



**CARACTERIZACIÓN OLFATOMÉTRICA Y SENSORIAL DE LOS
COMPUESTOS RESPONSABLES DE AROMA EN EL LICOR DE MANZANA DE
TENANGO DEL VALLE, ESTADO DE MÉXICO.**

**V. Daniela Barrera García^{*1,2}, Baciliza Quintero Salazar^{1,2}, F. Carlos Viesca
González¹, Octavio Dublán García³, José Ángel Sánchez Vega⁴ y Gerardo
Díaz Arzate⁴.**

¹PTC del Centro de Investigación y Estudios Turísticos, Facultad de Turismo y Gastronomía.

² Laboratorio de Ciencia y Tecnología en Gastronomía, Facultad de Turismo y Gastronomía.

³ PTC, Facultad de Química.

⁴ Alumnos de la Licenciatura en Gastronomía, becarios del proyecto.

* danielabarrera_uaem@yahoo.com.mx, vdbarrerag@uaemex.mx



Contenido

Introducción	4
Materiales y Métodos	9
2.1 Licor	9
2.2 Parámetros fisicoquímicos	9
2.2.1 pH.....	10
2.2.2 Grados Brix.....	10
2.2.3 Turbidez	10
2.2.4 Azúcares Reductores Totales y Directos.....	10
2.3 Estudio sensorial	11
2.3.1 Pruebas discriminativas.....	11
2.3.2 Pruebas descriptivas.....	11
2.3.3 Pruebas afectivas	12
2.4 Estudio Cromatografía de Gases-Olfatometría.	12
Resultados: Análisis y Discusión	15
3.1 Parámetros fisicoquímicos de licores.....	15
3.2 Estudio sensorial	19
3.2.1 Determinación de diferencia de diferencia sensorial en función del tiempo de añejamiento de los licores.	19
3.2.2 Influencia del tiempo de añejamiento en el nivel de agrado del producto.....	20
3.2.3 Influencia del tiempo de añejamiento en la intensidad de atributos sensoriales.	22
3.3 Estudio olfatométrico.....	23
Conclusiones.....	26



Bibliografía..... 28



Introducción

En el trabajo de campo del proyecto de investigación “Estudio sobre la aceptación y preferencia de licores de naranja artesanales producidos en el Valle de Toluca” – PROMEP FE19/2009(103.5/09/4195), se detectó que entre los licores de fruta, aquél de naranja del municipio de Toluca se produce de manera semi-industrial y es uno de los más conocidos dentro y fuera del mismo valle.

En contraste, otros licores son menos conocidos al exterior, pero al interior de las comunidades donde se producen, son parte importante no sólo de la actividad económica, sino también de la identificación social y cultural de los habitantes por su comunidad. Además, son elaborados de manera artesanal, lo que hace que tengan un valor agregado al ser diferentes a aquéllos que se encuentran disponibles en el mercado, siendo así un atractivo para los visitantes. El mismo trabajo, evidenció que, específicamente en el municipio de Tenango del Valle, se produce un licor de manzana desde 1907 siguiendo una receta familiar. Se trata de una labor familiar pero que también genera empleo en la comunidad donde se elaboran. Los involucrados se encargan desde reunir las manzanas de los cerros locales hasta que el producto final se deposita para ser añejado dentro de barricas de roble blanco. Con respecto a este punto, algunas de las barricas usadas en este proceso provienen del estado de Zacatecas y otras, según reportó la familia productora, de la antigua fábrica del refresco de manzana que existió en la ciudad de Toluca. Las barricas que se usaron en 1907 son las mismas que se utilizan actualmente. Las barricas se reparan con un mes de anticipación al inicio de la producción: se llenan de agua para que la madera se hinche, se lavan con agua y asiento del vinagre de manzana al que llaman “madre”. Para finalizar con la reparación, se utiliza martillo y un cincel especial para ajustarlas y las posibles fisuras se tapan con brea o cera de cebo.



Por otro lado, estudios realizados en el vino demuestran que existe un fenómeno de transferencia de materia en la interface vino/madera durante el añejamiento de la bebida. Se sabe que conduce a un estado de equilibrio resultado de dos procesos dinámicos opuestos: la extracción y la sorción (Figura 1).

Con respecto a la extracción de compuestos de la madera, el aporte de compuestos volátiles y no volátiles de la madera al vino es bien conocido. Los primeros estudios que reportaron el enriquecimiento del vino por moléculas volátiles de la madera se remontan a poco casi treinta años con los trabajos de Boidron *et al.* (1988) y Dubois (1989) que abordaron el estudio de la fracción volátil de vinos envejecidos en barricas (nuevas) de roble. Toda una serie de trabajos se desencadenaron para comprender el potencial aromático de la madera y los factores que influyen en este proceso, como por ejemplo el origen de la madera (Waterhouse and Towey, 1994 ; Doussot *et al.*, 2002) y las condiciones de fabricación de las barricas de roble (Chatonnet *et al.*, 1990 ; Garde-Cerdán *et al.*, 2002 ; Guchu *et al.*, 2006).



Figura 1. Esquema que ilustra la transferencia de materia de un compuesto de aroma entre el vino y la madera (Adaptado de Ferreira *et al.* 2006).

Fue a partir de los trabajos de Towey y Waterhouse (1996) que el parámetro tiempo de contacto del vino con la madera comenzó a ser considerado en la extracción de compuestos volátiles de la madera de roble (Spillman *et al.*, 1997; Garde-Cerdán *et al.*, 2004). Como precedentemente había sido demostrado para



la extracción de compuestos fenólicos, Rous y Alderson (1983) mostraron que según el historial de la barrica, las cinéticas de extracción no presentan la misma apariencia; una forma exponencial en el caso de una barrica nueva y una forma lineal para barricas usadas. De manera general, durante un añejamiento en barrica, dos fases son observadas: una primera fase estimada en 4 meses por Kadim y Mannheim (1999) y que corresponde a una hidratación progresiva de la madera de roble por el vino; y una segunda que resulta de un estado estacionario para la cual la superficie de la madera de roble hidratada por el vino permanece aproximadamente constante.

