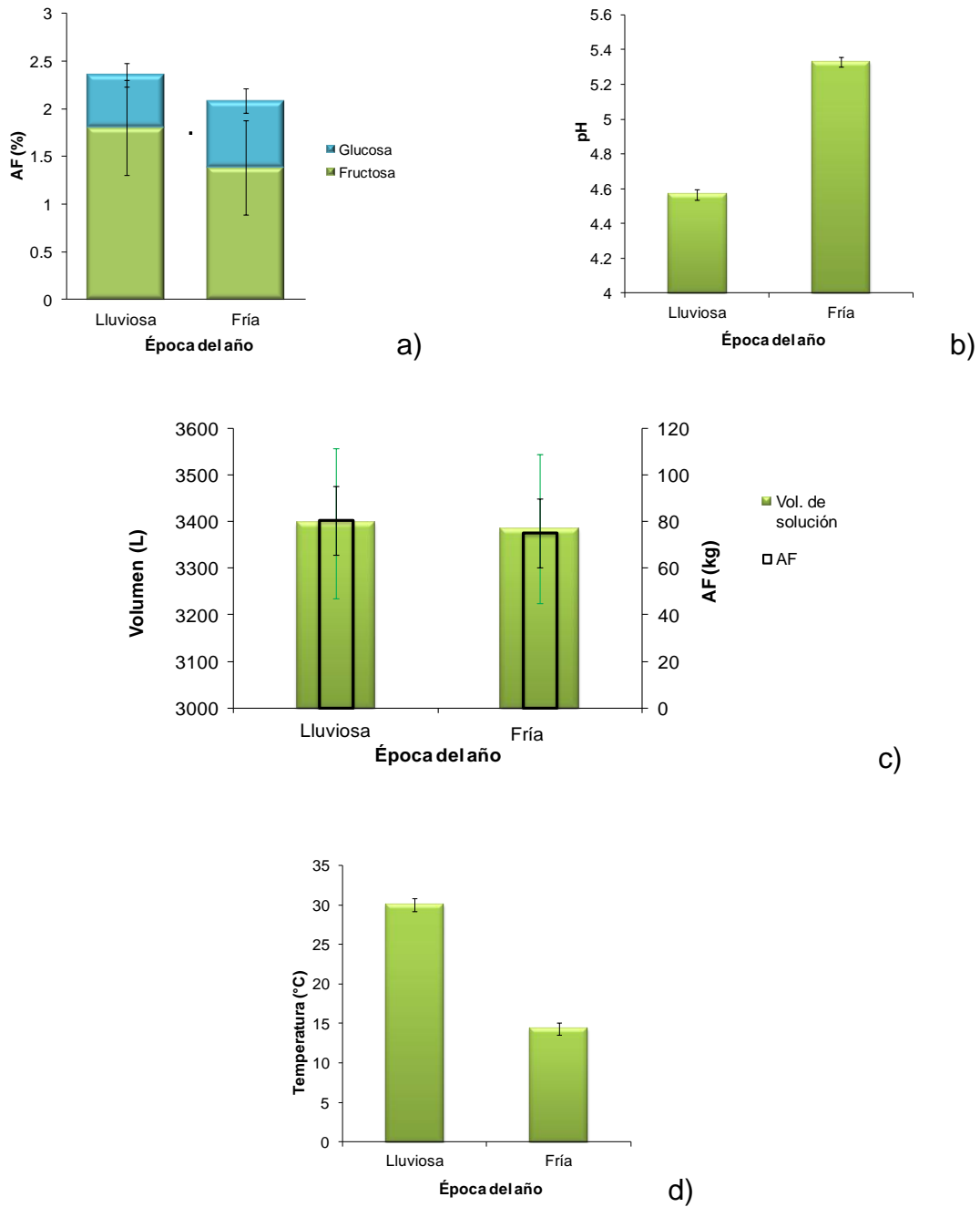


Fig. 4.3. Características de la solución resultante del lavado del bagazo de molienda en dos épocas del año. a) Azúcares fermentables. b) pH. c) Volumen de solución y cantidad de azúcares fermentables. d) Temperatura del agua del lavado el bagazo de molienda.

en la época lluviosa y 2233.5 L en la época fría, su aporte de AF para la fermentación (286.84 kg y 266.68 kg, respectivamente) fue estadísticamente similar (Figura 4.3c).

