



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**SOTOL: UNA REVISIÓN HISTÓRICA, QUÍMICA Y  
MICROBIOLÓGICA**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA  
PAMELA SOBRINO BARCELÓ**



**CIUDAD DE MÉXICO**

**2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: AURORA IRMA ORTEGÓN ÁVILA**

**VOCAL: ARTURO NAVARRO OCAÑA**

**SECRETARIO: FRANCISCO RUÍZ TERÁN**

**1er. SUPLENTE: ELSI EDELI JUÁREZ ARROYO**

**2° SUPLENTE: ARTURO ENRÍQUEZ PEÑA**

**Sitio donde se desarrolló el tema:**

**Laboratorio 321, Edificio E, Facultad de Química, UNAM.**

**Dirección: Circuito de la Investigación Científica, Ciudad Universitaria,  
Colonia Copilco Coyoacán, Código Postal 04510, Delegación Coyoacán.**

**Asesor del Tema: FRANCISCO RUÍZ TERÁN**

**Sustentante: PAMELA SOBRINO BARCELÓ**

<b>CONTENIDO</b>	
<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>9</b>
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b>	<b>9</b>
<b>1. CAPÍTULO I. GENERALIDADES SOBRE EL Sotol</b>	<b>10</b>
1.1. DEFINICIÓN DEL Sotol	10
1.2. SURGIMIENTO, POPULARIZACIÓN E IMPORTANCIA DEL Sotol	10
1.3. DURANTE LA ÉPOCA COLONIAL EN MÉXICO	12
1.4. ZONAS GEOGRÁFICAS DE PRODUCCIÓN DE Sotol	14
1.5. REGULACIÓN Y DENOMINACIÓN DE ORIGEN DEL Sotol	14
1.6. ESPECIFICACIONES Y CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS del Sotol	15
<b>2. CAPÍTULO II. BOTÁNICA Y QUÍMICA DE <i>Dasyilirion spp.</i></b>	<b>17</b>
2.1. GÉNERO DE <i>Dasyilirion spp.</i>	17
2.1.1. <i>Dasyilirion wheeleri</i>	19
2.2. DISTRIBUCIÓN GEORGRÁFICA DE <i>Dasyilirion spp.</i>	20
2.3. MORFOLOGÍA DE <i>Dasyilirion spp.</i>	21
2.4. SIEMBRA DE <i>Dasyilirion spp.</i>	23
<b>3. CAPÍTULO III. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL Sotol</b>	<b>24</b>
3.1. ESQUEMA GENERAL DEL PROCESO	24
3.2. COSECHA DE <i>Dasyilirion spp.</i>	26
3.3. COCCIÓN DE <i>Dasyilirion spp.</i>	29
3.4. MOLIENDA PARA LA FERMENTACIÓN DE LOS TALLOS DE <i>Dasyilirion spp.</i>	32
3.5. DESTILACIÓN Y MADURACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE Sotol	37

3.6. ENVASADO DEL Sotol	37
<b>4. CAPÍTULO IV. LA FERMENTACIÓN EN EL Sotol</b>	<b>38</b>
4.1. INICIOS DE LA FERMENTACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE Sotol	38
4.2. MICROORGANISMOS INVOLUCRADOS EN LA FERMENTACIÓN DE <i>Dasyilirion sp.</i>	39
4.2.1.1. BACTERIAS	41
4.2.1.2. LEVADURAS TIPO NO- <i>Saccharomyces</i>	42
4.2.1.3. LEVADURAS TIPO <i>Saccharomyces</i>	45
4.3. METABOLISMO DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN DE <i>Dasyilirion spp.</i>	47
<b>5. CAPÍTULO V QUÍMICA DE <i>Dasyilirion sp.</i></b>	<b>51</b>
5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE <i>Dasyilirion spp.</i>	51
5.2. REACCIONES QUÍMICAS PRESENTES EN EL PROCESO	53
5.3. ÁCIDOS GRASOS Y ÁCIDOS ORGÁNICOS GENERADOS DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL TALLO COCIDO	54
5.4. ALCOHOLES GENERADOS DURANTE LA FERMENTACIÓN DE <i>Dasyilirion spp.</i>	56
5.5. ALDEHÍDOS GENERADOS DURANTE LA PRODUCCIÓN DEL Sotol	59
5.6. ÉSTERES GENERADOS DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL MOSTO PARA LA PRODUCCIÓN DE Sotol	62
5.7. TERPENOS PROCEDENTES DE LA FERMENTACIÓN DE LOS MOSTOS DE <i>Dasyilirion spp.</i>	63
<b>6. CONCLUSIÓN</b>	<b>65</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>66</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Empresas productoras de Sotol en Chihuahua.	11
Tabla 2. Especificaciones fisicoquímicas del Sotol (NOM-159-SCFI-2004).	15
Tabla 3. Descripción Taxonómica de <i>Dasyilirion sp.</i>	17
Tabla 4. Tipos de especie de <i>Dasyilirion</i> , en México.	17
Tabla 5. Deterioro de alimentos causado por levaduras.	40
Tabla 6. Metabolitos generados por levaduras no- <i>Saccharomyces</i> .	42
Tabla 7. Caracterización fisicoquímica de <i>Dasyilirion spp.</i>	50
Tabla 8. Perfil fisicoquímico del Sotol.	50
Tabla 9. Rangos de especificaciones químicas del Sotol (NOM-159-SCFI-2004)	51
Tabla 10. Compuestos ácidos presentes en Sotol comercial.	54
Tabla 11. Compuestos alcohólicos presentes en Sotol.	57
Tabla 12. Aldehídos presentes en Sotol comercial.	59
Tabla 13. Compuestos ésteres presentes en Sotol comercial.	60

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Dasyilirion</i> spp.	17
Figura 2. Estados con producción de Sotol	20
Figura 3. Morfología <i>Dasyilirion</i> spp. <b>A:</b> Planta. <b>B:</b> Flores. <b>C:</b> Fruta. <b>D:</b> Semilla.	22
Figura 4. Diagrama de proceso para la elaboración del Sotol	25
Figura 5. Jimador de <i>Daylirion</i> spp.	27
Figura 6. Jimado de <i>Daylirion</i> spp.	27
Figura 7. Cabeza o piña de <i>Daylirion</i> spp.	28
Figura 8. Transportación de piñas de <i>Daylirion</i> spp.	28
Figura 9. Preparación de horno para cocción de piña	31
Figura 10. Piedras calientes listas para empezar cocción	31
Figura 11. Cocción de piñas de <i>Dasyilirion</i> spp.	32
Figura 12. Piñas cocidas	33
Figura 13. Majado de piñas	33
Figura 14. Preparación del mosto para fermentación	34
Figura 15. Fermentación	34
Figura 16. Destilación en alambiques de cobre	36
Figura 17. Alambique de cobre con serpentín sumergido en agua	37
Figura 18. Barricas	37
Figura 19. Principales rutas metabólicas de fermentación de azúcares por BAL	48
Figura 20. Obtención de lactato	49
Figura 21. Reacción simplificada para la obtención de ácido láctico, etanol y CO <sub>2</sub>	49
Figura 22. Ruta metabólica para la fermentación de glucosa por levaduras	50
Figura 23. Síntesis de ácido acético por oxidación de etanol	55
Figura 24. Reacciones involucradas para la formación de etanol	56
Figura 25. Reacción de formación de metanol a partir de pectina	57
Figura 26. Síntesis de alcoholes superiores	58
Figura 27. Síntesis de hidroximetilfurfural a partir de fructosa	60
Figura 28. Reacción de Maillard	61
Figura 29. Reacción simplificada para obtención de acetato de etilo en una fermentación	63
Figura 30. Síntesis de limoneno	64

## RESUMEN

El Sotol o Sereque es una bebida alcohólica hecha en México, elaborada a partir de la hidrólisis de los polifruktanos presentes en plantas que pertenecen al género *Dasyliirion spp.*, seguida de una fermentación y una destilación. Estas plantas crecen en zonas desérticas al norte de México. Dentro de la historia del Sotol se han encontrado indicios de su preparación desde tiempos prehispánicos en la zona arqueológica Paquimé, al norte de Chihuahua.

México cuenta con la denominación de origen del Sotol desde el año 2002 en donde se especifica que el Sotol es originario de tres estados de la república mexicana, Chihuahua, Coahuila y Durango.

El proceso de la elaboración del Sotol se puede dividir en cinco etapas. La primera etapa comienza con la jima para obtener la piña o cabeza de la planta. La segunda etapa es la cocción en hornos contruidos debajo de la tierra en donde los tallos se mantienen a una temperatura, por lo general no homogénea, de alrededor de 98°C por un tiempo de 72 horas. En esta etapa los polifruktanos presentes en la piña son hidrolizados. Posterior a la cocción, la siguiente etapa que se realiza es el macerado, para la obtención del mosto, listo para la cuarta etapa que es la fermentación. Se fermentan los azúcares disponibles para generar etanol. La quinta etapa es la destilación que, por lo general, se realiza en alambiques de cobre y así obtener el destilado como producto final.

Los microorganismos presentes en la fermentación del Sotol y en cualquier bebida alcohólica, son muy importantes, ya que aportan características sensoriales y fisicoquímicas en cada bebida alcohólica. Durante la fermentación del Sotol se pueden encontrar microorganismos del tipo *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*, encargados de la fermentación de los productos obtenidos de la hidrólisis de los polifruktanos presentes.

El objetivo de este trabajo es la recopilación y organización de los datos, hasta ahora publicados, acerca de los compuestos químicos que se forman durante la cocción de los tallos de la planta y aquellos que son producidos por los microorganismos en el proceso de fermentación.

La recopilación de la información permitirá saber qué compuestos se transforman en el proceso de cocción, la ruptura de la planta, macerado y fermentación, así como

los microorganismos que se han recuperado e identificado durante el proceso de elaboración del Sotol.

## OBJETIVO GENERAL

- Realizar la recopilación y organización de datos publicados acerca de los compuestos químicos formados durante la cocción de los tallos de la planta y aquellos que son producidos por microorganismos en el proceso de fermentación.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar la recopilación de la información que permita conocer los compuestos que se encuentran presentes en la elaboración del Sotol.
- Describir el proceso de elaboración del Sotol
- Compilar información acerca de la formación de compuestos presentes en el proceso de cocción y fermentación del Sotol.
- Recopilar la información de los microorganismos que se encuentran durante la elaboración del Sotol.

## **1. CAPÍTULO I. GENERALIDADES SOBRE EL Sotol**

### **1.1 DEFINICIÓN DEL Sotol**

La palabra Sotol proviene del náhuatl *zotolin*, que tiene por significado palma (La Barre, 1938).

El Sotol o Sereque es una bebida alcohólica destilada, elaborada a partir de la hidrólisis de los polifruktanos presentes en plantas silvestres nativas de zonas desérticas mexicanas, que pertenecen al género *Dasyliirion spp.*, seguida de una fermentación y una destilación para obtener la bebida alcohólica.

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-159-SCF-2004 Bebidas Alcohólicas-Sotol Especificaciones y Métodos de Prueba, el Sotol se define como: producto que se obtiene de la destilación y rectificación de mostos, en cuya formulación se han adicionado hasta una proporción no mayor de 49% de azúcares distintos a los derivados de la molienda, extraídos dentro de las instalaciones de la fábrica, de las cabezas maduras de *Dasyliirion spp.*, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas y sometidos a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no, en la inteligencia que no están permitidas las mezclas en frío.

### **1.2 SURGIMIENTO, POPULARIZACIÓN E IMPORTANCIA DEL Sotol**

Para hablar de lo qué es el Sotol, se necesita hablar de quiénes son los rarámuris. Los rarámuris son una comunidad indígena que viven en una zona montañosa que forma parte de la sierra madre occidental, al noroeste de México, mejor conocida como la Sierra Tarahumara en el estado de Chihuahua. Esta es una región en donde

el agua escasea y el clima es extremoso; en las profundidades de las barrancas el clima es caliente y contrario a las profundidades en la cima tienen un clima frío.

Los tarahumaras o rarámuris son una comunidad indígena del norte de México, en la parte de la Sierra Madre Occidental que atraviesa territorio del estado de Chihuahua y el suroeste de los estados de Durango y Sonora.

El 90% de su población (57,000 habitantes) se asientan en el estado de Chihuahua. A los mestizos en general se les designa con el término chabochi, que significa "los que tienen barbas", y a los que conviven con ellos y comparten su cultura les llaman napurega rarámuri.

En el siglo XVIII, un misionero jesuita llamado Matthäus Steffel, hizo un análisis para determinar las raíces etimológicas de la palabra *tarahumar*, en donde *tala* significa pie y *humá* significa correr, el cual hoy en día se relaciona con el significado de la palabra "rarámuri" que lleva por significado "pies ligeros". (González Rodríguez, 1982)

Actualmente, Chihuahua es el estado que más industrializa la producción de el Sotol. (Comarca, 2012) Siendo Chihuahua el productor de 300,000 litros de Sotol, aproximadamente al año (Consejo Mexicano de Sotol, 2010).

