Proizvodnja tekile

Koropatnicki, Kristina

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:738379

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno – biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Kristina Koropatnicki

6185/PT

PROIZVODNJA TEKILE

ZAVRŠNI RAD

Modul: Proizvodnja jakih alkoholnih pića

Mentor: izv.prof.dr.sc. *Damir Stanzer*

Zagreb, 2015.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno – biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju vrenja i kvasca

PROIZVODNJA TEKILE

Kristina Koropatnicki, 6185/pt

Sažetak: Tekila je jako alkoholno piće porijeklom iz Meksika, savezne države Jalisco koje se proizvodi destilacijom fermentiranog soka kuhane biljke agave. Postoji više vrsta biljke agave koje se koriste u različite svrhe, a za proizvodnju tekile koristi se *Agava tequilana* Weber, plavi varijetet. Agava se sastoji od dva dijela, velikih listova sa bodljama te tijela, odnosno stabljike koji se kuha kako bi se dobio sok za proizvodnju tekile. Nakon kuhanja slijede procesi mljevenja, fermentacije i destilacije kako bi se dobio konačni proizvod, tekila. Za organoleptička svojstva tekile odgovorni su primarni i sekundarni produkti koji nastaju tijekom kuhanja agave i fermentacije agavine sladovine pomoću kvasca. U ovom završnom radu detaljno su objašnjeni procesi i različiti uvjeti odvijanja tih procesa, kao i njihovi ishodi s krajnjim ciljem upoznavanja procesa proizvodnje tekile.

Ključne riječi: *agava, tekila, kuhanje, fermentacija, destilacija*

Rad sadrži: 37 stranica, 27 slika, 2 tablice, 65 literaturnih navoda, 00 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno - biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: izv.prof.dr.sc. *Damir Stanzer*

Pomoć pri izradi: izv.prof.dr.sc. *Damir Stanzer*

Rad predan: rujan, 2015.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Food Engineering

Laboratory for Fermentation and Yeast Technology

PRODUCTION OF TEQUILA

Kristina Koropatnicki, 6185/pt

Abstract: Tequila is a strong alcoholic beverage originally from Mexico, federal state Jalisco, distilled from the fermentated juice of cooked agava plant. There are many variety of the agave plant which are used for different purposes and for tequila production is used *Agava tequilana* Weber, blue vairety. Agave plants are composed of two main parts, large leaves with spines, and the second part that is a stem or head, which is cooked to obtain juices and produce tequila. Primary and secondary products that are formed during cooking agave and fermenting agave juice using yeasts are responsible for organoleptic properties. In this paper detailed processes and different process condtions of these processes, and their outcomes with the aim to introduce the production process tequila are described.

Keywords: *agave, tequila, cooking (steaming), fermentation, destillation*

Thesis contains: 37 pages. 27 figures, 2 tables, 65 refrences, 00 suplements

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kaciceva 23, Zagreb

Mentor: *Damir Stanzer, phD, assistant professor*

Technical support and assistance: *Damir Stanzer, phD, assistant professor*

Thesis delivered: September, 2015.

SADRŽAJ:

1. Uvod.....6

2. Teorijski dio.....7
2.1. Biljka agava.....7
2.1.1. Fiziologija.....8
2.1.2. Tradicionalna upotreba.....8
2.1.3. Žetva i obrada za kuhanje.....11
2.2. Kuhanje.....12
2.2.1. Tradicionalno kuhanje.....12
2.2.2. Kuhanje u autoklavima.....13
2.3. Ekstrakcija soka – mljevenje.....15
2.4. Fermentacija.....17
2.4.1.Oblikovanje (formuliranje) sladovine.....18
2.4.2. Kvasci.....19
2.4.3. Priprema i rast kvasaca.....19
2.4.4. Fermentacija agavine sladovine.....20
2.4.5. Organoleptički spojevi dobiveni u procesu fermentacije.....21
2.4.5.1. Viši alkoholi.....21
2.4.5.2. Metanol.....22
2.4.5.3. Aldehidi.....22
2.4.5.4. Organske kiseline.....22
2.4.5.5. Esteri.....22
2.5. Destilacija i odlaganje otpadnih voda.....23
2.5.1. Destilacija.....23
2.5.2. Odlaganje otpadnih voda.....26
2.6. Sazrijevanje i punjenje tekile.....27
2.6.1. Sazrijevanje.....27
2.6.2. Punjenje.....29
2.7. Vrste tekile.....30
2.7.1. „Tequila blanco“ – bijela tekila.....30

2.7.2. „Tequila reposado“ – mirna (odležala) tekila.....31
2.7.3. „Tequila anejo“ – stara (pripojena) tekila.....32

3. Zaključci.....33

4. Literatura.....34

1. UVOD

Tekila je meksičko alkoholno piće dobiveno destilacijom fermentiranog soka kuhane agave. Proizvodnja je striktno regulirana tako da samo pića dobivena iz *A. tequilana* Weber, plavi varijetet, kultivirane na zaštićenom području Meksika, mogu biti označena s jamstvom podrijetla (Norma Oficial Mexicana, 2005). Proizvodnja tekile uključuje višestruke procese: nakon žetve, slijedi dobivanje fermentabilnih šećera koji se nalaze u stabljici biljke procesima kuhanja, mljevenja i tlačenja. Za vrijeme kuhanja polisaharid inulin se hidrolizira na mješavinu jednostavnijih šećera koji se uglavom sastoje od fruktoze. Osim hidrolize inulina, dolazi do stvaranja mnogih hlapivih spojeva, uglavnom Maillardovih produkata, kao što je 5-hidroksimetil furfural (Mancilla-Margalli N. i Lopez M, 2003).

U nekim tvornicama fermentacija se odvija spontano dok se u drugima sok agave inokulira komercijalnim ili domaćim kvascima, najčešće *Saccharomyces cerevisiae*. Za vrijeme fermentacije kvasci primarno proizvode etanol i ugljikov dioksid te mnoge druge spojeve kao sekundarne produkte. U fermentacijskom soku se nalazi velika koncentracija viših alkohola, a niska koncentracija estera, acetala, terpena, furana, kiselina, aldehida i ketona, nastalih upravo fermentacijom kvasaca, a nazivamo ih sekundarnim produktima (Benn i Peppard, 1996). Nakon fermentacije slijedi dvostruka destilacija, a zatim se sok razrjeđuje kako bi se dobio završni postotak alkohola koji varira od proizvođača do proizvođača, a iznosi od 38 do 55%. Proizvod sazrijeva u bijelim hrastovim bačvama otprilike 2 do 12 mjeseci kako bi se dobila „mlada“ ili „stara“ tekila, ovisno o vrsti (Cedeno, 1995). Za neke posebne vrste sazrijevanje može trajati i do nekoliko godina.

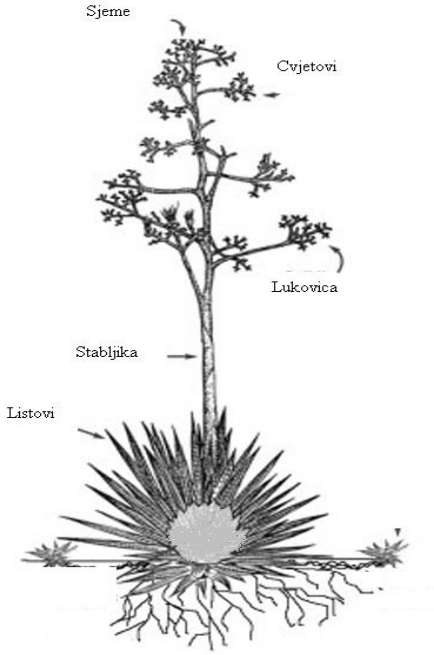
Cilj ovog rada je pobliže upoznati procese u proizvodnji tekile i njihove ishode o kojima uvelike ovisi kvaliteta završnog proizvoda. Dodatak različitih spojeva za vrijeme kuhanja i upotreba različitih kvasaca u procesu fermentacije, različito utječu na stvaranje primarnih i sekundarnih produkata, koji stvaraju i zaokružuju okus i aromu tekile. Tako na primjer dodatak dušika iz različitih izvora u procesu fermentacije utječe na smanjenje ili porast hlapivih spojeva, spojeva koji utječu na okus tekile, kao i viših alkohola, ovisno o izvoru (Arrizon i sur., 2006). Također, sastav primarnih i sekundranih produkata ovisi o upotrebljenim kvascima.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. BILJKA AGAVA

