

**DETERMINACIÓN POR GC-MS DE COMPUESTOS VOLÁTILES DE PISCOS
PERUANOS AISLADOS POR HS-SPME**

**YARIDE PÉREZ PACHECO
CARLOS BATHUEL RAMÍREZ PINEDA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2012

**DETERMINACIÓN POR GC-MS DE COMPUESTOS VOLÁTILES DE PISCOS
PERUANOS AISLADOS POR HS-SPME**

**YARIDE PÉREZ PACHECO
CARLOS BATHUEL RAMÍREZ PINEDA**

**Trabajo de grado presentado como requisito
parcial para optar al título de Químicos**

Directores:

ELENA E. STASHENKO, Química, Ph.D.

JAIRO RENÉ MARTÍNEZ, Químico, Ph.D.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2012

DEDICATORIA

A toda mi familia, por su confianza y colaboración en todo momento.

A mi novia Deysi, por su cariño, comprensión y amor incondicional.

A la familia CENIVAM, por toda la alegría compartida.

Carlos Bathuel Ramírez Pineda

A mis padres, Fanny y Manuel, por la formación que me dieron.

A la familia CENIVAM, por toda la alegría compartida.

A Ginna, mi instructora y gran amiga.

Yaride Pérez Pacheco

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Elena Stashenko, por todo su apoyo, comprensión y paciencia, durante el desarrollo de la investigación. Por todo el conocimiento que compartió, por todas esas memorias inolvidables que comentó en uno u otro momento.

Al profesor Jairo René Martínez, por su ayuda para la culminación del proyecto de investigación. Por haber estado siempre disponible aun para la más insignificante duda.

A la empresaria Berit Knudsen, por proporcionar las muestras de pisco, para realizar el estudio de sus fracciones volátiles.

A nuestros compañeros de laboratorio Marcelita, Laurita, Nathalie, Yuri, Corina, Julian y Edwin (los caracoles), Camilo, Ligia, Nelson, Andrés, Néstor, Carlos Ruiz, Ginna, Andrea Agudelo, Andrea Gómez, Carlos Rueda, Eva, Vanessa y Mario, por estar siempre presentes con motivaciones y palabras de aliento, muy ocurrentes, durante la investigación.

A Deyanira y William, por la confianza y apoyo que manifestaron en todo momento. Por la enseñanzas y tutorías fundamentales para el desarrollo de la investigación.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, los autores hacemos extensivo nuestro más sincero agradecimiento.

Carlos Bathuel Ramírez Pineda y Yaride Pérez Pacheco

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	23
1. ESTADO DEL ARTE	26
1.1 GENERALIDADES DE LAS UVAS	26
1.1.1 Cambio en la composición química de las uvas durante la maduración.	27
1.1.2 Composición química volátil de las uvas	27
1.2 GENERALIDADES DEL PISCO	29
1.2.1 Proceso de fermentación	30
1.2.2 Proceso de destilación	31
1.2.3 Distribución del pisco peruano	32
1.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS VOLÁTILES EN MATRICES LÍQUIDAS	33
1.3.1 Microextracción en fase sólida	34
1.3.1.1 Dispositivos.....	34
1.3.1.2 Condiciones de extracción.....	36
1.3.2 Extracción en <i>Headspace</i> Sampler	36
1.3.3 Extracción líquido-líquido	37
2. ANÁLISIS CIENCIOMÉTRICO	38
3. METODOLOGÍA.....	43
3.1 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS AUXILIARES.....	43
3.2 MUESTRAS DE PISCO.....	44
3.3 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	46

3.3.1	Extracción de la fracción volátil del pisco peruano por microextracción en fase sólida.....	46
3.3.1.1	Selección de la fibra	47
3.3.1.2	Diseño experimental, 2 ²	48
3.3.1.3	Cuantificación	49
3.3.2	Extracción líquido-líquido de la fracción volátil del pisco peruano.....	50
3.3.3	Extracción del etanol por la técnica de <i>headspace</i> estático del pisco	51
3.3.3.1	Preparación de la muestra.....	52
3.3.3.2	Cuantificación del etanol.....	52
3.4	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS	53
3.4.1	Cromatografía de gases con detector de ionización en llama	53
3.4.2	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	55
3.4.3	Identificación	56
3.5	DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS	57
3.5.1	Determinación de la acidez total	57
3.5.2	Determinación de sacarosa disuelta	58
3.5.3	Determinación de la densidad	58
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
4.1	FRACCIÓN VOLÁTIL DEL PISCO AISLADA POR LA MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA	59
4.1.1	Selección de la fibra	59
4.1.2	Efecto de la temperatura, tiempo de exposición y concentración del etanol en la fibra	60
4.1.3	Condiciones del diseño experimental, 2 ²	63

4.1.4	Fracción volátil aislada por la microextracción en fase sólida	66
4.1.5	Cuantificación por medio de la técnica de microextracción en fase sólida.....	76
4.2	CUANTIFICACIÓN DEL ETANOL POR MEDIO DE LA TÉCNICA HEADSPACE ESTÁTICO	86
4.3	ESTUDIO DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL AISLADA POR EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO DE LOS PISCOS PERUANOS ESTUDIADOS	89
4.4	DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	103
4.5	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	106
4.5.1	Microextracción en fase sólida	107
4.5.2	Extracción líquido-líquido	108
4.5.3	Propiedades físico-químicas	110
4.5.4	Clasificación de los piscos basada en las técnicas utilizadas	111
5.	CONCLUSIONES	114
6.	RECOMENDACIONES.....	116
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	117
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126
	ANEXOS	136

LISTA DE FIGURAS

		pág.
Figura 1.	<i>Vitis vitaceae</i> o <i>Vitis vinífera</i> . Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: CENIVAM, UIS. Fecha: Febrero de 2012.	26
Figura 2.	Esquema de un alambique utilizado para la destilación de mosto [22].	32
Figura 3.	Producción de pisco en Perú, en función del tiempo. Elaboración propia, fuente: CONAPISCO [33].	33
Figura 4.	Principales importadores de pisco. Elaboración propia, fuente: CONAPISCO [33].	33
Figura 5.	Dispositivo para SPME. Elaboración propia.	35
Figura 6.	Etapas en la extracción con HS-estático a). Presurización de la muestra en el vial; b). Llenado del <i>loop</i> ; c). Entrada de los componentes químicos volátiles del <i>loop</i> hacia la columna. Elaboración propia.	37
Figura 7.	Número de publicaciones sobre análisis de bebidas alcohólicas por SPME en función del tiempo. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (" <i>analysis of alcoholic beverages by spme</i> "). Número de publicaciones encontradas: 434.	39
Figura 8.	Áreas de estudio sobre análisis de bebidas alcohólicas por SPME en función número de publicaciones. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (" <i>analysis of alcoholic beverages by spme</i> "). Número de publicaciones encontradas: 434.	39
Figura 9.	Número de publicaciones sobre SPME en cromatografía de gases en función del año de publicación. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (" <i>spme gas chromatography</i> "). Número de publicaciones encontradas: 9.146.	40
Figura 10.	Áreas de estudio sobre cromatografía de gases con SPME en	41

función del número de publicaciones. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“*spme gas chromatography*”). Número de publicaciones encontradas: 9.146.

- Figura 11.** Número de publicaciones sobre bebidas de pisco, en función del tiempo. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“*pisco beverage*”). Número de publicaciones encontradas: 36. 42
- Figura 12.** Áreas de estudio sobre bebidas de pisco, en función del número de publicaciones. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“*pisco beverage*”). Número de publicaciones encontradas: 36. 42
- Figura 13.** Muestras de pisco peruano. Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio *J.J. Thomson*, CENIVAM, UIS. Fecha: Abril del 2012. 45
- Figura 14.** Etapas de la HS-SPME. a). Preparación de la muestra; b). Introducción de la muestra en el puerto de inyección. Fotografía tomada por: Carlos Bathuel Ramírez Pineda. Lugar: CENIVAM, UIS. Fecha: Mazo de 2012. 47
- Figura 15.** Representación gráfica del diseño experimental. 48
- Figura 16.** Equipo *Headspace Sampler* HP 7694E. a). Cámara de *Headspace* Sampler, muestreador de espacio de cabeza; b). Carrusel porta-muestras. Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio *J.J. Thomson*, CENIVAM, UIS. Fecha: Enero de 2012. 51
- Figura 17.** Cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard 5890 Series II*, con detector de ionización en llama. Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio *J.J. Thomson*, CENIVM, UIS. Fecha: Febrero de 2012. 55
- Figura 18.** Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890N Network Series* GC acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5975 Inert XL*. Fotografía tomada por Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio de instrumentación analítica, CENIVAM, UIS. Fecha: 55

Marzo de 2012.

Figura 19.	Selección de la fibra, respuesta generada por el GC-MS (n=3).	60
Figura 20.	Curva de saturación de la fibra CAR/PDMS con base en la concentración de etanol.	61
Figura 21.	Efecto de la temperatura sobre la saturación de la fibra de CAR/PDMS.	62
Figura 22.	Efecto del tiempo de exposición sobre la saturación de la fibra de CAR/PDMS.	62
Figura 23.	Superficie de respuesta del modelo experimental.	66
Figura 24.	Curvas de calibración realizadas empleando la HS-SPME-GC-FID (n=3).	78
Figura 25.	Concentración del etanol encontrada en los picos, empleando la HS-SPME-GC-FID (n=3).	80
Figura 26.	Concentración del <i>iso</i> -butanol encontrada en los piscos analizados, empleando la HS-SPME-GC-FID (n=3).	81
Figura 27.	Concentración de alcohol <i>iso</i> -amílico encontrada en los piscos peruanos, analizados por la HS-SPME-GC-FID (n=3).	82
Figura 28.	Formación del alcohol <i>iso</i> -amílico y del alcohol D-amílico.	83
Figura 29.	Concentración del hexanol encontrada en los piscos, analizados por HS-SPME-GC-FID (n=3).	84
Figura 30.	Curva de calibración del etanol, obtenida por la técnica de S-HS-GC-FID.	87
Figura 31.	Concentración del etanol en los piscos estudiados, empleando la técnica de S-HS-GC-FID (n=3).	88
Figura 32.	Número de sustancias químicas, por familias, presentes en el pisco, aisladas con solvente.	90
Figura 33.	Cantidad relativa (%) de compuestos alcohólicos aislados con solvente (diclorometano, n=3).	91
Figura 34.	Cantidad relativa de los compuestos químicos aislados con solvente (diclorometano, n=3).	91
Figura 35.	Índice de acidez determinado en los piscos peruanos estudiados (n=3).	104

Figura 36.	Contenido de sacarosa disuelta en los piscos peruanos estudiados (n=3).	105
Figura 37.	Densidad determinada en los piscos peruanos estudiados (n=3).	106
Figura 38.	PCA de las fracciones volátiles de los piscos peruanos, obtenidas en la HS-SPME-GC-FID.	108
Figura 39.	PCA de los extractos aislados de los piscos peruanos, usando la extracción líquido-líquido.	109
Figura 40.	PCA de los resultados, basados en las propiedades físico-químicas de los piscos estudiados.	110
Figura 41.	Análisis comparativo de componentes principales de los resultados, comparando los extractos y fracciones volátiles de los piscos aislados por extracción con solvente, HS-SPME, y las propiedades fisicoquímicas determinadas.	112

LISTA DE TABLAS

		pág.
Tabla 1.	Composición volátil de la piel de la uva, obtenida por la HS-SPME usando tres fibras diferentes [19].	28
Tabla 2.	Clasificación de los piscos peruanos [2-4].	29
Tabla 3.	Levaduras presentes en la pruina [25].	30
Tabla 4.	Evolución de la composición química volátil durante la destilación del mosto de uva [23].	32
Tabla 5.	Nomenclatura de las fibras para SPME [43].	36
Tabla 6.	Materiales volumétricos utilizados.	43
Tabla 7.	Equipos auxiliares utilizados.	43
Tabla 8.	Fibras de SPME utilizadas.	44
Tabla 9.	Sustancias químicas utilizadas.	44
Tabla 10.	Muestras de pisco peruano, objeto de estudio en este proyecto.	45
Tabla 11.	Niveles y variables del diseño experimental.	48
Tabla 12.	Ensayos del diseño experimental.	49
Tabla 13.	Soluciones utilizadas en la cuantificación por medio de la HS-SPME.	50
Tabla 14.	Parámetros de acondicionamiento de la cámara de <i>headspace</i> estático.	52
Tabla 15.	Parámetros cromatográficos del GC-FID.	54
Tabla 16.	Resultados del diseño experimental.	63
Tabla 17.	Validación del diseño experimental.	64
Tabla 18.	Validación del modelo experimental.	66
Tabla 19.	Cantidad relativa (%) e identificación de compuestos volátiles aislados por HS-SPME de los piscos peruanos analizados.	68
Tabla 20.	Ecuaciones de calibración calculadas para HS-SPME-GC-FID.	76
Tabla 21.	Resultados de la curva de calibración obtenida por HS-SPME-GC-FID, para el etanol, el <i>iso</i> -butano, alcohol <i>iso</i> -amílico y hexanol.	79
Tabla 22.	Concentración del etanol, <i>iso</i> -butanol, alcohol <i>iso</i> -amílico y hexanol en los piscos peruanos estudiados.	85
Tabla 23.	Curva de calibración del etanol obtenida por la técnica de <i>headspace</i>	86

estático.

Tabla 24.	Comparación del contenido de etanol en los piscos estudiados, aislado por las técnicas de S-HS y HS-SPME (n=3).	89
Tabla 25.	Compuestos volátiles extraídos con solvente (diclorometano) de los piscos peruanos estudiados (n=3).	94
Tabla 26.	Propiedades físico-químicas de las muestras de pisco peruano.	103

LISTA DE ANEXOS

		pág.
Anexo 1.	Cromatogramas obtenidos por HS-SPME-GC-FID, de las muestras de pisco peruanos estudiadas.	137
Anexo 2.	Cromatogramas obtenidos por extracción líquido-líquido GC-MS, de las muestras de pisco peruanos estudiadas.	144
Anexo 3.	Espectros de masas de algunos compuestos encontrados en los piscos peruanos estudiados y sus rutas de fragmentación.	151
Anexo 4.	Parámetros sensoriales de algunos compuestos presentes en el pisco peruano.	166

ABREVIATURAS, SIGLAS Y ACRÓNIMOS

3F	Divinilbenceno/Carboxen /Poli(dimetilsiloxano)
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i> (Análisis de varianza)
AV	<i>Acid Value</i> (Valor de acidez)
BTEX	Benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos
ca.	<i>Circa</i> (Alrededor de)
CAR/PDMS	Carboxen/Poli(dimetilsiloxano)
CR	Cantidad relativa
CW/PDMS	Carbowax/Poli(dimetilsiloxano)
e.g.	<i>Exempli gratia</i> (Por ejemplo)
ELL	Extracción líquido-líquido
et al.	<i>Et alii</i> (Y otros)
f.e.	Fase estacionaria
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Cromatografía de gases)
GC-FID	<i>Gas Chromatography whit Flame Ionization Detector</i> (Cromatografía de gases con detector de ionización en llama)
GC-MS	<i>Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía líquida de alta eficiencia)
HS	<i>Headspace</i> (Espacio de cabeza)
HS-SPME	<i>Headspace-Solid-Phase Microextraction</i> (Microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza)
i.e.	<i>Id est</i> (Es decir)
I _R	Índice de retención lineal
ISO	<i>International Standars Organization</i> (Organización internacional de normalización)
LOD	<i>Limit of Detection</i> (Límite de detección)
LOQ	<i>Limit of Quantification</i> (Límite de cuantificación)

MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometría de masas)
PA	Poli(acrilato)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análisis de componentes principales)
PDMS	Poli(dimetilsiloxano)
PDMS/DVB	Poli(dimetilsiloxano)/Divinilbenceno
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i> (Desviación estándar relativa)
S	<i>Static</i> (Estático)
SPME	<i>Solid-Phase Microextraction</i> (Microextracción en fase sólida)
T	Temperatura normalizada (variable)
t	Tiempo de extracción normalizado (variable)
TIC	<i>Total Ionic Current</i> (Corriente iónica total)
t _R	Tiempo de retención

RESUMEN

TÍTULO: DETERMINACIÓN POR GC-MS DE COMPUESTOS VOLÁTILES DE PISCOS PERUANOS AISLADOS POR HS-SPME *

AUTORES: Yaride Pérez Pacheco, Carlos Bathuel Ramírez Pineda **

PALABRAS CLAVE: Pisco, HS-SPME, GC-MS, Fracción volátil, Análisis de componentes principales (PCA).

El pisco peruano es una bebida alcohólica que proviene de la destilación del mosto fermentado de uvas aromáticas (Quebranta, Mollar, Negra Criolla y Uvina) y no aromáticas (Italia, Torontel, Moscatel y Albilla). La fermentación del mosto puede ser completa o incompleta; depende del tipo de pisco que se desee fabricar.

En el presente informe, se reportan los resultados obtenidos del análisis de la fracción volátil y de algunas propiedades físico-químicas (densidad, índice de refracción e índice de acidez) de once muestras de pisco peruano de tipo puro y mosto verde, provenientes de diferentes variedades de uvas aromáticas y no aromáticas.

La fracción volátil se obtuvo por medio de dos técnicas extractivas (extracción líquido-líquido y HS-SPME). El análisis se realizó por GC-FID y GC-MS; se aislaron 100 y 81 compuestos químicos volátiles respectivamente. Se encontraron terpenos (4,4 y 0,002 %), ésteres (6,7 y 0,2 %), compuestos carbonílicos (1,6 y 0,001 %) y alcoholes (80,7 y 98,9 %).

Las muestras se clasificaron de acuerdo con su composición química y sus propiedades físico-químicas. La clasificación de las muestras se realizó por medio de análisis multivariado (PCA). Se concluyó que, el tipo de fermentación al cual se somete el mosto, es un factor determinante en la clasificación de los piscos peruanos.

El contenido del etanol se determinó por medio de las técnicas HS-SPME y HS-S. Utilizando GC-FID. Las muestras de pisco peruano se encuentran dentro de los parámetros descritos por la Norma técnica peruana para el contenido del etanol (38-48 %v/v), sin embargo, el pisco de tipo mosto verde de uva Quebranta contenía 35 %v/v, del etanol.