En la solución resultante del lavado del bagazo, la concentración promedio de AF fue de 2.31 % en la época lluviosa y 2.08 % en la fría, sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas, aunque en términos absolutos hubo una mayor recuperación de AF en la época lluviosa (75.5 kg) que en la época fría (71.2 kg), probablemente por la mayor temperatura del agua en dicha época, pues en esta labor es muy variable la cantidad de agua usada y su temperatura (Figura 4.3c). Las temperaturas del agua de lavado (estadísticamente diferentes) fueron de 28 °C en la época lluviosa y de 14.6 °C en la fría, lo cual refleja poco control compensatorio de las diferencias estacionales en la temperatura del ambiente (Figura 4.3d). Sin embargo, no se registraron diferencias significativas en los volúmenes de agua utilizados, ni en la recuperación de AF del bagazo, a pesar de la temperatura mayor en la época lluviosa.

La concentración de AF residuales en los bagazos provenientes de la molienda fue de 6.3 % en la época lluviosa y de 8.7 % en la época fría, con diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias en la concentración de AF en el bagazo lavado después de ser prensado, fueron estadísticamente similares (3.9 % y 4.6 %) para las épocas lluviosa y fría, respectivamente. Aunque estos valores fueron menores que los de los bagazos de molienda, aun son considerables como para ser un factor de ineficiencia en el proceso. Con los datos anteriores se logró estimar un promedio por lote de AF residuales sin extraer del bagazo, de 75.1 kg y

71.7 kg en la época lluviosa y en la fría, respectivamente; con estos azúcares desperdiciados en teoría se producirían más que 100 L de mezcal con 45 °GL.

La concentración media de AF en la mezcla dispuesta para fermentación, formada por el jugo proveniente del molino, solución del lavado del bagazo y el caldo de fermento, fueron estadísticamente similares entre épocas, 4.55 % para la época lluviosa y 5.15 % para la época fría (Figura 4.4a).