Towey y Waterhouse (1996) mostraron también que las formas de las cinéticas de extracción podían ser independientes del tipo de madera, pero en contraparte, que éstas estaban en función de las rotaciones de la barrica utilizada, y sobretodo que era característica de cada compuesto volátil. En efecto, para ciertas moléculas como la vainillina y el alcohol furfurílico (Spillman *et al.*, 1997 ; Garde-Cerdán *et al.*, 2004), otros mecanismos que solamente aquéllos de extracción intervienen en la evolución de la composición en compuestos de aroma de los vinos añejados en barrica (Figura 2). Ferreira *et al.* (2006), quienes desarrollaron un modelo matemático para predecir las cinéticas de extracción de moléculas volátiles de la madera por el vino, llegan a la misma conclusión. Su modelo de predicción que se basa en los datos fisicoquímicos y en el número de utilización de la barrica es conveniente para la predicción de las cinéticas de extracción de whiskylactonas y del eugenol. Por el contrario, éste parece ser poco válido para la predicción de extracción de la vainillina, del siringaldehído y del alcohol furfurílico.

Con respecto a compuestos no volátiles, los elagitaninos han sido también objeto de estudio y determinar los factores que pueden influenciar su concentración en el vino. Las cinéticas de evolución de estos compuestos en el vino en condiciones modelo revelaron su interacción con la malvidina-3-O-glucósido, y que le



rendimiento de extracción es principalmente afectado por la temperatura (Jordao *et al.*, 2005 ; Jordao *et al.*, 2006).

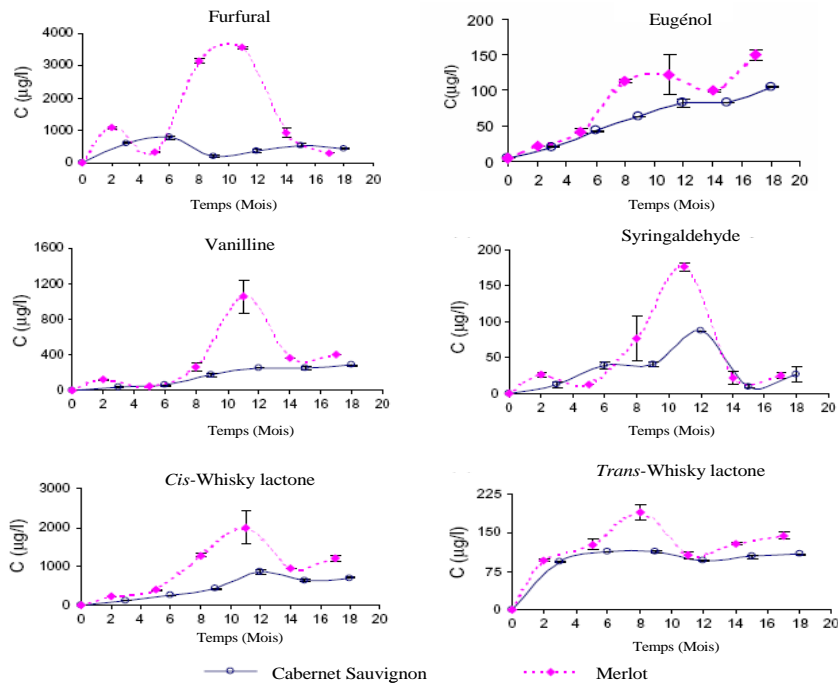


Figura 2. Evolución en la concentración de compuestos volátiles de la madera de roble en vinos Cabernet Sauvignon y Merlot durante el añejamiento en barricas de roble (Garde-Cerdan *et al.*, 2004).

En resumen, los diversos estudios realizados en el vino demuestran que existe una relación directa entre el historial de la barrica y el aporte de compuestos de aroma y sabor en el producto: las barricas nuevas aportan mayor cantidad de compuestos *amaderados* con respecto al vino cuyo añejamiento se lleva a cabo en barricas usadas, así mismo los compuestos transferidos no son los mismos bajo una condición u otra. Lo anterior se traduce en una diferencia en la calidad organoléptica del producto.

Como se mencionó previamente, se sabe que algunos licores de frutas producidos de forma artesanal en el Estado de México son añejados en barrica de roble,



esperando con ello aportar notas de madera a la bebida. Sin embargo, de manera específica, en el licor de manzana del municipio de Tenango del Valle, se observó que las barricas tienen un uso indefinido, es decir, que año con año están sirviendo como contenedores para el añejamiento del producto sin saber las repercusiones que esta práctica pueda tener en la calidad sensorial del producto. A pesar de la evidencia sobre las repercusiones en términos de interacciones madera / vino, resulta indispensable, debido a que la bebida ni sus características son las mismas, caracterizar los compuestos de aroma que la barrica aporta al licor en función del número de veces que la barrica es usada como recipiente de añejamiento.

De lo anterior se estableció como objetivo general el de caracterizar el tipo de compuestos aromáticos presentes en el licor de manzana de Tenango del Valle, mediante el uso de técnicas olfatométricas y sensoriales.

La generación de dichos conocimientos permitirá tomar decisiones asertivas en torno a la utilización de la madera como un recipiente no inerte que contiene bebidas artesanales como es el caso del licor de manzana de Tenango del Valle en el Estado de México.



Materiales y Métodos

2.1 Licor

Para el esta investigación, se usaron 5 muestras de licor que son presentadas en la Tabla 1, las cuales corresponden a una muestra control (sin añejamiento en barrica) y cuatro muestras con diferentes tiempos de contacto con la madera.

Tabla 1. Muestras de licores y tiempos de añejamiento en barrica.

Muestra	Código	Estudio en el que fue usado
Sin añejamiento	SA	Parámetros fisicoquímicos, estudio sensorial y GC-O
Añejado 2 años	A2	Parámetros fisicoquímicos y estudio sensorial
Añejado 3 años	A3	Parámetros fisicoquímicos y estudio sensorial
Añejado 4 años	A4	Parámetros fisicoquímicos y estudio sensorial
Añejado 5 años	A5	Parámetros fisicoquímicos, estudio sensorial y GC-O

Todos los licores provienen de un mismo productor en Tenango del Valle.

2.2 Parámetros fisicoquímicos

De acuerdo con la NOM-159-SCFI-2004 Bebidas alcohólicas-Sotol-Especificaciones y métodos de prueba, se determinaron los parámetros de pH, grados Brix, turbidez, azúcares reductores directos y azúcares reductores totales en las diferentes muestras de licores.



2.2.1 pH

Se utilizó un potenciómetro manual marca HANNA modelo Hi98151 previamente calibrado con dos buffers de 4.0 y 7.0.

2.2.2 Grados Brix

Los grados Brix se midieron con refractómetro manual marca ATAGO modelo master-M con escala 0.0 a 33.0 y con un refractómetro manual marca ATAGO modelo master-80 H con escala de 30.0 a 80.0.

2.2.3 Turbidez

Para la determinación se usó un medidor marca HANNA modelo Hi83749 previamente calibrado con cuatro soluciones estándar de turbiedad de 0.1 NTU, 15 NTU, 100 NTU y 500 NTU.