* Proyecto de grado

** Facultad de ciencias. Escuela de Química. Directores: Elena Stashenko, Jairo René Martínez.

ABSTRACT

TITLE: GC-MS DETERMINATION OF VOLATILE COMPOUNDS OF PERUVIAN PISCO ISOLATED BY HS-SPME *

AUTHORS: Yaride Pérez Pacheco, Carlos Bathuel Ramírez Pineda **

KEY WORDS: Pisco, HS-SPME, GC-MS, Volatile fraction, Principal component analysis (PCA).

Peruvian pisco is an alcoholic beverage made by distillation of fermented aromatic grape (Quebranta, Mollar, Negra Criolla and Uvina) and non-aromatic (Italia, Torontel, Moscatel and Albilla) Must fermentation could be completed or incompleted depending on the type of pisco that is going to be made.

This report aims at informing the results obtained during the process of an analysis of volatile fraction and the physic-chemical properties of eleven samples of pure Peruvian pisco and green must obtained from different varieties of aromatic and non aromatic grapes.

The volatile fraction was obtained by means of two extractive techniques such as liquid-liquid extraction and HS-SPME. The analysis was performed by using GC-FID and GC-MS; thus 100 and 81 compounds were isolated respectively. Finding terpens (4,4 and 0,002 %), esters (6,7 and 0,2 %), carbonilic compounds (1,6 and 0,001 %) and alcohols (80,7 and 98,9 %).

Samples were classified according to their chemical composition and their physic-chemical properties. This classification was made with multivariate analysis (PCA). So, it can be said that the grade of fermentation Peruvian pisco is exposed is crucial to allow their further classification.

Ethanol content in Peruvian pisco was determined by HS-SPME and S-HS techniques and by using GC-FID. Peruvian pisco samples are in rule according to NTP which regulates ethanol content in this product. (38 to 48 %v/v). However, green must pisco taken from Quebranta grape contained 35 %v/v.

* College thesis

** Science Faculty. School of Chemistry. Directed by Elena Stashenko, Jairo René Martínez.

INTRODUCCIÓN

El pisco peruano se certifica como bebida alcohólica que proviene de la destilación del mosto de uvas fermentadas procedentes del Perú. El pisco se fabrica con diferentes variedades de uvas de la especie *Vitis vinífera*, según sus nombres comunes *i.e.*, Italia, Negra Criolla, Mollar, Albilla, Uvina, Torontel, Moscatel y Quebranta [1].

Las propiedades organolépticas del pisco dependen de la variedad de uva utilizada y del tipo de fermentación al cual fue sometida la uva; por lo tanto, se identifican diversas clases de piscos, a saber: acholado, mosto verde y puro [2-4].

Existen diferentes métodos analíticos para determinar la composición de los productos alimenticios, *e.g.*, cromatografía de gases, cromatografía líquida, espectrometría de masas y sus respectivos acoples, entre otros. Se puede emplear varias técnicas de extracción. Sin embargo, las técnicas convencionales para realizar el muestreo del producto requieren de tiempo de trabajo relativamente largo, costos altos y son contaminantes del medio ambiente. La microextracción en fase sólida (SPME, *Solid-Phase Microextraction*, por sus siglas en inglés), es una técnica de extracción y concentración de compuestos químicos volátiles, que minimiza el tiempo de trabajo y el costo de análisis, además no requiere el uso de solventes [5-12].

En el presente trabajo, se estudiaron las diferencias en las propiedades fisicoquímicas y en la composición química volátil de once muestras de pisco peruano, de diferentes variedades de uva y tipo de fermentación. Las propiedades fisicoquímicas estudiadas fueron: El índice de acidez, el índice de refracción y la densidad; el aislamiento de los componentes químicos volátiles se realizó empleando las técnicas de SPME en el espacio de cabeza (HS, *Headspace*, por sus siglas en inglés) y de extracción líquido-líquido (ELL). Los componentes químicos volátiles se identificaron por cromatografía de gases (GC) acoplada a

espectrometría de masas (MS) y se cuantificaron por GC con detector de ionización en llama (FID).

Un factor determinante para aislar por SPME, las sustancias químicas volátiles es la fibra empleada, por lo tanto, se estudiaron cuatro fibras de diferente polaridad, *i.e.*, poli(dimetilsiloxano) (PDMS), poli(dimetilsiloxano)/divinilbenceno (PDMS/DVB), carboxen/poli(dimetilsiloxano) (CAR/PDMS) y poli(acrilato) (PA). La selección de la fibra se realizó por comparación del área cromatográfica total de los compuestos químicos aislados.

Las condiciones de extracción para la HS-SPME se establecieron con un diseño experimental y se planteó un modelo para representar de manera teórica los resultados obtenidos por HS-SPME-GC-FID.

El contenido de etanol en el pisco se estudió empleando dos técnicas de extracción de volátiles, HS-SPME y HS estático (S, *Static*, por su sigla en inglés) y se analizó por GC-FID.

Con el propósito de ampliar la cantidad de compuestos químicos aislados en el pisco se realizó la ELL y se encontraron más de 90 compuestos químicos.

Los piscos se clasificaron con base en su composición química volátil y en sus propiedades fisicoquímicas; para esto se realizó un análisis de componentes principales (PCA, *Principal Component Analysis*, por sus siglas en inglés). Se observó, que el factor determinante para la clasificación es el tipo de fermentación del mosto.

El proyecto de investigación se realizó en los laboratorios del Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales, Aromáticas y Medicinales Tropicales, CENIVAM, en la UIS.

El escrito contiene 26 tablas y 46 figuras, consta de 6 capítulos y 72 citas bibliográficas. Esta investigación presenta un estado del arte sobre la composición química de las uvas, en las tres etapas para la obtención del pisco recolección, fermentación y destilación. Además, cuenta con un estudio sobre la fabricación de la bebida alcohólica, producto emblema del Perú.

1. ESTADO DEL ARTE

1.1 GENERALIDADES DE LAS UVAS

El género *Vitis* de la familia *vitaceae* (**Figura 1**), es una planta perenne, que produce fruto anualmente después de tres años de sembrada. La vid requiere un clima tropical y subtropical, entre 7 y 24 °C, humedad relativa entre 70 y 80 % y suelos arcillosos. La planta se reproduce vía sexual (semillas) o asexual (acodos, estacas o injertos) [13].



Figura 1. *Vitis vitaceae* o *Vitis vinífera*. Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: CENIVAM, UIS. Fecha: Febrero de 2012.

De la especie *Vitis vinífera* todavía coexisten dos formas, la subespecie doméstica, *vinífera* (sativa) y la salvaje, *silvestris* (sylvestris), que consisten en ca. 60 especies inter-fértiles, las cuales se diferencian morfológicamente, debido al resultado de la domesticación [14].

La uva es uno de los mayores cultivos en el planeta tierra, principalmente en España; sin embargo, esta escasea en el periodo de diciembre a marzo, pero países como Perú, Chile, entre otros, permiten abastecer la cantidad demandada del cultivo a nivel mundial en la época de baja producción, ya que sus condiciones

climáticas son las adecuadas para el cultivo durante el año. En el Perú, las mayores zonas productoras son Ica, La Libertad, Lima, Tacna, entre otras (4.138,91 miles de TN anuales) [13].

El principal producto de las uvas es el vino, con alternativas como las uvas de sobremesa y el pisco, bebida alcohólica proveniente de la región del Perú.

1.1.1 Cambio en la composición química de las uvas durante la maduración.

La maduración de las uvas es un proceso fisiológico que depende de la fotosíntesis, respiración celular, cantidad de luz, calidad de suelo, época de cosecha, cantidad de sustancias presentes en las uvas. Generalmente, la maduración empieza de 6 a 8 semanas después de la floración, hasta la vendimia, cuando las uvas alcanzan un nivel de azúcar de ca. 29° Brix y acidez total ca. pH 3 [15-18]. El grado de maduración es responsable de las propiedades sensoriales de la uva.

1.1.2 Composición química volátil de las uvas

En un análisis por HS-SPME-GC-MS realizado por Sánchez-Palomo *et al.* (2005) sobre los compuestos volátiles de las uvas, los autores encontraron sustancias como C₁₃-norisoprenoides, derivados del benceno y alcoholes alifáticos, presentes, generalmente, en la piel. Sin embargo, la composición química de las uvas cambia con la variedad, prácticas culturales de siembra y factores climáticos y biológicos. En la **Tabla 1** se encuentran los resultados obtenidos por Sánchez-Palomo *et al.* (2005) sobre la composición química del pisco peruano utilizando tres fibras diferentes [19].

Tabla 1. Composición volátil de la piel de la uva, obtenida por la HS-SPME usando tres fibras diferentes [19].

Compuesto	PDMS/DVB		CAR/DBV/PDMS		CW/DVB	
	CR ^a , %	RSD ^b , %	CR ^a , %	RSD ^b , %	CR ^a , %	RSD ^b , %
Hexanal	5,6	3,1	6,2	5,3	19,6	27,5
<i>trans</i> -2-Hexenal	3,6	7,3	4,3	21,0	9,0	10,3
1-Hexenol	0,6	4,8	0,6	4,4	-	-
<i>trans</i> -2-Hexenol	1,3	5,7	0,9	8,6	0,5	-
<i>trans</i> -Óxido de linalol (furano)	0,6	3,1	0,4	11,0	0,1	-
<i>cis</i> -Óxido de linalol (furano)	0,5	0,7	1,0	13,1	0,2	-
Linalol	54,5	2,4	50,4	6,1	46,4	3,8
Benzaldehído	0,5	0,3	0,6	15,2	-	-
α -Terpineol	0,2	5,9	1,3	3,0	0,4	-
<i>trans</i> -Óxido de linalol (pirano)	1,4	5,2	2,7	1,5	1,5	1,2
<i>cis</i> -Óxido de linalol (pirano)	0,9	4,5	1,2	5,3	-	-
Citronelol	1,7	0,7	1,8	6,8	1,0	38,4
Nerol	9,8	2,2	9,6	7,8	5,0	11,8
Geraniol	17,5	5,4	17,3	7,9	15,1	14,7
Alcohol bencílico	0,8	5,3	1,0	14,6	-	-
Alcohol feniletílico	0,7	5,9	0,8	6,8	1,0	41,1

Media (n=3).

a-Cantidad relativa, %.

b-Desviación estándar relativa, %.

Canuti *et al.* (2009) encontraron en la piel y en los tejidos de uvas alcoholes, ésteres, ácidos, terpenos, norisoprenoides, tioles y compuestos carbonílicos, los cuales, mayoritariamente, están conjugados con los azúcares y los aminoácidos presentes en las vacuolas de las células del exocarpio. Se concluyó que la piel contiene más de la mitad de los compuestos volátiles presentes en la uva [20, 21].

1.2 GENERALIDADES DEL PISCO

El pisco peruano es una bebida alcohólica proveniente de la destilación de uvas fermentadas procedentes de la región del Perú. Las uvas usadas para su fabricación pertenecen a la variedad de la especie *Vitis vinífera*, certificada con los nombres comunes de Italia, Negra Criolla, Mollar, Moscatel, Quebranta, Albilla, Torontel y Uvina [21].

Los piscos se clasifican de acuerdo con el proceso de su producción y la variedad de uva usada (Véase **Tabla 2**). El proceso de producción empieza con la época de la cosecha o vendimia, tiempo en que se recogen las uvas maduras, las cuales se llevan a la estrujadora para obtener el mosto. El mosto contiene azúcares libres y compuestos aromatizantes responsables de las propiedades organolépticas finales del pisco [21].

Tabla 2. Clasificación de los piscos peruanos [2-4].

Clases de pisco		Características
Acholado		Destilación de mostos frescos, mezcla de distintas variedades de uvas pisqueras.
Mosto verde		Destilación de mostos frescos, incompletamente fermentados.
Puro	Aromático	Una sola variedad de uva pisquera aromática.
	No aromático	Una sola variedad de uva pisquera no aromática.

La fermentación se realiza en contenedores donde se almacena el mosto y dependiendo del tiempo de fermentación, el pisco que se obtiene, se llama mosto verde o puro. El mosto fermentado se destila en alambiques para separar las fracciones de cabeza, cuerpo y cola; el cuerpo es la fracción de mayor calidad.

El almacenamiento o encubado es el tiempo cuando el destilado se deja en reposo hasta obtener las características organolépticas deseadas del pisco, indicadas por la Norma técnica peruana (NPT 2001) [22].

En la composición química de los piscos peruanos se encuentran aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos, alcoholes superiores, terpenos, entre otros, que le confieren características aromáticas definidas como *flavour* en cada variedad de pisco [21, 23].

En un estudio realizado por Díeguez *et al.* (2003), sobre la composición química volátil del aroma en aguardiente de uvas, mediante SPME, se encontraron terpenos: α -pineno, β -pineno, limoneno, linalol, α -terpineol, citronelol, nerol, geraniol, eugenol y norisoprenoides C₁₃: α -ionona, β -ionona. Los extractos se analizaron por GC-MS en una columna polar [24].

1.2.1 Proceso de fermentación

En la fermentación del mosto sucede la hidrólisis enzimática de los compuestos volátiles, enlazados con azúcares y aminoácidos, por acción de una colonia de levaduras llamadas pruina (ca. 80-90 % *Saccharomyces ellipsoideus* y *S. apiculatus*) presentes en la corteza de las uvas (**Tabla 3**) [20].

Tabla 3. Levaduras presentes en la pruina [25].

Levaduras en la pruina	Cantidad de etanol producido, %v/v
* <i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	17
<i>S. oviformis</i>	17
<i>S. acidifaciens</i>	10
<i>S. rosei</i>	8-14
* <i>S. apiculatus</i>	4-5

*80-90% en la totalidad de la pruina.

Durante el proceso de fermentación anaeróbica se produce gran cantidad de ésteres, que imparten las características frutales al mosto fermentado [26], pero también se forman ácidos orgánicos indeseados, de 2 a 6 átomos de carbono, como los ácidos láctico, acético y butírico, responsables del olor a rancio emitido

durante el tiempo de almacenamiento, los cuales generan pérdidas de la materia prima y disminución de la calidad del producto final [27].

La fermentación se detiene por acción del dióxido de azufre (SO₂), el cual se produce naturalmente por levaduras en el proceso de fermentación. El SO₂, inhibe el funcionamiento de las enzimas presentes en las levaduras y, de esta manera, el proceso de fermentación se detiene [28]. En el pisco puro la fermentación se detiene naturalmente, mientras que el mosto verde se detiene intencionalmente.

1.2.2 Proceso de destilación

La destilación del mosto fermentado puede ser directa o por lotes y dura ca.140 minutos. El destilado se separa en tres fracciones, cabeza, cuerpo y cola, de las cuales solo se selecciona la fracción del cuerpo, por su alto contenido en sustancias aromáticas, etanol y bajo contenido de sustancias tóxicas como el furfural [21, 23, 29, 30].

En otras palabras, la composición química volátil del pisco varía durante la destilación, de acuerdo con la temperatura de ebullición y la solubilidad de los aldehídos, ésteres, alcoholes y ácidos, en el etanol y en el agua (Véase **Tabla 4**) [23].

En la **Tabla 4** se observa que los aldehídos solubles en etanol y con punto de ebullición menor que 100 °C, destilan principalmente en la “cabeza”; los ésteres, que son completa o parcialmente solubles en etanol, con punto de ebullición mayor de 100 °C, destilan en la “cabeza”; los alcoholes, que son solubles en etanol y completamente o parcialmente solubles en agua, destilan principalmente en la “cabeza” y en el “cuerpo”; los ácidos, con punto de ebullición iguales a 100 °C, solubles en agua, destilan principalmente en el “cuerpo”; mientras que el furfural destila principalmente en la “cola” (al final) [2-4, 23, 25-32].

Tabla 4. Evolución de la composición química volátil durante la destilación del mosto de uva [23].

P.eb, ° C	Solubilidad		Fracción			Compuestos
	Etanol	Agua	Cabeza	Cuerpo	Cola	
< 100	S		X			Aldehídos
> 100	SC, SP		X			Ésteres
< 100	S	SC, SP	X	X		Alcoholes
= 100		S		X		Ácidos
> 100		SM			X	Furfural

S-soluble
 SC-completamente soluble
 SP-parcialmente soluble
 SM-medianamente soluble

Las destilaciones se realizan en alambiques (**Figura 2**) de metales como cobre o acero, que varían de volumen según la capacidad del material a destilar. Los vapores destilados pasan por el cuello de cisne hasta el refrigerante y terminan en contenedores de acero.

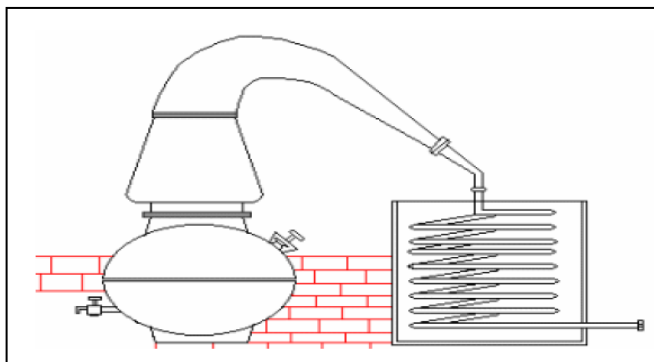


Figura 2. Esquema de un alambique utilizado para la destilación de mosto [22].

1.2.3 Distribución del pisco peruano

La producción de pisco ha incrementado significativamente desde los últimos años hasta el 2009 (**Figura 3**), debido a las características organolépticas otorgadas por la materia prima. El pisco se ha convertido en una bebida muy apetecida, en especial, por países como Estados Unidos, Chile, Argentina y Colombia (**Figura 4**) [33].