Dentro de las principales empresas productoras de Sotol se encuentran las siguientes:

Tabla 1. Empresas productoras de Sotol en Chihuahua

<b>Nombre</b>	<b>Empresa</b>
<b>Hacienda Reposado</b>	Vinomex
<b>Hacienda Añejo</b>	
<b>Hacienda Plata</b>	
<b>Hacienda Oro</b>	
<b>Mesteño Joven</b>	
<b>Don Cuco Blanco Suave</b>	El Sereque S.A.
<b>219 Reposado</b>	Cueva Blanca
<b>Leyenda Reposado</b>	
<b>Cabalgata Blanco</b>	
<b>Cinco Tragos</b>	Casa Sotolera

### 1.3 Sotol DURANTE LA ÉPOCA COLONIAL EN MÉXICO

La tradición de la bebida Sotol en el estado de Chihuahua se ubica alrededor de 500 años atrás, al igual que el aprovechamiento de la planta *Dasyliirion spp.*

En la época colonial se introduce el proceso de destilación en la elaboración del Sotol. Este proceso se realizaba en la Nueva Vizcaya, siendo la primera provincia en ser explorada y fundada en el norte de México durante el virreinato de la Nueva España. La provincia estaba consolidada por tres estados del norte de la República Mexicana: Chihuahua, Durango y Sonora. La destilación fue introducida por los españoles y en particular los franciscanos, durante los siglos XVI, XVII y XVIII. Fue hasta entonces donde comenzó la fabricación y el consumo de los alcoholes que llevaban el proceso de destilación (IMPI, 2002).

Anteriormente la planta *Dasyilirion* era consumida pero sólo con fines alimenticios, religiosos, medicinales y para la elaboración de cestas o productos similares con las fibras de la planta. Se ha sugerido que la parte de planta del sotol consumida por pobladores fueron principalmente las hojas y el tallo (Sobolik, 1991). Existe evidencia que el sotol fue una fuente rica en carbohidratos ya que junto con agave y cebolla proporcionaron en su momento más del 60% de calorías a los nativos de la región texana (Leach y Sobolik, 2010).

En la historia del Sotol se han encontrado indicios de su preparación desde tiempos prehispánicos en la zona arqueológica Paquimé, al norte de Chihuahua. En los años 1958-1961 se hallaron varios cuartos pequeños, en cuyas esquinas se localizaron entierros con ofrendas de lítica y cerámica, en la parte exterior se localizaron manantiales y cuatro hornos cuyo uso ha sido inferido para el cocimiento del agave o maguey y obtener sotol o mezcal (Lazcano, 2003).

En el siglo XIX los apaches siguieron usando Sotol, y a principios del siglo XX ya se comercializaba el Sotol en barril con un precio determinado (IMPI, 2002).

En Arizona los nativos usaban los corazones de las plantas para obtener un alimento similar al que se obtiene del maguey o también lo utilizaban para hacer la bebida Sotol (IMPI, 2002).

El río Grande y el río Pecos son ríos del sur de Estados Unidos los cuales fluyen en dirección sureste a través de los estados de Nuevo México y Texas hasta desaguar en el río Bravo, del que es su mayor afluente en la frontera con México. En estas cuevas y en el área de la cultura Lipán, ubicada en Texas, los habitantes cocinaban en pozos con piedras calientes, a manera de tatemar la planta, y con el centro o el corazón ya cocido, hacían una harina para preparar panecillos o tortas. Algunos grupos de apaches, utilizaban el Sotol en la misma forma que la planta del maguey comiendo las partes más tiernas. Los apaches comían los tallos tiernos de las flores

como una legumbre. En el Río Grande y el Río Pecos los nativos usaban las hojas para hacer sandalias y canastas, al igual que los tarahumaras (Ornelas, 2004).

#### 1.4 ZONAS GEOGRÁFICAS DE PRODUCCIÓN DE Sotol

La planta *Dasyliirion spp.* crecen en zonas desérticas al norte de México. La zona de producción natural del *Dasyliirion* está ubicada en la provincia fisiográfica de la Meseta Central, la cual se encuentra en un promedio de 1,000 a 2,000 metros de altura sobre el nivel del mar, entre la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental, misma que es compartida por los estados de Chihuahua, Coahuila y Durango, con características comunes fitogeográficas.

La bebida de Sotol es extraída y producida en el estado de Chihuahua, en donde cada municipio presenta características propias, derivadas de la variedad de *Dasyliirion* y del proceso utilizado. Permite la identificación de la bebida y distinción con otras bebidas alcohólicas.

*Dasyliirion spp.* es considerado de gran importancia para la ecología del Desierto Chihuahuense, ya que ayuda a mantener el suelo y sirve como alimento para algunos animales desérticos del área como roedores y aves (Reyes-Valdés et al., 2012).

#### 1.5 REGULACIÓN Y DENOMINACIÓN DE ORIGEN DEL Sotol

El Sotol tiene una regulación de producción en México dado por la Norma Oficial Mexicana NOM-159-SCFI-2004, la cual se refiere a las bebidas alcohólicas-Sotol, especificaciones y métodos de prueba.

En el año 2002 se otorgó la denominación de origen del Sotol con la protección prevista en la Ley de la Propiedad Industrial a la Denominación de Origen Sotol y el producto que ampara es una bebida alcohólica originaria de la zona geográfica que

abarca todos y cada uno de los municipios que conforman los estados de Chihuahua, Coahuila y Durango (Diario Oficial, 2002).

## 1.6 ESPECIFICACIONES Y CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS del Sotol

La NOM-159-SCFI-2004 establece que de acuerdo al porcentaje de los azúcares provenientes del *Dasyliirion spp.*, que se utilicen en la elaboración del sotol y en el procedimiento posterior a la destilación, éste se puede clasificar en una de las categorías siguientes: Sotol Blanco, Sotol Joven, Sotol Reposado y Sotol Añejo.

La definición del Sotol puro, de acuerdo a la norma, es aquel producto que se obtiene de la destilación y rectificación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído, dentro de las instalaciones de la fábrica, derivado de la molienda de las cabezas maduras de *Dasyliirion spp.*, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidos a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no. Para que este producto sea considerado como "Sotol 100% Puro", debe ser embotellado en la planta de envasado, la cual debe estar ubicada dentro de la zona de denominación de origen.

El Sotol blanco es diluido con agua para obtener la graduación alcohólica comercial para envasarlo.

El Sotol joven es el producto cuya graduación alcohólica comercial debe ajustarse con agua de dilución, si es necesario. Es el resultado de las mezclas de sotol blanco con sotol reposado y/o añejo de 1 a 2 meses.

El Sotol reposado es un producto que se deja por lo menos dos meses en recipientes de madera de roble, encino, acacia, castaño, haya, fresno, u otras alternativas tecnológicas, cuya graduación alcohólica comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución. En mezclas de diferentes soteles reposados, la edad

para el sotol resultante es el promedio ponderado de las edades y volúmenes de sus componentes.

El Sotol añejo es un producto sujeto a un proceso de maduración de por lo menos un año en recipientes de madera de roble, encino, acacia, castaño, haya, fresno, cuya capacidad máxima sea de 210 litros u otras alternativas tecnológicas y con una graduación alcohólica comercial que debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución. En mezclas de diferentes sotoles añejos, la edad para el sotol resultante es el promedio ponderado de las edades y volúmenes de sus componentes.

Tabla 2. Especificaciones fisicoquímicas del Sotol (NOM-159-SCFI-2004).

	Sotol Blanco		Sotol Joven		Sotol Reposado		Sotol Añejo	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
Contenido de alcohol a 20°C (% Alc. Vol.)	35	55	35	55	35	55	35	55
Alcoholes superiores (Aceite de fusel o alcoholes superiores de peso molecular superior al alcohol etílico en alcohol amílico)	Valores expresados en mg/100 mL referido a alcohol anhidro							
	20	400	20	400	20	400	20	400

## 2 CAPÍTULO II. BOTÁNICA Y QUÍMICA DE *Dasyilirion sp*

### 2.1 GÉNERO DE *Dasyilirion sp*

El nombre del género *Dasyilirion* significa de lirio grueso. *Dasyilirion spp.* es la planta cuyo nombre común es Sotol o sereque y pertenece a la familia de Asparagaceae, contiene numerosas hojas simétricas, alargadas y fibrosas, con forma de cuchara en la parte inferior, de color verde a verde grisáceo. Las hojas cuentan con espinas en los márgenes y están recubiertas de una capa que forman una cutícula gruesa. Se a registrado que el tallo de la planta puede llegar a medir 3 metros de altura y con un peso de hasta 150 kg, siendo un tallo fibroso y robusto en la raíz. (Reyes-Valdés et al., 2012). La parte de utilidad para la elaboración del Sotol, es la piña o cabeza de la planta.

El nombre del género *Dasyilirion* significa de lirio grueso.



Figura 1. *Dasyilirion spp.*

El género *Dasyilirion* anteriormente era ubicado dentro de las Liliaceae, el cual fue reubicado en el género de las Agaveaceae. En la actualidad *Dasyilirion* se ubica dentro de la familia Asparagaceae y subfamilia de Nolinaceae (USDA, 2018).

Tabla 3. Descripción Taxonómica de *Dasyllirion* sp.

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>Phyllum</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Familia</b>	<i>Asparagaceae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Nolinaceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Dasyllirion</i>
<b>Subespecie</b>	<i>Wheeleri</i>

El género *Dasyllirion* abarca alrededor de 15 especies distribuidas en las zonas áridas y semiáridas de Norteamérica, desde el sur de los Estados Unidos hasta Oaxaca. La mayoría de las especies son endémicas de México (Reyes-Valdés et al., 2012).

Tabla 4. Tipos de especie de *Dasyllirion*, en México. (Ornelas, 2004)

<b>ESPECIE</b>	<b>REGIÓN</b>
<b><i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trelease</b>	Zacatecas, Coahuila
<b><i>Dasyllirion palmeri</i> Trellease</b>	Coahuila, Saltillo
<b><i>Dasyllirion lucidum</i> Trellease</b>	Puebla
<b><i>Dasyllirion parryanum</i> Trellease</b>	San Luis Potosí
<b><i>Dasyllirion leiophyllum</i> Engelmann</b>	Chihuahua
<b><i>Dasyllirion texanum</i> Trellease</b>	Coahuila, Nuevo León
<b><i>Dasyllirion simplex</i> Trellease</b>	Durango

<b><i>Dasyilirion glaucophyllum</i></b> <b>Hooker</b>	Este del centro de México
<b><i>Dasyilirion acrotiche</i></b> <b>Zuccarini</b>	Pachuca, Querétaro, San Luis Potosí
<b><i>Dasyilirion graminifolium</i></b> <b>Zuccarini</b>	San Luis Potosí
<b><i>Dasyilirion durangense</i></b> <b>Trelease</b>	Durango
<b><i>Dasyilirion serratifolium</i></b> <b>Zuccarini</b>	Oaxaca
<b><i>Dasyilirion wheeleri</i></b> <b>Warson</b>	Chihuahua, Sonora
<b><i>Dasyilirion wheeleri wislizeni</i></b>	Chihuahua
<b><i>Dasyilirion Berlandieri</i></b> <b>Trelease</b>	Monterrey, Coahuila

De las 15 especies de *Dasyilirion spp.*, tres de ellas tienen importancia en la producción de bebidas alcohólicas, *Dasyilirion duranguense*, *Dasyilirion cedrosanum* y *Dasyilirion wheeleri*.

El peso de *Dasyilirion spp.* esta alrededor de 20 a 40 kg en plantas maduras (Cruz-Requena et al., 2008).

### 2.1.1 *Dasyilirion wheeleri*

*Dasyilirion wheeleri* es nativa de zonas áridas en el norte de México, específicamente en los estados de Chihuahua, Sonora y Durango, así como en el sur de Estados Unidos. Siendo *Dasyilirion wheeleri* una de las especies más abundantes y utilizadas para la elaboración del Sotol.

*Dasyilirion wheeleri* tiene un tallo corto con hojas de 15 a 20 mm de ancho, de alrededor de un metro de longitud y de color verde o ligeramente glaucas, lisas y lustrosas; tiene espinas distantes de 5 a 10 mm y de 2 a 3 mm de largo, son rojizas

o con base amarilla y los dientes generalmente rojizos. El fruto es triangular, más o menos codiforme, de 6-9 mm. Las semillas son de color verde con medida de 3 mm de largo (Trelease, 1911).



Figura 2. Estados con producción de Sotol

## 2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *Dasyllirion sp*

*Dasyllirion spp.* generalmente puede crecer en regiones que se encuentre entre los 1000 a 2200 metros sobre el nivel del mar. El crecimiento de *Dasyllirion spp.* está repartido en diferentes tipos de suelo como pedregoso, cerriles, calizos y rocosos. Las precipitaciones para que favorezca el crecimiento de *Dasyllirion spp.* deben de tener un mínimo de 250 mm anuales y como máximo 700, los inviernos tienen que ser secos y los veranos equilibrados para que la planta tenga un desarrollo adecuado (Ornelas, 2004).

La distribución de *Dasyllirion spp.* generalmente se encuentra en el noroeste de México y el Sur de Estados Unidos. Las regiones más representativas de México son:

- Durango: Sierra de Ramírez y San Juan de Guadalupe.
- Chihuahua: en los límites de Coahuila, municipio de Jiménez, Sierra del Diablo, los Remedios, Sierra de Coyame, Sierra de Matasaguas, Nicolás Bravo municipio de Ojinaga, Madera, Ignacio Zaragoza, Casas Grandes, y Janos entre otros.
- Tamaulipas: Toda la franja de la Sierra Madre comprendida entre, Tula, Palmilla y Jaumave.
- San Luis Potosí: Norte de Guadalcazar, Sur del Rucio y Sierra de Bozal

Específicamente en Chihuahua el crecimiento de *Dasylyrion spp.* es a lo largo de las Barrancas de Chihuahua, en los límites de Sonora.

### 2.3 MORFOLOGÍA DE *Dasylyrion spp.*

La morfología de *Dasylyrion spp.* se compone, de forma general, en cuatro partes: la planta, las flores, el fruto y las semillas. La descripción gráfica se puede observar en la Figura 3.