2.2.4 Azúcares Reductores Totales y Directos

La medición de azúcares reductores se realizó por medio de la prueba de Fehling, la cual se comenzó pesando 5 g de cada muestra y se les adicionó 50 mL de agua destilada y 5 mL de ácido clorhídrico, se llevaron a ebullición todas las muestras y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Se comprobó la efectividad de las soluciones de Fehling A y B, agregando 5 mL de cada una de las soluciones en tres matraces de 250 mL y disolviéndolas en 50 mL de agua destilada. Se calentaron y se les adicionó 5 gotas de azul de metileno. Se titularon las soluciones contenida en cada matraz con una solución de dextrosa hasta observar un precipitado rojo metálico.

Para la obtención del factor F para el azúcar reductoe se aplicó la fórmula:

$$F = (\text{volumen gastado}) * (g \text{ de } \frac{\text{dextrosa}}{100})$$

Posteriormente se titularon las muestras con NaOH 1N, hasta cambio de color, después se aforó cada muestra a 250 mL. Se preparó una solución de 50 mL de



agua destilada y 5 mL de reactivo Fehling B y 5mL de reactivo Fehling A. Se procedió a titular cada muestra aforada en diferentes soluciones de Fehling A y B, una para cada muestra, hasta que se observó la aparición de residuos rojos en el fondo.

Posteriormente se aplicaron las formulas siguientes:

$$\% \text{ Azúcares reductores totales} = \frac{25\,000 * T}{V * T} \cdot \frac{100}{100}$$

$$\% \text{ Azúcares reductores directos} = \frac{25\,000 * T}{V * P} \cdot \frac{100}{100}$$

Donde T= Factor de valoración, V= mL gastados en la titulación y P= Peso de la muestra.

2.3 Estudio sensorial

Todas las pruebas se realizaron bajo los principios básicos de la evaluación sensorial, como la codificación y aleatorización de las muestras, así como la aplicación en condiciones neutras que no influyeran en la respuesta del evaluador.

2.3.1 Pruebas discriminativas

Con la finalidad de determinar la existencia o no de diferencia sensorialmente perceptible entre los licores a diferentes tiempos de añejamiento, se aplicaron pruebas pareadas. Estas pruebas fueron realizadas con un grupo de 5 jueces entrenados en la evaluación sensorial de alimentos y bebidas.

2.3.2 Pruebas descriptivas

Esta prueba tuvo como objetivo identificar la intensidad de atributos de sabor y olor (ver Tabla 2) para las diferentes muestras de licor de manzana bajo estudio. La



escala usada fue 1: no perceptible, 2: ligero, 3: moderado, 4: fuerte y 5: muy fuerte.

Tabla 2. Atributos de sabor y olor en licores de manzana.

Atributos	
Sabor	Olor
Fresco	Fresco
Alcohol	Frutal
Dulce	Dulce
Madera	Manzana
Manzana	Vinagre
Amargo	Amargo
Ácido	Cítrico

Estas pruebas fueron realizadas con un grupo de 5 jueces entrenados en la evaluación sensorial de alimentos y bebidas.

2.3.3 Pruebas afectivas

Estas pruebas tuvieron como objetivo de determinar el nivel de agrado de los diferentes licores. Se usó para ello una escala estructurada de siete puntos, donde 7: me gusta mucho 6: me gusta poco 5: me gusta 4: me es indiferente 3: me disgusta poco 2: me disgusta 1: me disgusta mucho.

Las pruebas fueron aplicadas a un grupo de 12 jueces consumidores (no entrenados).

2.4 Estudio Cromatografía de Gases-Olfatometría

La cromatografía gases con detección olfatométrica (GC-O) está basada en la evaluación sensorial del eluyente de la columna cromatográfica que permita la



identificación de los compuestos de olor activos. La evaluación sensorial se lleva a cabo por un grupo de personas con conocimiento de la técnica y experiencia en el análisis.

La evaluación cualitativa y cuantitativa del olor es realizada para cada analito que es separado en la columna cromatográfica. Esto permite establecer si un compuesto dado es sensorialmente activo en una concentración dada (por ejemplo, si aparece en la muestra en un nivel más alto que el umbral de detección sensorial) y el olor que se le atribuye a dicho compuesto, así mismo permite saber el tiempo de actividad sensorial y la intensidad del olor. La determinación del analito responsable del olor es posible gracias la presencia de un accesorio especial, un puerto olfatométrico conectado en paralelo a detectores convencionales, como el detector de ionización de llama (FID) o el espectrómetro de masas (MS) (Figura 3).

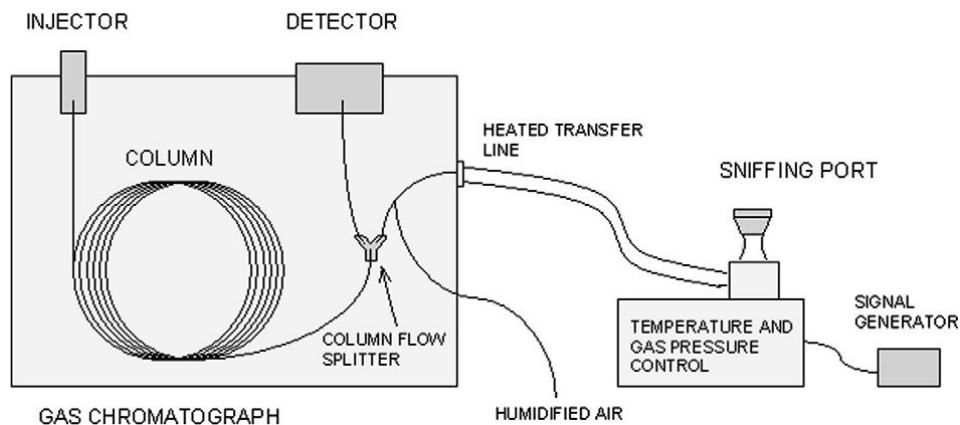


Figura 3. Esquema de cromatógrafo de gases equipado con el detector de olfatometría (Plutowska y Wardencki, 2008)

El estudio GC-O en licor de Tenango del Valle tuvo como objetivo el determinar y clasificar, según su papel potencial sensorial, los odorantes de mayor impacto en el perfil aromático la bebida. Los análisis fueron realizados a dos muestras de licor, sin añejamiento y con cinco años de reposo en barrica. Los análisis se



realizaron en el Laboratorio del análisis del aroma y enología de la Universidad de Zaragoza, España.