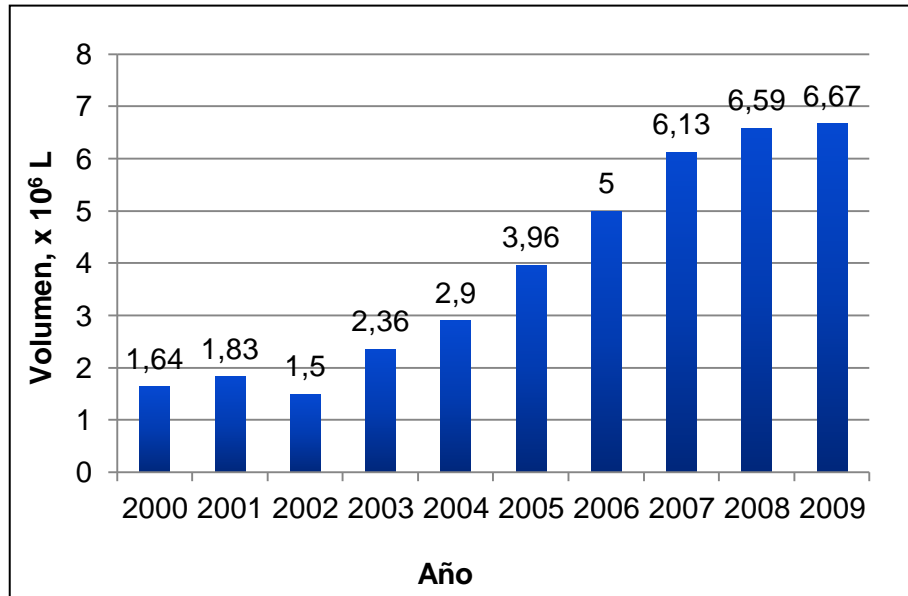


Figura 3. Producción de pisco en Perú, en función del tiempo. Elaboración propia, fuente: CONAPISCO [33].

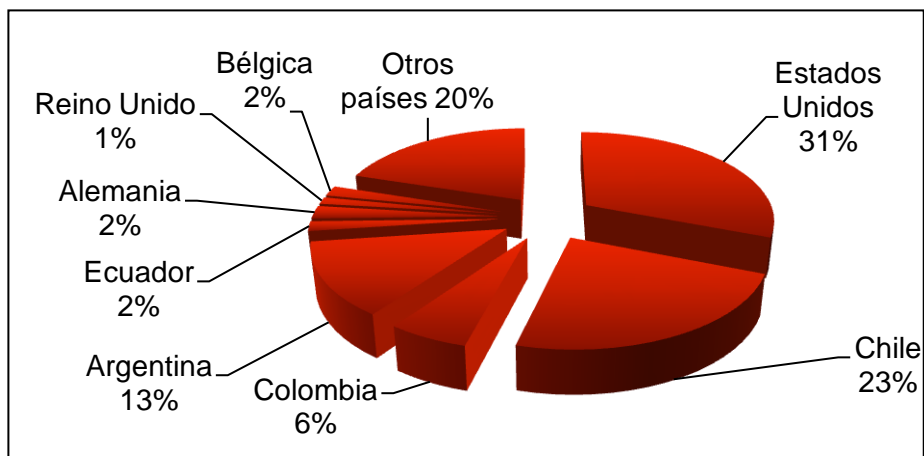


Figura 4. Principales importadores de pisco. Elaboración propia, fuente: CONAPISCO [33].

1.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS VOLÁTILES EN MATRICES LÍQUIDAS

Existen diversas técnicas que permiten la extracción de compuestos químicos volátiles en matrices líquidas. A continuación se presentan algunas de estas.

1.3.1 Microextracción en fase sólida

En años recientes se ha buscado una técnica de preparación de muestras, que minimice la cantidad de solventes. Una de las más promisorias es la microextracción en fase sólida (SPME), la cual presenta varias aplicaciones, con alta sensibilidad y precisión.

La técnica de microextracción en fase sólida (SPME) se desarrolló por Pawliszyn, J. y Arthur, C. en 1990. En su primer trabajo, evaluó contaminantes de tipo BTEX en agua, la SPME se utilizó en modo de inmersión directa y se planteó como una técnica alternativa de la extracción líquido-líquido [34-37].

La SPME permite la extracción de compuestos volátiles en alimentos, fármacos, cosméticos, biomarcadores, pruebas medioambientales, monómeros volátiles en plásticos y continúa ampliando sus horizontes en numerosas aplicaciones [38], por medio de un posterior análisis cromatográfico empleando equipos de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*, por sus siglas en inglés) o GC [7, 19]

Un análisis realizado por Rocha *et al.* (2001) sobre el efecto de la matriz en el aislamiento de los compuestos volátiles del aroma del vino a través de HS-SPME-GC-MS, registró en la composición monoterpenos, alcoholes alifáticos y aromáticos y ésteres [39].

1.3.1.1 Dispositivos

El dispositivo para realizar SPME está disponible comercialmente y se conoce como *holder* (Véase **Figura 5**). El *holder* está diseñado como una cámara que resguarda la fibra de SPME y cumple la función de jeringa, retrayendo y contrayendo la fibra de un tubo cilíndrico.

Las fibras de SPME están hechas sobre un soporte de sílice fundida, el cual se recubre con un material polimérico absorbente o adsorbente. Este polímero opera

como fase estacionaria, en donde, los analitos se extraen y se concentran para su posterior desorción o elución en el puerto de inyección de un cromatógrafo [7, 40, 41].

La selección de la fibra depende de la tarea analítica en cuestión, *i.e.*, depende de las características fisicoquímicas de los analitos: afinidad del analito por la fibra, peso molecular, punto de ebullición, presión de vapor, polaridad, grupos funcionales, rango de concentración y detector a utilizar en el análisis [6, 7, 42-47].

El siguiente paso es considerar las características de las fibras como el espesor del recubrimiento, polaridad, porosidad y la estabilidad del recubrimiento bajo el efecto de solventes o altas temperaturas.

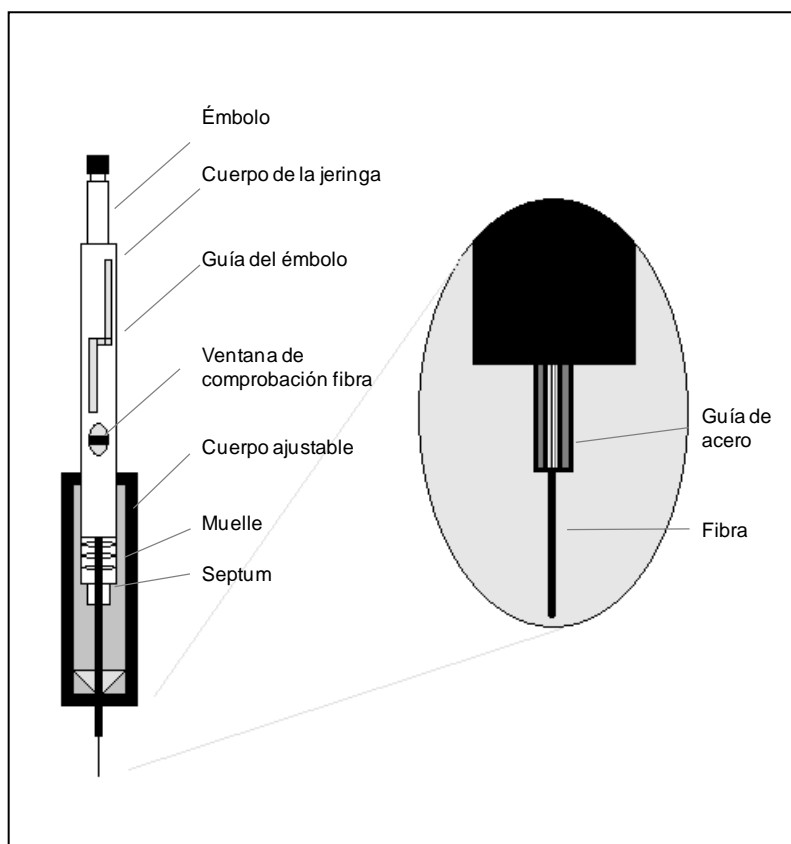


Figura 5. Dispositivo para SPME. Elaboración propia.

En la **Tabla 5** se presentan algunos recubrimientos y espesores de fibras para SPME, con sus respectivos códigos de identificación.

Tabla 5. Nomenclatura de las fibras para SPME [43].

Descripción	Código de identificación
Poli(dimetilsiloxano)* 100 µm	PDMS
Poli(dimetilsiloxano)/divinilbenceno* 65 µm	PDMS/DVB
poli(acrilato)* 85 µm	PA
Carboxen/poli(dimetilsiloxano)* 75 µm	CAR/PDMS
Carbowax/divinilbenceno* 65 µm	CW/DVB
Divinilbenceno/carbonxen/poli(dimetilsiloxano)** 50/30 µm	3F

* Longitud: 1 cm. ** Longitud: 2 cm.

1.3.1.2 Condiciones de extracción

Existen varios parámetros por medio de los cuales la extracción de los analitos puede mejorarse, a saber: agitación de la muestra, adición de cloruro de sodio u otra sal, cambio de pH, aumento de la temperatura y diferentes tiempos de extracción [7, 21].

1.3.2 Extracción en *Headspace Sampler*

El muestreo en el espacio de cabeza es una técnica de extracción, en la cual se analizan los compuestos químicos más volátiles de una muestra problema y son guiados a ingresar en un cromatógrafo de gases.

Con esta técnica, el muestreo se realiza de forma automática, pero la preparación de la muestra debe enriquecer los compuestos químicos volátiles en el espacio de cabeza del vial que contiene la muestra.

El muestreo en *headspace* estático, normalmente se usa para el monitoreo de compuestos volátiles en alimentos, ya sean sólidos o líquidos. La muestra se introduce en un vial, el cual se lleva a la cámara de *Headspace Sampler*, que

acondiciona la muestra, e.g., el incremento de la temperatura aumenta la distribución de las sustancias volátiles en la fase gaseosa [48].

Un volumen definido de gas de arrastre se inyecta en el vial, después el gas de arrastre, junto con los compuestos volátiles ingresan al *loop*, donde permanecen un tiempo de equilibrio y, por último, ingresan al GC (Véase **Figura 6**) [48].

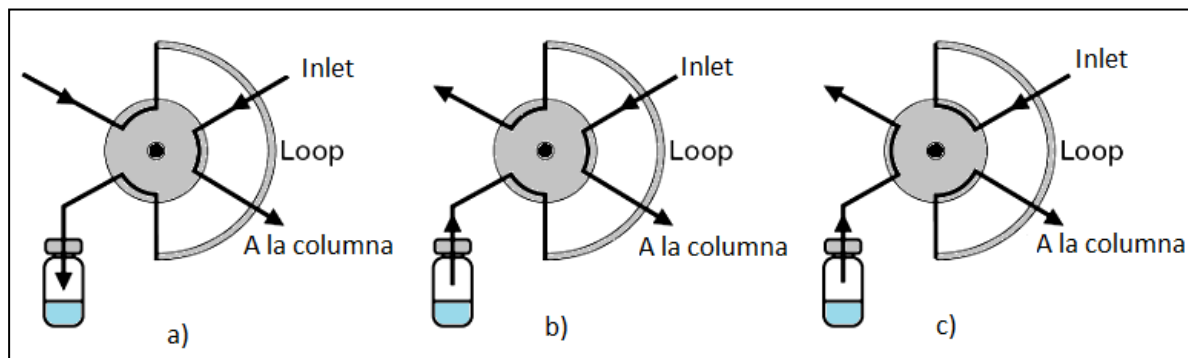


Figura 6. Etapas en la extracción con HS-estático a). Presurización de la muestra en el vial; b). Llenado del *loop*; c). Entrada de los componentes químicos volátiles del *loop* hacia la columna. Elaboración propia.

1.3.3 Extracción líquido-líquido

La extracción líquido-líquido se basa en la transferencia de materia de una fase A a una fase B, necesariamente inmisible en la anterior. Esta técnica requiere solventes de alta pureza para mejorar la extracción. Los solventes se deben seleccionar de acuerdo con las características fisicoquímicas del analito y la matriz a tratar [49, 50].

En un análisis realizado por Herraiz *et al.* (1990), sobre la fracción volátil y semivolátil de una muestra de pisco, proveniente de uvas Moscatel, obtenida mediante extracción líquido-líquido con triclorofluorometano (freón 11) y analizada por GC-MS, se identificaron trece ésteres, doce alcoholes, dieciséis terpenos, cinco ácidos y tres compuestos carbonílicos [4].

2. ANÁLISIS CIENCIOMÉTRICO

El análisis cientímetro se realizó usando la base de datos *Scopus* (*Elsevier*). Se utilizaron tres ecuaciones de búsqueda y los resultados suministrados por la base de datos se encuentran a continuación.

Se han encontrado diversos artículos, *abstracts*, patentes, entre otros, sobre el análisis de compuestos volátiles en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases (**Figura 7**), usando la técnica SPME (**Figura 9**); se observó un notorio aumento en el número de publicaciones divulgadas en los últimos años, ya que la industria de bebidas alcohólicas busca estandarizar cada licor. En general, el análisis es viable, ya que se sustenta con investigaciones previas de análisis cromatográfico usando la técnica SPME para aislar las sustancias presentes a nivel de trazas.

Ecuación de búsqueda N°1. RESEARCH FOR (*“analysis of alcoholic beverages by spme”*) IN ALL FIELDS.

Después de realizar el análisis cientímetro, se encontró que el periodo de mayor número de publicaciones fue del 2008 al 2011 (**Figura 7**), que dirigen especialmente hacia las áreas de química, ciencias agrícolas y biológicas, bioquímica, genética y biología molecular, ciencias medioambientales e ingeniería (**Figura 8**).

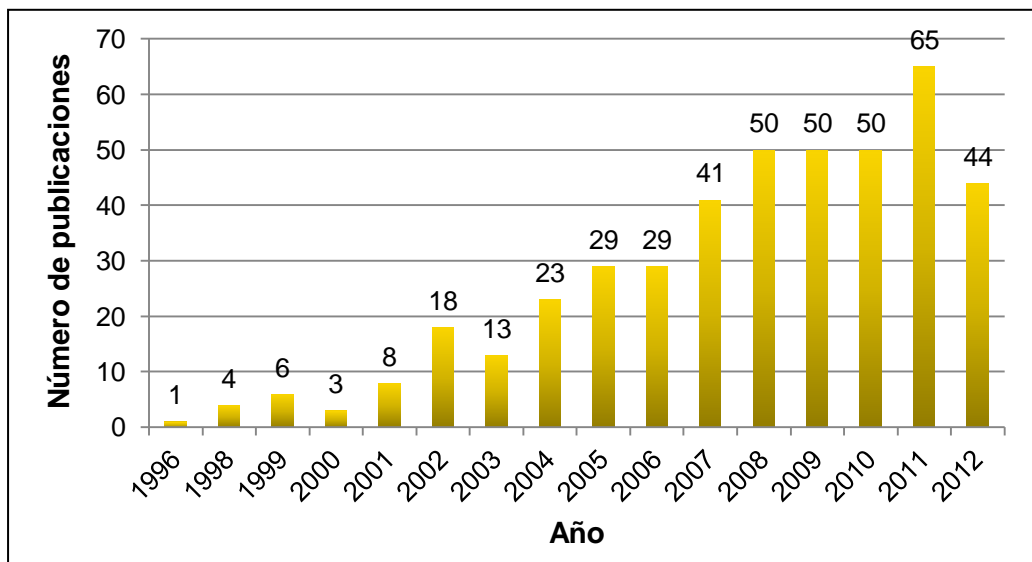


Figura 7. Número de publicaciones sobre análisis de bebidas alcohólicas por SPME en función del tiempo. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“analysis of alcoholic beverages by spme”). Número de publicaciones encontradas: 434.

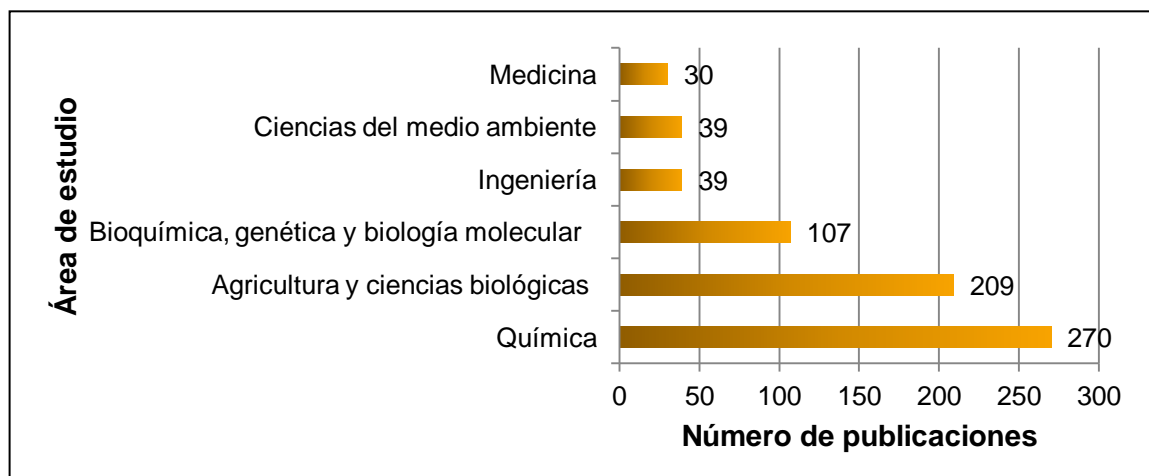


Figura 8. Áreas de estudio sobre análisis de bebidas alcohólicas por SPME en función número de publicaciones. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“analysis of alcoholic beverages by spme”). Número de publicaciones encontradas: 434.

Ecuación de búsqueda N°2. RESEARCH FOR (“spme gas chromatography”) IN ALL FIELDS.

Según los resultados obtenidos, el estudio cuantitativo sobre cromatografía de gases usando la SPME, en los últimos 10 años incluyen 7.625 publicaciones, con un incremento desde el 2001, debido a la importancia que tiene el análisis de componentes químicos volátiles (**Figura 9**). Se observó mayor número de publicaciones en las áreas de química, bioquímica, genética y biología molecular, ciencias agrícolas y biológicas, ciencias del medio ambiente y medicina (**Figura 10**).