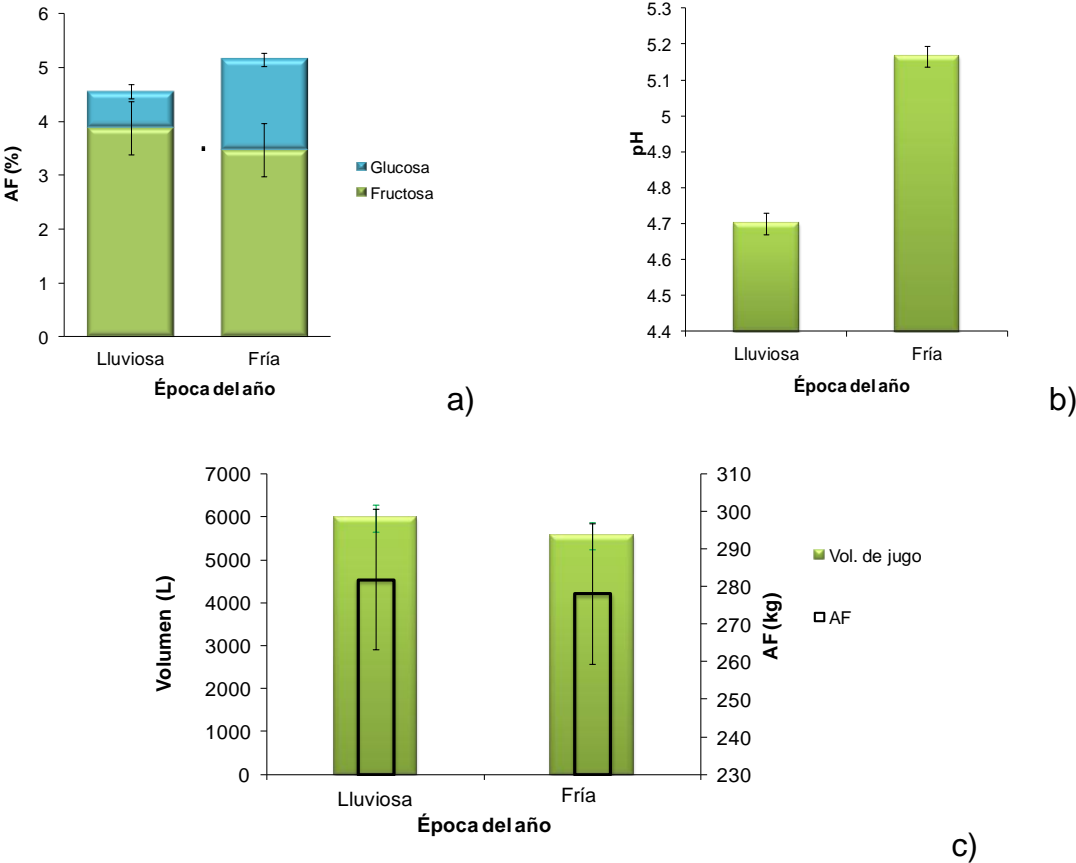


Fig. 4.4. Características de los mostos o jugos preparados para la fermentación en dos épocas del año. a) Azúcares fermentables (AF). b) pH. c) Volumen de mosto y cantidad de azúcares fermentables.

Lo anterior indica que el ajuste de la concentración de azúcares en la mezcla fue semejante en ambas épocas, a pesar de que sólo se basa en la medición realizada con un refractómetro elemental del tipo aerómetro o densímetro, donde en la lectura puede influir la temperatura y la presencia de sólidos suspendidos.

Con los datos anteriores se puede señalar que sólo en la etapa de molienda existe en promedio una pérdida de 73.9 kg de azúcares fermentables por carga (unos 100 L de mezcal con 45° GL), los cuales se quedan en el bagazo residual. Esta evaluación difiere de lo obtenido por Núñez y Arellano (2000), quienes no registraron las pérdidas en la etapa de molienda, pues en su evaluación el bagazo de molienda se utilizaba en la preparación del caldo de fermento.

Conclusiones

La concentración de AF dependió de la estación funcional. Los datos mostraron cantidades significativas de AF remanentes en el bagazo lavado y prensado, los cuales podrían incrementar el rendimiento de mezcal. El lavado de los bagazos carece de control en la cantidad y temperatura del agua, por lo cual se sugiere aumentar la temperatura del agua y el tiempo de enjuague, y mejorar radicalmente el prensado de los bagazos. La riqueza de azúcares en la mezcla dispuesta para la fermentación fue similar en ambas épocas analizadas, lo cual indica un buen método de ajuste en dicha concentración. Los volúmenes de agua utilizados y los AF recuperados de la solución de lavado del bagazo fueron estadísticamente similares en ambas épocas, a pesar de que la temperatura ambiental fue mayor en la época lluviosa.

Finalmente, la concentración de azúcares en las mezclas para fermentación fue similar entre épocas, a pesar de la variación estacional en la concentración de AF en los jugos de molienda, y esto se consigue solamente con ayuda de un refractómetro elemental en la preparación de dichas mezclas.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el apoyo financiero parcial C07-FAI-11-42.78 de la UASLP, y de la Fundación Produce. CZP agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca (162971) para estudios de doctorado. El Sr. Pablo Díaz del Castillo Fraga nos brindó todas las facilidades para desarrollar el proyecto en la fábrica Laguna Seca. Por la asistencia técnica a la QFB Josefina Acosta y Q. María del Socorro Jasso Espino del IIZD ayudaron oportunamente en diversas etapas del trabajo en el laboratorio.

Bibliografía

- Aguirre R., J. R.; H. Charcas S.; J. L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología. San Luis Potosí, S. L. P. México. 78 p.
- Durán, H. M.; J. L. Pulido. 2007. Análisis de la molienda en el proceso de elaboración de mezcal. Información Tecnológica. 18(1): 47-52.
- Kirk R., S.; R. Sawyer; H. Edan. 2002. Composición y análisis de alimentos de Pearson. CECSA. México. 777p.
- Michel C., C.; B. I. Juárez F.; J. R. Aguirre R.; J. M. Pinos R. 2008. Quantitative characterization of non-structural carbohydrates of mezcal agave (*Agave*