Agava je biljka koja raste isključivo na području Južne Amerike. Pripada redu *Asparagales,* porodici *Agavacae,* sa više od 200 vrsta i 47 unutarvrsnih kategorija. U Južnoj Americi raste preko 75 % vrsta agave sa više od 135 endemskih koje su karakteristične samo za Meksiko (Narvaez-Zapata i Sanchez-Teyer, 2009). Agava je višegodišnja biljka čiji metabolizam, fiziologija i morfologija omogućuju preživljavanje u ekstremnim uvjetima (Pinos-Rodriguez i sur., 2008). Mogu rasti u dolinama, planinama, brdima i kamenim obroncima koja karakteriziraju suha klima, te neutralna, pomalo alkalna tla i niska potreba za vodom. Najbolje uvjete za uzgoj agave pruža savezna država Jalisco sa suhim i bezvodnim područjima bogatim crvenom glinom.

Agava pripada u skupinu CAM biljaka, biljaka sa dnevnim kiselinskim ritmom koje imaju veću mogućnost zadržavanja vode zbog apsorpcije CO_2 noću, a tokom dana asimiliraju šećere putem fotosinteze. Zbog toga agave imaju nisku potražnju za hranjivim tvarima i učinkovito iskorištenje vode (Black i Osmond, 2005).



Slika 1. Struktura *Agava tequilana* Weber var. azul

2.1.1. Fiziologija

Agave mogu rasti pojedinačno ili u skupinama, čak do 1,8 metara visine, a sočnu bazu čini skupina listova koji mogu težiti do 250 kg. Stabljika je gusta i vlaknasta, a cvijet se pojavljuje zajedno sa lisnatim bazama i ima ulogu izvora energije skladištene u obliku ugljikohidrata (Slika 1). Životni vijek biljke je 8 – 20 godina, a razmnožava se sjemenom, vegetativno ili iz cvata, ovisno o vrsti (Martinez-Salvador i sur., 2005).

Seksualna produkcija agave je ograničena ili odsutna, iako moguća jer sjemenke imaju 33% klijavosti (Gomez-Pompa, 1963). Uobičajeno se uzgajaju u aseksulanom obliku vegetativnom stabljikom iz rizoma, dobivenih od matične biljke nakon prve godine sađenja. Kao rezervne tvari, sadrže visoku koncentraciju fruktana i imaju samo jednu reproduktivnu fazu u svom životnom vijeku.

2.1.2. Tradicionalna upotreba agave

Još od davnina, agave su među najvažnijim i najkorištenijim biljkama u Meksiku. Imaju neprekidan utjecaj u osnivanju, razvoju i opstanku mnogih ljudskih skupina i kultura kroz stoljeća te je upotreba bila od velike važnosti za iste. Veliku ulogu su imale u razvoju religije, rituala, gatanja i liječenja, a danas se agave najviše koriste za izradu destiliranih i nedestiliranih alkoholnih pića sa nacionalnom i internacionalnom prepoznatljivošću (Bruman, 2000; Garcia-Mendoza, 1995, 1998).

Tradicionalno meksičko nedestilirano piće je pulque. Pulque se dobiva spontanom fermentacijom biljnog soka ili medovine različitih vrsta agave, uglavnom *Agave salmiana* (Slika 2), *Agave atrovirens* (Slika 3), *Agave mapisaga* (Slika 4), (Sanchez-Marroquin, 1967, Goncalves de Lima, 1978, 1990; Steinkraus, 1997; Ramirez i sur., 2004).



Slika 2. *Agave salmiana*



Slika 3. *Agave atrovirens*



Slika 4. *Agave mapisaga*

Danas su mnogo popularnija destilirana pića, proizvedena destilacijom fermentiranog soka različitih vrsta agave te su općenito poznati pod nazivom mezkal (mezcal) – najpoznatiji su mezkal, bakanora, tekila i raikila. Razradni proces ima pet glavnih koraka: uklanjanje listova ostavljajući stabljiku i lisnu peteljku (tzv. „glave“), kuhanje glava, ekstrakcija soka, fermentacija (spontana ili inducirana), destilacija, a za neke vrste i sazrijevanje. Tekila se od ostalih mezkala razlikuje po tome što se proizvodi isključivo iz *Agave tequilana* Weber, plavi varijetet dok se druga pića mogu proizvoditi od kombinacije više vrsta biljke agave (Cedeno, 2003). Većina ovih destiliranih pića zahtijeva kompleksnu fermentaciju u kojoj su bakterije i plijesni odgovorne za nastajanje kemijskih i hlapivih komponenata koje daju određene karakteristike završnom proizvodu. U tablici 1 dan je pregled meksičkih alkoholnih destiliranih i nedestiliranih pića dobivenih iz agave, njihove proizvodne površine, vrstu agave korištenu u proizvodnji, funkcionalne mikroorganizme uključene u proces fermentacije te produkte fermentacije (Lappe-Olivera i sur., 2008).

Tablica 1. Meksička alkoholna destilirana i nedestilirana pića dobivena iz agave (Lappe-Olivera i sur., 2008)

Piće	**Vrsta pića**	**Agava vrsta**	**Supstrat**	**Država**	**MO**	**Produkti fermentacije**
Pulque	Ne-destilirano	*A.atovirens* *A.mapisaga* *A.salmiana*	Biljni sok	Meksiko Tiaxcala Hidalgo Puebla San Luis Potosi	U spontanoj fermentaciji homo i hetero fermentativni laktobacili (LAB), *Zymomonas mobilis* spp., ne-*Saccharomyces* i *Saccharomyces* kvasci. U industriji mješavina starter kultura sa ili bez *Leuconostoc* vrste	Etanol, organske kiseline, dekstarni, vitamini, aminokiseline esteri, aldehidi
Mezkal	Destilirano	*A.salmiana*	Mošt	San Luis Potosi	LAB, ne-*Saccharomyces* i *Saccharomyces*	Etanol, organske kiseline, esteri
Bakanor	Destilirano	*A.angustifolia*	Mošt	Sonora	Nije definirano	Etanol, organske kiseline,esteri, aldehidi
Tekila	Destilirano	*A.tequilana* var. Plavi	Mošt, biljni sok	Jalisco, regije država Nayarit, Michoacan, Tamaulipas,	U sponatanoj fermentaciji LAB, ne-*Saccharomyces* i *Saccharomyces*. U industriji odabrani sojevi *S.cerevisiae*	Etanol, organske kiseline, esteri, terpeni, aldehidi, furani, ketoni, dušični spojevi
Raikila	Destilirano	*A.angustifolia* *A.inaequidens* *A.maximiliana*	Mošt	Jalisco	Ne-*Saccharomyces i Saccharomyces* kvasci	Etanol, organske kiseline, esteri, aldehidi, terpeni

2.1.3. Žetva i obrada za kuhanje

Agava je spremna za žetvu u svrhu proizvodnje pića nakon 8 – 10 godina starosti (slika 5). Tada farmeri uklanjaju cvjetove s ciljem da se šećeri koncentriraju u stabljici, kako bi se izbjegla njihova potrošnja. Osim cvjetova uklanjaju se i listovi i stabljika te se samo glava koristi za proizvodnju tekile (slike 6 i 7). Glave se prevoze u tvornice gdje se režu na polovice ili četvrtine kako bi se olakšalo rukovanje i omogućilo jednolično kuhanje (slika 8), (A.Gschaedler, 2008). Po dolasku agave u tvornicu, uzima se reprezentanivan uzorak za laboratorijske analize. Za određivanje sadržaja reducirajućih šećera, zajedno sa pH, vlagom, težinom, sadržajem soka i pepela koriste se različite procedure (AOAC, 1990).