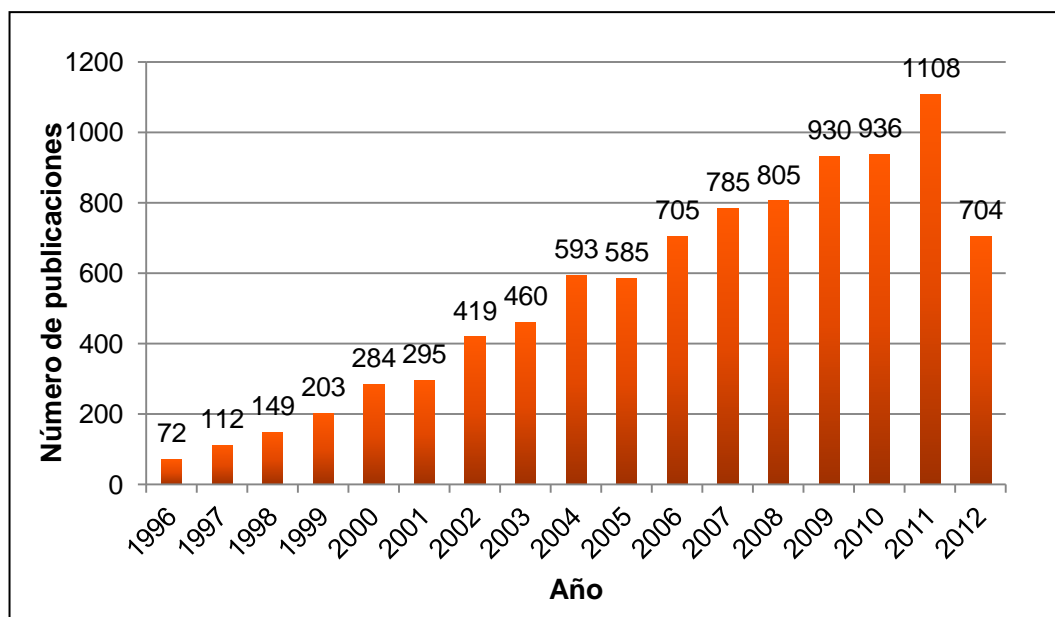


Figura 9. Número de publicaciones sobre SPME en cromatografía de gases en función del año de publicación. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“spme gas chromatography”). Número de publicaciones encontradas: 9.146.

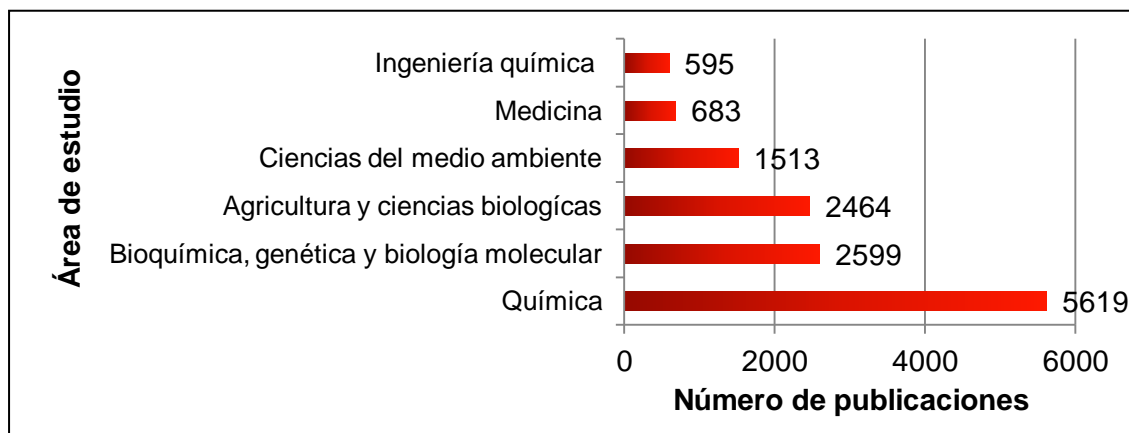


Figura 10. Áreas de estudio sobre cromatografía de gases con SPME en función del número de publicaciones. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“*spme gas chromatography*”). Número de publicaciones encontradas: 9.146.

Ecuación de búsqueda N°3. RESEARCH FOR (“*pisco beverage*”) IN ALL FIELDS.

Este análisis cuantitativo está dirigido especialmente hacia las áreas de estudio en las que se encontró registrado mayor número de publicaciones referentes al tema de pisco, donde el periodo de mayor número de publicaciones correspondió a 2005-2011 (**Figura 11**) y, en su mayoría, los artículos fueron enfocados en el área de agricultura y ciencias biológicas, precedida por química (**Figura 12**).

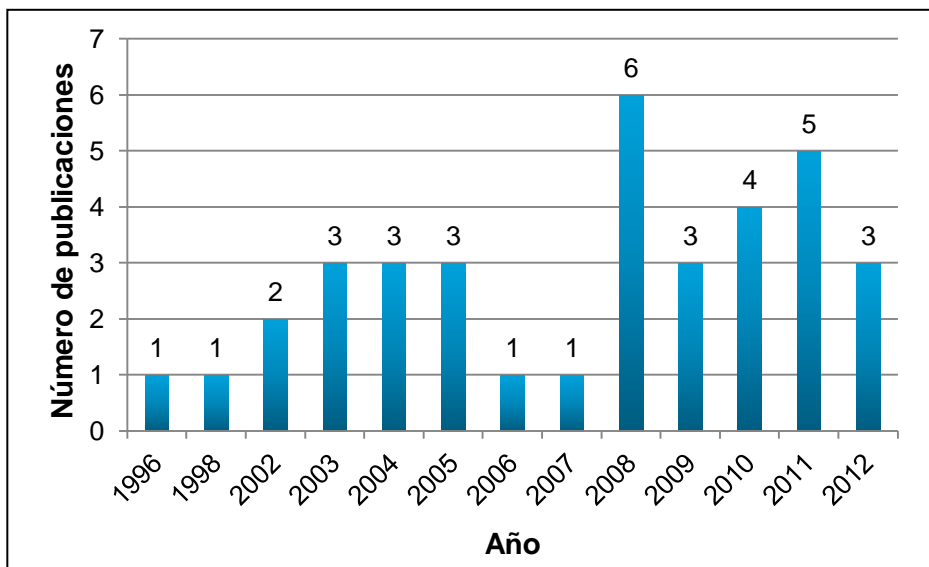


Figura 11. Número de publicaciones sobre bebidas de pisco, en función del tiempo. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“pisco beverage”). Número de publicaciones encontradas: 36.

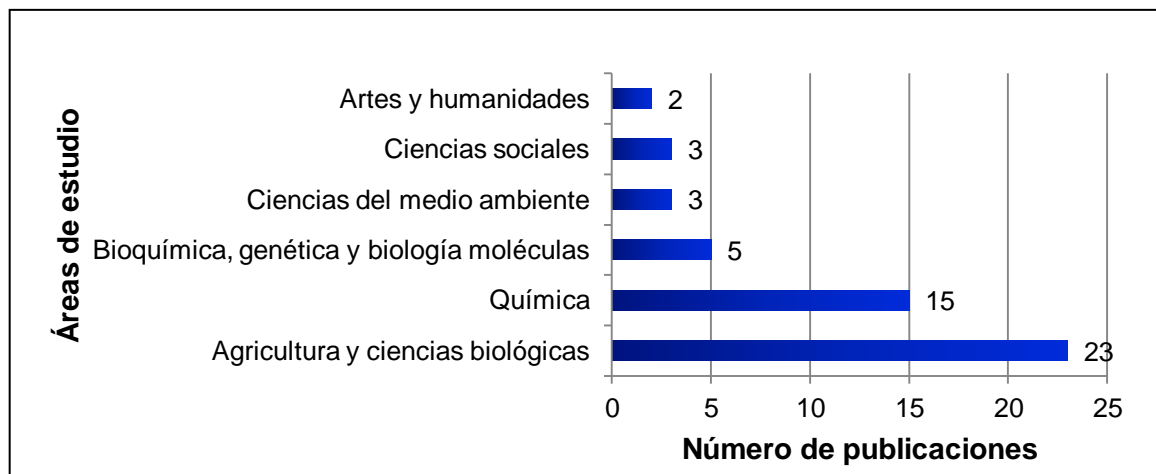


Figura 12. Áreas de estudio sobre bebidas de pisco, en función del número de publicaciones. Periodo de observación de 1996 al 2012. Fecha de consulta: 9 de agosto de 2012. Ecuación de búsqueda: SEARCH IN ALL (“pisco beverage”). Número de publicaciones encontradas: 36.

3. METODOLOGÍA

3.1 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS AUXILIARES

Para el desarrollo de esta investigación se necesitaron los siguientes materiales (Véanse **Tablas 6-8**):

Tabla 6. Materiales volumétricos utilizados.

Material	Volumen	Marca	Especificaciones
Bureta	2 mL	SILBER BRANDI	ISO 385; $\pm 0,045$ mL
	10 mL	BRAND	$0,1 \pm 0,075$ mL
Picnómetro	1 mL	BRAND	-
Micropipeta	20-200 μ L	BRAND	ISO 9001.14001
	100-1000 μ L		

Tabla 7. Equipos auxiliares utilizados.

Equipo	Marca	Modelo	Especificaciones	Referencia
Balanza	METTLER-TOLEDO	AL204	$1 \pm 0,0001$ g	-
Vórtex	IKA [®]	MS2 MINISHAKER	$0 \leq \text{rev/min} \leq 2500$	2952 HWR
Refractómetro	ATAGO [®]	NAR-1T <i>Liquid</i>	$^{\circ}$ Brix (%) $\pm 0,1$ % $0 \leq T \leq 50^{\circ}$ C	1210
<i>Crimper</i>	<i>Agilet Technologies</i>	-	Sellos de 20 mm	9301-0720
<i>Decapper</i>		-	20 mm	5181-1214

Tabla 8. Fibras de SPME utilizadas.

Fibra	Código	Código de color	Espesor, μm	Referencia*
Poli(acrilato)	PA	Blanca	85	57320-U
Poli(dimetilsiloxano)	PDMS	Roja	100	57324-U
Poli(dimetilsiloxano)/divinilbenceno	PDMS/DVB	Azul	65	57320-U
Carboxen/poli(dimetilsiloxano)	CAR/PDMS	Celeste	85	57334-U

* Supelco S.A.

Tabla 9. Sustancias químicas utilizadas.

Solvente	Marca	Pureza	Referencia	N° Lote
Etanol absoluto	J.T. Baker	99,9 %	9000	J03C60
<i>iso</i> -Butanol	MERCK	99 %	k35997284617	1.00984.1000
<i>n</i> -Propanol	FarmItalia Carlo Erba	100 %	603003.00.0	18308
Alcohol <i>iso</i> -amílico	J.T. Baker	99,9 %	979	142101
Pentano	J.T. Baker	99,9 %	7007-09	B19608
Diclorometano	J.T. Baker	99 %	9324-03	J400B05
Éter de petróleo	J.T. Baker	-	9265-03	J05J04
Ácido sulfúrico	J.T. Baker	95-97%	9681	J41C11

3.2 MUESTRAS DE PISCO

Las muestras fueron suministradas por la empresaria Berit Knudsen, propietaria del FUSION restaurante, ubicado en Choquehuanca 714-San Isidro, Lima. Las once (11) muestras de pisco peruano (Véase **Figura 13**) se obtuvieron en botellas de vidrio translúcido de 450 mL, selladas con corcho de caucho, etiquetadas con los valles de origen y uva pisquera usada como materia prima. Las muestras de pisco estudiadas se reportan en la **Tabla 10**.



Figura 13. Muestras de pisco peruano. Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio *J.J. Thomson*, CENIVAM, UIS. Fecha: Abril del 2012.

Tabla 10. Muestras de pisco peruano, objeto de estudio en este proyecto.

N°	Pisco	Tipo	Valle	Marca	Observaciones
1	Albilla	Puro	Chincha	Viñas oro	
2	Italia	Mosto verde	Chincha	Viñas oro	Se destila con un poco de azúcar, puesto que se interrumpe la destilación
3	Italia	Puro	Chincha	Viñas oro	
4	Mollar	Puro	Ica	Viejo tonel	
5	Moscatel	Puro	Chincha	Viñas oro	
6	Negra Criolla	Puro	Chincha	Viñas oro	No aromática
7	Quebranta	Puro	Chincha	Viñas oro	No aromática
8	Quebranta	Mosto verde	Chincha	Viñas oro	
9	Torontel	Mosto verde	Chincha	Viñas oro	Fermentación interrumpida con remanente de azúcar
10	Torontel	Puro	Chincha	Viñas oro	
11	Uvina	Puro	Mala	Gran cruz	

3.3 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La obtención de las fracciones volátil y semivolátil del pisco se realizó empleando tres técnicas: SPME, ELL y S-HS. Las fracciones se analizaron posteriormente por GC-FID y GC-MS.

3.3.1 Extracción de la fracción volátil del pisco peruano por microextracción en fase sólida

La fracción volátil del pisco peruano se aisló empleando HS-SPME. Las condiciones de extracción y concentración se realizaron mediante pruebas preliminares, a saber: selección de la fibra con mayor capacidad de absorción o adsorción, temperatura y tiempo de saturación de la fibra. De acuerdo con los resultados obtenidos, se planteó un diseño experimental para observar el comportamiento de las extracciones usando las condiciones seleccionadas.

La preparación de las muestras se realizó de la siguiente manera: En un vial ámbar (15 mL), que contenía un agitador magnético, se adicionó la muestra (1,6 mL). La muestra se acondicionó (10 min), usando una plancha de calentamiento con agitación (*Heidolph MR Hei-Standard*, **Sección 3.3.1.2**).

El tiempo de exposición de la fibra y la temperatura se establecieron con base en el diseño experimental; la fibra se expuso en el espacio de cabeza del vial y, posteriormente, se llevó al puerto de inyección del cromatógrafo, donde los compuestos químicos volátiles aislados se liberaron de la fibra por termodesorción.

Los ensayos se realizaron en un equipo *Hewlett-Packard 5890 Series II*, con un detector de ionización en llama (FID). Los parámetros cromatográficos se exponen en la **Sección 3.4.1**.

La obtención de los espectros de masas de los compuestos químicos presentes en la fracción volátil del pisco peruano, se realizó en un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890N Network* acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5975 Inert XL*. Los parámetros cromatográficos se mencionan en la **Sección 3.4.2.**

3.3.1.1 Selección de la fibra

La extracción de la fracción volátil de la muestra de pisco se llevó a cabo con cuatro fibras (Véase **Tabla 8**), de 1 cm de longitud. La fibra se seleccionó de acuerdo con el mayor área cromatográfica total obtenida. La evaluación de cada fibra se realizó por triplicado.

La condiciones de extracción y concentración de la fracción volátil de la muestra evaluada se establecieron según la literatura [51], la temperatura de equilibrio de la muestra se mantuvo constante, 40 °C, se trabajó con un tiempo de exposición de 15 min (Véase **Figura 14 a**) y un tiempo de desorción de 15 min (Véase **Figura 14 b**).

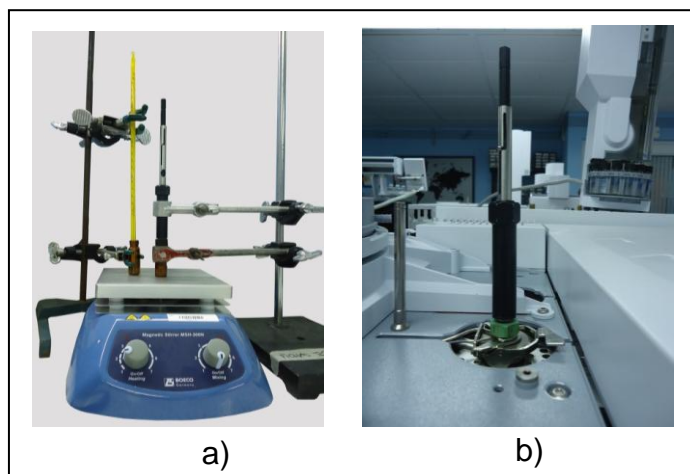


Figura 14. Etapas de la HS-SPME. a). Preparación de la muestra; b). Introducción de la muestra en el puerto de inyección. Fotografía tomada por: Carlos Bathuel Ramírez Pineda. Lugar: CENIVAM, UIS. Fecha: Mazo de 2012.

3.3.1.2 Diseño experimental, 2²

Para la determinación del rango de trabajo del diseño experimental se realizaron dos curvas de saturación de la fibra, con base en la temperatura y el tiempo de exposición, al igual que se hizo un estudio de concentración de la muestra, para determinar los intervalos lineales de respuesta (**Sección 4.1.2**).

El diseño experimental constó de dos niveles y dos variables (**Tabla 11**). Se realizaron experimentos fuera de los límites establecidos para el diseño, con el fin de observar el comportamiento de la repuesta y garantizar la robustez al modelo experimental (**Figura 15**).

Tabla 11. Niveles y variables del diseño experimental.

Variables	Niveles				
	- α	-1	0	1	α
Temperatura, °C	24	32	40	48	56
Tiempo de exposición de la fibra, min	5	9	13	17	21

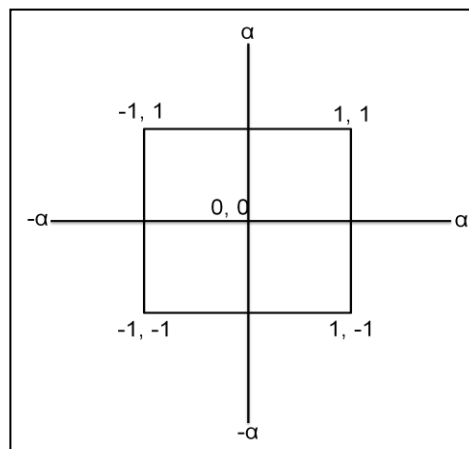


Figura 15. Representación gráfica del diseño experimental.

En total, se realizaron once experimentos, cuatro en los vértices, cuatro fuera de los límites y tres réplicas en el centro, para establecer el cálculo del error

experimental y verificar los parámetros de precisión y exactitud del diseño experimental.

La robustez de los resultados del diseño experimental, se estableció mediante la realización de los experimentos en orden aleatorio (Véase **Tabla 12**).

Tabla 12. Ensayos del diseño experimental.