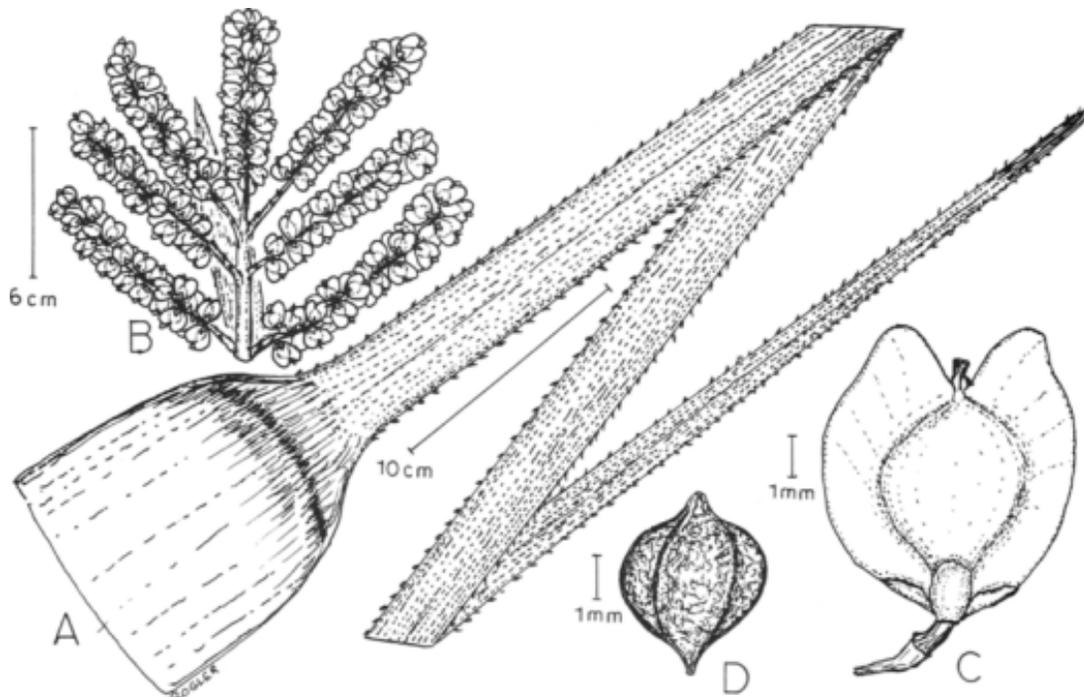


Figura 3. Morfología *Dasyilirion* spp. A: Planta. B: Flores. C: Fruta. D: Semilla. (Citado por Bogler, 1998)

La raíz de *Dasyilirion* spp. es fibrosa, de profundidad corta, ramificada y extendida, estas nacen del tronco que es grueso (Velázquez, 1983).

El tronco puede tener una altura de uno a tres metros, las hojas son de 15 mm a 20 mm de largo y generalmente con un ancho de 25 mm. Las espinas tienen una distancia entre sí de 5 mm a 10 mm, con un largo de 2 mm a 3 mm de color amarillas con una transición a café en la parte de arriba.

Las plantas del Sotol son dioicas, es decir, tienen sexos separados. La planta macho produce el polen para fertilizar a las plantas hembras. El polen se deposita en el óvulo para producir la semilla. El sexo de la planta del Sotol se ve reflejado en la flor. La flor masculina, estaminada, es de color amarillo brillante. La flor femenina, pistilada, es estrecha, con un color verde o púrpura y tiene un periodo de floración más corto que el del estaminado, pudiendo ser polinizada más rápido.

La inflorescencia tiene una altura de 3 a 5 metros. Sus frutos son esféricos. Tiene semillas verdes de 3 mm de largo.

Cabe mencionar que las características de *Dasyilirion spp.* varía dependiendo de la zona en la que se cultive. En Chihuahua las hojas tienen un color verde claro, con pelusilla y su tallo a veces mide más de un metro de altura, al igual que en Sonora y Nuevo México. En Arizona las hojas son de colores pálidos (Contreras, 2005).

#### 2.4 SIEMBRA DE *Dasyilirion spp.*

Las semillas de *Dasyilirion spp.* son trígonas, de un color café amarillento y con una superficie plana y rugosa (Hernández J., 2008). Después de la germinación la raíz presenta un crecimiento de 6 cm.

Las plantas de Sotol presentan raíces fibrosas que exploran el suelo desde los 10 cm hasta los 30 cm de profundidad. En plantas de mayor edad, la profundidad de las raíces puede aumentar esta puede aumentar. La búsqueda de agua es tarea de las raíces profundas en el suelo pero a su vez mantiene raíces superficiales. La productividad de estas plantas depende fuertemente de los eventos grandes de precipitación (Robertson et al., 2008), lo cual indica que las raíces profundas aportan en mayor cuantía al crecimiento de la planta. En un estudio publicado por Patrick et al. (2007), se menciona que la asimilación de CO<sub>2</sub> y la tasa de transpiración son dependientes directamente de la magnitud del aporte de agua, sin reportarse algún mecanismo de aumento en la eficiencia en el uso del agua por parte de la planta.

Desde la germinación hasta la primera floración, transcurre un tiempo de 12 a 15 años. A diferencia del género *Agave*, *Dasyilirion spp.* continúan vivas después de su floración.

Su longevidad es variable, pero se sabe de plantas que han sobrevivido más de 150 años en condiciones de invernadero (López Barbosa, 2005).

### **3 CAPÍTULO III. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL Sotol**

#### **3.1 ESQUEMA GENERAL DEL PROCESO**

La descripción general del proceso consiste en la cosecha de *Dasiliryon* spp., en donde las hojas de la planta van a ser cortadas para dejar solamente la piña y así transportarlas a la Sotolería. Las piñas las acomodan en hornos subterráneos en donde se hace la cocción de las piñas. Una vez que se han cocido las piñas se hace el majado y se pasan a tinajas con agua para proceder a la fermentación del majado. Y ya que se ha concluido la fermentación, se hacen dos destilaciones para obtener el Sotol blanco.

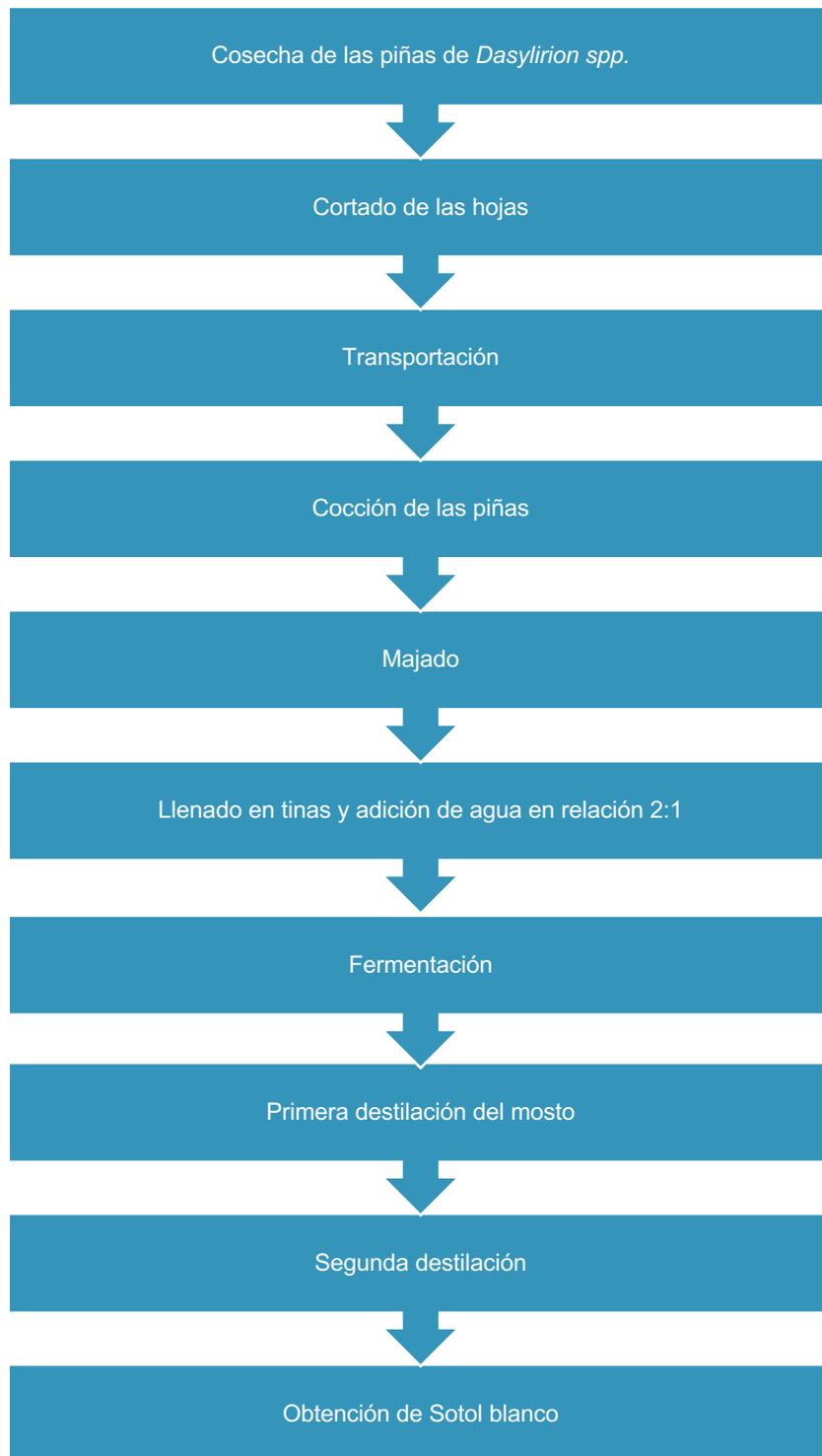


Figura 4. Diagrama de proceso para la elaboración del Sotol

### 3.2 COSECHA DE *Dasyllirion spp.*

Al agricultor originario de México, que se dedica a la cosecha de plantas de *Agave* o *Dasyllirion spp.*, principalmente para la elaboración de tequila, mezcal y sotol, se le conoce como Jimador.

El Jimador selecciona las plantas que ya alcanzaron la madurez para la elaboración de la bebida Sotol. Una edad madura va entre los 8 y 12 años o cuando las plantas empiezan a iniciar su floración, que también es conocido comúnmente como el quiote. Quiote proviene del náhuatl y significa tallo o brote.

Un agave inmaduro puede tener un sabor amargo. El contenido de azúcares en tallos cortados en distintas épocas del año, muestran que el mayor contenido de azúcares es durante los meses de invierno (De La Garza, 2000).

Una vez seleccionados las plantas maduras se realiza el jimado de *Dasyllirion spp.*, en donde se cortan las hojas de la planta con un machete o un hacha, dejando sólo la cabeza o piña (Gutiérrez, et al., 2013). Una vez que la piña o cabeza está libre de hojas, son llevadas a la Sotolería para evitar la deshidratación y proceder a su cocción. El peso promedio de la piña es de 15 a 20 kg.



Figura 5. Jimador de *Daylirion spp.*



Figura 6. Jimado de *Daylirion spp.*



Figura 7. Cabeza o piña de *Daylirion spp.*



Figura 8. Transportación de piñas de *Daylirion spp.*

### 3.3 COCCIÓN DE *Dasyilirion spp.*

Casi el 80% del sotol se produce de manera artesanal (Contreras y Ortega, 2005). En la cocción de las piñas se tienen hornos circulares subterráneos con medidas que van a depender del productor. Los hornos pueden tener hasta 8 metros de diámetro.

El horno es preparado poniendo una capa de leña, colocada en forma piramidal y en seguida de la leña se pone piedras para que cuando se prenda el fuego las piedras se calienten al rojo vivo. La leña se deja aproximadamente 5 horas y se apaga con agua, dejando únicamente como fuente de calor las piedras. Las piñas son acomodadas en el horno de tal manera que la leña y las piedras quedan por debajo.

Después de haber colocado las piñas se cubren con capas de tierra, bagazo de producciones anteriores y lonas sobre el horno para que se escape la menor cantidad de humedad y de calor.

El proceso de la cocción se deja de dos a tres días, dependiendo del productor. En esta cocción se suavizan los tallos de *Dasyilirion spp.* facilitando la molienda y se hidrolizan los carbohidratos presentes, principalmente los fructanos en donde la hidrólisis permite que se separen los monómeros fructosa, que actuaría como los azúcares fermentables.

Dentro de la composición química de *Dasyilirion spp.*, la mayor parte es inulina, un carbohidrato ramificado que tiene la función de ser la fuente de reserva de energía (Franck y De Leenher, 2000; Mancilla y López, 2002).

Por otro lado, en la planta, la inulina tiene como función ser la fuente de energía para el crecimiento de la inflorescencia. Las ramificaciones que tiene la inulina

ayudan a que se pueda hidrolizar de una manera rápida para producir energía (Mathews y Van Holde, 1995).

La inulina es un polímero lineal y está compuesta de cadenas de 25 a 35 residuos de fructosa unidas por enlaces glucosídicos  $\beta(2\rightarrow1)$  y termina con una molécula de sacarosa. (Bautista, et al., 2001).

Este carbohidrato ramificado, se degrada durante el cocimiento dando principalmente varias moléculas de fructosa, alrededor del 20% de sacarosa y el trisacárido 1, $\beta$ -fructosil inulobiosa (Feingold, 1956 y Takashi, 1955, citados por Arrazola, 1969). La fructosa y la glucosa son dos azúcares reductores que pueden ser utilizados para obtener alcohol por medio de la fermentación. Así mismo, estos azúcares pueden interactuar con las proteínas dando como resultado la caramelización utilizando la reacción de Maillard (Téllez, 1998).