Postoje različiti načini i uređaji za rezanje agave, ali upotreba sjekira i specijaliziranog alata naziva „coa“ je najpopularnija. Također se mogu koristiti i kružne pile koje su brže i manje naporne za rad, ali zbog velike količine šećera u agavi takve pile brže pucaju pa se ne upotrebljavaju često. Nakon žetve, rezanja i pripreme, agavine glave su spremne za kuhanje.



Slika 5. Žetva (berba) agave



Slika 6. Rezanje listova i cvijetova



Slika 7. Očišćene glave



Slika 8. Polovice spremne za kuhanje

2.2. KUHANJE

2.2.1. Tradicionalno kuhanje

Kuhanje se tradicionalno provodi u rustikalnim ciglanim pećima koje čini rupa u zemlji ispunjena kamenjem, grijana na drva i prekrivena zemljom, (Slike 9 i 10). Kuhanje u takvim pećima traje oko 36 do 48 sati na 100 °C. Nakon toga dovod pare je zatvoren, a agava je ostavljena još dva dana u peći kako bi se završio proces kuhanja sa preostalom parom (Carrillo, 2007).



Slika 9. Peć za kuhanje od cigli



Slika 10. Peć u procesu kuhanja

2.2.2. Kuhanje u autoklavima

Osim u tradicionalnim pećima, kuhanje se može vršiti i u autoklavima (Slika 11) što traje puno kraće, svega 12 sati (Carrillo, 2007). Autoklavima se postiže bolja učinkovitost i kontrola tlaka i temperature, omogućujući tako homogeno i ekonomičnije kuhanje. Prvo se para dodaje jedan sat kako bi oprala glave, a dobiveni sok se naziva gorki med, koji je odbačen jer sadrži voskove iz kutikule i ima manji udio šećera. Zatim se para dodaje dodatnih 6 sati kako bi se održao željeni tlak i temperatura od 121 °C. Nakon toga glave ostaju još 6 sati u autoklavima bez puštanja pare, kuhajući se na preostaloj, kondenziranoj pari (Cedeno, 2003). Kuhanje u autoklavima može uzrokovati nedostatak nekih karakterističnih spojeva koji imaju esencijalan organoleptički utjecaj na završni proizvod.



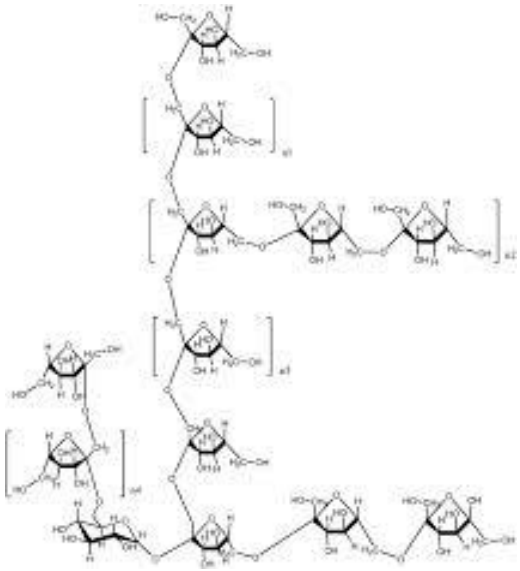
Slika 11. Kuhanje u autoklavu

Glavna razlika između autoklava i pećnica je u tome da su temperatura, vrijeme i tlak prilikom kuhanja u autoklavima strogo kontrolirani kako ne bi došlo do prekuhavanja ili spaljivanja agavinih glava. Prekuhavanje daje okus po dimu i povećava koncentraciju furfurala koji smanjuje prinos alkohola u konačnom proizvodu. Neke tvornice koje imaju oba sistema kuhanja, kuhanje u pećnicama ostavljaju za tekilu bolje kvalitete.

Proces kuhanja ima tri glavna cilja: kao prvo to je hidroliza fruktana na jednostavnije šećere (saharozu, glukozu i fruktozu), zatim olakšavanje procesa mljevenja i ekstarkcije šećera koji slijede nakon kuhanja, te stvaranje važnih kemijskih spojeva koji imaju ulogu u senzorskim karakteristikama završnog proizvoda. Tako neki spojevi nastaju karamelizacijom i Maillardovim reakcijama do kojih dolazi u ovom procesu (Cedeno, 2003). Za vrijeme kuhanja para se kondenzira i nakuplja u peći ili autoklavu. Kondenzirana para zatim započinje ekstrakciju šećera i drugih spojeva iz agave putem difuzije, proizvodeći slatki sok naziva

kuhani med. Također, u ovom koraku se odvija oksidacija i dehidratacija šećera koji imaju veliku ulogu u formiranju okusa i arome tekile (Lamas-Robles i suradnici, 2004). Kuhana agava se zatim melje kako bi se dobio sekundarni slatki sok naziva agavin sok. Kuhani med i agavin sok su zatim fermentirani i dvostruko destilirani. Kako bi se izračunao prinos i efikasnost procesa, količina dobivenog kuhanog meda i sadržaj reducirajućih šećera se mjere u laboratoriju.

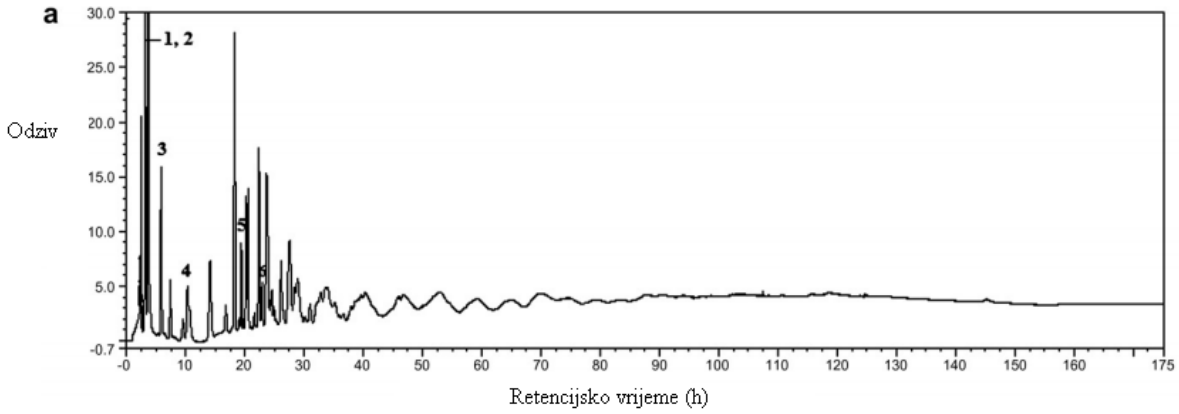
U prirodi je nađeno pet različitih skupina fruktana koji se mogu razlikovati ovisno o strukturi, odnosno o tipu veze između fruktoznih jedinica i položaju glukoze. *A. tequilana* sadrži kompleksnu mješavinu vrlo razgranatih fruktana i neofruktana (slika 12), (Lopez, Mancilla-Margalli, i Mendoza-Diaz, 2003; Mancillia-Margalli i Lopez, 2007).



Slika 12. Miješani frukatni povezani *β*-(2-1) i *β*-(2-6) vezama između molekula fruktoze

U znanstvenom istraživanju Waleckxa i suradnika (2008) koje se bavi hidrolizom fruktana u procesu kuhanja agave, rezultati dobiveni anionskom kromatografijom (HPAEC) (Slika 13) pokazuju da se kuhani med sastoji od fruktana (93,4 %), slobodnih disaharida (2,0 %), slobodne glukoze (0,8 %) i slobodne fruktoze (3,8 %). Prosječni stupanj polimerizacije fruktana u znanstvenom istraživanju je određen i za plavu agavu iznosi 13,6 ± 1,3 jedinica, dok su po normi rezultati prosječnog stupnja polimerizacije fruktana za plavu agavu u rasponu

od 3 do 29 jednica (Norma Oficial Mexicana, 2005). Dobivenim rezultatom je potvrđeno da je priroda fruktana koji se nalaze u plavoj agavi puno kompleksnija od jednostavnog inulina koji pripada skupini fruktana (Slika 12), (Lopez M i sur., 2003).