Experimento	Temperatura, °C	Tiempo, min
1	α	α
2	$-\alpha$	$-\alpha$
3	0	0
4	α	$-\alpha$
5	-1	1
6	$-\alpha$	α
7	0	0
8	1	-1
9	0	0
10	-1	-1
11	1	1

3.3.1.3 Cuantificación

De acuerdo con los fragmentogramas de masas obtenidos y la identificación tentativa de los ensayos previos, se optó por cuantificar los cuatro (4) compuestos mayoritarios en las fracciones volátiles.

La curva de calibración se preparó con una solución *stock* de 50 mL, la cual contenía etanol absoluto, *iso*-butanol, alcohol *iso*-amílico y hexanol. Los puntos de la curva se realizaron de acuerdo con las soluciones de la **Tabla 13**, en un balón

aforado de 10 mL. El error del análisis se calculó con la medición por triplicado de cada punto de la curva.

Tabla 13. Soluciones utilizadas en la cuantificación por medio de la HS-SPME.

Solución	Concentración, ppm			
	Etanol	Alcohol <i>iso</i> -amílico	<i>iso</i> -Butanol	Hexanol
Solución <i>stock</i>	1245005	7006	802	198
Solución 1	30384	3	8,0	0,004
Solución 2	97230	35	24,1	0,008
Solución 3	249500	367	40,1	0,01
Solución 4	436625	560	80,2	0,5

La confiabilidad de los resultados obtenidos se determinó mediante el cálculo de la precisión y mediante el análisis de los blancos de fibra y del vial, antes de cada muestreo.

3.3.2 Extracción líquido-líquido de la fracción volátil del pisco peruano

El solvente, que se utilizará para la extracción con solvente se determinó por pruebas preliminares. Se evaluaron pentano, diclorometano y éter del petróleo. La selección se realizó con base en la volatilidad, accesibilidad y cantidad de compuestos extraídos de la matriz.

La extracción se realizó en tubos de ensayo. Se adicionaron 3 mL de muestra, 0,9 g de cloruro de sodio (30 % p/v) y 3 mL del solvente en porciones de 1 mL, se agitó en un vórtex durante 1 min, se extrajo la fase orgánica y se transfirió a otro tubo de ensayo.

La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró con un flujo de nitrógeno gaseoso, hasta un volumen de 0,5 mL, para el posterior análisis por GC-FID y GC-MS. Se prepararon los blancos respectivos y cada extracción se realizó por triplicado.

3.3.3 Extracción del etanol por la técnica de *headspace* estático del pisco

El muestreo se realizó en la cámara *Headspace Sampler* HP 7694E (**Figura 16**), acoplada a un cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard 5890 Series II*, con detector de ionización en llama (**Figura 17**). Los parámetros cromatográficos se reportan en la **Sección 3.4.1.**, y los parámetros de acondicionamiento de las muestras en la cámara de *headspace* estático se reportan en la **Tabla 14**.

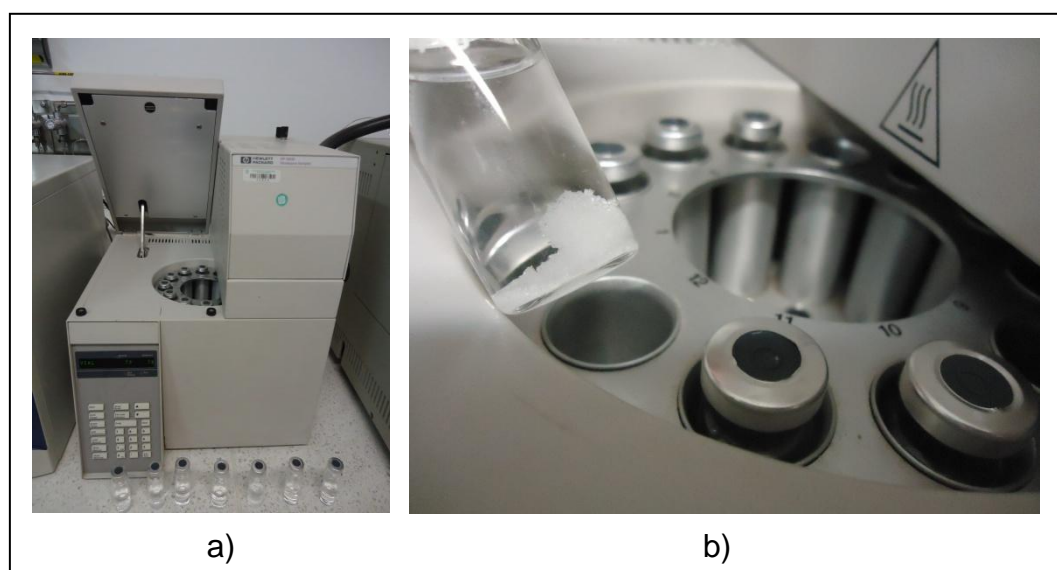


Figura 16. Equipo *Headspace Sampler* HP 7694E. a). Cámara de *Headspace Sampler*, muestreador de espacio de cabeza; b). Carrusel porta-muestras. Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio *J.J. Thomson*, CENIVAM, UIS. Fecha: Enero de 2012.

Tabla 14. Parámetros de acondicionamiento de la cámara de *headspace* estático.

Parámetro	Valor
Agitación lenta, min	10,0
Tiempo del ciclo en el GC, min	108
Tiempo de inyección, min	0,50
Tiempo de equilibrio en el <i>loop</i> , min	0,50
Tiempo de llenado en el <i>loop</i> , min	0,10
Tiempo de presurización, min	0,03
Tiempo de equilibrio en el vial, min	10,0
Zonas de temperatura, °C	70,0

3.3.3.1 Preparación de la muestra

Las muestras se prepararon en viales de vidrio de 20 mL, se adicionaron 10 mL de muestra por cada ensayo, 2 g de cloruro de sodio y 51 µL de ácido sulfúrico 0,5 M.

Los viales se sellaron herméticamente con un *crimper* manual. Los viales sellados se depositaron en el carrusel de la cámara del muestreador de espacio de cabeza *Headspace Sampler* (**Figura 16**). Las muestras se ubicaron consecutivamente, siempre iniciando con un vial dispuesto de 10 mL de agua tipo 1, con el fin de limpiar el *loop* y la línea de transferencia, antes y después de cada muestreo.

3.3.3.2 Cuantificación del etanol

Se prepararon cinco (5) disoluciones del patrón de etanol de 35, 40, 45, 50 y 55 % v/v, teniendo en cuenta la Norma técnica peruana de 2001 (NTP 2001) [22], la cual establece que la concentración permitida de etanol en el pisco es de 45 % (v/v).

La cuantificación se realizó en un equipo GC-FID (**Figura 17**). El análisis cromatográfico se realizó con base en los parámetros registrados en la **Sección 3.4.1**.

Los límites de detección (LOD, *Limit of Detection*, por sus siglas en inglés) y de cuantificación (LOQ, *Limit of Quantification*, por sus siglas en inglés) se determinaron según las ecuaciones de calibración, los valores de las áreas cromatográficas se obtuvieron con base en las **Ecuaciones 1 y 2**, respectivamente.

$$\text{Área}_{\text{LOD}} = y_B + 3S_B \quad \text{Ecuación 1.}$$

$$\text{Área}_{\text{LOQ}} = y_B + 10S_B \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde:

y_B -es el punto de corte determinado por la ecuación de calibración.

S_B -es la desviación estándar calculada para la curva de calibración.

3.4 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Los componentes volátiles de las muestras se registraron mediante un detector de ionización en llama (**Sección 3.4.1.**) y un detector selectivo de masas cuadrupolar (**Sección 3.4.2.**), analizados en una columna polar.

3.4.1 Cromatografía de gases con detector de ionización en llama

El análisis se realizó en un GC *Hewlett-Packard 5890 Series II*, con detector de ionización en llama (FID) (**Figura 17**), equipado con un puerto de inyección *split/splitless* manual (250°C, relación *split* 1:18).



Figura 17. Cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard 5890 Series II*, con detector de ionización en llama. Fotografía tomada por: Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio *J.J. Thomson*, CENIVM, UIS. Fecha: Febrero de 2012.

La separación cromatográfica se efectuó en una columna polar DB-WAX (J & W Scientific, Folson, CA, EE.UU), de 60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m. Se utilizó helio como gas de arrastre, con presión constante en la entrada de la columna de 30 psi y programación de temperatura en el horno de 45° C (3 min) @ 3° C/min, 150° C (5 min) @ 3° C/min, 220° C (30 min). La separación de las sustancias en la columna y su detección por el FID se realizaron con los flujos de gases reportados en la **Tabla 15**.

Tabla 15. Parámetros cromatográficos del GC-FID.

Parámetros	Flujos*, mL/min	RSD, %
Flujo total	21,9 \pm 0,4	1,8
Flujo el válvula <i>split</i>	18,0 \pm 0,4	2,2
Helio	1,29 \pm 0,02	1,8
Hidrógeno	29,5 \pm 0,3	0,9
Aire	308 \pm 4	1,2

*Promedio \pm desviación estándar (n=3). RSD-Desviación estándar media, %.

3.4.2 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

La identificación de los componentes químicos volátiles, se llevó a cabo en un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890N Network Series GC* acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5975 Inert XL* (**Figura 18**), equipado con un puerto de inyección *split/splitless* (250 °C, relación *split* 1:30).

Los espectros de masas y corrientes iónicas totales reconstruidas (TIC, *Total Ion Current*, por sus siglas en inglés), se obtuvieron mediante impacto de electrones con energía de 70 eV. Las temperaturas en la cámara de ionización, en la línea de transferencia y en el cuadrupolo se mantuvieron a 230, 280 y 150° C, respectivamente. Las corrientes iónicas totales y los espectros de masas se obtuvieron con un analizador cuadrupolar, por medio de barrido automático de frecuencia (*full scan*), a 4,75 *scan s*⁻¹, en el rango de *m/z* 40-350. Los datos cromatográficos y espectrométricos se obtuvieron y se procesaron con el sistema de datos *Chemstation* (G1701DA MSD).



Figura 18. Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890N Network Series GC* acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5975 Inert XL*. Fotografía tomada por Yaride Pérez Pacheco. Lugar: Laboratorio de instrumentación analítica, CENIVAM, UIS. Fecha: Marzo de 2012.

La separación cromatográfica se realizó en una columna DB-WAX (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU), de 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm, se utilizó helio como gas de arrastre, con flujo constante en la columna de 1 mL s⁻¹ y programación de temperatura en el horno de 45° C (3 min) @ 3° C/min hasta 150° C (5 min) @ 3° C/min, hasta 220° C (30 min).

3.4.3 Identificación

En la identificación de los compuestos químicos volátiles se utilizaron los criterios cromatográfico y espectrométrico, a saber: El tiempo de retención, el índice de retención y los fragmentogramas de masas.

Parámetros cromatográficos. Los índices de retención lineal, I_R, se calcularon de acuerdo con la **Ecuación 3**, los cuales se obtuvieron por la comparación de los t_R de una serie homóloga de hidrocarburos lineales desde C₈ hasta C₂₅, analizados por GC-MS, bajo las mismas condiciones operacionales.

$$I_R = 100 * n + 100 \left[\frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \right] \quad \text{Ecuación 3.}$$

Donde:

n-es el número de átomos de carbono del hidrocarburo que eluyó antes del compuesto de interés en la muestra.

t_{Rx}-es el tiempo de retención del compuesto de interés.

t_{Rn}-es el tiempo de retención del hidrocarburo que eluyó antes del compuesto de interés.

t_{RN}-es el tiempo de retención del hidrocarburo que eluyó después del compuesto de interés.

Parámetros espectrométricos. Los espectros de masas obtenidos para cada uno de los compuestos presentes en las muestras de pisco se compararon con los de las bases de datos Adams, Willey y NIST, para realizar la identificación presuntiva por coincidencia.

3.5 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Esta sección se enfocó en comprobar la calidad de las muestras de pisco adquiridas con base en sus propiedades físico-químicas, a saber: El índice de acidez, el índice de refracción y la densidad de cada pisco.

3.5.1 Determinación de la acidez total

Esta prueba se realizó con base en la norma ISO 1242. Se preparó una solución de hidróxido de potasio 0,1 N, la cual se estandarizó con 15 mg biftalato de potasio.

Se pesaron 2 g de pisco, se adicionaron 85 µL de una solución de fenolftaleína 1 N, la solución se mantuvo constante.

La solución de hidróxido de potasio se adicionó con una bureta de 2 mL con especificaciones predispuestas. La solución se mantuvo en agitación constante. La determinación se realizó por triplicado.

La cantidad de moléculas ácidas contenidas en la matriz de pisco se calculó mediante la **Ecuación 4**:

$$AV = \frac{V_{\text{KOH}}}{g_{\text{pisco}}} \times \text{Con}_{\text{KOH}} \times 56,11$$

Ecuación 4.

Donde:

V_{KOH} -es el volumen en mL de la cantidad de solución de hidróxido de potasio utilizada en la medición.

g_{pisco} -es la cantidad de muestra en gramos.

Con_{KOH} -es la concentración molar de la solución de hidróxido de potasio estandarizada.

3.5.2 Determinación de sacarosa disuelta

La medición del índice de refracción se realizó según la norma ISO 280. Se adicionaron 50 μL de muestra sobre la lente de un refractómetro ATAGO NAR-1T *Liquid*; la lente del refractómetro se limpió con etanol absoluto entre cada medición.

3.5.3 Determinación de la densidad

La densidad se determinó con un picnómetro de 1 mL, el cual se pesó previamente en una balanza analítica. Se adicionó 1 mL de cada pisco. Los ensayos se hicieron por triplicado.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 FRACCIÓN VOLÁTIL DEL PISCO AISLADA POR LA MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

4.1.1 Selección de la fibra

La fibra se seleccionó con base en la capacidad de extracción de los compuestos volátiles presentes en la muestra, reflejada por el área cromatográfica total obtenida. Se evaluaron cuatro fibras de diferente polaridad, a saber: PDMS, PDMS/DVB, CAR/PDMS y PA, bajo las mismas condiciones de extracción (tiempo de equilibrio-10 min, tiempo de exposición-15 min, temperatura de 40°C y tiempo de desorción de 15 min) [51]. Para esta determinación se utilizó el pisco de uva Torontel de tipo mosto verde (9), los resultados obtenidos para estas pruebas se encuentran en la **Figura 19**.

El pisco presentó gran una cantidad de compuestos medianamente polares como ésteres y algunos terpenos; adicionalmente, se aislaron compuestos polares como hidrocarburos insaturados oxigenados, algunos alcoholes primarios y aromáticos. La fibra de CAR/PDMS aisló la mayor cantidad de compuestos, con un área cromatográfica total de ca. 6×10^9 cuentas; esto debido a que el polímero de CAR/PDMS es polar, *i.e.*, permite la adsorción de compuestos medianamente polares junto con compuestos polares.

En la **Figura 19** se muestra la respuesta como el área cromatográfica total, obtenida con las fibras utilizadas. Se observó, que las fibras más polares presentaron mayor respuesta, *i.e.*, las fibras de CAR/PDMS y PA. Esto debido a la composición de los piscos, rica en componentes oxigenados y polares.

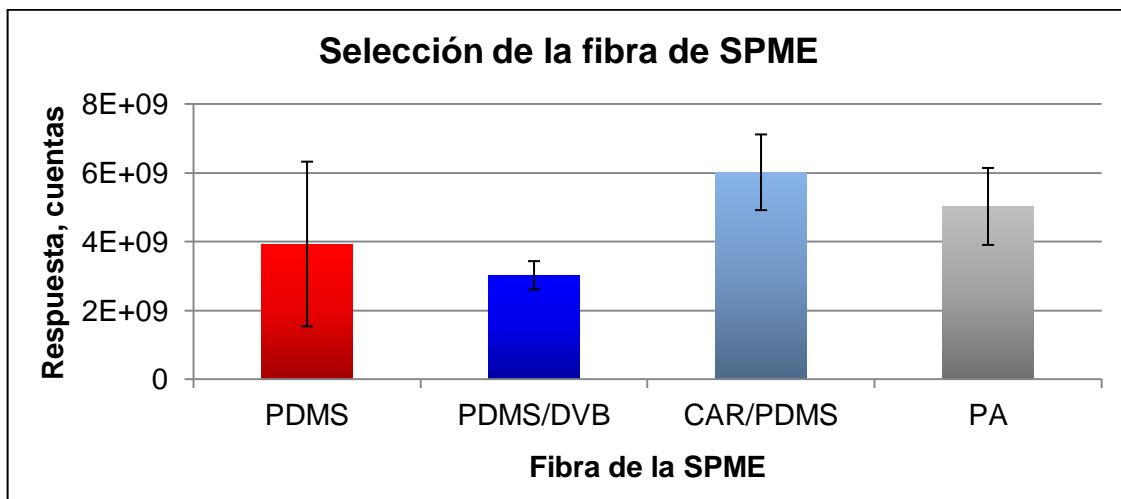


Figura 19. Selección de la fibra, respuesta generada por el GC-MS (n=3).

4.1.2 Efecto de la temperatura, tiempo de exposición y concentración del etanol en la fibra

Los rangos lineales de temperatura, tiempo de exposición y concentración de etanol, se determinaron para hallar sus límites en el diseño experimental (Véase **Sección 4.1.3.**).

La concentración del etanol en las muestras de pisco es de 45 %v/v aproximadamente, por lo tanto, la posibilidad de saturación de la fibra por acción del etanol es viable. Se prepararon disoluciones con concentraciones entre 7 y 65 %v/v de etanol, para observar el comportamiento de la fibra de CAR/PDMS, a medida que la concentración del etanol se aumenta. Se emplearon como variables de extracción un tiempo de exposición de 15 min y una temperatura de trabajo de 40 °C (Véase **Figura 20**) [51].

De los resultados expuestos en la **Figura 20**, se observó que el rango lineal se encuentra desde 7 hasta 35 %v/v de etanol en la muestra. Una concentración superior del 35 %v/v de etanol en la muestra condujo a la disminución de la repuesta, *i.e.*, del área cromatográfica.

El cambio del área cromatográfica se promovió por el equilibrio dinámico entre los analitos de la fase vapor y la fibra adsorbente de CAR/PDMS, *i.e.*, la fibra encontró el límite de saturación. Sin embargo, a partir de 35 %(v/v), tal como indica la **Figura 20**, la fibra se saturó y liberó posteriormente analitos para pasar a un nuevo régimen de saturación.