En la etapa de cocción lo ideal sería tener un control de la temperatura ya que, al ser un proceso artesanal a veces no se tiene una constante en esta variable. Si la temperatura es más baja de lo necesario para el rompimiento de la inulina, no hay una hidrólisis de la inulina y al no haber esta hidrólisis, el monómero no es utilizado por la levadura para la fermentación. Por otra parte, la caramelización y la reacción de Maillard se llevan a cabo durante el proceso. Esto se puede traducir en pérdida de azúcares reductores, bajando el rendimiento en compuestos de degradación como enoles, furfural e hidroximetil furfural, afectando la eficiencia en la fermentación (Bautista, 2001).



Figura 9. Preparación de horno para cocción de piña



Figura 10. Piedras calientes listas para empezar cocción



Figura 11. Cocción de piñas de *Dasyilirion spp.*

### 3.4 MOLIEDA PARA LA FERMENTACIÓN DE LOS TALLOS DE *Dasyilirion spp.*

Después de la cocción se sacan las piñas del horno y se realiza el majado o molienda de los tallos. A diferencia del *Agave* que la molienda se realiza con una tahona, molino rustico que consiste en una piedra plana redonda jalada por un caballo o por maceración con un mazo de madera (Macillas, 2006), el majado se hace con ayuda de un hacha para dejar trozos pequeños hasta dejar fibras.

Una vez que se tienen los trozos pequeños de *Dasyilirion spp.* se meten en cajones de fermentación abiertos. Estos cajones pueden estar hechos de madera, cemento o plástico. Al usar cajones de madera se adquieren características organolépticas en el Sotol.

En esta fermentación, se pueden inocular levaduras de producciones anteriores. La proporción de agua que se usa en los cajones es 2:1 y el tiempo que se deja el majado en los cajones es de 4 a 7 días, dependiendo del calor.



Figura 12. Piñas cocidas



Figura 13. Majado de piñas



Figura 14. Preparación del mosto para fermentación



Figura 15. Fermentación

### 3.5 DESTILACIÓN Y MADURACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE Sotol

Una vez que el Maestro Sotolero determina que la fermentación se debe detener, debido a que ha disminuido el sabor dulce del mosto y se presenta el sabor a etanol, el siguiente paso es la destilación.

La destilación consiste en la separación de los componentes en función de la diferencia de la volatilidad en el punto de ebullición. El material que se va a destilar es una mezcla de agua, etanol y otros compuestos de diferentes volatilidades. El líquido alcohólico que se va a destilar tiene una composición compleja, de tal manera que en la destilación no solamente pasa el alcohol, sino que va acompañado de otros compuestos volátiles como aldehídos, éteres, ácidos y alcoholes superiores (Varnam, 1944).

La destilación del Sotol se hace en un alambique de cobre y lleva a cabo dos destilaciones. El alambique consiste de una olla, la tapa de la olla se le llama montero, turbante tubo que une al montero con un serpentín que tiene una desembocadura para la recolección del líquido. Las ollas se calientan con leña para que se genere el calor necesario para la destilación.

La destilación consiste en tres etapas o fracciones: cabeza, que es la primera recepción del líquido esta fracción tiene compuestos con menor punto de ebullición que la del etanol; el cuerpo es la fracción que más importa en la destilación, esta fracción da como resultado el líquido que es precursor del Sotol. Este líquido obtenido es de menor pureza que en la segunda destilación; y por último se encuentra la cola que puede tener trazas del etanol, pero principalmente tiene compuestos con mayor punto de ebullición que el etanol. Una vez terminada la primera destilación se realiza la segunda para obtener un mejor producto con los compuestos deseados y mayor pureza de alcohol. En la primera destilación se obtiene una concentración de aproximadamente 30% (v/v) y en la segunda destilación la concentración de alcohol aumenta de 55-65% (v/v). De acuerdo a las

especificaciones fisicoquímicas de la norma oficial mexicana NOM-159-SCFI-2004, establece que la concentración del Sotol tiene que estar dentro de los límites superiores e inferiores de 35 a 55 % (v/v). Por lo que de ser mayor la concentración se tendrá que ajustar al cumplimiento de la norma.

La concentración de alcohol que hay en una bebida alcohólica va a depender ampliamente del proceso al que es sometido la bebida. Podemos dividir en dos las bebidas alcohólicas: bebidas fermentadas y bebidas fermentadas destiladas. Las bebidas fermentadas pueden alcanzar en promedio una concentración de alcohol que oscila entre 3.5° y 14% (v/v), mientras que las bebidas destiladas alcanzan una mayor concentración de 35% a 60% (v/v) (De la Garza et al., 2008).

Como maestro Sotolero es importante establecer el punto en el cual se debe de hacer el corte de la fracción de destilado (cabezas), que es la que se obtiene en los primeros minutos y es indeseable debido a su composición química; estos compuestos podrían originar cambios sensoriales en el producto (Bautista, 2001).

La maduración del Sotol reposado o añejo, se lleva a cabo en barricas de roble, encino, acacia, castaño, haya fresno, entre otros, con una capacidad de hasta 210 litros por barrica. El tiempo de maduración para un Sotol reposado es de 2 meses, y para el Sotol añejo es de 1 año.



Figura 16. Destilación en alambiques de cobre



Figura 17. Alambique de cobre con serpentín sumergido en agua

### 3.6 ENVASADO DEL Sotol

El envasado comienza con la sanitización de las botellas, con el mismo Sotol que se va a envasar, es decir, se le inyecta el Sotol de la misma producción y una vez que se hace el lavado de las botellas, se colocan boca abajo para que se escurran y se sequen. El llenado y sellado de las botellas de Sotol puede ser manual o con una llenadora automática. Ya que están selladas las botellas se pasan a la línea de producción de etiquetado.



Figura 18. Barricas para añejamiento

## 4 CAPÍTULO IV. LA FERMENTACIÓN EN EL Sotol

### 4.1 INICIOS DE LA FERMENTACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE Sotol

Para iniciar una fermentación en alguna bebida o en un alimento, se necesita de una proliferación de microorganismos que consuman los carbohidratos presentes en la materia prima. Los carbohidratos son utilizados como fuente de carbono fermentable para generar diferentes metabolitos como: etanol, glicerol, entre otros (Flanzy, 2003). Estos metabolitos son generados por medio de una vía anaerobia, que en consecuencia, durante el proceso fermentativo hay una ganancia de energía de 2 ATP.

Durante la fermentación de bebidas alcohólicas intervienen principalmente levaduras del género *Saccharomyces*. Sin embargo, existen otros géneros de levaduras que también participan en los procesos fermentativos, y generalmente son poco estudiados, estas son las levaduras denominadas no-*Saccharomyces*. Mediante la producción de congenéricos, enzimas y proteínas pueden enriquecer organoléptica y nutricionalmente las bebidas alcohólicas, lo que ayudaría a satisfacer el paladar de los consumidores (Acevedo, et al., 2015).

La fermentación inicia en cuanto se llenan las tinajas de fermentación con el mosto. En la fermentación, los sustratos que se usan comúnmente son la glucosa y fructosa (Úbeda, 2014).

La concentración de microorganismos presentes en la piña, disminuye después de la cocción de las piñas, con las piedras. Sin embargo, durante el majado el número de colonias aumenta (De la Garza et al., 2008).

La heterogeneidad de la microbiota presente en el mosto va disminuyendo en relación al tiempo que pasa de la fermentación. Teniendo al inicio bacterias ácido

lácticas (BAL) y levaduras, dejando al final a *Saccharomyces cerevisiae* y pocas especies de bacterias al término del proceso (Páez-Lema, 2013).

Un parámetro importante a considerar es el contenido de azúcares reductores totales que se encuentran presentes en la planta. Los azúcares reductores pueden estar entre el 20% y 30%, con respecto al peso de la piña. Sin embargo, el porcentaje ideal para la planta es del 25% y 30% ya que se considera de buena calidad (Granados, 1993; Téllez, 1998). El azúcar presente en las piñas es importante ya que existe una relación que entre mayor son los azúcares reductores, mayor es el volumen de alcohol a obtener. Esto va a depender de la tolerancia al medio de los microorganismos que estén presentes en la fermentación, para la producción de etanol con altas concentraciones de glucosa.

#### 4.2 MICROORGANISMOS INVOLUCRADOS EN LA FERMENTACIÓN DE *Dasyliirion spp.*

Existen diferentes tipos de microorganismos presentes en la fermentación de una bebida alcohólica. Podemos clasificarlos en tres tipos de microorganismos: bacterias, levaduras del tipo no-*Saccharomyces* y levaduras del tipo *Saccharomyces*. Cada tipo de microorganismo tiene diferente aportación en el proceso de fermentación.

Una de las bacterias que puede participar en la fermentación de mosto, son las Gram positivo. La pared celular de las bacterias Gram positivo es una estructura rígida que da la forma a la bacteria y está constituida principalmente de peptidoglucano. La función principal de la pared es dar una protección (García, 1995).

Por otro lado, están las bacterias ácido lácticas (BAL). Estas bacterias son cocos o bacilos Gram positivo, anaerobio facultativo, homofermentativos o heterofermentativos. (Parra, 2010).

Las levaduras tienen una estructura típica de célula eucariota. Son organismos heterótrofos, por lo tanto, requieren de carbono orgánico para obtener energía y carbono para la síntesis de sus componentes celulares. Sin embargo, los requerimientos nutricionales pueden variar entre las diferentes especies de levaduras.

Las macromoléculas de las levaduras son proteínas, glicoproteínas, polisacáridos, polifosfatos, lípidos y ácidos nucleicos. La pared celular está compuesta de polisacáridos, principalmente de glucanos y mananos, y en minoría de quitina, proteínas y lípidos (Walker, 1996).

La mayor parte de las levaduras crece mejor en medios en donde el agua está disponible (García, 1995). La capacidad de fermentar de *Saccharomyces sp.* D-glucosa, D-fructosa y D-manosa, es la característica principal de estas levaduras. (Barnet, 2004).

Las levaduras han sido de gran importancia para la industria. Sin embargo, en algunas bebidas son las causantes de un deterioro.

Tabla 5. Deterioro de alimentos causado por levaduras (García, 1995).

<b>Levadura</b>	<b>Alimento</b>	<b>Alteración</b>
<i>Kloeckera apiculata</i>	Vino	Sabor anormal, menor grado alcohólico
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Cerveza	Sabor amargo, turbidez
<i>Candida sp</i>	Refrescos	Turbidez

En resumen, el crecimiento microbiano se puede dividir por etapas: iniciación, que por lo general suelen ser los microorganismos Gram positivos; la siguiente etapa es la fermentación primaria, que implica el crecimiento de BAL; por último, está la

fermentación secundaria caracterizada por el crecimiento de levaduras fermentativas (Fleming, 1982).

#### 4.2.1.1 BACTERIAS

Son escasos los estudios realizados para la identificación de bacterias presentes durante la fermentación para la producción del Sotol. Algunas bacterias tienen un papel de promover el crecimiento de planta, como lo es el caso de las bacterias, que actúan como mediador de la liberación del ion fosfato soluble para la planta y así facilitar la absorción de este elemento. Entre los géneros de bacterias que pueden solubilizar el fosfato están: *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptomyces*, entre otras (Fernández, 2005).

Durante los primeros días de fermentación, se pueden detectar bacterias Gram positivo: *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus deiformis* (De la Garza et al., 2008). La presencia de la microbiota en el mosto disminuye conforme la fermentación va avanzando.

Las BAL tienen un papel importante en los procesos de fermentación. Tienen la facilidad de acidificar el medio y generar textura, sabor, olor y desarrollo de aromas en los alimentos fermentados (Axelsson, 1993). Las bacterias ácido lácticas pueden ser cocos o bacilos que generan ácido láctico como único producto de la fermentación; Los anaerobios facultativos pueden generar ácido láctico, etanol, ácido acético, ácido fórmico, ácido succínico o dióxido de carbono (Parra, 2010).

En el mezcal se han encontrado BAL presentes en todas las etapas de la fermentación como los géneros *Lactobacillus* y *Pediococcus*. Y otra bacteria que se ha encontrado presente sólo en algunas etapas es *Leuconostoc* presente en etapas tempranas de la fermentación (González, 2017).

#### 4.2.1.2 LEVADURAS TIPO NO-*Saccharomyces*

Los procesos de fermentación espontánea están generalmente, mediados por las levaduras no-*Saccharomyces* y *Saccharomyces*. La intervención de la levadura en el proceso de fermentación en una bebida alcohólica, va a depender de la composición del sustrato y la concentración de etanol. Al inicio de la fermentación se pueden encontrar levaduras como *Kloeckera apiculata*, *Kluyveromyce marxianus* junto con *Candida sp.*(Jolly et al., 2003).

Los azúcares son los que constituyen el mejor alimento energético de las levaduras. Varias especies de levaduras pueden catabolizar la glucosa, ya sea en forma aerobia (respiración) o anaeróbica (fermentación). El proceso típico de disimilación anaerobia, es conocida comúnmente como fermentación alcohólica, el cual tiene como resultado etanol y dióxido de carbono.

Las levaduras no-*Saccharomyces* que se han encontrado durante la fermentación para la producción de Sotol, como mayoritarias son: *Kluyveromyce marxianus* y *Torulaspota delbrueckii*. Como especies con menor presencia se han encontrado las siguientes levaduras no-*Saccharomyces*: *Candida sp.* y *Pichia sp.*

Tabla 6. Metabolitos generados por levaduras no-*Saccharomyces* (Casas et al., 2015)

<b>No-Saccharomyces</b>	<b>Metabolito</b>	<b>Aportación</b>	<b>Referencia</b>
<i>Kloeckera apiculata</i>	Glicerol, acetato de amilo.	Cuerpo a la bebida, olor a plátano	(Jimoh et al., 2012)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Proteínas, endopoligalacturonasa, inulinasas	aporte nutricional	(Jeng et al., 2011)
<i>Candida sp</i>	Glicerol, acetato de amilo.	cuerpo a la bebida, olor a plátano	(Jimoh et al., 2012)

La presencia de levaduras al inicio de la fermentación, se traduce en levaduras con baja resistencia al etanol, *Kloeckera apiculata* es una de estas. *K. apiculata* crece en medios con alta concentración de glucosa, produciendo altas concentraciones de glicerol; debido a la ausencia de acetil-CoA sintetasa de glucosa, la producción de acetato de amilo y etanol es baja (Vincent et al., 2006). El glicerol producido va a ser convertido en excedente de NADH<sub>2</sub> producido durante la glucólisis en NAD<sup>+</sup>. Cuando la concentración de oxígeno es baja se lleva a cabo la fermentación alcohólica generando: etanol, glicerol, ácido acético, ésteres, acetoínas, 1-propanol e isopropanol (Waldir et al., 2012).