Slika 13. HPAEC kromatogram u vodi topljivih ugljikohidrata iz soka agave ekstrahiranih u procesu kuhanja. Ugljikohidrati su identificirani usporedbom prema standardima poznatog retencijskog vremena. (1) glukoza, (2) fruktoza, (3) saharoza, (4)1-ketoza, (5) nitoza, (6)1,1,1-ketopentoza (Waleckx i sur., 2008).

2.3. EKSTRAKCIJA SOKA – MLJEVENJE

Proces mljevenja je prošao tri povjesne faze razvoja. U prošlosti kuhana agava je bila gnječena sa drvenim ili čeličnim batima, a zatim su kasnije u upotrebu došli jednostavni mlinovi koji se sastoje od velikog cirkulirajućeg kamena. Kamen se pokretao životinjskom spregom, a u mlinu se nalazila kuhana agava i ekstahirani sok koji nastaje mljevenjem (Slika 14). Sok se skupljao u drvene bazene i odnosio na femrentaciju (Cedeno, 2003). 1950-tih se provode moderni sustavi u kojima kuhana agava prolazi rezače te se kombinacijom mljevenja i izdvajanjem vode ekstrahiraju šećeri. Mlinovi su dosta slični onima u industriji šećerne trske, a takvi sustavi se koriste i dan danas.

Sok dobiven mljevenjem je pomiješan sa kuhanim medom dobivenim u procesu kuhanja i po potrebi dodatnom otopinom šećera. Otopina šećera je dobivena iz šećerne trske, a koristi se u proizvodnji tekile koja nije 100 % od agave. Količina dodanog šećera je regulirana zakonom i mora biti manja od 49 % ukupne količine šećera na početku fermentacije (Norma Oficial Mexicana, 2005).



Slika 14. Mlin pokretan životinjskom spregom

Mljevenjem agave nastaje nusproizvod (slika 15) koji predstavlja oko 40 % ukupne težine mokre agave. Nusproizvod se sastoji od 43 % celuloze, 19 % hemiceluloze, 15 % lignina, 3 % ukupnih dušika, 1 % pektina, 10 % preostalih šećera i ostalih sastojaka. Pomiješan sa glinom koristi se u proizvodnji cigle, a također i kao stočna hrana te podloga za rast mikrooorganizama (Alonso i sur., 1993).

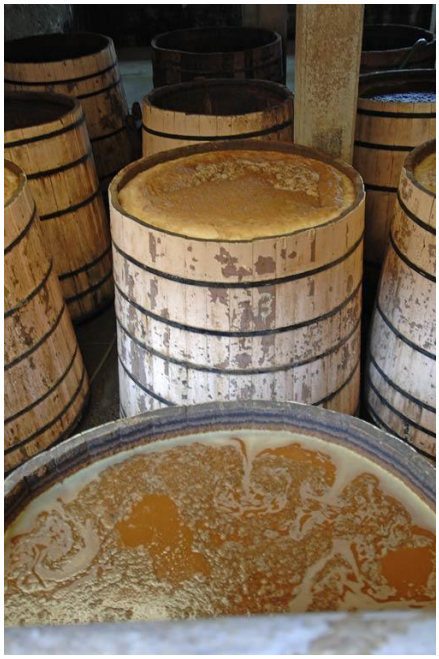
Kao i u prethodnom procesu, nakon mljevenja mjeri se količina šećera kako bi se izračunlo iskorištenje. Ako je iskorištenje nisko, ekstrakcijski tlak i omjer vode i agave se povećava kako bi se povećalo iskorištenje.



Slika 15. Nusproizvod mljevenja agave

2.4. FERMENTACIJA

Spremnici za fermentaciju su različiti i oni stariji imaju kapacitet od 500 do 10000 litara. Većina rustikalnih spreminka su okrugle rupe urezane direktno u zemlju. U državama Oaxaca i Guerrero najučestaliji spremnici su drvene bačve kapaciteta 1000 litara (Slika 16), dok su u državi San Luis Potosi spremnici kameni, pravokutnog oblika te različitih kapaciteta (Lappe-Olivera i sur., 2008.). Postupak fermentacije se može provoditi spontano ili inducirano. Fermentacija traje nekoliko dana ovisno o temperaturi, regiji u kojoj se proizvodi i vremenskim uvjetima. Danas, većina tvornica koristi spremnike od nehrđajućeg čelika kapaciteta oko 2000 do 120 000 litara (Slika 17).



Slika 16. Drveni spremnici



Slika 17. Spremnik od nehrđajućeg čelika

Proizvodnja 100 %-tne agava tekile započinje sa agavinom sladovinom početne koncentracije šećera 4-10 %, ovisno o količini vode dodanoj u procesu mljevenja. Za „običnu“ tekilu prethodno su dodani drugi šećeri kako bi se zadržala početna koncentracija šećera od 8 do 16 %, ovisno o toleranciji kvasaca na šećere. Fermentacija može biti spontana ili se mogu koristiti odabrani kvasci. Neke tvrtke održavaju tradiciju prirodne, spontane fermentacije zbog velike raznolikosti prirodno prisutnih mikroorganizama koji stvaraju mnoge spojeve, pridonoseći bogatijem okusu i aromi tekile, unatoč nižoj koncentraciji etanola. U drugim tvornicama sladovini se dodaje svježi ili suhi pekarski kvasac koji se koristi i u proizvodnji vina, piva ili ruma. Također se koriste i autohtoni sojevi kvasaca koji su izolirani za vrijeme prirodne fermentacije (Gschaedler Mathis i sur., 2004).

2.4.1. Oblikovanje (formuliranje) sladovine

Oblikovanje sladovine se u većini tvornica bazira na prethodnom iskustvu, te na sastavu sirovine (agave) i nutritivnim potrebama za rast kvasaca i samoj fermentaciji. Kako bi se upotpunili nutritivni nedostaci soka agave i šećera upotrebljenih za rast kvasaca i fermentaciju, mogu se dodati različiti dušikovi spojevi kao što su urea, amonij sulfat, amonij fosfat ili magnezij sulfat. Najefikasniji dodatak je čisti amonij sulfat ili u mješavini sa

određenim aminokiselinama, a utječe na porast brzine femrentacije te na porast ili smanjenje hlapivih sastojaka koji imaju utjecaja na aromu tekile (Arrizon i Geschaedler, 2002). Budući da je pH agavinog soka oko 4,5 nema potrebe za dodatnom prilagodbom pH i može se koristiti ista sladovina i za prirodnu fermentaciju i fermentaciju inokuliranim kvascima.

2.4.2. Kvasci

Kao što je već do sad navedeno, neke tvornice ne dodavaju kvasce u procesu fermentacije, dok druge dodaju svježi ili suhi pekarski kvasac. Suhi kvasac se originalno koristi u proizvodnji vina, piva, viskija ili kruha i ponekad kvaliteta tako dobivene tekile nije zadovoljavajuća. Kako bi postigli visoki prinos i održali konstantnom kvalitetu svoje tekile, neke tvornice koriste kvasce izolirane iz prirodne fermentacije kuhanog soka agave. Dominantni kvasci u agavi su *Candida lusitaniae* i *Metschnikowia agaves,* a sekundarni *Kluyveromyces marxianus* i *Pichia membranifaciens* (Lachance, 1995), a najčešće se dodaju kvasci *Saccharomyces cerevisiae.*

2.4.3. Priprema i rast kvasaca

Kvasci koji se koristi u proizvdonji tekile se prvo uzgajaju u laboratoriju iz čiste kulture soja *Saccharomyces cerevisiae* održavane na agaru, u liofiliziranom obliku ili smrznute u tekućem dušiku. Laboratorijsko se razmnožavanje obavlja u aseptičkim, sterilnim uvjetima koristeći medij istih sastojaka kao i u samom procesu fermentacije, samo obogaćen, za brži rast stanica. Obavezna je stroga čistoća kako ne bi došlo do bakterijske kontaminacije. Ako je došlo do kontaminacije kao antimikrobni agenti se koriste antibiotici ili amonij biflorid. Uzgojeni kvasci održavaju se dodatkom 10 % volumena aktivnih kultura kvasaca sviježeg soka agave i nutrijenata. Iako inokulacija sa komercijalnim kvascima povećava prinos i brzinu fermentacije, mnoge tvornice preferiraju fermentaciju bez kvasaca što se tiče mikrobiološke raznolikosti. Dok prinosi mogu biti niži, a brzina fermentacije manja – samim time dulji proces fermentacije, bitni su različiti mikroorganizmi koji nastaju i proizvode određene spojeva koji doprinose okusu tekile. Također, promjena u okusu može se negativno odraziti na tržište tekile (Cedeno, 2003).