El panel sensorial estuvo conformado por 4 mujeres y 2 hombres de 23-40 años de edad, todos miembros del laboratorio y con amplia experiencia en el análisis sensorial. Los jueces evaluaron la intensidad de usando una escala de siete puntos (0 = no percibido, 0.5= muy débil, 1= débil, 1.5= claro, 2= muy claro, 2.5= intensa y 3= muy intensa). Los resultados son expresados como “frecuencia acumulada” (MF%), la cual relaciona la intensidad del estímulo y frecuencia con la que fue detectada por los jueces. El valor de MF (%) fue calculado con la fórmula propuesta por Dravnieks (Dravnieks, 1985):

$$MF(\%) = \sqrt{F(\%)} * I(\%)$$

donde F(%) es la frecuencia de detección de un atributo aromático expresado en porcentaje e I(%) es la intensidad media expresado como porcentaje de la intensidad máxima.

Las condiciones de análisis fueron las reportadas por Campo *et al.*, 2006a; Campo *et al.*, 2006b; Campo *et al.*, 2006c; Campo *et al.*, 2007 y Culleré *et al.*, 2009.

2.5 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron. Las medias de los parámetros estadísticos, así como las del nivel de agrado se compararon por HSD Tukey con nivel de significancia del 5% con el programa SPSS statistics versión 21.

La prueba pareada se analizó considerando $p=1/2$ con un nivel de significancia del 5%.



Resultados: Análisis y Discusión

3.1 Parámetros fisicoquímicos de licores.

Se determinaron los parámetros fisicoquímicos de los diferentes licores. Las medias de los resultados, así como los grupos homogéneos de acuerdo a prueba de HSD Tukey (sig. 5%) se muestran para °Bx, turbidez, pH, azúcares reductores totales y azúcares directos en la Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5, Tabla 6 y Tabla 7, respectivamente.

Con respecto a los grados Brix, esta medida representa una escala arbitraria para medir densidades de soluciones de azúcares y equivalen al porcentaje en peso de sólidos solubles de una muestra, que principalmente son azúcares (Butista, *et al.*, 2001)

Primeramente, se observa que las medias de los valores van de los 19.6 a 34.1 (ver Tabla 3). Los valores encontrados para los licores de manzana de Tenango del Valle son mayores a los que presenta la sidra (Piyasena *et al.*, 2002) y se encuentran en los rangos de otros licores como el de mora (Montoya Gómez *et al.*, 2005).

Tabla 3. Grados Brix

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
SA	3	19,6667		
A2	3	19,9333		
A4	3		20,6000	
A3	3			34,1667
Sig.		,275	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.



Por otro lado, como puede observarse en la Tabla 3, el valor de la media de la muestra sin añejar (SA) es significativamente igual a aquél que ha sido añejado por dos años (A2), no así con respecto a los añejados por 3 y 4 años (A3 y A4), los cuales presentan una media más alta. En consecuencia no existe relación entre el tiempo de añejamiento y los sólidos presentes en los licores de manzana. Los sólidos solubles presentes en jugos de fruta pueden ser afectados por muchos factores, incluyendo la variedad de fruta y su estado de maduración o bien por la región y año de crecimiento (Harker, *et al.*, 2002), por lo que las diferencias que hay en concentración de azúcar encontradas en los licores se debe probablemente a la manzanas utilizadas en cada temporada.

En lo relativo a la turbidez ésta es el efecto óptico que se origina al dispersarse o interferirse el paso de los rayos de luz que atraviesan una muestra de agua, a causa de las partículas minerales u orgánicas que el líquido puede contener en forma de suspensión; tales como microorganismos, arcilla, precipitaciones de óxidos diversos, carbonato de calcio precipitado, compuestos de aluminio, etc. (Contreras, 2009).

De acuerdo a la Tabla 4, los valores de turbidez del licor SA son significativamente menores a los de las bebidas que han llevado un proceso de añejamiento, esto probablemente debido a que las partículas en suspensión que posee un líquido, son generadas principalmente en el proceso de almacenamiento (Collado, *et al.*, 2000). Sin embargo el máximo de turbidez se presenta en las muestras A2 y A3, mientras que en A4 vuelve a disminuir el valor, es decir, no se observa que a mayor tiempo de añejamiento, mayor sea la presencia de sólidos suspendidos.

Los valores de turbidez encontrados en cada las diferentes muestras de licor de manzana, están muy por debajo de los que se encuentran en otro producto de manzana de elaboración artesanal (Piyasena, *et al.*, 2002) o en vinos blancos (Sen *et al.*, 2012).



Tabla 4. Turbidez

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
SA	3	17,4000		
A4	3		33,9333	
A3	3			69,7000
A2	3			72,2667
Sig.		1,000	1,000	,918

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

En lo que respecta al pH, los licores de manzana presentan valores ácidos cuyas medias oscilan entre 2.23 y 2.83 (Tabla 5). Como en el caso de los otros parámetros fisicoquímicos, no existe una relación entre el tiempo de añejamiento y los valores de pH. Lo cual concuerda con lo observado con otras bebidas como vino (Garde *et al.*, 2004, Garde & Ancín-Azpilicueta, 2006 y Camara *et al.*, 2006) y vino de arroz y maíz (Chang & Chen, 2002). La diferencia de pH entre las distintas muestras puede deberse simplemente a que las manzanas con que fueron elaboradas fueron recolectadas en momentos diferentes.

Tabla 5. pH

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
A3	3	2,2333	
A2	3	2,5667	2,5667
SA	3		2,8333
A4	3		2,8333
Sig.		,065	,152

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.



Es interesante ver que el pH del licor de manzana de Tenango del Valle es similar al encontrado en licores de mora (Montoya Gómez, et al., 2005) o ligeramente más ácido que el observado para licores de naranja y manzana de otros municipios del Valle de Toluca (Zavala y Sánchez, 2012).

Concerniente al parámetro de azúcares reductores totales y directos, los resultados son presentados en las Tabla 6 y Tabla 7, respectivamente. En éstas se observa que hay una menor cantidad de azúcares en las muestra AS y A2, es decir que a mayor tiempo de maduración en barrica, los licores presentan los valores más altos. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos por Camara *et al.* (2006) con vinos Madeira, los cuales presentaron un aumento en el contenido de azúcares reductores, de 22.8 gl^{-1} a 29.6 gl^{-1} (varietal malzavia), de 7.3 gl^{-1} a 11.8 gl^{-1} (varietal sercial) y de 24.8 gl^{-1} a 38.0 gl^{-1} (varietal verdelho) en todos los casos del primer año de añejamiento a 25 años.

Tabla 6. Azúcares reductores totales

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
SA	3	29,0800	
A2	3	32,6033	
A4	3	35,2533	35,2533
A3	3		52,6167
Sig.		,729	,072

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.