Los géneros *Pichia sp*, *Candida famata* y *Candida kefir* se consideran contaminantes en fermentaciones controladas. Son las responsables de formar un velo blanco en la superficie del fermento, producen una cantidad aceptable de compuestos secundarios (glicerol, entre otros) que pueden ser percibidos al ingerir las bebidas alcohólicas fermentadas, lo que da una sensación de complejidad y mayor volumen (Escalante et al., 2011; Dias et al., 2012) (citado por Casas et al., 2015).

*Kluyveromyces marxianus* es la levadura que puede llegar a competir en la capacidad fermentativa, con *Saccharomyces sp.* *Kluyveromyces marxianus* es una levadura termotolerante debido a que puede fermentar a temperaturas mayores a 45°C (Sanorn et al.,2008). Se puede desarrollar en concentraciones bajas de azúcares y generar endopoligalacturonasas que ayudan a la disminución de la viscosidad, inulasas que producen fructosa y  $\beta$ -glucosidasa a partir de la inulina (Casas et al., 2015).

La  $\beta$ -glucosidasa participa en la hidrólisis de compuestos de celulosa. Esta reacción actúa en los enlaces  $\beta$ -1,4 liberando moléculas de glucosa, que son utilizadas como energía (Jeng et al., 2011).

*Kluyveromyces marxianus* se considera como una de las levaduras mayoritarias durante la fermentación. La capacidad fermentativa de esta levadura es similar a la del género *Saccharomyces*. Sin embargo, las levaduras no-*Saccharomyces* no son muy tolerantes a bajas concentraciones de oxígeno, especialmente comparado con *S. cerevisiae* (Hansen et al. 2001). *Kluyveromyces marxianus* puede producir diferentes enzimas como la lactasa, pectinasa e inulasa. Con estas y otras características, esta levadura aporta compuestos importantes al producto fermentado y aumentando la calidad de la bebida alcohólica (Graciano et al., 2008). En el proceso de fermentación también se encuentra su forma sexual *Candida kefyr* (De la garza, 2009).

Las cepas de levaduras no-*Saccharomyces* aportan sabores deseables e indeseables en las bebidas fermentadas. *Pichia sp.* promueve la esterificación de diferentes alcoholes, incrementando los ésteres con aroma a fruta; por lo que, resulta de gran ayuda para la formación de compuestos volátiles. Sin embargo, se ha observado que *Pichia fermentans* incrementa la concentración de alcoholes superiores y acetato de etilo (Migorance-Cazorla et al., 2003).

Se han encontrado que, durante la fermentación, *Torulaspota delbrueckii* puede generar terpenos, como resultado de la acción de  $\beta$ -glicosidasas (King y Dickinson,

2003). La concentración de glicerol está relacionada con la presencia de esta levadura (Contreras et al., 2015). En vinos *T. delbrueckii* es recomendada para mejorar las características organolépticas del producto (Jolly et al., 2006).

El género de *Candida sp.* es conocido, en fermentación, por su alta producción de glicerol alrededor de 14 g/L. Las altas concentraciones de glicerol pueden producir sabores dulces. *Candida sp.* puede considerarse una levadura fructofílica, ya que tiene preferencia por el consumo de la fructosa que de la glucosa (Jolly et al., 2013).

Las levaduras no- *Saccharomyces* tienen rendimientos de entre 25 a 49 g/L de etanol y pueden llegar a producir concentraciones de etanol incluso semejantes a las del género *Saccharomyces*, siempre y cuando se les cultive en un medio que satisfaga sus necesidades nutricionales para su óptimo desarrollo y eficiencia fermentativa (Díaz-Montano et al., 2011; Díaz-Montano et al., 2012).

#### **4.2.1.3 LEVADURAS TIPO *Saccharomyces***

Las levaduras del tipo *Saccharomyces* con mayor importancia en la industria de la fermentación son: *S. bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. pastorianus* y *S. paradoxus*.

Estos diferentes especies de levaduras pueden tener diferentes características en cada producto, por ejemplo: *S. bayanus* puede fermentar a temperaturas bajas por lo que en la industria de vinos es utilizada con mayor frecuencia; *S. cerevisiae* resulta de gran interés para la industria alimentaria ya que se utiliza tanto en bebidas alcohólicas como en alimentos; *S. pastorianus* es utilizada para la elaboración de cervezas tipo lager, sin embargo, también se puede encontrar en diferentes tipos de fermentación espontánea al igual que *S. paradoxus* (Rainieri et al., 2003).

*Saccharomyces cerevisiae*, es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa. Esta levadura es una de las especies considerada como microorganismo GRAS (por las siglas en

inglés de Generally Recognized As Safe), por lo que ha sido aprobada para su uso como aditivo alimentario.

Las condiciones de cultivo afectan la producción de compuestos secundarios en *S. cerevisiae* (Rojas et al., 2001), la cual produce bajos niveles de ésteres de acetato en condiciones aeróbicas

*Saccharomyces cerevisiae* tiene un alta tolerancia y altos rendimientos de etanol. Esta levadura tiene un alto poder fermentativo con producción de etanol, pero con una baja producción de compuestos secundarios que generan características organolépticas (Rojas et al., 2001). Se ha reportado que a partir del cuarto día, en una fermentación espontánea, es el microorganismo predominante. Sin embargo, las condiciones de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* afectan la producción de compuestos secundarios produciendo bajos niveles de ésteres de acetato en condiciones aerobias (Casas et al., 2015).

Se ha reportado que *Saccharomyces cerevisiae* tienen una producción de glicerol alrededor de 4 a 10.4 g/L, menor a la producción de *Candida sp.* A diferencia de *Candida sp.*, *Saccharomyces cerevisiae* tiene preferencia por la glucosa y se considera una levadura glucolítica (Jolly et al., 20013). Si embargo, *S. cerevisiae* también puede utilizar como fuente de carbono la fructosa o la galactosa (Benítez et al, 2004)

La presencia de *Candida sp.* y *Saccharomyces cerevisiae* puede tener un gran resultado, debido a sus preferencias de azúcares, pueden mostrar al final de la fermentación la ausencia de azúcares residuales (Ciani y Ferraro, 1998).

Durante la fermentación espontanea se encuentran diversos géneros y especies de levaduras, a pesar de esto *Saccharomyces cerevisiae* tiene el control mayoritario de la fermentación (González, 2017). Se ha encontrado que la presencia de

*Saccharomyces cerevisiae* es la que generalmente se encuentra en las etapas finales de fermentación (De la Garza et al., 2008).

Las levaduras del género *Saccharomyces* tienen un rendimiento mayor al de las levaduras del tipo no- *Saccharomyces* que es de 25 a 49 g/L de etanol.

#### **4.3 METABOLISMO DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA FERMENTACIÓN DE *Dasytirion* spp.**

En las plantas existe la presencia de diferentes carbohidratos. Sin embargo, unos de los principales de interés para fermentaciones son glucosa, fructosa y sacarosa. Las plantas también pueden tener la presencia de pentosas libres, pero éstas no suelen estar presentes en cantidades suficientes como para ser importantes en las fermentaciones (Vázquez, 1965).

Las bacterias ácido lácticas involucradas en alguna fermentación, son capaces de metabolizar azúcares siguiendo las rutas metabólicas mostradas en la figura 19.

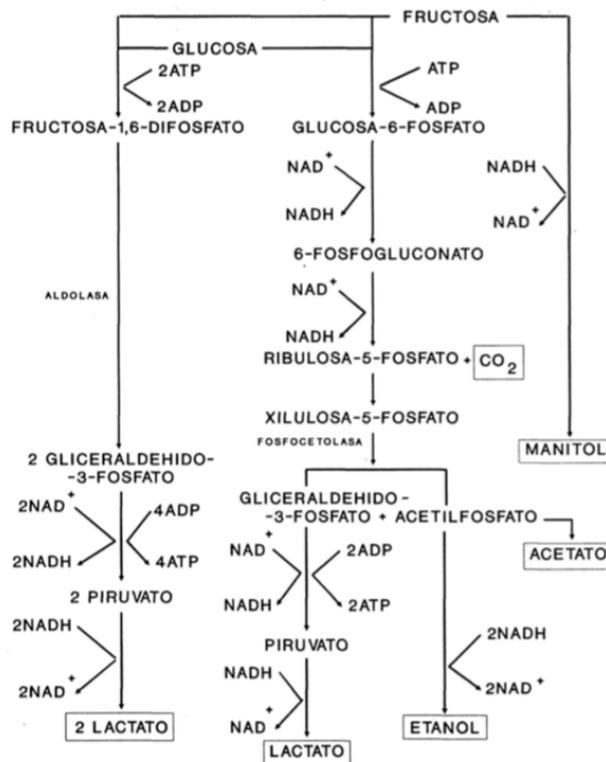


Figura 19. Principales rutas metabólicas de fermentación de azúcares por BAL (Montano, et al., 1992)

Hay dos posibles rutas metabólicas dependiendo de la bacteria: las bacterias homofermentativas u homolácticas o las bacterias heterofermentativas o heterolácticas. Las BAL homofermentativas pueden metabolizar hexosas para generar ácido láctico como producto final. Dentro de la reacción se produce dos ATP por cada azúcar fermentada. La reacción general se encuentra en la figura 20.



Los BAL heterofermentativas producen más cantidad de CO<sub>2</sub> así como ácido láctico que origina ácido acético, etanol y manitol.

Las levaduras suelen ser uno de los microorganismos predominantes en una fermentación alcohólica. Estas levaduras metabolizan glucosa por medio de la ruta metabólica glucolítica hasta llegar a formar piruvato. A diferencia de las BAL las levaduras tienen la enzima piruvato descarboxilasa, que actúa sobre el piruvato para generar acetaldehído y CO<sub>2</sub>. De esta manera el acetaldehído se puede reducir a etanol con la oxidación del NADH a NAD. Se originan 2 ATP por cada glucosa que se fermenta.

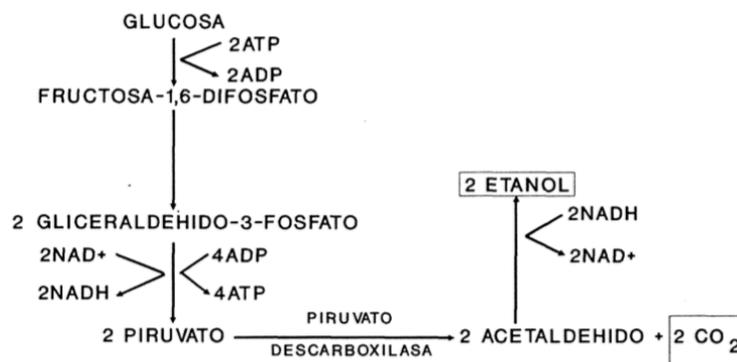


Figura 22. Ruta metabólica para la fermentación de glucosa por levaduras

Las bacterias Gram positivo también pueden seguir la ruta metabólica glucolítica, teniendo diferentes productos finales, partiendo del ácido pirúvico. Generalmente estas reacciones se han encontrado en las primeras etapas de fermentación (Montano, et al., 1992).

## 5 CAPÍTULO V. QUÍMICA DE *Dasyilirion sp*

### 5.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *Dasyilirion spp.*

La composición química de los alimentos se ha estudiado por varios años con el objetivo de identificar y determinar las características químicas específicas de cada alimento. Saber la composición química de *Dasyilirion spp.* nos ayuda a entender más a fondo las posibles reacciones químicas que pueden suceder durante el proceso de elaboración del Sotol.

Se ha determinado que el mayor componente en *Dasyilirion spp.* es el agua, con un 69% de humedad, seguido de fibra cruda y azúcares como parámetros mayoritarios. Ver tabla 7.

Tabla 7. Caracterización fisicoquímica de *Dasyilirion spp.* (Cruz. et al., 2007)

Parámetro	Porcentaje (%)
Humedad	69.27 ± 6.54 $\alpha$
Cenizas	0.88 ± 0.21 $\alpha$
Grasa	0.88 ± 0.47 $\alpha$
Fibra Cruda	9.31 ± 1.97 $\alpha$
Proteína	0.47 ± 0.21 $\alpha$
Azúcares	5.27 ± 1.74 $\alpha$

Conforme avanza el proceso de elaboración del Sotol, se obtienen nuevas o diferentes propiedades fisicoquímicas a las iniciales. Es decir, al inicio del proceso la presencia de alcohol es nula, sin embargo al terminar el proceso de elaboración el alcohol es un compuesto mayoritario.

Tabla 8. Perfil fisicoquímico del Sotol (De la Garza. et al, 2009)

Parámetro	Valor
Alcohol (%)	39.55
pH	4.99
Densidad (mg / mL)	0.96
Cenizas ( $\mu\text{g}$ / L)	0.60

La NOM-159-SCFI-2004: bebidas alcohólicas sotol especificaciones y métodos de prueba, no establece la composición química que debe tener la planta, simplemente establece las especificaciones químicas en cuanto a el perfil fisicoquímico y las especificaciones de compuestos químicos permitidos y sus respectivos límites.