2.4.4. Fermentacija agavine sladovine

Pripremljena sladovina temperature 30 °C inokulira se s 5-10 % volumena prethodno uzgojene kulture *S. cerevisiae* (1-2 x 10^8 stanica mL^{-1}). Spontana fermentacija traje oko 7 dana, dok je sa inokuliranim kvascima fermentacija brža i može trajati u rasponu od 20 sati do 3 dana. Proizvodnja etanola pomoću kvasaca je povezana sa formiranjem mnogih fermentabilnih spojeva koji pridonose završnom okusu tekile. To su organoleptički spojevi dobiveni iz prekursora koji se nalaze u sladovini (Engan, 1981). Prema proizvođačkom iskustvu tijekom brze fermentacije nastaje manje organoleptičkih spojeva nego u sporoj fermentaciji, što za posljedicu ima dobivanje kvalitetnije tekile sporom fermentacijom (Berry, 1984). Brzina fermentacija prvenstveno ovisi o korištenim vrstama kvasaca, sastavu medija i uvjetima fermentacije.

Nastanak etanola se može ustanoviti već i na samom početku procesa padom pH sa 4,5 na 3,9 što je karakteristično za fermentaciju. Sadržaj alkohola na kraju fermentacije iznosi između 4 i 9 %, ovisno o početnoj koncentraciji šećera. Također može doći do značajnih gubitaka etanola, budući da su spremnici otvoreni dopuštajući tako njegovo isparavanje. Temperatura može prekoračiti 40 °C te time zaustaviti fermentaciju, zbog čega također dolazi do gubitka etanola i organoleptičkih spojeva koji posljedično smanjuju prinos i utječu na kvalitetu tekile. Prilikom fermentacija čistog soka agave može doći do pjenjenja, što zahtjeva dodatak sredstava protiv pjenjenja kako bi se isto spriječilo (Slika 18). Obično u sladovini sa dodanim šećerima pjenjenje nije problem.



Slika 18. Pjenjenje prilikom fermentacije

U slučaju da se proizvodnja tekile vrši u nesterilnim uvjetima može doći do porasta aktivnosti bakterija. Veličina bakterijske flore ovisi o brojnim faktorima, uključujući u kojoj mjeri rastu bakterije za vrijeme razmnožavanja kvasaca, bakterijama koje se nalaze u sirovinama te higijenskim standardima u tvornicama. Nema sumnje da aktivnost tih bakterija utječe na organoleptička svojstva tekile. Veličina bakterijske populacije može postati prevelika te se u tom slučaju hrani šećerima prisutnim u sladovini smanjujući tako prinos etanola i stvarajući neželjene spojeve. Bakterije iz rodova *Lactobacillus, Streptococcus, Leuconoctoc* i *Pediococcus* su najčešći kontaminanti (MacDonald i sur., 1984).

Organoleptičke karakteristike tekile potječu iz sirovine, a razvijaju se u procesu fermentacije. U mnogim slučajevima različitost inokuluma igra veliku ulogu u izboru brendova tekile (Pinal, 1999).

2.4.5. Organoleptički spojevi dobiveni u procesu fermentacije

2.4.5.1 Viši alkoholi

Kao i u fermentaciji drugih alkoholnih pića, viši alkoholi su uz etanol najzastupljeniji spojevi. U tekili su pronađeni izoamil, izobutanol, aktivni izoamil alkohol i feniletanol. Istraživanjima je dokazano da proizvodnja izoamila i izobutila započinje nakon što se smanji koncentracija šećera i traje nekoliko sati nakon završetka fermentacije, a za usporedbu, proizvodnja etanola započinje odmah na početku fermentacije (Pinal i sur., 1997). Na količinu izoamila i izobutila utječu sojevi kvasaca, odnos ugljik/dušik te temperatura. Prirodni soj izoliran iz mošta tekile proizvodi veću količinu viših alkohola nego onaj korišten u pekarama, proizvodnji piva ili viskija (Garcia i sur., 1994; Ramsay i Berry, 1984). Sa višim omjerom ugljika i dušika povećava se potreba za aminokiselinama kao izvorom dušika što rezultira proizvodnjom viših alkohola, a pri višim temperaturama također će biti veća koncentracija viših alkohola (Pinal i sur., 1997).

2.4.5.2. Metanol

Metanol je još jedan karakterističnispoj za tekilu za kojeg se smatra da je dobiven hidrolizom metiliranih pektina koji se nalaze u biljci agavi. Također, i neki kvasci, prirodni ili inokulirani, sadržavaju pektin-metil esteraze koje kataliziraju reakcije u kojima nastaje metanol (Tellez, 1999).

2.4.5.3. Aldehidi

Oksidacijom etanola, osim etil-acetata, nastaju i acetaldehidi, intermedijeri u proizvodnji octene kiseline. Aldehidi su značajni jer imaju veliki utjecaj na završnu aromu tekile.

2.4.5.4. Organske kiseline

Male organske kiseline do 6 ugljikovih atoma i srednjelančane masne kiseline nastaju u procesu fermentacije. Nastanak malih organskih kiselina ovisi o količini kisika prisutnoj za vrijeme procesa, dok su srednjelančane masne kiseline sintetizirane iz membranskih struktura za vrijeme rasta stanica kvasaca. Prisutnost oktanske i dekanonske kiseline je karakteristična za tekilu.

2.4.5.5. Esteri

Esteri su veoma važni spojevi koji pridonose okusu i aromi, a imaju najnižu organoleptičku graničnu vrijednost (Ramsay i Berry, 1984). Najvažniji predstavnik ove skupine je etil-acetat, koji se smatra drugim najbrojnijim sekundarnim sastojkom u tekili nakon izoamil alkohola, a sintetizira se iz octene kiseline i etanola. Osim etil-acetata prisutni su i drugi esteri (Tablica 2, The alcohol textbook, 2003).

Tablica 2. Esteri nađeni u tekili (The alcohol textbook, 2003)

Esteri	Postotak od ukupnih estera (%)
Etil acetat	17.77
Etil dekanoat	2.78
Etil laktat	2.74
Etil oktanoat	1.92
Etil dodecanoat	0.95
Etil butanoat	0.63
Izoamil acetat	0.58
Etil propanoat	0.57
Etil heksanoat	0.48
Etil heksadekanoat	0.48

2.5. DESTILACIJA I ODLAGANJE OTPADNIH VODA

2.5.1. Destilacija

Nakon što je završena fermentacija, sladovina ima između 4 i 9 % alkohola te je spremna za destilaciju. Proces destilacije uključuje separaciju i koncentraciju alkohola iz fermentacijske sladovine. Osim etanola i drugih poželjnih sastojaka, sladovina sadrži čvrste tvari agave koji se uglavnom sastoje od celuloze i pektina, i stanice kvasaca koje sadrže proteine, minerale, soli i neke organske kiseline.