- salmiana* Otto ex Salm-Dick). Journal of Agricultural Food and Chemistry 56: 5753-5760.
- Nobel, P. S.; T.L. Hartsock. 1986. Temperature, water, and PAR influences on predicted and measured productivity of *Agave deserti* at various elevations. *Oecologia*. 68:181-185.
- Núñez V., M de la L.; M. Arellano P. 2000. Informe final de la asistencia técnica realizada en la empresa "Cía. Vinícola Alfa, S.A. de C. V.". CIATEJ. Guadalajara, Jalisco. México. 24p.
- Pérez Z., M. R. 1997. El mezcal en el altiplano potosino zacatecano. *Bebidas Mexicanas*. Febrero-marzo. 91-97.
- Rengel, Z. 2002. Handbook of plant growth pH as the master variable. University of Western Australia. Crawley. Australia. 397 p.
- Tello B., J. J.; E. García M. 1985. The mezcal industry in the altiplano potosino-zacatecano of North-Central Mexico. *Desert Plants*. 7(2): 81-87.
- Torrentera, U. 2000. *Mezcalería*. Oaxaca, Oaxaca. México. 172 p.
- Zamora P., C.; B. I. Juárez F.; J. R. Aguirre R.; D. Ortiz P.; C. I. Godínez H.; G. Álvarez F. 2010. Variación de la concentración de azúcares y saponinas durante la cocción del maguey mezcalero potosino. *e-Gnosis*. 8(7):1-11.

5. Discusión general

El proceso de elaboración de aguardientes de maguey puede ser artesanal, tradicional o industrial; sus diferencias comienzan con la especie de maguey a utilizar (materia prima) y siguen con la infraestructura y tecnología empleada; pero en general en el proceso se reconocen cinco etapas o pasos (Aguirre *et al.*; 2001; Cedeño, 2003). En la región mezcalera del altiplano potosino se utiliza el maguey silvestre (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck), cuyo rendimiento de mezcal varía de acuerdo con las condiciones ambientales de las diferentes épocas o estaciones funcionales (seca, fría y lluviosa) en el año (Aguirre *et al.*, 2001). Las marcadas diferencias entre el proceso de elaboración de mezcal practicado en la fábrica Laguna Seca y los utilizados en la industria tequilera y en los numerosos palenques de Oaxaca y Guerrero o en las vinatas de Durango, inician desde la selección y preparación de la materia prima. En el altiplano potosino zacatecano se realiza una selección minuciosa de la materia prima en el campo, y en general sólo se aprovechan las plantas en estado de madurez óptimo (quiotillas o castradas). En cambio, en las regiones productoras de tequila, las plantas se cosechan durante varios meses, a partir de que la mayoría que conforma la plantación alcanza cierto peso, o después de que algunas de ellas son desquiotadas. La selección y corte de plantas maduras forma parte de un manejo adecuado de las magueyeras del altiplano potosino, pues de esta manera se optimiza el contenido de azúcares fermentables, se minimiza el de saponinas en las cabezas, y a la vez, se favorece la colonia de la que formaban parte al reducirse la competencia en su interior (Aguirre *et al.*, 2001).

La cocción es una etapa fundamental, pues en ella se realiza la hidrólisis de los fructanos en fructosa y glucosa (monosacáridos fermentables). En la empresa Laguna Seca se utilizan como combustible principalmente restos de magueyes e izotes (*Yucca spp.*) muertos, recolectados en los agostaderos circundantes. Con este material se alimenta la caldera que provee de vapor al horno donde se cuecen las cabezas de maguey. Si no se cuenta con suficiente combustible o si está húmedo, la presión de la caldera es insuficiente y el tiempo de cocción es mayor, porque el flujo del calor es inconstante y el proceso de cocción es discontinuo. Aunado a lo anterior, la cantidad de azúcares fermentables, desechados en los efluvios generados durante esta etapa, puede ser una de las causas del bajo rendimiento (hidrólisis incompleta) señalado por Aguirre *et al.* (2001) y confirmado por Zamora *et al.* (2010).

Además, las piñas se cuecen enteras lo cual dificulta el calentamiento del tallo (órgano de almacenamiento de la planta) y retarda el tiempo de cocción (36h). La cocción de piñas enteras y el tiempo de cocción contrastan con lo que actualmente se hace en la industria tequilera, donde las cabezas se seccionan en mitades o se desgarran antes de cocerlas, ya sea en hornos de mampostería o en autoclave (12 h), o bien se extrae el jugo en crudo y luego se cuece con mayor eficiencia energética (Cedeño, 2003). Pero lo registrado supera a los procesos realizados en los palenques de Oaxaca y Guerrero, donde la cocción se realiza en hornos de pozo (3 a 5 días) calentados con leña, donde se pierde gran cantidad de azúcares fermentables por caramelización y carbonización (Granados, 1993; Anónimo, 1997; Carrillo, 2007).