Tabla 9. Rangos de especificaciones químicas del Sotol (NOM-159-SCFI-2004)

	Sotol Blanco		Sotol Joven u oro		Sotol Reposado		Sotol añejo	
	Valores expresados en mg/100mL referidos a alcohol anhidro							
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
Metanol	0	300	0	300	0	300	0	300
Aldehídos (acetaldehído)	0	40	0	40	0	40	0	40
Éteres (Acetato de Etilo)	2	270	2	270	2	360	2	360
Furfural	0	4	0	4	0	4	0	4

## 5.2 REACCIONES QUÍMICAS PRESENTES EN PROCESO

Durante la cocción de la piña de *Dasyllirion spp.* sucede una de las reacciones iniciales que es la reacción de Maillard. La reacción de Maillard se da entre grupos amino y un grupo funcional de los azúcares (aldehído o cetona) en medio acuoso y en presencia de calor. Las condiciones de cocimiento de la piña, altas temperaturas, presencia de humedad y pH ácido, favorecen las reacciones de Maillard (Mancillas, 2002). Dentro de los compuestos que han podido ser identificados, generados por esta reacción son: 3-metil-1-butanol, alcohol fenil etílico (Benn. et al., 1996), 5-hidroxiacetilfurfural, metil-2-furonato y 2,3-dihidroxi-3,5-dihidro-6-metil-4(H)-piran-4-ona (Mancillas, 2002).

Los microorganismos que se encuentran durante el proceso generan energía a partir de la glucosa o fructosa. Recurren a dos procesos generales: la respiración celular y la fermentación (Hernández, 2018). Siendo la fermentación el proceso necesario para la producción del etanol del producto. La reacción para empezar la respiración y la fermentación alcohólica, es la glucólisis, que representa la principal ruta metabólica de la glucosa. La glucólisis es la reducción de  $\text{NAD}^+$  a  $\text{NADH}$  con la oxidación simultánea de la glucosa para la formación del ácido pirúvico y generando ATP. Por cada molécula de glucosa se generan dos moléculas de piruvato. (Tortora, et al. 2007) La formación de piruvato es clave para dar lugar a las diferentes rutas metabólicas, como se menciona en el capítulo anterior.

En la glucólisis, la glucosa es fosforilada incorporando un fósforo de la molécula de ATP, ya que es necesario como energía para que se realice la glucólisis. Ya que la molécula de glucosa es fosforilada, se rompe para generar gliceraldehído 3 fosfato y esta molécula llega hasta ser ácido pirúvico. El agente oxidante es el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) (Hernández, et al., 2003).

Una vez obtenido el piruvato, con condiciones anaeróbicas, se generan compuestos como etanol o ácido láctico. Sin embargo, si las condiciones son aeróbicas, la ruta

metabólica se sigue hacia el ciclo de Krebs de la respiración celular generando acetil-CoA (Hernández, et al., 2003).

Las bebidas alcohólicas tienen un perfil sensorial característico, dependiendo de la bebida de la que se este hablando. Se ha reportado que en la mayoría de las bebidas alcohólicas, los compuestos responsables del olor y el sabor son los compuestos volátiles (Suárez, 2002).

### 5.3 ÁCIDOS GRASOS Y ÁCIDOS ORGÁNICOS GENERADOS DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL TALLO COCIDO

Para la formación de ácidos, el grupo aldehído de los monosacáridos puede oxidarse para formar el correspondiente ácido carboxílico. La fragmentación de los productos de deshidratación puede formar ácido levunílico, fórmico, pirúvico, láctico o acético (Lamas-Robles et al., 2004). Esta oxidación se puede dar durante o después de la fermentación.

Al igual que los terpenos, los ácidos grasos de cadena larga son minoría en los compuestos obtenidos. Sin embargo, estos pueden dar autenticidad al producto.

Durante la fermentación se obtienen diferentes compuestos que van a aportar características a la bebida. Por ejemplo, los ésteres presentes en los vinos jóvenes contribuyen fuertemente al aroma frutal, en especial los ésteres de ácidos grasos de cadena corta (Suárez, 2002).

En el proceso la fermentación, la degradación de los azúcares puede producir compuestos diferentes al etanol como lo son los ácidos orgánicos que van a contribuir en la variación del pH del medio (García, 2010).

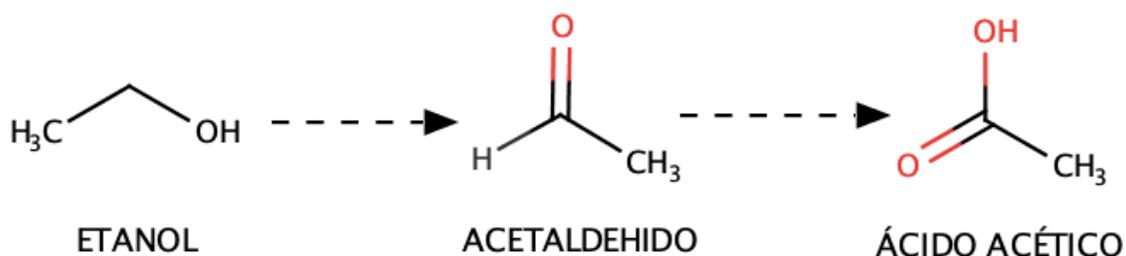


Figura 23. Síntesis de ácido acético por oxidación de etanol

A partir de un ácido graso o un ácido orgánico y un alcohol, se pueden sintetizar los ésteres; cuando se lleva a cabo la reacción el tiempo de reacción es lento y reversible. Estos ésteres pueden ser producidos por las levaduras mediante la esterificación enzimáticas entre los alcoholes libres y los ácidos carboxílicos en forma activa como acil-CoA. Los ácidos orgánicos derivan del metabolismo intermediario de la vía del ácido pirúvico: acetato, malato, succinato y citrato; otros provienen del metabolismo de los ácidos grasos, en particular el malonil-CoA, su concentración depende de la rapidez de fermentación (Mathews y Van Holde, 2000; Gschaedler et al, 2004) (Citado por Álvarez et al., 2009).

Los compuestos de la tabla 10 son aquellos que han sido reportados en el estudio de diferentes muestras de Sotol.

Tabla 10. Compuestos ácidos presentes en Sotol comercial (De la Garza, et al., 2009)

Compuesto
Ácido acético
Ácido propiónico
Ácido octanóico
Ácido nonanóico

## 5.4 ALCOHOLES GENERADOS DURANTE LA FERMENTACIÓN DE

### *Dasyilirion spp.*

Durante la fermentación ocurren diferentes reacciones químicas que van a producir diferentes compuestos, algunos de ellos deseables y otros no deseables. Los alcoholes que están presentes en el Sotol, que son generados durante la fermentación, se pueden clasificar en tres grupos: etanol, metanol y alcoholes superiores. Estos alcoholes son obtenidos por medio de la fermentación de los azúcares que se encuentran presentes en el mosto.

Dentro de la clasificación de los alcoholes presentes ya mencionados, el etanol es el alcohol mayoritario y puede llegar a un 95 % del contenido total del producto (Enríquez, 2016). La ruta metabólica general para la producción de etanol es la que se muestra en la figura 24.

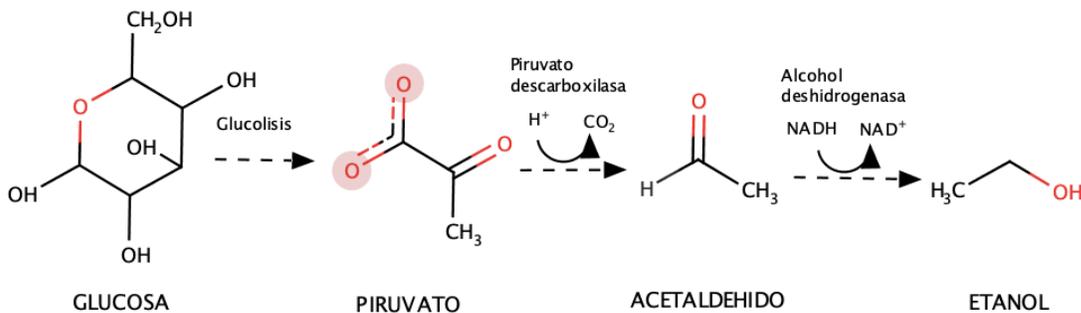


Figura 24. Reacciones involucradas para la formación de etanol

Los alcoholes son compuestos que individualmente no tienen un olor marcado, pero cuando están diluidos refuerzan el aroma (Suárez, 2002).

Otro de los alcoholes que se pueden formar durante el proceso de elaboración del Sotol, es el metanol, este compuesto es un alcohol no deseado ya que se considera tóxico debido a los efectos secundarios que provocan. En la pared celular de la planta se encuentran pectinas. Por acción de las pectinasas se puede alterar la composición química del producto final. Debido a la pectinometilesterasa o pectinoesterasa, hidrolizan los enlaces éster metílico liberando metanol. La presencia de metanol en bebidas fermentadas, suele confundir al asociarse con la fermentación (Badui, 2006). Por otro lado, el metanol se puede producir por un cocimiento no uniforme de la piña (Vera, et al., 2012). Es decir, la formación de metanol se puede generar durante la etapa de cocimiento. Esto se debe a la desmetilación de las pectinas de la planta por las altas temperaturas y pH ácido. Los valores de metanol que se obtienen en el producto final, están alrededor de 280 mg/mL (en alcohol anhidro), que es muy cercano al límite superior que establece la NOM-159-SCF-2004. Este compuesto puede convertirse en un problema para los productores de Sotol (Téllez, 1998).

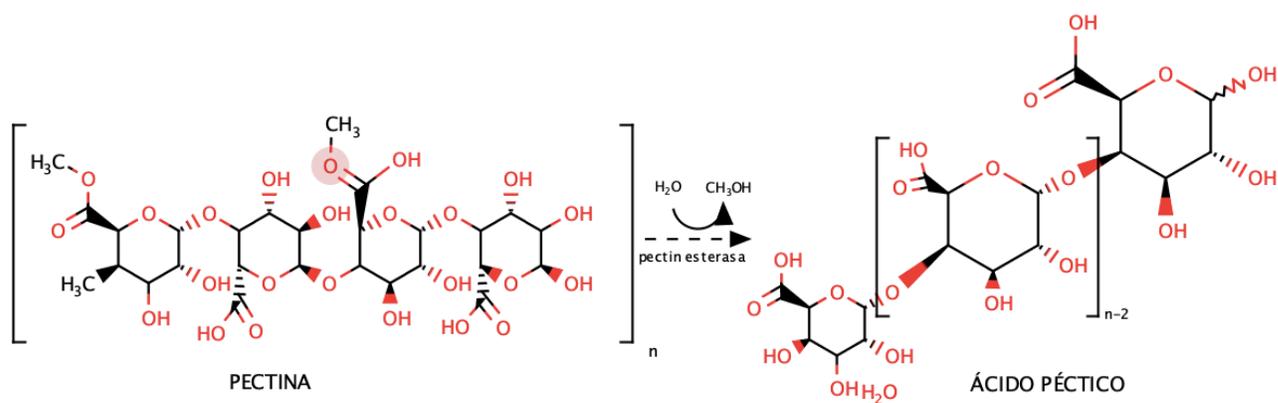


Figura 25. Reacción de formación de metanol a partir de pectina

Al igual que el metanol, los alcoholes superiores son considerados tóxicos hasta cierto límite por lo que la NOM-159-SCF-2004 de Sotol, NOM-070-SCFI-1994 (Mezcal) y NOM-006-SCFI-2005 (Tequila) establece los límites en los que se pueden encontrar estos alcoholes.



Tabla 11. Compuestos alcohólicos presentes en Sotol comercial (De la Garza, et al., 2009)

<b>Compuesto</b>
Metanol
Etanol
2-metil propanol
1-butanol
3-metil-1-butanol
2,4-hexadienol

### **5.5 ALDEHÍDOS GENERADOS DURANTE LA PRODUCCIÓN DEL Sotol**

Durante la cocción de las piñas o la fermentación del mosto se genera una reacción en la que hay una formación de aldehídos. O bien, en el proceso de maduración en las barricas los alcoholes pueden ser oxidados. Estos compuestos aportan sabor y aroma al producto.

Una de las características de los destilados artesanales es que la concentración de los aldehídos suele ser baja. Por lo general esto se debe a que en el proceso la fermentación es buena y la destilación es controlada en la separación de fracciones (De la Garza, 2009).

Por otro lado, están los compuestos furánicos. Estos compuestos también son formados durante la cocción de la piña y se da por medio de una reacción de caramelización o pirólisis de los azúcares.

La caramelización ocurre cuando los azúcares se calientan por encima de su punto de fusión, tanto en medio ácido como alcalino. Los mecanismos incluyen la isomerización, deshidratación y dimerización. Los productos de la caramelización que contribuyen a las características organolépticas pueden poseer aromas específicos por sí mismos o potenciar otros aromas. Por calentamiento de monosacáridos en soluciones ácidas se producen después de la enolización, deshidrataciones caracterizadas por protones que conducen a través de algunos compuestos intermedios muy reactivos, a la formación de derivados de furanos. Además, los productos de descomposición térmica de un azúcar no se reducen a piranos y furanos, sino que incluyen también furanonas, lactonas, carbonilos, y ésteres. La suma de las características aromáticas de todos estos compuestos es la que da lugar al aroma distintivo de muchos alimentos o bebidas (Lamas-Robles et al, 2004).