Iako je moguć veliki broj načina i izvedbi destilacije, u proizvodnji tekile se najčešće koriste kotlovi i refrakcijske kolone. Kotlovi spadaju u najstariju opremu za destilaciju te su jednostavnog dizajna, a sastoje se od kotla za zadržavanje fermentirane sladovine, parne zavojnice i kondenzatora ili izmjenjivača topline u obliku ploče. Kotlovi su bakreni i popravljaju neugodan miris nastao isparavanjem sumpornih spojeva za vrijeme fermentacije (Slika 19), (Thorne i sur., 1971). Destilacija se odvija u serijama te ima dva glavna koraka.



Slika 19. Bakreni kotlovi za destilaciju

Prvo se fermentirana sladovina destilira na temperatri oko 90 °C kako bi se povećala koncentracija alkohola na 20-30 % volumena što traje 1,5 – 2 sata. Nakon toga alkohol (destilat) prolazi kroz kondenzator kako bi se ohladio. Prva frakcija destilata koja izlazi iz kondenzatora se naziva glava i ona se ispušta. Glava sadrži lakši metilni alkohol koji je toksičan i nepoželjan, a izlazi prvi zbog najniže točke ključanja koja iznosi oko 65 °C. Osim metilnog alkohola, glava sadrži i neke aldehide koji također nisu poželjni. Zadnja frakcija destilata, rep, sadrži teže elemente i veliku količinu vode te se i ona isto tako ispušta. Željena frakcija je srednji dio naziva srce, koji je najbolji i čuva se za sekundarnu destilaciju. Nakon prve destilacije, srce se još i izvorno naziva „ordinario“ i sadrži 20 – 30 % alkohola. Budući da glava i rep nakon prve destilacije sadrže još iskoristivog alkohola i organoleptičkih spojeva koji bi mogli pridonjeti aromi tekile, često i oni prolaze sekundarnu destilaciju prije nego se u potpunosti odbace, što ovisi od proizvođača do proizvođača.

Sekundarna destilacija se provodi na nešto višoj temperaturi, oko 100 °C i traje 3 – 4 sata. Početna koncentracija alkohola iznosi oko 75 % te se smanjuje kako se izdvajaju frakcije. Tijekom sekundarne destilacije također postoje tri frakcije: glava, srce i rep. Glava, koja izlazi prva, se sada u potpunosti odbacuje i više ne koristi. Kako se nastavlja destilacija, smanjuje se koncentracija alkohola sve dok ne padne na oko 55 %, tada se izdvaja srednja frakcija naziva

srce, odnosno, sirova tekila. Nakon što se izdvojila tekila, ostao je rep, koji se kao i glava odbacuje.

Kao što je već spomenuto, većina proizvođača zaustavlja destilaciju kada koncentracija alkohola iznosi između 55 i 60 %. Tada se tekila razrjeđuje sa demineraliziranom vodom do određene jačine koja varira od 38 do 46 %, ovisno o proizvođaču. Mnogi proizvođači će ostaviti višu koncentraciju alkohola ako je tekila namjenjena starenju u bačvama prilikom čega dolazi do isparavanja istog. Također neki proizvođači staju sa destilacijom tek kada količina alkohola padne na 40 % te takvu sirovu tekilu ne razrjeđuju dodatno sa vodom – konkretnog pravila nema.

U kontinuiranoj destilaciji, fermentacijska sladovina ulazi u opskrbnu kolonu i teče prema dolje prelzeći niz pladnjeve, a para se injektira s dna u zavojnicu (Slika 20). Para se kondenzira visoko u koloni ovisno o hlapivim komponentama, dopuštajući da se sladovina odvodi ili reciklira, odnosno ponovo prelazi pladnjeve po potrebi. Nekada se tekila dobivena ovim putem miješa sa tekilom dobivenom destilacijom u kotlovima kako bi se izbalansirala količina organoleptičkih spojeva što daje za zaključiti da je tekila dobivena kontinuiranom destilacijom siromašnija u aromi i okusima od tekile dobivene destilacijom u kotlovima. Ovakav način proizvodnje se slabo ili uopće ne koristi, iako je efiksniji jer nisu potrebne dvije destilacije, potpuna destilacija se može izvršiti u samo jednom prolazu. Postoji još jedan razlog zbog kojeg se kontinuirana destilacija slabije koristi, a to je zakonom propisana dvostruka destilacija svake tekile, bez obzira na način destilacije. Iako je zakonom određeno da tekila prolazi dvostruku destilaciju, mnoge tvrtke su otišle mnogo dalje te određene brendove trostruko destiliraju, kao što je to brend tvrtke Cofradia imena Casa Noble Crystal. Mnogi proizvođači navode kako treća destilacija uvelike smanjuje okus agave u tekili. (Cedeno, 2003).



Slika 20. Kontinuirana destilacija u kolonama

2.5.2. Odlaganje otpadnih voda

Prilikom pražnjenja kotla ili destilacijskih kolona u standardnoj tvornici za proizvodnju tekile, nastaje 7 do 10 litara otpadne vode po jednoj litri proizvedene tekile koje imaju veliku biološku potrošnju kisika od 25 do 60 g L^{-1}. Zbog svog sastava, kojeg čine razne otopljene soli, i niskog pH, postoje problemi u odlaganju i tretiranju tih otpadnih voda. Općenito riješenje ne postoji jer svaka tvornica ima svoj proizvodni proces i nalazi se u blizini grada ili polja agave. Recikliranje bi uvelike smanjilo volumen otpada koji se tretira. Otpadna voda se može ponovo koristiti miješanjem 5 do 10 % ukupnog volumena dobivenog otpada sa čistom vodom kao zamjena za vodu koja se koristi u pripremi inicijalne sladovine. Otpad prolazi više krugova miješanja, no ne više od pet, jer je koncentracija otopljenih soli prevelika

i može utjecati na proces fermentacije. Isto tako treba biti pažljiv sa završnim okusom i aromom tekile jer neki sastojci iz otpadnih voda utječu na organoleptičke karakteristike. Za sada, samo jedna tvornica koristi taj način recikliranja (Cedeno, 2003).

Izravna primjena u obliku vode za navodnjavanje i gnojiva za tlo pomno se promatra kako bi se odredila optimalna količina koja neće imati negativan utjecaj na tlo i voće i povrće. Isparavanjem ili izgaranje zaostatka bi se moglo dobiti gnojivo ili potaše, ali visoki troškovi takvog procesa stvaraju ozbiljna ograničenja u realizaciji istog (Sheenan i Greenfield, 1980). Proizvodnja biomase i biokemikalija uključujući i stočnih kvasaca je moguća, ali tekućina koja zaostaje i dalje ima visoku biološku potrošnju kisika (Quinn i Marchant, 1980). Također se može koristiti kao stočna hrana, ali ima nepoželjni laksativni učinak na životinje. Biološki, aerobni ili anaerobni tretmani nude stvarna rješenja odlaganja, ali visina troška koja je kao i sam proces fermentacije, to onemogućuje (Speece, 1983). Naposljetku, otpad u proizvodnji tekile bi se trebao promatrati kao sirovina, a ne stvarni otpad, te je potrebno osmisliti strategiju u svrhu povećanja ekonomske i društvene koristi i smanjenja troškova zbrinjavanja otpada.

2.6. SAZRIJEVANJE I PUNJENJE

2.6.1. Sazrijevanje

Destilacija je završni proces u proizvodnji tekile ako je riječ o bijeloj („silver“ ili „white“, izvorno „blanco“) tekili. Bijela tekila može biti skladištena u zatvorenim tankovima od nehrđajućeg čelika, ali to ne uzrokuje starenje tekile. Mirna („reposado“), pripojena („anejo“), i ekstra pripojena („extra anejo“) tekila sazrijevaju u drvenim hrastovim bačvama (Slika 21) (Norma Oficial Mexicana, 2005).

Drvo daje dozu ujednačenosti i glatkosti tekile te obogaćuje tekilu sa uljima iz drveta. Ovakav princip stvara nove okuse i arome, bogatije od originalne agave. Bačve mogu trajati i do 30 godina, ali imaju petogodišnji životni vijek za svaku proizvodnu seriju tekile, nakon čega su

svi tanini prešli u tekilu. Nakon svake upotrebe količina drveta koja apsorbira tekilu je sve manja i manja tako da svaka sljedeća serija mora provesti više vremena u bačvama kako bi se postigao isti efekt.