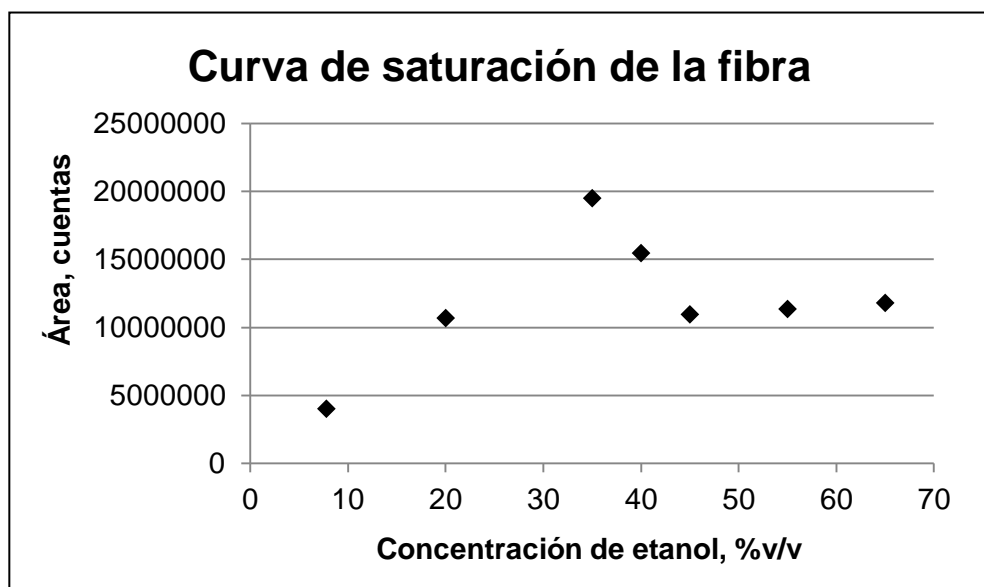


Figura 20. Curva de saturación de la fibra CAR/PDMS con base en la concentración de etanol.

El efecto de la temperatura en la fibra de CAR/PDMS, se determinó con base acetato de etilo, identificado en las once muestras de pisco, con el tiempo de retención corto ($t_R=6,12\pm 0,01$ min) y polaridad similar a muchos compuestos químicos del pisco en general. Los tiempos de equilibrio, extracción y desorción se mantuvieron constantes en 10, 15 y 15 min, respectivamente [51]. El rango dinámico lineal, sin saturar la fibra, se encontró entre los 24 y 50 °C (Véase **Figura 21**).

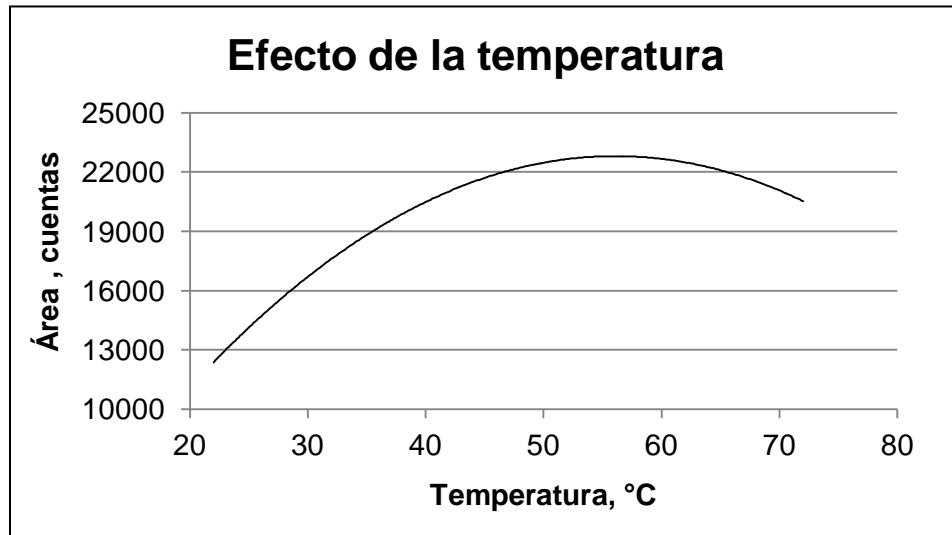


Figura 21. Efecto de la temperatura sobre la saturación de la fibra de CAR/PDMS.

El efecto del tiempo de exposición en la fibra de CAR/PDMS se determinó con base en el acetato de etilo. La temperatura de trabajo se mantuvo constante, 52° C. Los tiempos de equilibrio y de desorción se mantuvieron constantes, 10 min y 15 min, respectivamente. El intervalo lineal de tiempo, sin saturar la fibra, se encontró desde 10 y 20 min (Véase **Figura 22**).

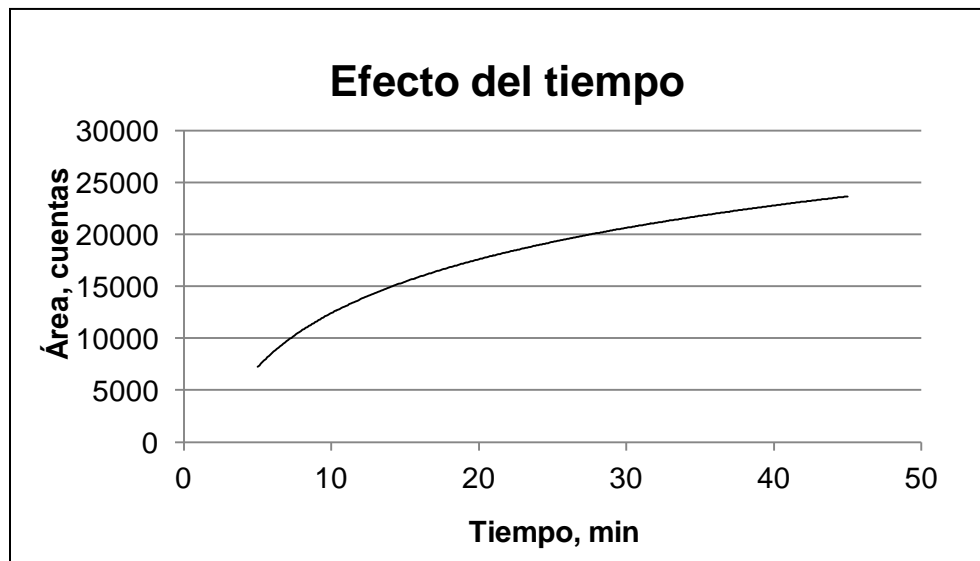


Figura 22. Efecto del tiempo de exposición sobre la saturación de la fibra de CAR/PDMS.

Con base en las tres curvas de saturación expuestas anteriormente, se contempló la posibilidad de un diseño experimental de dos niveles con dos variables, dado que, el tiempo de equilibrio y el tiempo de desorción se establecieron en 10 y 30 min, respectivamente. De esta manera, se redujo el número de observaciones necesarias para establecer una ecuación que represente los resultados determinados por la SPME.

4.1.3 Condiciones del diseño experimental, 2²

En la **Sección 4.1.2** se encontraron los rangos de temperatura, tiempo de exposición de la fibra y concentración de etanol máximos, antes de llegar a la saturación de la fibra.

Como se mencionó anteriormente se optó por un diseño experimental compuesto de 2² (Véase **Tabla 12**), para la extracción por la técnica HS-SPME de compuestos químicos volátiles de pisco. También, se realizaron experimentos fuera de los límites, con el objetivo de vislumbrar la robustez del diseño experimental. El error experimental se determinó con tres réplicas en el punto central (Véase **Tabla 16**).

Tabla 16. Resultados del diseño experimental.

Experimento	Temperatura, ° C	Tiempo, min	Área total, cuentas
1	56	21	10624700
2	24	5	575842
3	40	13	9668940
4	56	5	7092630
5	32	17	3267950
6	24	21	827049
7	40	13	10517800
8	48	9	10748800
9	40	13	10453000
10	32	9	1886510
11	48	17	11079800

Con las réplicas realizadas en el punto central del diseño experimental, se determinó el error de la medición, al igual que la desviación estándar relativa; estos valores se registraron en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Validación del diseño experimental.

Variable	Valor
Promedio*, cuentas	10213246
Desviación estándar	472495
Varianza	2,23x10 ¹¹
RSD, %	4,6

*n=3

El error experimental estuvo representado por una desviación estándar relativa menor de 10 %. Por lo tanto, se realizó el ANOVA de los resultados obtenidos y se encontró que la variable temperatura influyó más que el tiempo de extracción. Se propuso presentar en el modelo experimental la variable temperatura en un segundo orden.

Con el fin de encontrar un modelo que representara teóricamente los resultados obtenidos en el diseño experimental, se realizaron diferentes combinaciones entre las variables T, t y T*t. Como parámetro de comparación se empleó el coeficiente de determinación, R². Entre los datos experimentales del diseño y los calculados con el modelo.

Los valores de tiempo y temperatura se normalizaron con base en la **Ecuación 5**; de esta manera, se realizó fácilmente el cálculo del modelo experimental:

$$N = \frac{X - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}}$$

Ecuación 5.

Donde:

X-es el valor real de la variable a normalizar.

X_{\min} -es el valor mínimo del diseño de la variable a normalizar.

X_{\max} -es el valor máximo del diseño de la variable a normalizar.

Según la validación cruzada del modelo experimental, el modelo que presentó el mejor coeficiente de correlación, después de la validación fue:

$$r = 100990,11 + 27526385,22T + 28575628,59Tt - 19909883,02 T^2 \quad \text{Ecuación 6.}$$

Donde:

r-es la respuesta en área cromatográfica total.

T-es la variable de temperatura normalizada.

t-es la variable de tiempo de exposición normalizada.

Según la **Ecuación 6**, se determinaron los valores de T y t, en los cuales, el pisco “presentó” mayor respuesta en área cromatográfica total de los piscos registrados. La gráfica de superficie de respuesta del modelo experimental se presenta en la **Figura 23**, en donde las condiciones de temperatura y tiempo de extracción, que presentaron mayor respuesta, fueron 48° C y 21 min, respectivamente.

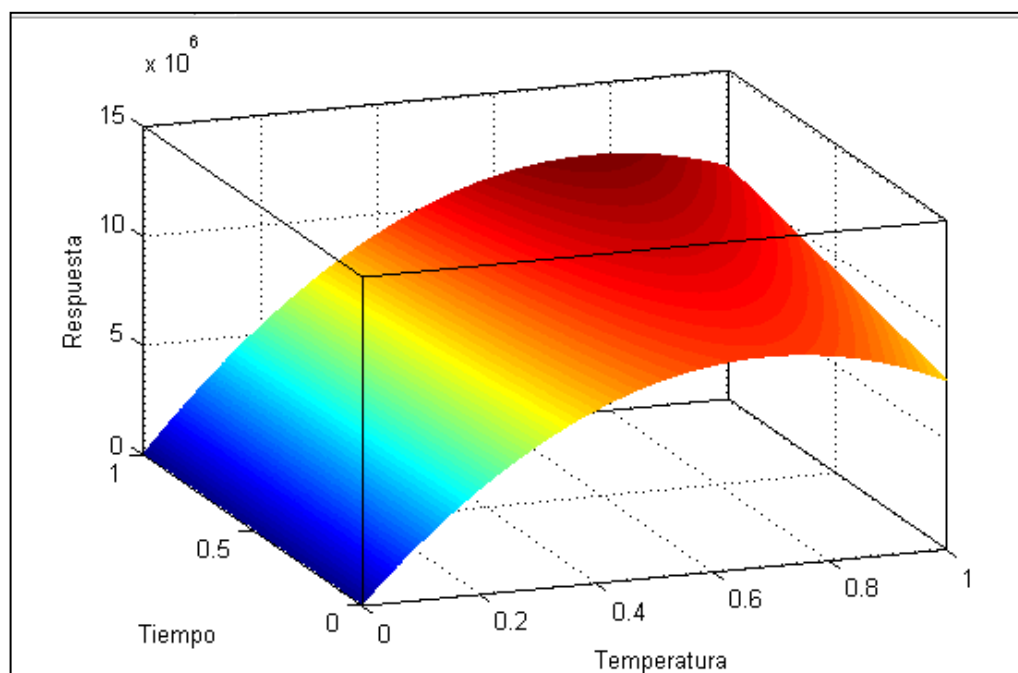


Figura 23. Superficie de respuesta del modelo experimental.

La validación del modelo experimental se realizó en el punto de mayor respuesta en el área cromatográfica total; los resultados se presentan en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Validación del modelo experimental.

Variable	Valor
Área total teórica, cuentas	11703191
Área total promedio experimental*, cuentas	11300000 ± 630000
RSD del valor experimental, %	5,5
Error de predicción, %	2,7

*Promedio ± desviación estándar (n=3).

4.1.4 Fracción volátil aislada por la microextracción en fase sólida

La preparación de la muestra se realizó de la siguiente manera: se adicionaron 1,6 mL de pisco diluido al 30 %v/v en un vial ámbar de 15 mL; la extracción se hizo con la fibra de CAR/PDMS (*StableFlex*, 85 µm), los tiempos de equilibrio, de

exposición y de desorción se establecieron en 10, 21 y 30 min, respectivamente; se empleó una temperatura de 48°C.

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases con detector de ionización en llama (Véase **Figura 17**) y en un cromatográfico de gases con detector selectivo de masas (Véase **Figura 18**). Las condiciones de análisis se encuentran en la **Sección 3.4.1** y en la **Sección 3.4.2**, respectivamente.

El error de las mediciones por HS-SPME se determinó realizando el análisis por GC-FID por triplicado. La composición química, aislada por HS-SPME, se determinó tentativamente usando las bases de datos Wiley, NIST y Adams.

El análisis de los componentes químicos volátiles, aislados por HS-SPME, se reporta en la **Tabla 19**. Los cromatogramas obtenidos por HS-SPME-GC-FID, se presentan en el **Anexo 1**.

En el análisis por GC-FID se encontraron 81 compuestos, de los cuales se identificaron 26 (99,1 %) con ayuda de los espectros de masas obtenidos y los índices de retención. Los espectros de masas no brindaron la información suficiente, para identificar la totalidad de las sustancias volátiles aisladas por HS-SPME.

Una clasificación de compuestos volátiles aislados mostró, que el área cromatográfica corresponde a compuestos alcohólicos mayoritariamente y compuestos terpénicos, en menor grado.

Tabla 19. Cantidad relativa (%) e identificación de compuestos volátiles aislados por HS-SPME de los piscos peruanos analizados.

N°	Compuesto	IR DB-WAX		Tipo	Parámetro	Pisco										
		Exp.	Lit.			1P	2P	3P	4P	5P	6P	7P	8P	9P	10P	11P
1	Acetato de etilo	-	907	E	CR, %	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,3	0,1
					RSD, %	7,2	22,8	9,1	16,3	7,8	13,8	9,6	21,2	9,6	8,3	10,5
2	1,1-Dietoxietano	-		O	CR, %	0,01	0,1	-	-	0,01	-	0,1	0,01	0,05	-	0,01
					RSD, %	18,4	20,6	-	-	27,4	-	5,1	16,7	3,0	-	5,4
3	N.I.	-	-	O	CR, %	0,02	0,1	0,07	0,1	0,02	0,02	0,02	0,03	0,1	0,05	0,1
					RSD, %	7,4	21,4	5,4	6,7	17,2	3,5	2,6	9,3	3,8	13,5	3,1
4	Etanol	-	929	A	CR, %	97,7	98,4	97,8	98,1	98,4	98,5	97,8	98,4	96,8	98,1	98,4
					RSD, %	4,1	14,0	6,4	15,7	8,8	4,8	2,1	5,7	6,1	13,7	2,4
5	N.I.	-	-	O	CR, %	0,01	0,004	0,01	0,01	0,01	0,01	0,003	-	0,04	0,01	0,002
					RSD, %	12,7	11,5	10,2	8,1	15,0	8,0	37,0	-	13,6	77,5	110,5
6	Propanol	-	1091	A	CR, %	0,1	0,1	0,09	0,1	0,04	0,05	0,1	0,2	0,1	0,1	0,04
					RSD, %	13,6	16,9	18,1	5,4	13,8	7,6	35,8	5,1	16,0	26,3	22,0
7	N.I.	-	-	O	CR, %	0,01	-	0,001	0,003	-	0,001	0,005	-	-	0,002	0,001
					RSD, %	14,1	-	23,9	16,2	-	15,8	131,0	-	-	12,3	92,3
8	N.I.	-	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,005	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	21,2	-	-
9	iso-Butanol	-	1099	A	CR, %	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2
					RSD, %	8,2	21,6	11,9	4,9	18,9	17,1	3,7	6,0	5,6	21,1	3,2
10	N.I.	1111	-	O	CR, %	-	0,002	0,003	-	-	-	-	-	0,01	0,001	-
					RSD, %	-	24,4	12,2	-	-	-	-	-	19,1	14,5	-
11	N.I.	1116	-	O	CR, %	-	0,001	0,002	-	-	-	-	-	0,004	0,001	-
					RSD, %	-	28,5	5,8	-	-	-	-	-	25,0	29,5	-

Tabla 19. Continuación.