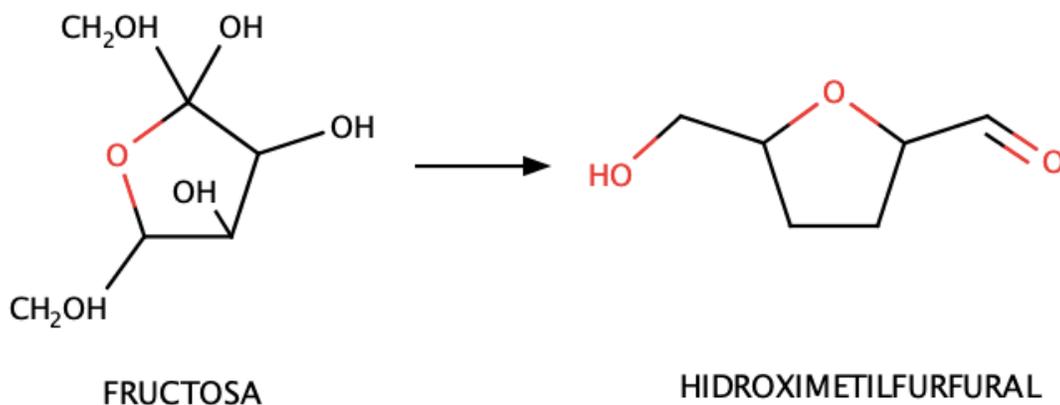


Figura 27. Síntesis de hidroximetilfurfural a partir de fructosa

Otra de las reacciones presentes durante la cocción es la reacción de Maillard que al igual que en la caramelización, también se pueden obtener compuestos furánicos durante la cocción de la piña. La reacción inicia con la reacción de un nucleófilo del grupo amino proveniente de un aminoácido, a un grupo carboxilo de un azúcar reductor, generando el producto de Amadori. A partir de esta reacción se siguen

una serie de reacciones que general compuestos volátiles aromáticos (Muñoz. et al., 2010; Vera, et al., 2009; Ledl y Schleicher, 1990) (Citado por González 2017).

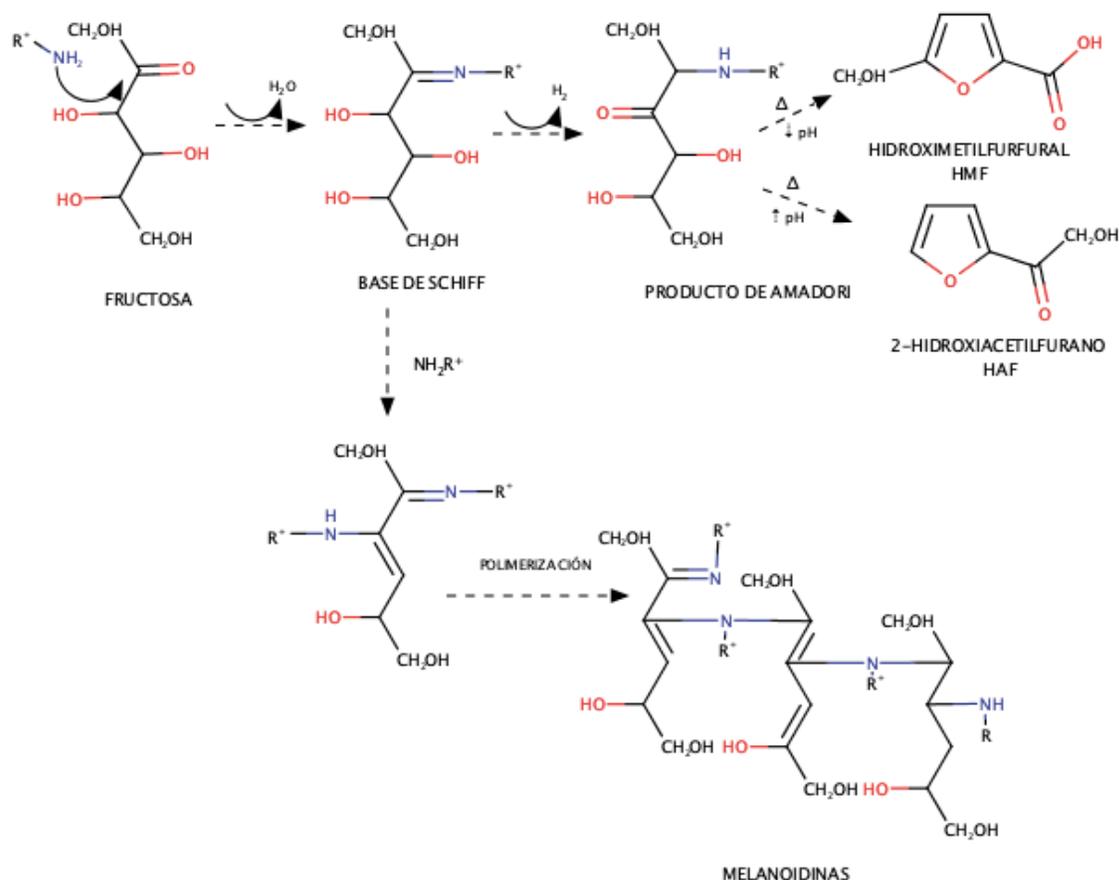


Figura 28. Reacción de Maillard (González, 2017)

Tabla 12. Aldehídos presentes en Sotol comercial (De la Garza, et al., 2009)

Compuesto
Acetaldehído
Propanal
Butanal
Isobutanal

## 5.6 ÉSTERES Y TERPENOS GENERADOS DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL MOSTO PARA LA PRODUCCIÓN DE Sotol

En la fermentación del mosto hay porfmación de ésteres. Los ésteres son un grupo importante ya que algunos proporcionan notas aromáticas frutales y florales a las bebidas alcohólicas. Los compuestos más abundantes son el acetato y lactato de etilo. El acetato de etilo generalmente se encuentra de manera abundante en las bebidas alcohólicas. La mayoría de los ésteres que se han identificado, son producto del metabolismo de las levaduras o bien, haber sido formados durante el almacenamiento, debido a una esterificación de los ácidos grasos en un medio con altas concentraciones de etanol. Sin embargo, el lactato de etilo es un producto que se puede generar por BAL presentes en la fermentación. (Benn et al. 1996).

La producción de ésteres está relacionada con concentración de aminoácidos, es decir, si la concentración de nitrógeno es alta, la concentración de ácidos graso disminuye y la enzima aciltransferasa, hidroliza ésteres alifáticos y aromáticos (Arellano, 2013).

El éster más abundante en las bebidas fermentadas es el acetato de etilo. El acetato de etilo, a concentraciones moderadas, aporta sabores frutales. El aumento de temperatura, favorece la formación de este éster. (Enríquez, 20016).

Los ésteres identificados en el Sotol se presentan en la tabla 13.

Tabla 13. Compuestos ésteres presentes en Sotol comercial (De la Garza, et al., 2009)

Compuesto
Acetato de etilo
Metil-butanol acetato
Ácido decanoico etil éster

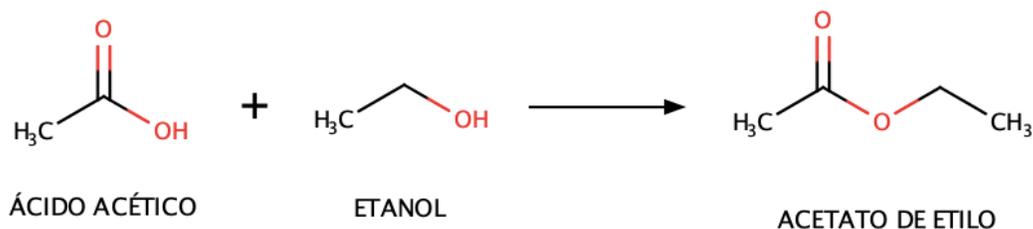


Figura 29. Reacción simplificada para obtención de acetato de etilo en una fermentación

### 5.7 TERPENOS PROCEDENTES DE LA FERMENTACIÓN DE LOS MOSTOS DE *Dasyllirion spp.*

Los terpenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en las plantas como constituyentes de los aceites esenciales.

Estos compuestos que aportan aroma a la bebida, estos compuestos son notas de aroma deseables en el producto y pueden ser característico de cada productor. Algunos autores han reportado que la presencia de terpenos es el resultado de la acción de  $\beta$ -glicosidasas de levaduras como *Saccharomyces* fermentación (De León- Rodríguez y col., 2006; King y Dickinson, 2000, 2003), lo que indica, al parecer, que la presencia de los terpenos está asociada a la materia prima utilizada y al proceso de producción (Escalante-Minakata y col., 2006) (citado por Guerrero, et al., 2007).

En el agave los terpenos se pueden encontrar en forma libre como monoterpenos o de forma glicosilados (sesquiterpeno). Los monoterpenos son los responsables de generar el aroma frutal y herbal. Estos compuestos con 10 átomos de carbono. Estos compuestos son producidos durante la fermentación por medio de reacciones catabólicas, siendo estos la minoría (Szambelan, 2005).

En el mezcal se ha reportado la formación de limoneno, geraniol, linalool y 4-terpeneol. (Lappe et al, 2008). Debido a la similitud en las reacciones químicas que se producen en la fermentación de *Agave* y *Dasyliirion spp.* es probable que estos compuestos se presenten como productos finales del Sotol. La síntesis de limoneno se genera a partir de acetil-coA. Ver figura 30.

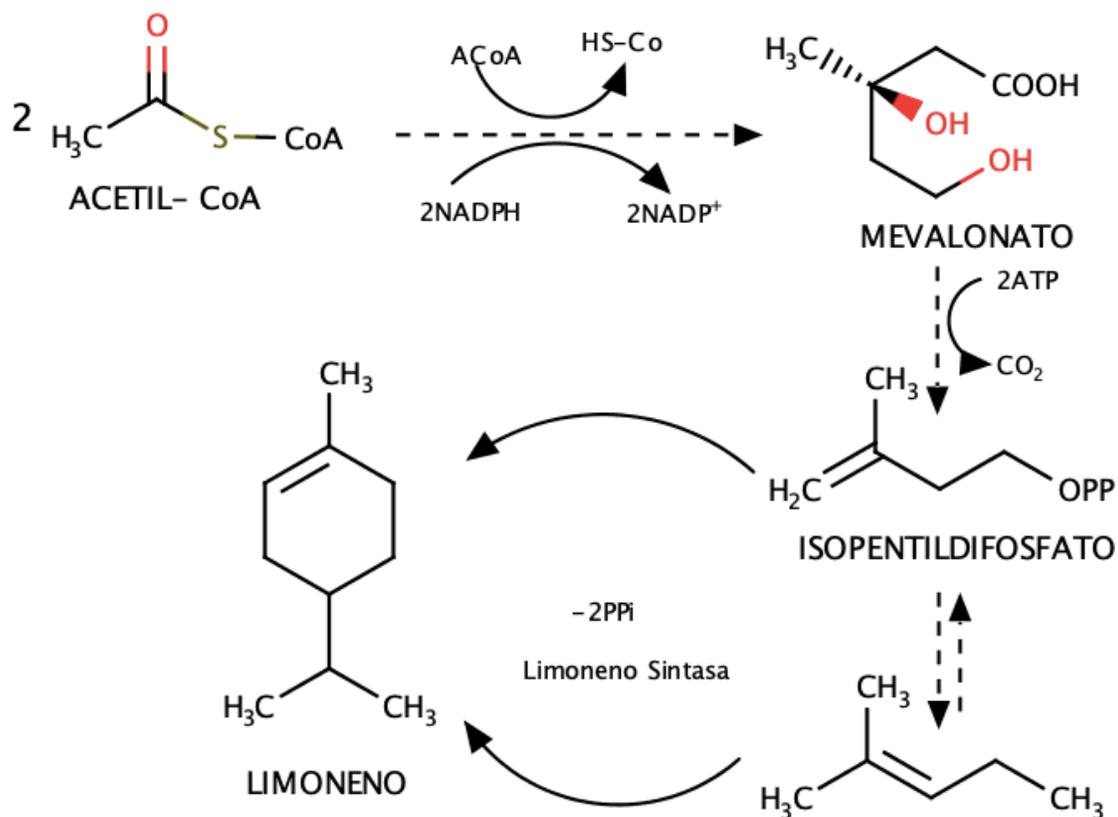


Figura 30. Síntesis de limoneno (González, 2017)

## 6 CONCLUSIÓN

El Sotol se puede analizar como un simple proceso de elaboración para obtener una bebida alcohólica. Pero al juntar la información de las diversas investigaciones del Sotol se entiende que la química que hay detrás del proceso es lo que le da las características peculiares del Sotol.

Al tener estas tres perspectivas: historia, microbiología y química; nos permite conjuntar la información para poder analizar y ver un panorama más completo para entender qué es el Sotol y de dónde provienen las características de la representativa bebida mexicana del norte de México, Sotol.

El 80% de la elaboración del Sotol es artesanal por lo que la fermentación es con microorganismos silvestres. El control de esta fermentación puede ser baja y la estandarización en los compuestos formados por los microorganismos, llega a ser ambigua. Sin embargo, la formación de los compuestos generados por los diferentes microorganismos presentes en la fermentación, son parte de las características organolépticas que le dan su esencia al Sotol.

Esta recopilación de información acerca del Sotol es una puerta para investigaciones futuras acerca de esta bebida.

## BIBLIOGRAFÍA

**Acevedo, A. C., González, C. N. A., De, H., & Herrera, R.** (2015). Importancia de las levaduras no-*Saccharomyces* durante la fermentación de bebidas alcohólicas Non-*Saccharomyces* yeast importance during fermentation of alcoholic beverages. *Investigación y Ciencia*, **23**(65), 73-79.

**Álvarez-Ainza M. L., Zamora-Quiñonez K. A., Acedo-Félix E.** (2009). Perspectivas para el uso de levaduras nativas durante la elaboración de bacanora. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. **52**, 58-63.