Durante la cocción con vapor se genera gran cantidad de efluvios ricos en carbohidratos fermentables, de los cuales unos 2000 L por carga de 18 t son regularmente desechados durante las primeras 16 h de cocción por su alto contenido de suelo y polvo del campo, así como saponinas, ya que estas pueden influir de manera negativa en la fermentación y en las cualidades organolépticas del mezcal. El pH de estos efluvios tendió a disminuir (5.3 a 4.8) con el tiempo de cocción, tendencia similar a la registrada por Mancilla y López (2002) y Waleckx *et al.* (2008), al monitorizar la cocción de *A. tequilana*. De acuerdo con Mancilla y López (2002), la disminución de pH puede deberse a la formación de ácidos orgánicos, o a la incapacidad de los grupos amino para actuar como bases en el proceso de hidrólisis, cuando los compuestos amino sí han reaccionado. Cedeño (2003) señala que uno de los resultados favorables de la cocción es la reducción del pH a 4.5, ya que junto con la temperatura la acidez influye positivamente en la hidrólisis de los fructanos. Por lo tanto es posible que el valor mínimo de pH observado en esta investigación (4.8), se deba al propio proceso de la cocción.

El incremento en la altura de la columna de espuma persistente (característico de la presencia de saponinas) en los efluvios de las primeras horas de cocción, se debe a que en la base de las pencas la concentración de saponinas es mayor que en el tallo, y a que dichas bases de penca están más expuestas al contacto con el vapor (Aguirre *et al.*, 2001). Luego, la longitud de la columna de espuma tendió a disminuir debido a la hidrólisis de las saponinas y a su arrastre en los efluvios por el agua del vapor condensado.

La altura de la columna de espuma, su persistencia y la concentración de las saponinas fueron mayores en la época seca, lo cual puede ser una reacción de la planta al estrés hídrico, y posiblemente a la pérdida de agua en dicha época.

Sin embargo, el incremento en la cantidad de azúcares fermentables y la disminución de la cantidad de saponinas hacia el final de la cocción, indican que estos efluvios podrían ser condensados y utilizados en la fermentación, incrementando así el rendimiento en el proceso.

En efecto, con base en los resultados de los análisis por cromatografía líquida de alta presión (CLAP), se observó un incremento significativo en la concentración de fructosa y glucosa en los efluvios conforme avanzó la cocción, aunque fue mucho mayor el incremento registrado de fructosa, lo cual evidenció la presencia de fructanos como carbohidratos de reserva (López *et al.*, 2003). En la época seca la concentración de los carbohidratos fermentables en los efluvios se incrementó, lo cual coincide con lo registrado por Aguirre *et al.* (2001), ya que la pérdida de agua en esta época concentra los componentes químicos de la planta (Livingston *et al.*, 2007). En la época de lluvias dichos componentes se diluyen debido al incremento en la succulencia del maguey.

La succulencia del maguey también se vio reflejada en la concentración de azúcares fermentables en los jugos extraídos de las cabezas cocidas de maguey en la época lluviosa (8.2 %), respecto a los de época fría (11.5 %). El efecto estacional también se manifestó en la composición de estos glúcidos, pues fue de 74.2 % de fructosa y 25.8 % de glucosa en la época lluviosa, y 68.3 % de fructosa

y 31.7 % de glucosa en la época fría; estas diferencias fueron estadísticamente significativas y podrían deberse al consumo de fructanos por una menor fotosíntesis de la planta durante la época fría.

Durante la época lluviosa el maguey es metabólicamente más activo, lo cual probablemente genera una concentración de ácidos orgánicos mayor y eso se reflejó en el pH del jugo, 4.7 en la época lluviosa y 5.0 en la época fría, respectivamente.