12	N.I.	1123	-	O	CR, %	0,01	0,001	0,002	0,004	0,004	0,004	0,01	0,003	0,01	0,003	0,003
					RSD, %	13,5	16,7	4,6	21,2	10,2	6,4	6,1	16,2	15,1	14,5	10,6
13	N.I.	1132	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	14,1	-	-
14	<i>n</i> -Butanol	1162	1191	A	CR, %	-	0,001	0,001	-	-	-	-	-	0,001	0,001	-
					RSD, %	-	20,9	26,3	-	-	-	-	-	12,7	21,7	-
15	N.I.	1198	-	O	CR, %	0,001	0,002	0,002	0,001	0,002	0,001	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002
					RSD, %	4,7	25,5	13,8	9,4	18,8	9,4	47,2	15,9	12,5	11,2	17,6
16	N.I.	1201	-	O	CR, %	-	0,001	0,001	-	0,001	-	-	-	-	0,001	-
					RSD, %	-	7,7	14,4	-	18,4	-	-	-	-	22,2	-
17	Alcohol <i>iso</i> -amílico	1213	1217	A	CR, %	1,1	0,4	0,4	0,5	0,4	0,7	0,9	0,6	0,6	0,4	1,0
					RSD, %	15,8	25,7	20,3	12,5	4,8	23,0	4,2	14,4	9,2	28,0	5,1
18	Hexanoato de etilo	1235	1242	E	CR, %	0,01	0,01	0,01	0,004	0,01	0,02	0,01	0,04	0,004	0,01	0,004
					RSD, %	25,6	16,8	8,0	10,4	8,8	1,2	3,1	6,0	7,9	12,3	10,6
19	C ₁₀ H ₁₆ O	1245	-	T	CR, %	-	0,01	0,01	-	0,001	-	-	-	0,01	0,01	-
					RSD, %	-	17,8	8,5	-	15,9	-	-	-	3,8	7,4	-
20	N.I.	1252	-	O	CR, %	-	0,001	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	17,0	12,9	-	-	-	-	-	-	-	-
21	N.I.	1256	-	O	CR, %	-	-	-	0,001	-	-	-	-	0,001	-	-
					RSD, %	-	-	-	16,3	-	-	-	-	13,9	-	-
22	C ₁₀ H ₁₄	1270	-	T	CR, %	0,001	0,001	0,001	-	-	-	-	-	0,001	0,001	0,001
					RSD, %	15,0	21,7	2,5	-	-	-	-	-	11,7	22,8	30,3
23	N.I.	1274	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	0,001	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	9,0	-	-	-	-

Tabla 19. Continuación.

24	C ₁₀ H ₁₈ O	1279	-	T	CR, %	0,003	0,003	0,003	0,002	0,003	0,002	0,002	0,001	0,003	0,002	0,001
					RSD, %	14,8	15,8	10,7	24,2	14,6	12,6	72,0	19,4	17,2	88,4	32,4
25	N.I.	1287	-	O	CR, %	-	0,001	0,001	-	-	-	0,001	0,001	0,001	-	0,001
					RSD, %	-	11,5	13,2	-	-	-	19,6	21,3	23,0	-	9,8
26	N.I.	1323	-	O	CR, %	-	0,01	0,01	-	0,001	-	-	-	0,01	0,01	-
					RSD, %	-	16,7	10,8	-	4,0	-	-	-	6,4	4,6	-
27	C ₅ H ₁₀ O ₃	1327	-	T	CR, %	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	-	0,001
					RSD, %	23,7	15,8	20,3	17,5	17,2	10,1	82,0	6,8	3,3	-	9,6
28	N.I.	1332	-	O	CR, %	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	19,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	N.I.	1345	-	O	CR, %	0,01	0,001	0,004	0,003	0,002	0,005		0,002	0,004	0,01	0,005
					RSD, %	16,5	19,0	26,3	15,7	18,9	10,6		20,5	12,5	29,7	11,5
30	Hexanol	1358	1398	A	CR, %	0,004	0,00	0,003	0,005	0,002	0,003	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
					RSD, %	17,7	18,3	26,3	22,0	12,4	23,6	4,3	12,6	5,0	26,8	5,2
31	N.I.	1381	-	O	CR, %	-	0,001	-	-	-	-	-	-	0,002	0,003	-
					RSD, %	-	15,0	-	-	-	-	-	-	5,4	9,3	-
32	N.I.	1382	-	O	CR, %	-	0,002	0,003	-	-	-	-	-	0,003	-	-
					RSD, %	-	16,7	24,3	-	-	-	-	-	7,9	-	-
33	N.I.	1388	-	O	CR, %	0,001	0,001	0,001	-	-	-	-	-	0,001	0,001	-
					RSD, %	11,4	26,1	24,7	-	-	-	-	-	18,5	30,6	-
34	N.I.	1395	-	O	CR, %	-	0,001	-	-	-	-	-	-	0,001	-	-
					RSD, %	-	9,1	-	-	-	-	-	-	23,7	-	-
35	N.I.	1437	-	O	CR, %	-	-	-	-	0,02	0,08	0,1	0,2	0,03	0,04	0,03
					RSD, %	-	-	-	-	16,1	5,7	1,0	1,7	8,3	11,0	10,7

Tabla 19. Continuación.

36	N.I.	1441	-	O	CR, %	0,04	0,1	0,04	0,02	0,03	-	-	-	0,004	0,002	-
					RSD, %	14,2	11,2	7,9	14,8	10,6	-	-	-	5,9	19,3	-
37	N.I.	1450	-	O	CR, %	-	0,003	0,003	-	-	-	-	-	0,01	0,01	-
					RSD, %	-	15,0	8,6	-	-	-	-	-	6,1	8,7	-
38	N.I.	1453	-	O	CR, %	-	0,01	0,01	-	-	0,001	0,001	-	0,02	0,01	0,01
					RSD, %	-	10,8	4,1	-	-	21,0	5,5	-	11,7	39,3	16,8
39	N.I.	1456	-	O	CR, %	0,003	0,003	0,01	0,01	0,002	0,003	0,002	0,002	-	-	0,001
					RSD, %	15,5	24,4	24,0	17,6	9,2	15,4	5,5	16,9	-	-	0,2
40	Octanoato de etilo	1463	1430	E	CR, %	0,02	0,02	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,04	0,02	0,03
					RSD, %	8,3	13,7	14,2	21,8	11,8	9,3	3,4	17,3	2,9	16,1	5,0
41	N.I.	1474	-	O	CR, %	-	0,01	0,01	-	0,001	-	-	-	0,01	0,01	0,001
					RSD, %	-	10,1	15,4	-	16,5	-	-	-	10,3	14,0	11,6
42	C ₁₀ H ₁₈ O	1477	-	T	CR, %	-	0,001	0,001	-	-	-	-	-	0,001	0,001	-
					RSD, %	-	13,7	25,3	-	-	-	-	-	14,9	34,5	-
43	N.I.	1480	-	O	CR, %	-	0,003	0,003	-	-	-	-	-	0,004	0,002	-
					RSD, %	-	10,0	15,3	-	-	-	-	-	18,0	20,4	-
44	N.I.	1513	-	O	CR, %	-	0,01	0,01	-	-	-	-	-	0,01	0,01	0,001
					RSD, %	-	6,6	19,5	-	-	-	-	-	20,3	11,1	18,3
45	N.I.	1521	-	O	CR, %	-	0,001	0,001	-	-	-	-	-	0,001	0,001	-
					RSD, %	-	13,9	22,1	-	-	-	-	-	15,4	17,4	-
46	Furfural	1526	1459	CC	CR, %	0,002	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,002
					RSD, %	10,8	19,5	20,6	9,0	21,0	9,6	3,0	13,6	12,9	21,5	9,4
47	N.I.	1534	-	O	CR, %	0,002	0,002	0,003	0,002	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003	0,003	0,001
					RSD, %	12,7	16,8	6,5	23,8	19,7	6,6	2,1	1,8	9,2	11,0	7,0

Tabla 19. Continuación.

48	N.I.	1537	-	O	CR, %	0,003	0,002	0,004	0,003	0,001	0,001	0,002	0,005	0,01	0,004	0,001
					RSD, %	12,3	13,3	10,8	10,1	21,2	3,0	1,8	2,4	10,7	11,3	10,4
49	N.I.	1544	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17,7
50	N.I.	1550	-	O	CR, %	0,001	0,026	0,02	0,001	0,002	-	-	-	0,04	0,02	0,002
					RSD, %	13,6	8,2	26,3	16,4	12,7	-	-	-	16,0	15,7	9,9
51	Óxido de nerol	1612	1474	T	CR, %	-	0,004	0,01	-	-	-	-	-	0,01	0,005	-
					RSD, %	-	9,5	24,9	-	-	-	-	-	16,4	16,2	-
52	N.I.	1636	-	O	CR, %	-	-	-	0,002	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	21,2	-	-	-	-	-	-	-
53	N.I.	1641	-	O	CR, %	0,03	0,1	0,03	0,02	0,02	0,04	0,1	0,1	0,1	0,02	0,03
					RSD, %	15,8	3,4	28,0	13,8	14,3	4,9	8,5	2,6	17,7	9,3	13,3
54	N.I.	1648	-	O	CR, %	0,001	0,003	0,001	-	0,003	0,002	0,003	0,003	0,004	0,002	0,002
					RSD, %	1,6	7,1	13,3	-	9,2	13,1	13,2	4,4	11,9	41,3	35,2
55	Nerol	1661	1770	T	CR, %	-	0,001	0,001	-	-	-	0,001	0,001	-	-	-
					RSD, %	-	4,6	0,4	-	-	-	13,5	4,0	-	-	-
56	C ₁₃ H ₂₀ O	1663	-	T	CR, %	-	0,001	-	-	-	-	-	-	0,002	-	-
					RSD, %	-	23,6	-	-	-	-	-	-	11,6	-	-
57	C ₁₃ H ₂₀ O	1672	-	T	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	18,0	-	-
58	N.I.	1678	-	O	CR, %	0,004	-	0,000	0,001	0,003	0,004	-	0,001	0,001	0,001	0,002
					RSD, %	13,0	-	5,3	11,1	14,9	10,8	-	14,9	16,5	7,2	13,3
59	N.I.	1693	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,002
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,6

Tabla 19. Continuación.

60	Linalol	1703	1506	T	CR, %	-	0,011	0,01	-	0,001	-	-	0,01	0,004	-	
					RSD, %	-	9,9	6,0	-	19,1	-	-	20,4	14,1	-	
61	N.I.	1751	-	O	CR, %	0,001	-	0,001	0,001	-	-	-	0,002	-	-	-
					RSD, %	18,4	-	8,3	2,9	-	-	-	16,2	-	-	-
62	N.I.	1756	-	O	CR, %	-	-	0,000	-	-	-	-	-	0,001	-	-
					RSD, %	-	-	7,3	-	-	-	-	-	17,7	-	-
63	N.I.	1768	-	O	CR, %	-	-	0,001	-	-	-	-	-	0,004	0,001	-
					RSD, %	-	-	13,6	-	-	-	-	-	13,1	11,7	-
64	N.I.	1820	-	O	CR, %	-	0,001	-	0,002	0,001	-	0,01	-	0,002	-	0,001
					RSD, %	-	4,1	-	24,6	15,8	-	7,3	-	12,7	-	11,5
65	N.I.	1826	-	O	CR, %	-	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	12,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	N.I.	1827	-	O	CR, %	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	10,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	N.I.	1846	-	O	CR, %	-	0,016	0,01	0,002	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,01
					RSD, %	-	12,0	16,3	17,2	14,8	4,9	12,0	10,4	17,1	12,6	14,9
68	Ho-trienol	1852	1623	T	CR, %	0,014	0,019	0,001	-	-	-	-	-	0,002	0,001	-
					RSD, %	23,7	14,8	20,9	-	-	-	-	-	19,2	12,4	-
69	N.I.	1861	-	O	CR, %	0,001	0,017	-	-	0,001	-	-	-	0,001	-	-
					RSD, %	16,6	5,5	-	-	14,6	-	-	-	16,6	-	-
70	N.I.	1865	-	O	CR, %	-	0,001	0,001	-	-	0,001	0,002	0,002	0,001	-	0,001
					RSD, %	-	13,5	15,2	-	-	11,6	11,9	7,6	13,4	-	35,2
71	N.I.	1872	-	O	CR, %	0,001	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	19,6	7,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 19. Continuación.

72	N.I.	1881	-	O	CR, %	-	-	-	-	0,001	0,001	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	12,3	9,9	-	-	-	-	-
73	Decanoato de etilo	1917	1655	E	CR, %	0,02	0,004	0,004	0,005	0,01	0,01	0,01	0,004	0,01	0,003	0,01
					RSD, %	12,8	16,7	5,8	21,6	13,4	7,6	3,3	18,1	24,4	12,7	12,6
74	N.I.	1933	-	O	CR, %	0,001	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	15,5	3,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	Dodecanoato de etilo	2051	1927	E	CR, %	-	-	0,002	0,001	0,002	0,002	0,003	0,004	0,004	0,002	0,001
					RSD, %	-	-	18,1	16,8	11,2	7,9	12,1	12,6	18,1	6,1	10,1
76	N.I.	2055	-	O	CR, %	0,002	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	8,8	13,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	Alcohol feniletílico	2070	1892	A	CR, %	-	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003	0,001	-	0,001
					RSD, %	-	-	15,2	26,7	17,5	9,8	7,8	4,1	22,3	-	10,6
78	N.I.	2073	-	O	CR, %	0,002	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	17,7	17,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	N.I.	2257	-	O	CR, %	0,003	0,002	0,004	-	0,002	0,003	0,003	0,01	0,01	0,003	0,005
					RSD, %	11,8	8,8	13,1	-	13,3	8,5	11,7	15,5	15,4	5,7	14,1
80	N.I.	2285	-	O	CR, %	0,001	0,001	0,001	-	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	-	0,002
					RSD, %	21,3	4,9	11,3	-	11,4	7,7	16,7	5,6	17,8	-	15,6
81	Hexadecanoato de etilo	2394	2255	E	CR, %	-	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	-	0,001	0,001	0,001
					RSD, %	-	-	18,6	19,0	14,1	21,6	24,4	-	12,7	15,5	12,9

Tabla 19. Continuación.

Compuestos carbonílicos	CC	0,002	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,002
Ésteres	E	0,1	0,1	0,3	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,4	0,3	0,1	
Terpenos	T	0,02	0,05	0,02	0,003	0,005	0,002	0,004	0,003	0,04	0,02	0,003	
Alcoholes	A	99,0	99,1	98,4	98,9	99,0	99,4	98,9	99,2	97,9	98,7	99,7	
Otros	O	0,2	0,5	0,3	0,1	0,1	0,2	0,3	0,5	0,4	0,2	0,2	

N.I.-No identificado.

CR-Cantidad relativa, %.

RSD-Desviación estándar relativa, %.

Exp.-Valor experimental.

Lit.-Valor reportado en la literatura.

4.1.5 Cuantificación por medio de la técnica de microextracción en fase sólida

Con base en la composición química volátil de los piscos, aislados por la HS-SPME y analizados por GC-MS, se cuantificaron cuatro compuestos que se encuentran en todas las muestras de pisco. Estos compuestos fueron: etanol, alcohol *iso*-amílico, *iso*-butanol y hexanol.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de mínimos cuadrados, para determinar el rango de linealidad, de acuerdo con el coeficiente de correlación lineal y la ecuación de regresión lineal (Véase **Tabla 20**). Con lo anterior, se determinaron las concentraciones de cada sustancia en las muestras (Véase **Tabla 21**).

Los datos de cada sustancia, se graficaron en la **Figura 24**, donde la respuesta en unidades del área cromatográfica de cada una de estas, corresponde al eje vertical y la concentración del analito estudiado, corresponde al eje horizontal. En la **Tabla 20**, se reporta un resumen de la cuantificación, realizada por HS-SPME-GC-FID, de las cuatro sustancias seleccionadas de la matriz de pisco.

Con ayuda de las curvas de calibración, se calcularon el límite de detección y el límite de cuantificación para cada sustancia, de acuerdo con las **Ecuaciones 1 y 2**, respectivamente.

Tabla 20. Ecuaciones de calibración calculadas para HS-SPME-GC-FID.

Analito	Ecuación de calibración	Coficiente lineal, r^2	LOD	LOQ
Etanol	$r=573693C - 634797$	0,9997	0,2 %v/v	1 %v/v
<i>iso</i> -Butanol	$r=320,07C + 7983,2$	0,9684	7,7 ppm	25,8 ppm
Alcohol <i>iso</i> -amílico	$r= 215,5C + 25456$	0,9970	5,1 ppm	16,9 ppm
Hexanol	$r= 32033C - 125,37$	0,9956	0,002 ppm	0,01 ppm

La sensibilidad del detector de ionización en llama, se reflejó en la pendiente de la curva de calibración de cada compuesto, de lo cual, se observó que el detector es sensible, en orden decreciente, para el etanol, hexanol, *iso*-butanol y alcohol *iso*-amílico; esto se debe a que este detector es sensible a la masa del analito que ingresa y la facilidad de su pirólisis.

En la **Tabla 21**, se presentan los valores de las desviaciones estándares relativas (RSD). Según las Buenas Prácticas de Laboratorio, la desviación estándar relativa para las áreas cromatográficas no debe superar el 10 % [52]. Como se observa en la **Tabla 21**, las áreas cromatográficas presentaron una RSD, menor del 10 %, lo cual indica, que los resultados obtenidos con la HS-SPME-GC-FID, son reproducibles.

Sin embargo, la dilución de *iso*-butanol (80,2 ppm) y la disolución de alcohol *iso*-amílico (560 ppm), presentaron una variación mayor de 10 %, por lo tanto, los resultados del *iso*-butanol y el alcohol *iso*-amílico son reproducibles hasta cierto rango de concentración, *i.e.*, los resultados se obtuvieron cerca al límite superior, del rango dinámico lineal de la curva de calibración.