**Arellano-Plaza, M., Gschaedler-Mathis, A., Noriega-Cisneros, R., Clemente-Guerrero, M., Manzo-Ávalos, S., González-Hernández, J., Saavedra-Molina, A.** (2013). Respiratory capacity of the *Kluyveromyces marxianus* yeast isolated from mezcal process during oxidative stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **29**, 1279-1287.

**Arrazola, D. F. de M.** (1969). Estudio del Contenido de Azúcares en la Piña del Agave tequilana. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Puebla, México pp. 4-5.

**Axelsson L.** (1993) Lactic acid bacteria classification and physiology. Salminen, S. y von Wright, A. Ed Nueva York: Macel Dekker.

**Badui S.** (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición. México. *Ed. Pearson Educación*. **5**, 330, 495-496.

**Bancroft, Huber Howe.** (1889) History of the North Mexican States and Texas, The History Company. San Francisco, *Publishers*, **2**(24), 1801-1889

**Barnett, J. A.** (2004). The taxonomy of the genus *Saccharomyces* Meyen ex Reess: A short review for non- taxonomists, *Yeast*, **8**, 1-23.

**Bautista-Justo M., García-Oropeza L., Salcedo-Hernández R., Parra-Negrete L. A.** (2001). Azúcares en agaves (*Agave tequilana* Weber) cultivados en el estado de Guanajuato. *Acta Universitaria*, **11**, 33-38.

**Benítez T., Moreno-Mateos, M., Rincón, A., Codón, A.** (2004). Características de levaduras y hongos filamentosos de interés en agroalimentación. ¿Adaptación al ambiente? *Actualidad SEM*, **41**, 17-21.

**Benn M. S., Peppard L. T.** (1996). Characterization of Tequila Flavor by Instrumental and Sensory Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**, 557-566

**Casas Acevedo, A., Aguilar González, C. N., De la Garza Toledo, H., Morlett Chávez, J. A., Montet, D., Rodríguez Herrera, R.** (2015). Importancia de las levaduras no-*Saccharomyces* durante la fermentación de bebidas alcohólicas. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. **65**, 73-79.

**Ciani M., Ferraro L.** (1998) Combined use of immobilized *Candida stellata* cells and *Saccharomyces cerevisiae* to improve the quality of wines. *J Appl Microbiol* **85**, 247–254.

**Contreras-Delgado, Ortega-Ridaura, I.** (2005) *Bebidas y Regiones: historia e impacto de la cultura etílica en México*, Plaza y Valdés, México.

**Contreras, C., Ortega, I.**, (2005). *Regions and drinks*, Plaza and Valdez, México.

**Cruz-Requena M., De la Garza-Toledo H., Aguilar C. N. Rodríguez-Herrera R.** (2008) Sotol a liqueur with a great past but with a better future. In Thangadurai D,

**Tripathi L, Vasanthaiah H. K. N., Jasso-Cantu D.** Crop Improvement and Biotechnology. *Bioscience Publications Krishnagiri TN*, India, pp 119-128.

**Cruz-Requena M., Rodríguez-Herrera R., Noe-Aguilar C., de la Garza Toledo H., Aguilera-Carbo, A.** (2007). Caracterización fisicoquímica de las plantas de diferente sexo de sotol. Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Universidad Autónoma de Coahuila.

**De la Garza-Toledo H., Martínez M., Lara L.** (2008) Production of a Mexican alcoholic beverage Sotol. *Research Journal of Biological Sciences*, 3(6): 566-571.

**De la Garza, H.** (2000). Cambios tecnológicos en la producción de Sotol, Research Journal of Biology Sciences.

Declaración de protección de denominación de origen del Sotol, Diario Oficial de la Federación, Instituto Mexicano de la Propiedad Intelectual, Jueves 8 de Agosto de 2002

**Enríquez J.** (2016). Guía de Exportación del mezcal a Estados Unidos. Trabajo monográfico de Actualización. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

**Fernández Leticia.** (2005) Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región de Sojera. *SciELO*.; **23**, 1.

**Flanzy F.** (2003) Fundamentos Científicos y Tecnológicos. **España: Mundi-Prensa**, pp 699.

**Fleming, H.P.** (1982). Fermented vegetables. Economic Microbiology. *Fermented Foods*. **7**, 227.

**Franck, A., De Leenheer, I.** (2000) Inulin, Tienen Orafiti, Bélgica, Wiley Publishing.

**García-López, D.** (2010). Aislamiento de microorganismos probióticos a partir de bebidas fermentadas: aguamiel, pozol y sotol. Universidad Autónoma Agraria Saltillo, México

**González Rodríguez L.** (1982) Tarahumara, la sierra y el hombre. México, Secretaría de Educación Pública (SEP, 80)

**González Vizzuett J. A.,** (2017). El mezcal: una revisión química, tecnológica, e histórica. Trabajo monográfico de actualización. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

**Graciano, G. et al.** (2008). The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied and Microbiological Biotechnology*, **79**(3): 339-354.

**Granados S. D.** (1993). Los Agaves en México. Universidad Autónoma de Chapingo. México pp. 112 y 113.

**Gutiérrez, C., Servwatrowski, R., Martínez O., Cabrera J., Saldaña N., Flores A.,** (2013) Determinación de las características de las cuchillas de corte para mecanizar la cosecha de agave, *Revista Mexicana de las Ciencias Agrícolas*, **4/1**, 159-166

**Hernández A., Alfaro I., Arrieta R.,** (2003). Microbiología industrial. Costa Rica. Editorias Universidad Estatal a Distancia.

**Hernández Juárez A.** (2008). Caracterización morfológica, anatómica e histológica del sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.). Tesis Ingeniero en Agrobiología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila.

**Hernández-Guerrero G. L.** (2018). Cuantificación de bacterias lácticas amilolíticas y determinación de los cambios químicos durante la fermentación del atole agrio, elaborado con maíz morado del estado de Tlaxcala. México. UNAM. pp 16-17

**Jolly, N. P., Augustyn, O.P., Pretorius, I. S.** (2006). The effect of non-*Saccharomyces* yeast in wine production. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **24**, 55-62

**Jolly, N. P., Varela, C., Pretorius I. S.** (2013) Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res*, **14**, 215-237.

**K. Szambelan, J. Nowak, H. Jelén.** (2005) The composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) spirits obtained from fermentation with bacteria and yeasts. *Eng. Life Sci.* **5**, 68–71

**Kandier O., Weiss N.** (1986). Regular, nonsporing Gram-positive rods. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, **2**.

**King A. J., Dickinson J. R.** (2003). Biotransformation of hop aroma terpenoids by ale and lager yeast. *FEMS Yeast Research* **16**, 499-506.

**Lamas-Robles, R., Sandoval-Fabián, G., Osuna-Tenes, A., Prado-Ramírez, R., Gschaedler-Mathis, A.** (2004). Cocimiento y Molienda. Ciencia y Tecnología del Tequila; Avances y perspectivas. Jalisco, México. 41- 50

**Lappe-Oliveras P., Moreno-Terrazas R., Arrizón-Gaviño J., Herrera-Suárez T., García-Mendoza A., Gschaedler-Mathis A.** (2008). Yeasts associated with the production of Mexican alcoholic nondistilled and distilled Agave beverages. *FEMS Yeast Res.* **8**(7),1037-1052

**Lazcano Arce J. C.** (2003) Estudio etnoarqueológico sobre el modo de trabajo mezcalero durante el periodo formativo medio (400 a. C.) en el sitio arqueológico de xochitécatl-nativitas, tlaxcala, ***Boletín de Antropología Americana***, Vol 39, pp 160-173

**Leach J.D., Sobolik K.D.**, (2010). High dietary intake of probiotic inulin-type fructans from prehistoric Chihuahua Desert. ***British Journal of Nutrition*** 103, 1558-1561.

**Mancilla M., Norma A.**, (2006). Caracterización molecular de fructanos en *Agave* y *Dasyliirion spp.*, identificación de fructosiltransferasas y su expresión en *Pichia pastoris*, México, 31-31

**Mancilla Margall, N.A.; Lopez, 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, 806-812.

**Martínez Y., Gallardo I., López N., Morales M.C.** (2011). Obtención de alcoholes superiores a partir de un fusel mediante el proceso de destilación fraccionada. ***Centro de Azúcar***, 38(4), 8-14.

**Mathews, C.K.; Van Holde, K.E.**, (1995) Biochemistry, ***The Benjamín Cummings Publishing Company***, 9, 278-290.

**Mignorance-Carzola, L., Clemente-Jiménez, J., Martínez-Rodríguez, S., Las Heras-Vázquez, V., y Rodríguez-Vico, F.** (2003). Contribution of different natural yeast to the aroma of two alcoholic beverages. ***World J Microbiol Biotechnol***, 19, 297-304.

**Molina-Guerrero J. A., Botello-Álvarez J. E., Estrada-Baltazar A., Navarrete-Bolaños J. L., Jiménez-Islas H., Cárdenas-Manríquez M., Rico-Martínez R.** (2007). Compuestos volátiles en mezcal. ***Revista Mexicana de Ingeniería Química***. 6(1), 41-50

**Montano, A. de Castro, L. Rejano.** (1992). Transformaciones bioquímicas durante la fermentación de productos vegetales. *Grasas y Aceites*, **43**, 352-360.

**Ornelas Ibáñez P.** (2004) Monografía del Sotol *Dasyliirion spp.*, Saltillo, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”.

**Páez-Lerma J., Arias-García A., Rutiaga- Quiñones O., Barrio, E., Soto-Cruz, N.** (2013). Yeast Isolated from the alcoholic fermentation of *Agave duranguensis* during mezcal production. *Food Biotechnology*, **27**, 342-356.

**Parra, R.** (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. Universidad Nacional de Colombia. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. **8,1**, 93-105.

**Patrick L, Cable J., Potts D., Ignace D., Barron-Gafford G., Griffith A., Alpert H., Van Gestel N., Robertson T., Huxman T. E., Zak J., Loik M. E., Tissue D.** (2007). Effects of an increase in summer precipitation on leaf, soil, and ecosystem fluxes of CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O in a Sotol grassland in Big Bend National Park, Texas. *Oecologia*, **151**, 704-718.

**Pinal, Z. L. M.,** (2001), Influencia del tiempo de cocimiento sobre la generación de compuestos organolépticos en las etapas de cocimiento y fermentación en la elaboración de tequila, MS Biotechnology Tesis, U. De G. Cucei pp 85-91.

**Reineri, S., Zambonelli, C., Kaneko, Y.** (2003). *Saccharomyces sensu stricto*: systematics, genetics diversity and evolution. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **96**, 1-9.

**Reyes-Valdés M.H., Benavides-Mendoza A., Ramírez-Rodríguez H., Villarreal-Quintanilla J.A.,** (2012), Biología e importancia del Sotol (*Dasyliirios spp.*) Parte I: Sistemática, genética y producción. *Planta*, **14**, 11-13.

**Robertson T. R., Bell C. W., Zak J. C., Tissue D.T.** (2008). Precipitation timing and magnitude differentially affect aboveground annual net primary productivity in three perennial species in a Chihuahua Desert grassland. *New Phytol.* **181**, 230-242.

**ROJAS, V. et al.** (2001) Studies on acetate ester production by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, **70**(3): 283-289.

**Sanorn, N. et al.** (2008) High-temperature ethanol fermentation and transformation with linear DNA in the thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**(24): 7514-7521.

**Sobolik K.D.**, (1991). Prehistoric diet and subsistence in the lower Pecos as reflected in coprolites from Baker cave, Valverde County Texas, *Texas studies in Archaeology Series*, **7**.

**Tellez M. P.** (1998). El cocimiento, una etapa importante en la producción de tequila. *Bebidas Mexicanas*. **7**(1): 19-20.

**Téllez M. P.** (1998). El Cocimiento, una Etapa Importante en la Producción del Tequila. *Bebidas Mexicanas*, **7**(1) 19-20.

**Tortora G., Funke B. Case C.**, (2007). Introducción a la microbiología. 9ª edición. EE.UU. Editorial Médica Panamericana.

**Úbeda J., Maldonado Gil M., Chiva R., Guillamón J.M., Briones A.** (2014). Biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts in distilleries of de la Mancha region (Spain). *FEMS*, **14**, 663-673.

USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxfam.pl> ( 25 de Julio 2013)

**Varnam, Alan H. Sutherland P. Jane,** (1944). Bebidas, Tecnología, Química y Microbiología, Acribia S.A., Zaragoza, España.

**Vázquez Roncero, A.** (1965). Química del olivo III. Los componentes orgánicos (3ª parte)". *Grasas y Aceites*, **16**, 292-304.

**Velázquez, C.R.** (1983) El Sotol Agricultura de zonas áridas, México.

**Vera García.** (1995). Introducción a la microbiología. Costa Rica. EUNED.

**Vera-Guzmán A., López M., Chávez-Servia, J.** (2012). Efecto del sulfato de amonio en el perfil químico del mezcal de *Agave angustifolia* Haw. Memorias in Extenso del XXV Congreso Nacional de Química Analítica, 489-494.

**Vicent Vela M., et al.** (2006). Química Industrial Orgánica. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, pp 69-81.

**Waldir, D. et al.** (2012) Influencia de la aireación en la actividad fermentativa de *Kloeckera apiculata* durante la fermentación de jugo de manzana. *Acta Biológica Colombiana*, **17**(2): 309- 322.

**Walker, G. M.** (1998). Yeast physiology and biotechnology, John Wiley and Sons, Chidester. Arkansas. EE.UU.

**Weston La Barre.** (1938). American Anthropologist, *New Series*. **Vol. 40**, No. 2, pp. 224-234

**Instituto Mexicano de la Propiedad.** (2002). Declaración de protección la denominación de origen sotol. Disponible en: <https://www.gob.mx/se/es/articulos/el-imp-i-otorga-a-sotoleras-de-chihuahua-certificado-de-denominacion-de-origen-del-sotol?idiom=es>