Tabla 7. Azúcares directos

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
SA	3	2,9033	
A2	3	3,2400	
A4	3	3,4700	3,4700
A3	3		5,1767
Sig.		,767	,073

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Resumiendo, en este apartado se presentaron los diferentes valores de los parámetros fisicoquímicos del licor de manzana de Tenango del Valle. Se observó que el tiempo de añejamiento modifica algunos parámetros fisicoquímicos de los licores pero la relación es no es lineal, es decir, no se observa que los valores aumenten o disminuyan en función del tiempo de añejamiento.

3.2 Estudio sensorial

3.2.1 Determinación de diferencia de diferencia sensorial en función del tiempo de añejamiento de los licores.

Se realizaron pruebas sensoriales de tipo discriminativo con el objetivo de determinar si existía diferencia sensorial perceptible en el sabor se los diferentes licores debido al tiempo de añejamiento. La prueba aplicada fue pareada sin dirección a 5 jueces entrenados y las comparaciones se realizaron entre SA vs A2, SA vs A3 y SA vs A4. En todos los casos, a un nivel de significancia del 5%, se encontró que existe diferencia significativa entre las muestras. Es decir, la muestra sin añejar se percibe sensorialmente diferente a las muestras con 2, 3 y 4 años de añejamiento.



Además, se realizó nuevamente una prueba pareada para establecer si existía diferencia entre las muestras añejadas, es decir que se compararon la muestra A2 vs A3, A2 vs A4 y A3 vs A4. Como en el caso anterior, las muestras fueron diferentes entre sí a un nivel de significancia del 5%.

3.2.2 Influencia del tiempo de añejamiento en el nivel de agrado del producto.

Con la finalidad de ver si la diferencia percibida entre las muestras impactaba en su nivel de agrado, se aplicó una prueba de nivel de agrado a 12 jueces no entrenados. Los resultados de la prueba se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Resultados para prueba de nivel de agrado.

Juez	Muestra			
	SA	A2	A3	A4
1	6	2	1	5
2	6	2	1	4
3	4	2	1	6
4	4	2	1	6
5	5	1	2	6
6	3	4	1	5
7	3	7	2	5
8	2	1	1	2
9	7	5	6	5
10	5	1	1	5
11	5	6	3	7
12	5	1	1	6

Los resultados fueron analizados mediante la prueba HSD Tukey, encontrándose que a un nivel de significancia de 5% existe diferencia significativa entre la muestra SA y A3, entre A2 y A4 y entre A3 y A4 (Tabla 9). Los licores sin añejamiento (SA) y con 4 años de añejamiento (A4) resultan ser los de mayor agrado (me gusta poco) con respecto a los añejados 2 y 3 años (A2 y A3), lo cual puede ser apreciado en la Gráfica 1 .

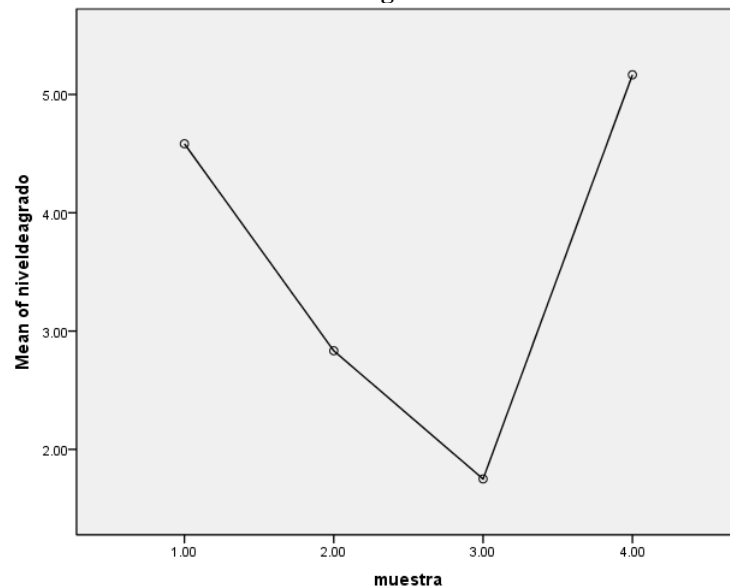


Tabla 9. Prueba de HSD Tukey para nivel de agrado de muestras de licor de manzana

(I) muestra	(J) muestra	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite superior	Límite inferior
SA	A2	1.75000	.65857	.052	-.0084	3.5084
	A3	2.83333*	.65857	.001	1.0750	4.5917
	A4	-.58333	.65857	.812	-2.3417	1.1750
A2	SA	-1.75000	.65857	.052	-3.5084	.0084
	A3	1.08333	.65857	.365	-.6750	2.8417
	A4	-2.33333*	.65857	.005	-4.0917	-.5750
A3	SA	-2.83333*	.65857	.001	-4.5917	-1.0750
	A2	-1.08333	.65857	.365	-2.8417	.6750
	A4	-3.41667*	.65857	.000	-5.1750	-1.6583
A4	SA	.58333	.65857	.812	-1.1750	2.3417
	A2	2.33333*	.65857	.005	.5750	4.0917
	A3	3.41667*	.65857	.000	1.6583	5.1750

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Gráfica 1. Medias de nivel de agrado de licores de manzana.



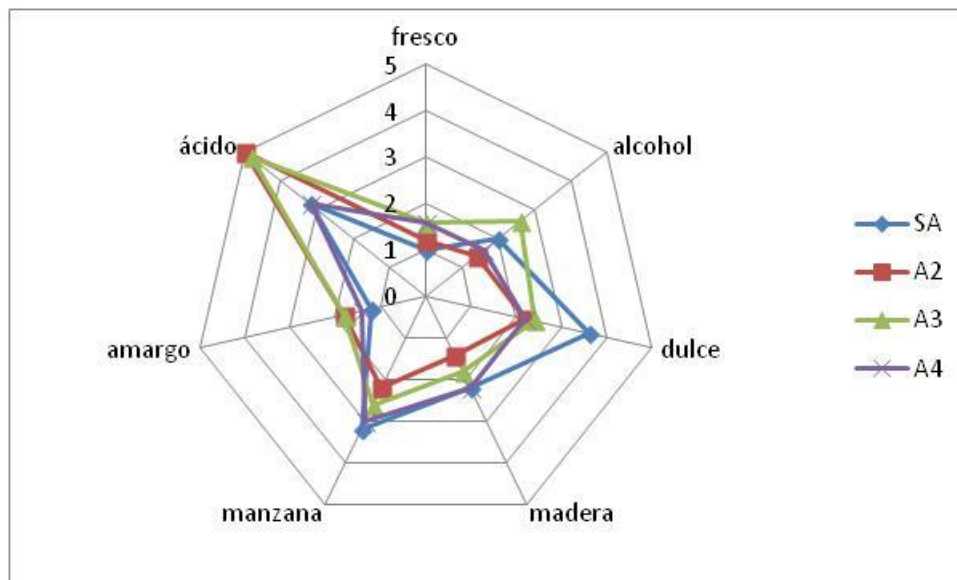


3.2.3 Influencia del tiempo de añejamiento en la intensidad de atributos sensoriales.

Dada la diferencia significativa que se evidenció a través de la prueba discriminativa, así como una diferencia en el nivel de agrado de las muestras, se realizó un perfil de sabor y olor de cada una de las muestras. Los atributos fueron calificados del 1 al 5 de acuerdo a lo señalado en la metodología.