La extracción de estos jugos se realiza prensando trozos de cabezas cocidas con una rueda de piedra o tahona; luego, como complemento, el bagazo generado se lava en una pila con agua caliente y se exprime en una prensa de tornillo. A pesar de este paso adicional, el color de los bagazos indica la presencia de azúcares remanentes (Durán y Pulido, 2007). Lo anterior se confirmó al encontrar azúcares residuales en los bagazos lavados en ambas épocas del año (lluviosa, 3.9 %; fría, 4.6 %, porcentajes estadísticamente similares), los cuales, aunque fueron menores a los obtenidos en el bagazo proveniente del molino (lluviosa, 6.3 %; fría, 8.7 %, estadísticamente diferentes), aun son considerables como para contribuir a la ineficiencia del proceso. En este proceso, la cantidad y temperatura del agua utilizada para enjuagar los bagazos es variable; sin embargo, la concentración de azúcares fermentables (AF) en la época lluviosa (2.31 %) y en la época fría (2.08 %) fue estadísticamente similar. La concentración de AF en la mezcla dispuesta a fermentación, fue estadísticamente similar entre épocas, 4.55 % para la época lluviosa y 5.15% en la época fría, lo cual indica un buen ajuste en la mezcla a pesar de que sólo se basa en la medición realizada con un refractómetro

elemental tipo densímetro, donde en la lectura puede influir la temperatura y la presencia de sólidos suspendidos.

Aunque el volumen de jugo de molienda por carga fue estadísticamente diferente, 3429.3 L en la época lluviosa y 2233.5 L en la época fría, su aporte de AF para la fermentación (286.84 kg y 266.68 kg, respectivamente) fue estadísticamente similar.

Con los datos anteriores se logró estimar un promedio por lote de AF residuales sin extraer del bagazo de 75.1 kg y 71.7 kg en la época lluviosa y en la fría, respectivamente; con estos azúcares desperdiciados en teoría se producirían más que 100 L de mezcal con 45 °GL.

Con los datos anteriores se puede señalar que sólo en la etapa de molienda existe en promedio una pérdida de 73.9 kg de azúcares fermentables por carga, los cuales se quedan en el bagazo residual. Esta evaluación difiere de lo obtenido por Núñez y Arellano (2000), quienes no registraron las pérdidas en la etapa de molienda, pues en su evaluación el bagazo de molienda se utilizaba en la preparación del caldo de fermento.

Como los AF de las cabezas de maguey son fundamentalmente fructosa y glucosa (pues otros azúcares reductores y no reductores se presentan en cantidades insignificantes) (Michel *et al.*, 2008), estos glúcidos son los únicos realmente evaluados con el método de Fehling para azúcares reductores totales. Por ello, las estimaciones obtenidas con este método y las generadas por CLAP fueron

estadísticamente similares, tanto en los efluvios como en los jugos de maguey, solución de lavado de bagazos y su mezcla con el caldo de fermento.

En la solución resultante del lavado del bagazo, la concentración promedio de AF fue de 2.31 % en la época lluviosa y 2.08 % en la fría, sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas, aunque en términos absolutos hubo una mayor recuperación de AF en la época lluviosa (75.5 kg) que en a la época fría (71.2 kg), probablemente por la mayor temperatura del agua en dicha época, pues en esta labor es muy variable la cantidad de agua usada y su temperatura. Las temperaturas del agua de lavado (estadísticamente diferentes) fueron de 28 °C en la época lluviosa y de 14.6 °C en la fría, lo cual refleja poco control de las diferencias estacionales en la temperatura del ambiente. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas en los volúmenes de agua utilizados, ni en la recuperación de los AF del bagazo, a pesar de la temperatura mayor en la época lluviosa.

En la industria tequilera la utilización de desgarradoras, molinos y aspersiones de agua caliente en serie o difusores de aire, optimizan la extracción de azúcares de los bagazos; por el contrario, en Oaxaca y Guerrero la extracción se hace a golpes de mazo, la cual resulta una actividad pesada y muy deficiente.

Con los datos anterior obtenidos en las dos etapas del proceso analizadas, podemos reafirmar lo descrito por Aguirre *et al.* (2001), acerca del bajo rendimiento por diversas ineficiencias acumuladas en las etapas del proceso de elaboración de mezcal en la fábrica Laguna Seca.