Slika 21. Sazrijevanje tekile u hrastovim bačvama

Debljina i kvaliteta drveta, temperatura i vlažnost zraka u skladištu, duljina sazrijevanja kao i ponovno korištenje bačve utječe na završnu aromu i okus tekile. Kompleksni sastojci drveta su ekstrahirani djelovanjem tekile. Između spojeva iz drveta i tekile dolazi do kemijskih reakcija što za posljedicu ima stvaranje novih sastojaka koji pridonose stvaranju određene boje i okusa. Tako se na primjer sadržaj viših alkohola smanjuje sazrijevanjem, zahvaljujući prirodnim sastojcima iz drveta koji prelaze u tekilu. Isto tako reakcije oksidacije mijenjaju neke originalne sastojke tekile. Takve promjene rezultiraju povećanjem koncentracije aldehida, kiselina i estera, a smanjenjem koncentracije viših alkohola.

Nakon sazrijevanja i razrjeđivanja demineraliziranom vodom, boja tekile se može prilagoditi potrebama potrošača dodatkom karamele. Prije punjenja u boce tekila se filtrira kroz celulozu ili polipropilenske uloške kako bi se uklonili preostali kruti ostaci agave, a ponekad se koristi ugljen kako bi se uklonilo zamućenje.

2.6.2. Punjenje

Punjenje se vrši automatskim strojevima za punjenje (slika 22) koji uključuju i linije za automatsko pranje boca, stavljanje čepova ili plutenih čepova te lijepljenje etiketa, dok se u nekim tvornicama boce i etikete ručno oslikavaju (slika 23 i 24). Boce se peru u vodi, a nekada i u samoj tekili, suše i zatim pune tekilom.

U većini tvornica svaka boca se puni ručno jer je takav rad u Meksiku puno jeftiniji od upotrebe automatiziranih uređaja, a mnoge tvrtke vjeruju da je to dio meksičke kulture pa se dobiveni proizvod više cijeni (Cedeno, 2003).



Slika 22. Automatsko punjenje



Slika 23. Ručno oslikana boca



Slika 24. Ručno izrađivanje etiketa

2.7. VRSTE TEKILE

2.7.1. „Tequila blanco“ – bijela tekila

Bijela tekila (slika 25) mora biti čista kao voda i izvorni je produkt sekundarne destilacije. Sadržaj alkohola može biti podešen razrjeđivanjem demineraliziranom vodom. Bijele tekile veće kvalitete imaju dimni i papreni miris te stvaraju biljni, voćni i citrusni zaostali okus u ustima. Bijela tekila niže kvalitete može uzrokovati peckanje na usnama te ima zaostali okus po petroleju (benzinu) (Valenzuela i Nabhan, 2003).



Slika 25. Bijela tekila

2.7.2. „Tequila reposado“ – mirna (odležana) tekila

Meksičkim zakonom propisano je da odležana tekila (slika 26) može sadržavati aditive i mora sazrijevati u hrastovim ili borovim bačvama najmanje dva mjeseca. Ova vrsta tekile postiže fini balans između tanina iz hrastovih bačvi i šećera iz agave. Mirne tekile („reposados“) koje su različito sazrijevale, dulje ili kraće, mogu biti pomiješane. Takve tekile ostavljaju različite okuse u ustima, kao što su okus trešnje, drveta, okus po vaniliji te biljni okus. Kod ove vrste aroma agave je poboljšana procesom starenja, a boja je slamnata. Odležana tekila je tekila više kvalitete i trebala bi se ispijati (pijuckati) kao vino, a ne piti „na eks“ ili miješati sa drugim pićima (Valenzuela i Nabhan, 2003).



Slika 26. Odležana tekila

2.7.3. „Tequila anejo“ – stara (pripojena) tekila

Stare tekile (slika 27) najdulje sazrijevaju, a moraju biti najmanje 12 mjeseci u hrastovim bačvama. Različite vrste pripojene („anejos“) tekile se mogu miješati, a navedena dob odgovara srednjem prosjeku cijele mješavine. Postoji velika raznovrsnost kvalitete i okusa stare tekile, a zaostatak okusa može varirati od okusa konjaka preko rakije do tanina. Mogu sazrijevati od jedne do deset godina. Što tekila duže sazrijeva, više ima karakteristični drvenasti okus tanina. Proces starenja ove tekile čini tamnijima, dajući im jantarnu boju, a smatraju se najkvalitetnijom vrstom (Valenzuela i Nabhan, 2003).



Slika 27. Stara tekila

3. ZAKLJUČCI

1. Tekila je meksičko jako alkoholno piće dobiveno destilacijom fermentiranog soka *Agave tequilana* Weber, varijetet plavi.
2. Proizvodnja tekile koja je još uvijek tradicionalna i zastarjela može se podijeliti u četiri faze, a to su kuhanje, mljevenje, fermentacija i destilacija.
3. Proces kuhanja ima tri glavna cilja: kao prvo to je hidroliza fruktana na jednostavnije šećere (saharozu, glukozu i fruktozu), zatim olakšavanje procesa mljevenja i ekstrakcije šećera koji slijede nakon kuhanja, te stvaranje važnih kemijskih spojeva koji imaju ulogu u organoleptičkim svojstvima završnog proizvoda.
4. Fermentacija se može odvijati spontano ili se sok agave može inokulirati komercijalnim ili domaćim kvascima, najčešće *Saccharomyces cerevisiae*.
5. Dodatak različitih spojeva za vrijeme kuhanja i upotreba različitih kvasaca u procesu fermentacije različito utječu na stvaranje primarnih produkata (etanol i ugljikov dioksid) i sekundarnih produkata (viši alkoholi, esteri, acetal, terpeni, furani, organske kiseline, aldehidi i ketoni) koji stvaraju i zaokružuju okus i aromu tekile.
6. Nakon fermentacije slijedi dvostruka destilacija, a zatim se sok razrjeđuje kako bi se dobio završni postotak alkohola koji varira od proizvođača do proizvođača, a iznosi od 38 do 55 %. Tekila sazrijeva u hrastovim bačvama 2 do 12 mjeseci kako bi se dobila „mlada“ ili „stara“ tekila, ovisno o vrsti.
7. Otpadne vode i ostaci nakon proizvodnje tekile najčešće se koriste kao podloga za rast bakterija ili gnojivo za proizvodnju voća i povrća dok se u novije vrijeme razmatra iskorištavanje ostataka u proizvodnji energije.
8. Tradicionalna proizvodnja tekile kao dio kulturne identifikacije i povijesnog nasljedstva Meksika predmet je sve većeg broja istraživanja kako uloga i značaj svake proizvodne faze ne bi nestali sa korištenjem novih tehnologija.

4. LITERATURA

1. Alonso, G.S., L. Rigal i A. Gaset. (1993) Valoracion quimica de bagazo de agave de la industria tequilera. *Rev. Soc. Quim. Mex.* **3**, 6-19.
2. AOAC (1990) Distilled liquors. U: Official methods of analysis of the association of official analytical chemists association of official analytical chemists, Arlington, Virginia, str. 690.
3. Arrizon, J., Fiore, C., Acosta, G., Romano, P., Gschaedler, A. (2006) Fermentation behavior and volatile compounds production by agave and grape must yeasts in high sugar Agave tequilana an grape must fermentations. *Anthonie van Leeuwenhoek* **8**, 181-189.
4. Arrizon, J., Gschaedler, A. (2002) Increasing fermentation efficiency at high sugar concentrations by supplementing an additional source of nitrogen during the exponential phase of the tequila fermentation process. *Can. J. Microbiol.* **48**, 965-970.
5. Benn, S., Peppard, L.T. (1996) Characterization of tequila flavor by instrumental and sensory analysis. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 557-566.
6. Berry, D.R. (1984) Physiology and microbiology of the malt whisky fermentation. U: Progress in industrial microbiology, Elsevier, Amsterdam, str.189.
7. Black C, Osmond B. (2005) Crassulacean acid metabolism photosynthesis: working the night shift, *Photosynth Res.* **76**, 329-341.
8. Bruman, H.J. (2000) Alcohol in ancient Mexico. U: The University of Utah Press, Salt Lake City, Utah, UT.
9. Carrillo TLA. (2007) Los destilados de *Agave* en Mexico y su denominacion de origen, *Ciencias*, **87**, 47-49.
10. Cedeno, M. (1995) Overview of tequila production with an emphasis on the role of yeast. *Dist. Bev. Ind. Ferment. Tecnol*. **11**, 87-92.
11. Cedeno, M. (2003) Tequila production from agave: historical influences and contemporary processes. U: The alcohol textbook, (Jacques, K.A., Lyons, T.P., Kelsall, D.R., ured.), Nottingham University Press, Nottingham, UK, str. 223-245.
12. Engan, S. (1981) Beer composition: volatile substances. U: Brewing Sciences, 2. izd., (Pollock, J.R.A., ured.), Academic Press, London, str. 98.