El perfil de sabor de los licores a diferentes tiempos de añejamiento se presenta en la Gráfica 2, en la que se observa primero, que el licor SA es diferente a los demás principalmente en su intensidad de dulzor; además, el licor A2 y A3 son similares con una muy fuerte intensidad de la acidez, mientras que el SA y A4 son similares entre sí pero con una intensidad moderada y, finalmente, para los demás atributos existe una cercanía en la intensidad en los diferentes licores.

Gráfica 2. Perfil de sabor de licores de manzana

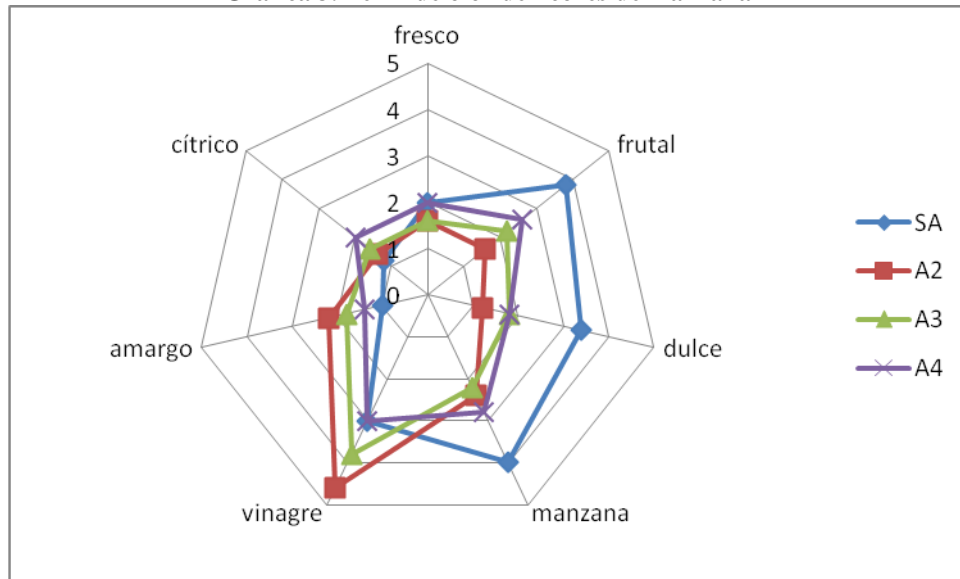


Con respecto al perfil de olor de los licores a diferentes tiempos de añejamiento se presenta en la Gráfica 3. En la gráfica se aprecia una mayor intensidad en los atributos de frutal, dulce y manzana de la muestra SA con respecto a los demás



licores. Por su parte, las muestras A2 y A3 son las que presentan una mayor intensidad de olor a vinagre, lo que podría estar relacionado con el bajo nivel de agrado encontrado para estos dos licores.

Gráfica 3. Perfil de olor de licores de manzana



3.3 Estudio olfatométrico

Finalmente, en un estudio que engloba la parte analítica como la sensorial, se realizó el análisis olfatométrico de una muestra sin añejar y otra añejada por 5 años. El estudio consiste en un análisis en cromatógrafo de gases de las muestras, el cual separa los compuestos volátiles en cada muestra según su tiempo de retención, pero tiene la particularidad de que hay una salida en el cromatógrafo que permite que la nariz humana proporcione un descriptor y califique la intensidad del compuesto volátil. Los resultados son presentados en la Tabla 10 para el licor SA y en la Tabla 11 para el A5.



En dichas tablas se presentan los descriptores que los jueces mencionaron para el olor detectado, el compuesto responsable del olor de acuerdo a bases de datos que proporcionan el índice de retención (IR-valor cromatográfico para cada sustancia química) de cada compuesto, así como la MF(%) para cada caso.

Si se comparan en términos generales la Tabla 10 y Tabla 11, se puede apreciar una mayor riqueza de atributos encontrados en licor sin añejar Tabla 10. Por otro lado, hay atributos que se comparten en ambas muestras como dulce, frutal, manzana, floral, medicinal, vinagre, pelo quemado, queso y especiado (marcado con colores en las tablas). Es de remarcar el descriptor de vinagre vuelve a aparecer en estos análisis con una frecuencia en ambos casos de más del 80%, valor cercano al que obtiene el descriptor de manzana, es decir que un descriptor no deseable en la bebida tiene tanta presencia como uno deseable.

Los resultados concuerdan con el perfil de olor que se hizo para las muestras, y en este estudio se pueden identificar cuáles son las moléculas químicas responsables de los atributos de olor.