Bibliografía

- Aguirre R., J. R.; H. Charcas S.; J. L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología. San Luis Potosí, S. L. P. México. 78 p.
- Anónimo. 1997. Mezcal, elixir de larga vida. Gobierno del Estado de Oaxaca, Cámara Nacional de la Industria del Mezcal, BANCOMEXT y CVS. México. 120 p.
- Carrillo T., L. A. 2007. Los destilados de agave en México y su denominación de origen. *Ciencias*. 87: 41-49.
- Cedeño C., M. 2003. Production of tequila from agave: historial influences and contemporary processes. In: K. Jacques; T. P. Lyons; D. R. Kelsall (Eds.). *The alcohol textbook*. (4th ed). Nottingham University. Nottingham, England. pp. 223-245.
- Durán, H. M.; J. L. Pulido. 2007. Análisis de la molienda en el proceso de elaboración de mezcal. *Información Tecnológica*. 18(1): 47-52.
- Granados S., D. 1993. Los agaves en México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 252 p.
- Livingston D., P.; D. K. Hinch; A. G. Heyer. 2007: The relationship of fructan to abiotic stress tolerance in plants. In: S. Norio; B. Noureddine; O. Shuichi (Eds.). *Recent advances on fructooligosaccharides*. Research Signpost. Trivandrum, Kerala. India. pp. 181-199.

- López, M. G.; N. A. Mancilla M.; G. Mendoza D. 2003. Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 7835-7840.
- Mancilla M., N. A.; M. G. López. 2002. Generation of maillard compounds from inulina during the thermal processing of *Agave tequilana* Weber var. azul. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 806-812.
- Michel C., C.; B. I. Juárez F.; J. R. Aguirre R.; J. M. Pinos R. 2008. Quantitative characterization of non-structural carbohydrates of mezcal agave (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick). Journal of Agricultural Food and Chemistry. 56: 5753-5760.
- Núñez V., M de la L.; M. Arellano P. 2000. Informe final de la asistencia técnica realizada en la empresa "Cía. Vinícola Alfa, S.A. de C. V.". CIATEJ. Guadalajara, Jalisco. México. 24p.
- Pérez Z., M. R. 1997. El mezcal en el altiplano potosino zacatecano. Bebidas Mexicanas. Febrero-marzo. 91-97.
- Tello B., J. J.; E. García M. 1985. The mezcal industry in the altiplano potosino-zacatecano of North-Central Mexico. Desert Plants. 7(2):81-87 p.
- Waleckx, E.; A. Gschaedler; B. Colonna C.; P. Monsan. 2008. Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. Food Chemistry. 108: 40-48.

6. Conclusiones y recomendaciones generales

En el altiplano potosino zacatecano el aprovechamiento selectivo de las plantas quiotillas, castradas y desquiotadas de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck, para la elaboración del mezcal, constituye el fundamento del uso racional de este recurso espontáneo.

Las épocas o estaciones funcionales del año repercuten marcadamente sobre la succulencia y riqueza de azúcares y saponinas del maguey, pero el rendimiento absoluto de azúcares fermentables parece ser similar en el año.

La temperatura de los hornos es variable durante el proceso de cocción, pues depende de la presión de vapor en la caldera y ésta a su vez de la disponibilidad de combustible (restos secos de maguey e izotes).

Los valores de pH y la persistencia de las saponinas en los efluvios tienden a bajar conforme avanza el tiempo de cocción, mientras que la cantidad de azúcares fermentables aumenta. Este cambio ocurre a las 15 a 16 h de cocción y marca el momento de generación de efluvios aprovechables.

El lavado de los bagazos carece de control en la cantidad y temperatura del agua, utilizada, por lo cual se sugiere aumentar la temperatura del agua a 30 a 32 °C y el tiempo de enjuague, y mejorar radicalmente el prensado de los bagazos.

Durante la etapa de cocción se desecha una cantidad considerable (56 kg) de azúcares fermentables en los efluvios (unos 2000 L a partir de las 15 h), los cuales podrían ser condensados y utilizados en la fermentación. Con ello se podría incrementar el rendimiento de mezcal en unos 165 L con 45° GL por carga de 18 t.

Los datos mostraron semejanza estadística entre épocas del año en los volúmenes de agua utilizados en el lavado del bagazo, y en el ajuste de la concentración de la mezcla dispuesta a fermentar, lo cual sólo significa la estandarización adecuada de estas prácticas, pero sería más conveniente establecer los ajustes con base en la riqueza de azúcares fermentables. Sólo con la mejora en la molienda y el aprovechamiento de los efluvios el rendimiento de mezcal por carga de 18 t de maguey se podría incrementar unos 165 L con 45° GL.