13. Garcia, A.I., Garcia, L.A., Diaz, M. (1994) Fusel alcohol production in beer fermentation processes. *Process Biochem*. **29,** 303-319.
14. Garcia-Mendoza A. (1995) El maguey una planta maravillosa. U: En torno al pulque y al maguey, (Cofradia en Apoyo de la Mayora Mexicana AC, ured.), Grupo Editorial Siquisiri, Mexico, str. 38-42.
15. Garcia-Mendoza A. (1998) Con sabor a maguey: Guia de la coleccion nacional de Agavaceas y Nolinaceas del Jardin Botanico. Instituto de Biologia, Jardin Botanico, Univesidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico.
16. Gomez-Pompa, M. (1963) El genero agave. *Cactaceas y suculentas Mexicanas* **8**, 3-28.
17. Goncalves de Lima, O. (1978) El maguey y el pulque en los codices mexicanos, Fondo de Cultura Economica, Mexico.
18. Goncalves de Lima, O. (1990) Pulque, balche y pajauaru, Fondo de Cultura Economica, Mexico.
19. Gschaedler, A., Gallardo, J., Villanueva, S. (2008) El proceso de elaboracion del mezcal en el estado de Michoacan. U: La produccion del mezcal en el estado de Michoacan, (del Estado Michoacan, G., ured.), Michoacan, Mexico, str. 72-92.
20. Gschaedler, A., Ramirez Corodva, J., Diaz Montano, D., Herrera Lopez, H., Arellano Plaza, M., Arrizon Gavino, J., Pinal Zazulo, L. (2004) Fermentacion: etapa clave en la elaboracion del tequila. U: Ciencia y tecnologia del tequila, avances y perspectivas, (Centro de Investigacion y asistencia tecnologica y Diseno del Estado de Jalisco, ured.), CIATEJ, Guadalajara, Mexico, str. 32-120.
21. In search of the Blue Agave: Tequila and the Heart of Mexico http://www.ianchadwick.com. Pristupljeno 18. srpnja i 30. kolovoza 2015.
22. K.A. Jacques, T.P. Lyons, D.R. Kelsall (2003) The Alcohol textbook, 3. izd., Nottingham Universitiy Press, UK.
23. Lachance AM. (1995) Yeast communities in a natural tequila fermentation. *Antonie van Leeuwenhoek*, **68**, 51-160.
24. Lamas-Robles, R., Sandoval Fabian, G.C., Osuna Tenes, A.A., Gschaedler-Mathis, A.C. (2004) Cocimiento y Molienda. U: Ciencia y Tecnologia del Tequila, (Gschaedler-Mathis, A.C., ured.), CIATEJ, Guadajalara, str. 41-60.

25. Lappe-Olivera P, Moreno-Terrazas R, Arrizon-Gavino J i sur. (2008) Yeasts associated with the Mexican alcoholic nondistilled and distilled *Agaave* beverages. *FEMS Yeast Res*, **8**, 1037-1052.
26. Lopez M, Mancilla-Margalli N. (2007) The nature of fructooligosaccharides in *Agave* plants, *Advances in fructooligosaccharides Research*, **2**, 47-67.
27. Lopez M, Mancilla-Margalli N i Mendoza-Diaz G. (2003) Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. Azul, *J. Agric. Food Chem*., **51**, 7835-7840.
28. MacDonald, J., Reeve, P.T.V., Ruddlesden, J.D., White, F.H. (1984) Current approaches to brewery fermentations. U: Progress in Industrial Microbiology, Modern applications of traditional biotechnologies, (Bushell, M.E., ured.), Elsevier, Amsterdam.
29. Mancilla-Margalli, N., Lopez, M. (2002) Generation of Maillard compounds from inulin during the thermal processing of *Agave tequilana* Weber, var. Azul. *J. Agric. Food Chem*. **50**, 806-812.
30. Martinez-Salvador M, Rubio-Arias H, Ortega-Rubio A. (2005) Population structure of maguey (*Agaave* Salmiana ssp. Crassispina) in southeast Zacatecas, Mexico. *Arid Land Res. Manag*, **19**, 101-109.
31. Narvaez-Zapata, J.A., Sanchez-Teyer, L.F. (2009) Agaves as a raw material: recent technologies and applications. *Recent Pat. Biotechnol*. **3**, 185-191.
32. Norma Oficial Mexicana (NOM-006-SCFI-2005) (2005), Bebidas alcoholicas – Tequila –Especificaciones.
33. Pinal L, Cedeno M, Gutierrez H, A-Jacobs J. (1997) Fermentation parameters influencing higher alcohol production in the tequila. *Biotechnol Lett*, **19**, 45-47.
34. Pinal, Z.L.M. (1999) Tesis de Maestria en Procesos Biotecnologicas, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Mexico.
35. Pinos-Rodriguez, J.M., Zamudio, M., Gonzales, S.S. (2008) The effect of plant age on composition of fresh and ensiled *Agave salmiana* leaves. *S. Afr. J. Anim. Sci.* **38,** 43-51.
36. Quinn, J.P., Marchant, R. (1980) The treatment of malt whiskey distillery waste using the fungus. *Geotrichum candidum*. Water Res. **14**, 545.
37. Ramirez, J.F., Sanchez-Marroquin, A., Alvarez, M.M., Valyasebi, R. (2004) Industialization of Mexican pulque. U: Industrialization of Indigenous

Fermented Foods, 2. izd., (Steinkraus, K., ured.), Marcel Deckker, New York, str. 547-586.

38. Ramsay, C.M., Berry, D.R. (1984) Physiological control of higher alcohol formation. U: Current Developments in Yeast Research, (Stewart, G.G., Russell, I., ured.), Pergamon Press, London, Canada.
39. Sanchez-Marroquin A. (1967) Estudio sobre la microbilogia del pulque. XX. Proceso industrial para la elaboracion tecnica de la bebida. *Rev Lat-Am Microbiol Parasitol*, **9**, 87-90.
40. Sheenan, G.J. i P.F. Greenfield. (1980) Utilization, treatment and disposal of distillery wastewater. *Water Res.* **14**, str. 257.
41. Speece, R.E. (1993) Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* **17**, 409-416.
42. Steinkraus, K. (1997) Mexican pulque. U: Handbook of indigenous Fermented Foods, 2. izd., (Steinkraus, K., ured.), Marcel Deckker Inc, New York, str. 389-397.
43. Tellez, P. (1999) Tesis de Maestria en Procesos Biotecnologicos. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Mexico.
44. Thorne, R.S.W., E. Helm i K. Svendsen (1971) Control of sulfur impurities in beer aroma. *J. Inst. Brew.* **77**, 142-148.
45. Valenzuela-Zapata, Garry P. Nabhan (2003) Tequila: A natural and cultural history, 1.izd., University of Arizona Press, Arizona.
46. Waleckx E, Gschaedler A, Colona-Cicada C, Monsan P. (2008) Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. Azul during the cooking step in a traditional elaboration tequila proces, *Food Chem*, **108**, 40-48.