Tabla 10. Descriptores encontrados para licor de manzana sin añejamiento

	IR	descriptor	compuesto (base de datos LAAE)	compuesto (flavornet-C20M)	% F.M.
1	924	dulce, frutal, mantequilla	pentanal	idem	57
2	981	disolvente, fruta, mantequilla	?	pentanona (fruta)	47
3	992	dulce, fresa, nata, mantequilla	?	metilbutanoato (fruta, dulce)	75
4	1009	ácido, diacetilo	?		24
5	1027	disolvente, lápiz	?		24
6	1052	dulce, fruta, fresa	2-metilbutirato etilo	idem	33
7	1066	fresa, láctico, medicinal, fruta, piña, manzana verde	3-metilbutirato etilo (isovalerato de etilo)	idem	83
8	1081	fresa, nata, medicina, fresa ácida, verde, fusel	hexanal (herbáceo)	idem / ácido pentanoico (dulce)	82
9	1101	fruta, alcohólico	Isobutanol (2-metilpropanol) (humedad, amargo)	idem / metil-2-butanol (verde, fruta)	24
10	1116	fusel, tostado	?	β-pireno (pino, resino)	33
11	1149	fruta, dulce	Acetato 3-metilbutilo	pentenal/etilvalerato (fruta)	19
12	1175	dulce, tierra mojada		hidroxipentanona (trufa, tierra)	14
13	1185	tostado, dulce	3-metilpentanoato de etilo	etoxipropanol/etilisohehexanoato (fruta)	14
14	1204	medicinal, anisado	E-2-hexenal (tostado)	isopropilbutanoato (pungente, fruta)	24
15	1232	floral, perfumado, ácido, pies	1-hepten-3-ona (champiñón)	heptanol/ocimene (herbáceo)	83
16	1252	medicinal, frutal, miel	E-2-heptenal	idem	65
17	1313	cítrico, agradable	?	2-hepten-1-ol (verde)	19
18	1335	medicinal, ácido graso	?	2-octanol	24
19	1400	queso, crema, nata, chocolate	dimetiltrisulfuro	?	17
20	1441	medicinal, fruta, hierbas, verde, especias	E-2-octenal	alcohol artemisia (herbáceo)	71
21	1463	vinagre	Ácido acético	idem	88
22	1505	plástico	?	benzaldehído (azúcar quemado)	27
23	1514	quemado, dulce	?	diethylmetilpirazina (horneado)	14
24	1573	floral, verde	(R/S)-linalool	dihidroterpenilacetato (piña, cítrico)	24
25	1651	pelo quemado	2-acetilthiazol	?	55
26	1700	queso, pies	Ácido 3-metilbutírico (ácido isovaleriánico)	?	90
27	1857	dulce, fruta del bosque	Geraniol	isopiperitona (dulce, fruta)	57
28	1959	floral	β-ionona	E-isoelmicin (flor, especiado)	29
29	2015	vainilla, dulce	o-cresol	acetil-oxy-diacetilfuranona (caramelo)	22
30	2068	herbal, mentolado, eugenol	?	alcohol cumínico (madera, herbáceo) /pentadecanal (fresco)	66
31	2237	clavo, regaliz, especiado	4-vinil-guaiacol (2-metoxi-4-vinilfenol)	α-bisabolol (especie, floral)	24
32	2260	dulce, miel	?	ol (flor), etil-hexanodecanoato (cera) / metil-antranilato (m)	17

Tabla 11 Descriptores encontrados para licor de manzana con añejamiento

	IR	descriptor	compuesto (base de datos LAAE)	compuesto (flavornet-C20M)	% F.M.
1	925	dulce, frutal	pentanal		65
2	963	verde, fresco	diacetilo	metilbutanol (herbáceo)	59
3	988	flores, fruta, fresa, nata, dulce	?	?	78
4	1016	jabón, humedad, terroso, picante	acetato de isobutilo (fruta, fresa, dulce)	acetato de isobutilo (fruta, plátano, manzana)	26
5	1052	dulce, frutal	2-metilbutirato etilo		53
6	1067	fresa, nata, manzana verde	3-metilbutirato etilo (isovalerato de etilo)		75
7	1085	fresa, dulce, anís, mora	hexanal (herbáceo)		71
8	1231	verde, cítrico, fusel, ácido graso, isoamilico	1-hepten-3-ona (champiñón)		76
9	1252	medicinal, frutal	E-2-heptenal		25
10	1334	floral, frutal, dulc	?		24
11	1383	flor, rosas, talco	(Z)3-hexen-1-ol (hierba, verde)	nitrofeniletano (flor, especia)	31
12	1404	comida, leche agria	nonanal (aldehídico)	?	29
13	1441	medicinal, frutal, anisado, vegetal, verde	E-2-octenal?		85
14	1473	vinagre	Ácido acético		83
15	1651	pelo quemado	2-acetilthiazol?		47
16	1698	queso, pies	Ácido 3-metilbutírico (ácido isovaleriánico)?		88
17	2076	especias, nuez moscada	dulce, fenólico, agradable/ácido octanoico (rancio, sudor)/p-cresol (anin)	p-cresol (medicina, fenol, ahumado)	69
18	2232	animal, cuero, especiado, quemado	4-vinil-guaiacol (2-metoxi-4-vinilfenol)		43
19	2272	quemado	ácido decanoico (rancio, sudor)	?	17



Conclusiones

El licor de manzana de Tenango del Valle presenta una amplia variabilidad en sus parámetros fisicoquímicos que no puede ser atribuida al tiempo que ha estado en reposo en barrica. Su carácter de artesanal hace difícil establecer la fuente de variación, sin embargo puede asociarse a la materia prima que es usada para su elaboración. Incluso, a pesar de que el proceso de producción año con año es aparentemente el mismo, la producción se realiza por diferentes manos y no está estandarizada, por lo que ésta puede ser otra causa de las diferencias observadas.

La diferencia entre muestras también fue puesta en evidencia a través del estudio sensorial. Dicho estudio mostró que la percepción organoléptica es diferente entre cada uno de los licores con distintos tiempos de añejamiento, e inclusive que hay un detrimento en la calidad sensorial de los licores en el año dos y tres de reposo en barrica. El atributo de sabor a manzana es moderadamente perceptible en todos los licores, mientras que el olor a manzana es moderadamente perceptible para los licores añejados y sólo fuertemente perceptible para el licor sin añejar. Siendo un producto de manzana es importante atender este resultado que puede ser considerado como un defecto. Además el atributo de madera es solo ligeramente perceptible en los licores, por lo cual se cuestiona el almacenamiento en barrica, ya que no está teniendo el impacto que debería.

Finalmente el estudio de Cromatografía de Gases-Olfatometría proporcionó información complementaria sobre los atributos sensoriales que describen a los licores, como dulce, frutal, manzana, floral, medicinal, vinagre, pelo quemado, queso y especiado. Así mismo, se identificaron las sustancias químicas responsables de tales olores: pentanal, 2- metilbutirato etilo, isovalerato de etilo, hexanal, 1-hepten-3-ona, 2 heptenal, 2-octanol, E-2-octenal, ácido acético, 2-acetiltiazol, ácido isovaleriánico y 4-vinil-guaiacol entre otros.



El presente estudio permitió profundizar en el conocimiento de bebidas alcohólicas artesanales, particularmente en el del licor de manzana de Tenango del Valle. Lo anterior es de relevancia al tratarse de un producto tradicional, artesanal y para el cual es usada materia prima proveniente de la misma localidad, generando empleos en el municipio.



Bibliografía

- Butista, M., García, L., Salcedo, R., Parra, L. **2001**. Azúcares en agaves (*Agave tequilana* Weber) cultivados en el estado de Guanajuato. *Acta Universitaria*, 11(1), 33-38.
- Boidron, J. N., Chatonnet, P., Pons, M. **1988**. Effects of wood on aroma compounds of wine. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 22, 275-294.
- Camara, J., Alves, M., Marques, J. **2006**. Changes in volatile composition of Madeira wines during their oxidative ageing. *Analytica Chimica Acta*, 563, 188-197.
- Campo, E., Cacho, J., Ferreira, V. **2006a**. Multidimensional chromatographic approach applied to the identification of novel aroma compounds in wine Identification of ethyl cyclohexanoate, ethyl 2-hydroxy-3-methylbutyrate and ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate. *Journal of Chromatography A*, 1137, 223-230.
- Campo, E., Ferreira, V., Escudero, A., Marqués, J, Cacho, J. **2006b**. Quantitative gas chromatography–olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines. *Analytica Chimica Acta*, 553, 180-187.
- Campo, E., Ferreira, V., López, R., Escudero, A., Cacho, J. **2006c**. Identification of three novel compounds in wine by means of a laboratory-constructed multidimensional gas chromatographic system. *Journal of Chromatography A*, 1122, 202-208.
- Campo, E., Cacho, J., Ferreira, V. **2007**. Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters Assessment of their occurrence and importance in wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, 1140, 180-188.
- Chang, A. C., Chen, F. C. **2002**. The application of 20 kHz ultrasonic waves to accelerate the aging of different wines. *Food Chemistry*, 79, 501-506.
- Chatonnet, P., Boidron, J. N., Pons, M. **1990**. Maturation of red wines in oak barrels: evolution of some volatile compounds and their aromatic impact. *Sciences des Aliments*, 10, 565-587.
- Collado Fernández, M., González Sanjosé, M.L., Pino Navarro, R. **2000**. Evaluation of turbidity: correlation between Kerstesz turbidimeter and nephelometric turbidimeter. *Food Chemistry*, 71, 563-566.
- Contreras, M. M. **2009**. *Turbiedad del agua*. s.l.:s.n.



Culleré, L., Escudero, A., Campo, E., Cacho, J., Ferreira, V. **2009**. Multidimensional gas chromatography–mass spectrometry determination of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wine and must. A comparison of solid-phase extraction and headspace solid-phase extraction methods. *Journal of Chromatography A*, *1216*, 4040-4045.

Doussot, F., De Jeso, B., Quideau, S., Pardon, P. **2002**. Extractives Content in Cooperage Oak Wood during Natural Seasoning and Toasting; Influence of Tree Species, Geographic Location, and Single-Tree Effects. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *50*, 5955-5961.

Dravnieks, A. **1985**. Atlas of Odor Character Profiles, ASTM Data Series 61, Philadelphia.

Dubois, P. **1989**. Apport du fût de chêne neuf à l'arôme des vins. *Revue Française d'Oenologie*, *50*, 5955-5961.

Ferreira, V., Jarauta, I., Cacho, J. **2006**. Physicochemical Model To Interpret the Kinetics of Aroma Extraction during Wine Aging in Wood. Model Limitations Suggest the Necessary Existence of Biochemical Processes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *54*, 3047-3054.

Garde-Cerdán, T., Ancin-Azpilicueta, C. **2006**. Effect of oak barrel type on the volatile composition of wine: Storage time optimization. *LWT - Food Science and Technology (Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie)*, *39*, 199-205.

Garde-Cerdán, T., Rodríguez Mozaz, S., Ancin Azpilicueta, C. **2002**. Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. *Food Research International*, *35*, 603-610.

Garde-Cerdán, T., Torrea Goni, D., Ancin Azpilicueta, C. **2004**. Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition. *Journal of Food Engineering*, *65*, 349-356.

Guchu, E., Diaz-Maroto, M. C., Diaz-Maroto, I. J., Vila-Lameiro, P., Perez-Coello, M. S. **2006**. Influence of the Species and Geographical Location on Volatile Composition of Spanish Oak Wood (*Quercus petraea* Liebl. and *Quercus robur* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *54*, 3062-3066.



- H**arker, F. R., Marsh, K.B., Young, H., Murray, S.H., Gunson, F.A., Walker, S.B. **2002**. Sensory interpretation of instrumental measurements 2: sweet and acid taste of apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *24*, 241–250.
- J**ordao, A., Ricardo-da-Silva, J. M., Laureano, O. **2005**. Extraction of some ellagic tannins and ellagic acid from oak wood chips (*Quercus pyrenaica* L.) in model wine solutions: effect of time, pH, temperature and alcoholic content. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *26*, 83-89.
- Jordao, A., Ricardo-da-Silva, J. M., Laureano, O. **2006**. Effect of Oak Constituents and Oxygen on the Evolution of Malvidin-3-Glucoside and (+)-Catechin in Model Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, *57*, 377-381.
- K**adim, D., Mannheim, C. H. **1999**. Kinetic of phenolic extraction during aging of model wine in oak barrels. *American Journal of Enology and Viticulture*, *50*, 33-39.
- M**ontoya Gómez, A., Londoño Gómez, J. K., Márquez Cardozo, C. J. **2005**. Licor de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) con diferentes porcentajes de pulpa. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, *58*, (2), 2963-2973.
- NOM-159-SCFI-2004**. Bebidas alcohólicas-Sotol-Especificaciones y métodos de prueba.
- P**iyasena, P., Rayner, M.; Bartlett, F. M.; Lu, X., McKellar, R. C. **2002**. Characterization of apples and apples cider produced by a Guelph area orchard. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, *35*(4), 367-372.
- Plutowska, B., Wardencki, W. **2008**. Application of gas chromatography–olfactometry (GC–O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages – A review. *Food Chemistry*, *107*, 449-463
- R**ous, C., Alderson, B. **1983**. Phenol extraction curves of white wine aged in French and American oak barrels. *American Journal of Enology and Viticulture*, *34*, 211-215.
- S**pillman, P. J., Pollnitz, A. P., Liacopoulos, D., Skouroumounis, G. K., Sefton, M. A. **1997**. Accumulation of Vanillin during Barrel-Aging of White, Red, and Model Wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *45*, 2584-2589.



Towey, J. P., Waterhouse, A. L. **1996**. The extraction of volatile compounds from French and American oak barrels in Chardonnay during three successive vintages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47, 163-172.

Waterhouse, A. L., Towey, J. P. **1994**. Oak lactone isomer ratio distinguishes between wine fermented in American and French oak barrels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 1971-1974.

Zavala Bonilla L.A., Sánchez Vega L. P. **2012** Caracterización preliminar de licores de frutas del Valle de Toluca: parámetros fisicoquímicos y sensoriales. *Tesis de Licenciatura*. Universidad Autónoma del Estado de México.