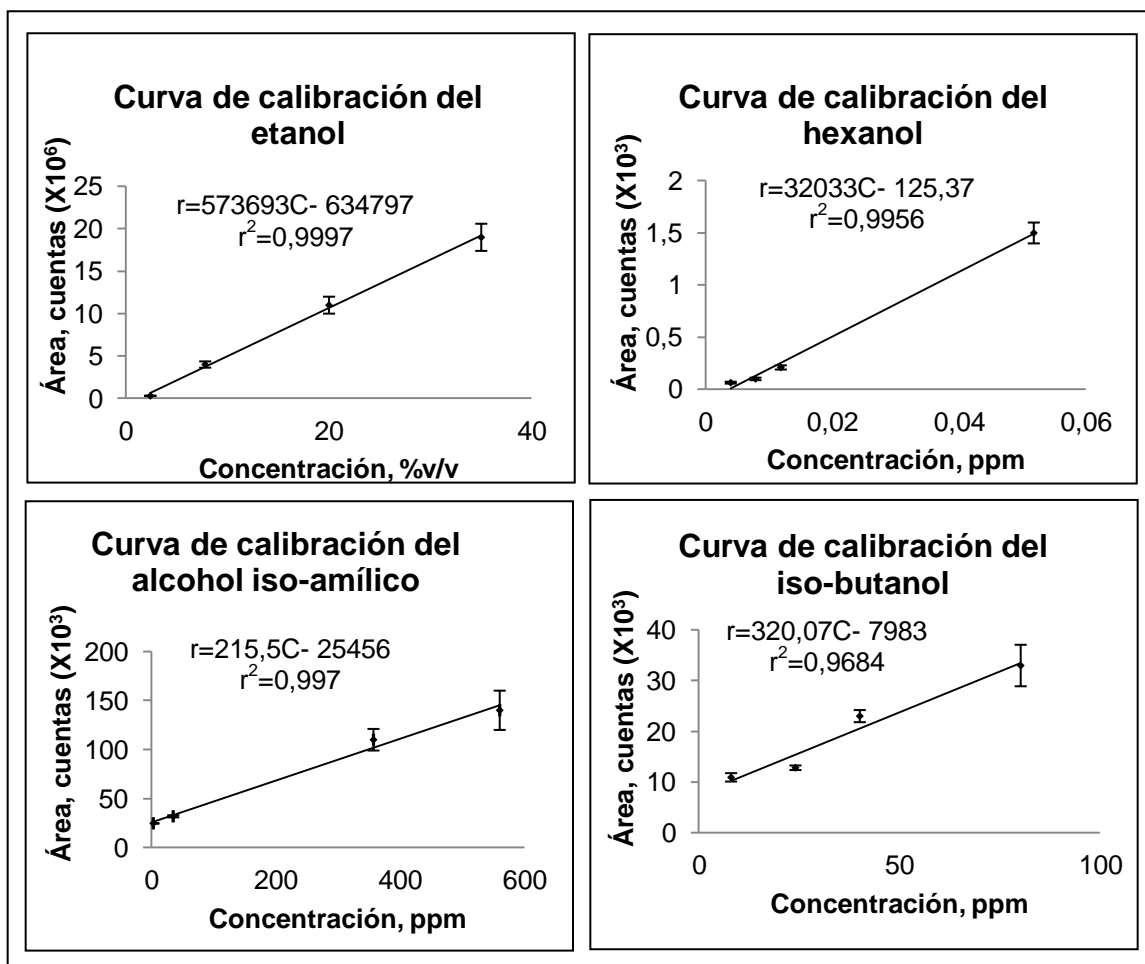


Figura 24. Curvas de calibración realizadas empleando la HS-SPME-GC-FID (n=3).

Tabla 21. Resultados de la curva de calibración obtenida por HS-SPME-GC-FID, para el etanol, el *iso*-butano, alcohol *iso*-amílico y hexanol.

Sustancia	Medida	Solución 1	Solución 2	Solución 3	Solución 4
Etanol	Área*, cuentas	310000±34000	4000000±370000	11000000±1000000	19000000±1600000
	RSD, %	1,09	9,17	9,76	8,06
	Concentración, ppm	2,4	7,8	20	35
<i>iso</i> -Butanol	Área*, cuentas	10900±830	12800±450	23000±1200	33000±4100
	RSD, %	7,56	3,48	5,32	12,15
	Concentración, ppm	8,02	24,06	40,1	80,2
Alcohol <i>iso</i> -amílico	Área*, cuentas	24800±370	32000±1100	110000±11000	140000±20000
	RSD, %	1,5	3,4	10,4	13,6
	Concentración, ppm	3	35	357	560
Hexanol	Área*, cuentas	64±9	100±12	210±20	1500±100
	RSD, %	14,2	11,9	9,5	6,7
	Concentración, ppm	0,004	0,0079	0,0119	0,0518

*Promedio ± desviación estándar (n=3).

RSD-Desviación estándar media, %.

Cuantificación del etanol. El contenido del etanol se reportó en unidades de volumen de etanol por 100 mL de pisco (%v/v); al igual, que se determinó en unidades de miligramos de etanol por litro de pisco (Véase **Tabla 22**).

La cantidad del etanol analizado por HS-SPME-GC-FID, en los picos, se mantuvo en un promedio de 40 %v/v de la muestra total; este valor cumplió con la Norma técnica peruana (NTP), para el contenido de etanol, dado para la denominación de origen (ca. 45 %v/v como máximo) [22]. Sin embargo, los picos de uva Moscatel de tipo puro (5) y el pisco de uva Negra Criolla de tipo puro (6), presentaron mayor cantidad del etanol en su composición química (46 %v/v) y el pisco de uva Quebranta de tipo mosto verde (8) presentó menor cantidad de etanol (35 %v/v), que el requerido por la NTP. De lo anterior, se dedujo que los picos peruanos presentaron una concentración del etanol variable, que depende del tiempo de destilación, al cual el mosto se sometió (Véase **Figura 25**).

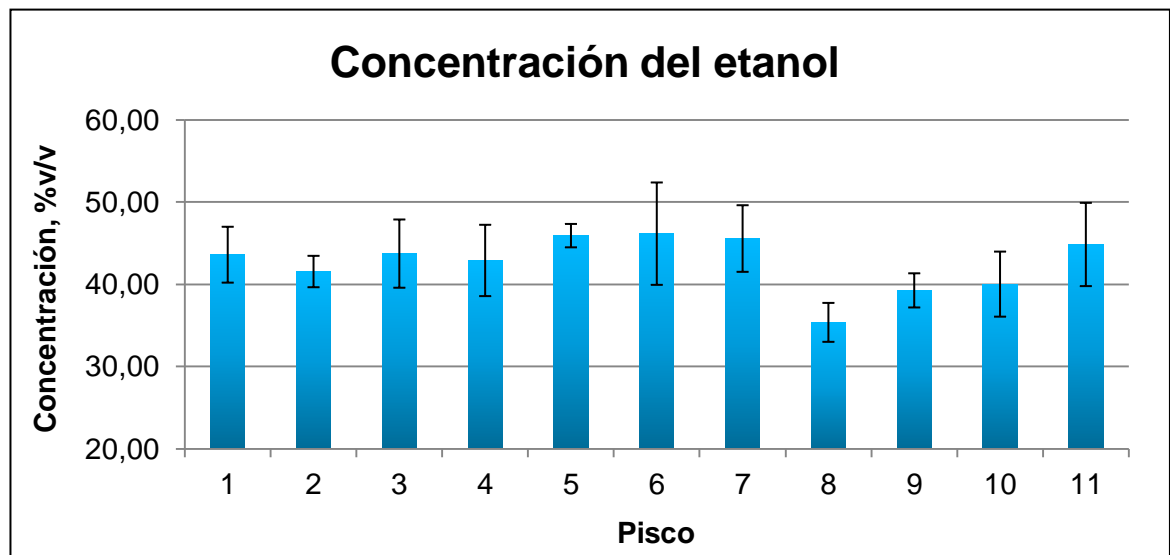


Figura 25. Concentración del etanol encontrada en los picos, empleando la HS-SPME-GC-FID (n=3).

Cuantificación de *iso*-butanol. El *iso*-butanol es un producto natural de la fermentación de los carbohidratos o del decaimiento de la materia en procesos orgánicos [53].

En el análisis realizado a las muestras de pisco peruano (Véase **Tabla 22**), la cantidad promedio de *iso*-butanol en el pisco fue 38,1 ppm. El pisco de uva Torontel de tipo mosto verde (9), presentó mayor concentración (65 ppm), que los demás piscos estudiados, y el pisco Quebranta de tipo mosto verde (8) presentó la concentración de *iso*-butanol más baja (2,09 ppm). De acuerdo con la ficha de seguridad del *iso*-butanol, la concentración mínima de exposición, que causa riesgo en la salud humana, es de 50 ppm; el pisco de uva Torontel de tipo mosto verde (9), fue el único que presentó un valor mayor de 50 ppm, por lo que posee un potencial riesgo para la salud humana (Véase **Figura 26**) [53].

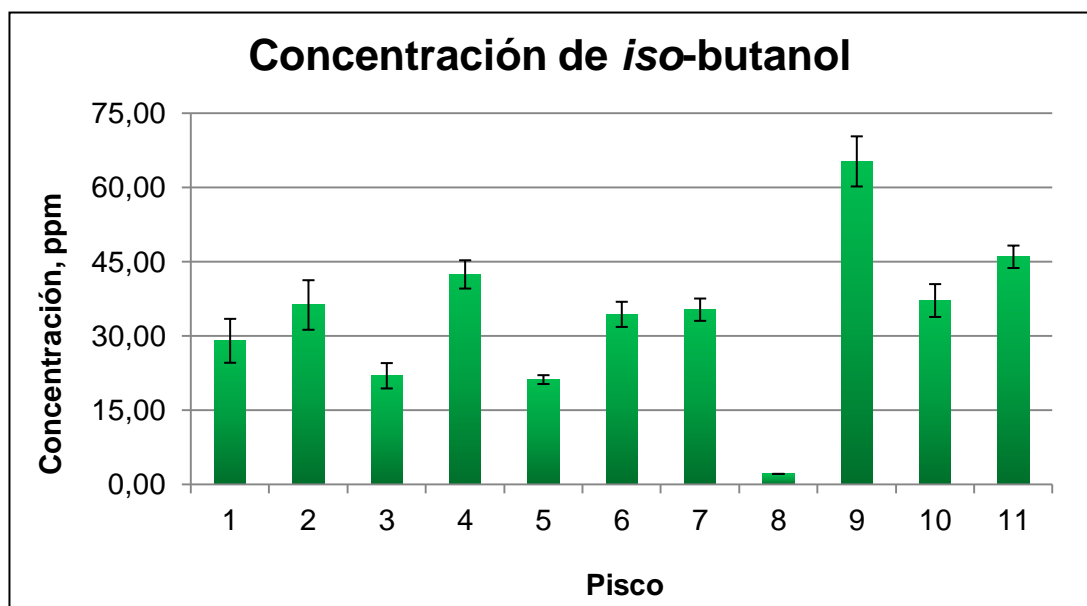


Figura 26. Concentración del *iso*-butanol encontrada en los piscos analizados, empleando la HS-SPME-GC-FID (n=3).

Cuantificación del alcohol *iso*-amílico. El promedio de alcohol *iso*-amílico, reportado en las once muestras (Véase **Tabla 22**), se encontró en 238,8 ppm. El

pisco de uva Albilla de tipo puro (1), presentó la mayor cantidad de alcohol *iso*-amílico (480 ppm) y el pisco de uva Italia de tipo puro (3), presentó el menor contenido de alcohol *iso*-amílico (80 ppm). En la **Figura 27**, se compararon las concentraciones de alcohol *iso*-amílico determinadas, en las muestras de pisco.

Según la literatura, los alcoholes *iso*-amílico y D-amílico, se derivan de los aminoácidos de las proteínas o de las levaduras presentes en el mosto (Véase **Figura 28**) [54]; por tanto, en el destilado obtenido se tiene un mezcla de los alcoholes D-amílico e *iso*-amílico con trazas de alcohol *iso*-butílico y *n*-propílico, al igual que algunos ésteres y aldehídos [54].

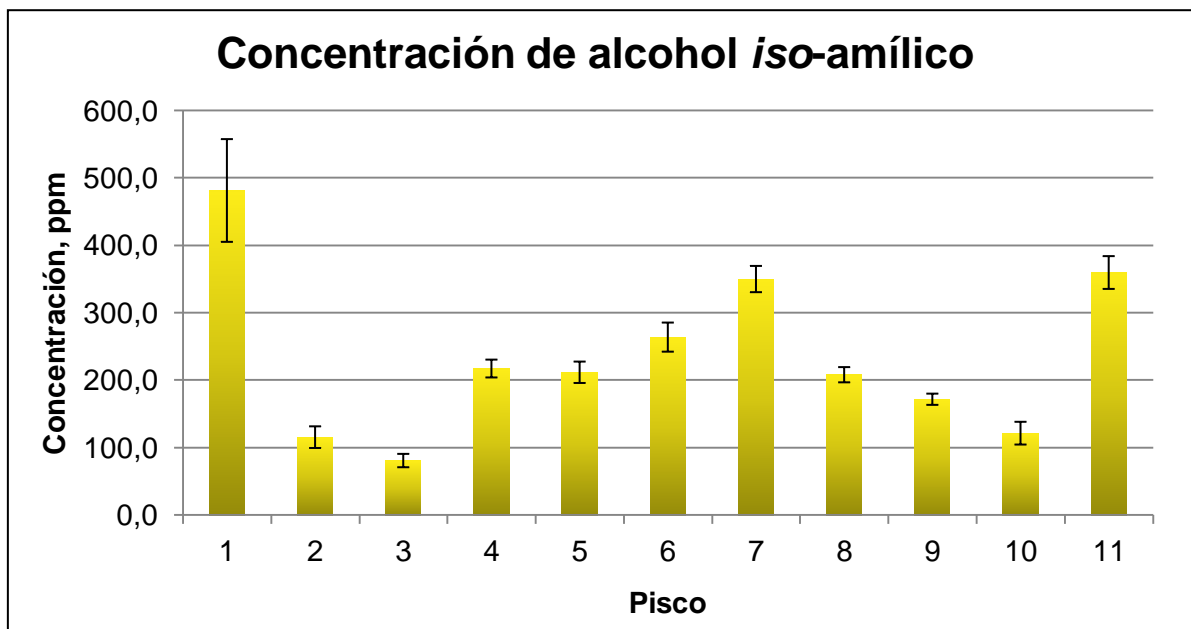


Figura 27. Concentración de alcohol *iso*-amílico encontrada en los piscos peruanos, analizados por la HS-SPME-GC-FID (n=3).

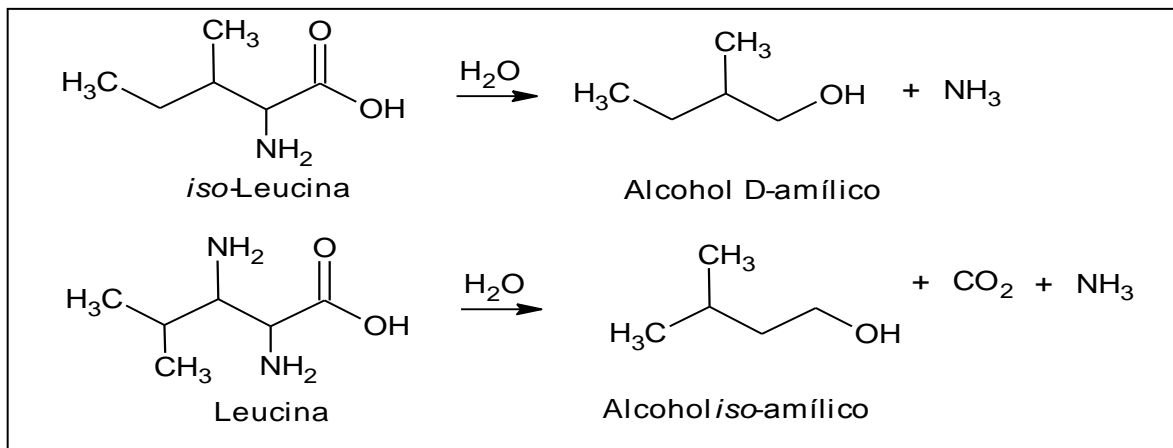


Figura 28. Formación del alcohol *iso*-amílico y del alcohol D-amílico.

Cuantificación del hexanol. El promedio del hexanol en las muestras, se encontró en 0,019 ppm. En la **Figura 29**, se muestra que en las muestras estudiadas, el pisco de uva Torontel de tipo mosto verde (9) presentó el mayor contenido del hexanol (0,035 ppm) y el pisco de uva Negra Criolla de tipo puro (6) el menor contenido del hexanol (Véase **Tabla 22**).

El hexanol, presente en el pisco, proviene de las uvas pisqueras, utilizadas en la fabricación del pisco. El incremento en su concentración en la bebida depende de la época de vendimia, al igual, del tipo de destilación, al cual el mosto se somete. El hexanol, en grandes cantidades, proporciona una nota herbácea en el producto [55].

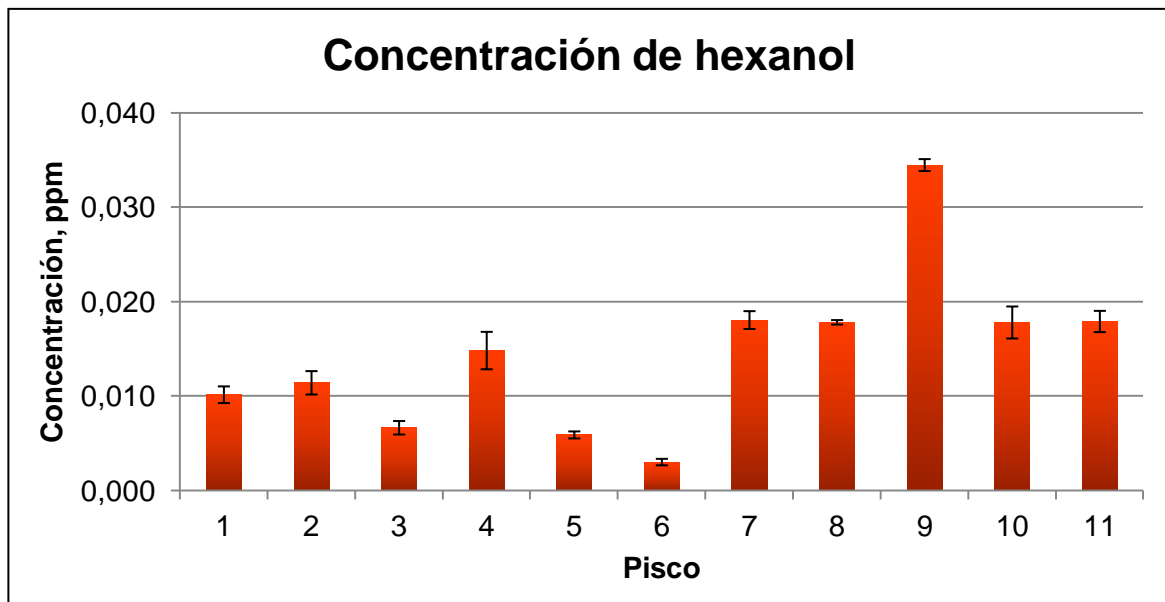


Figura 29. Concentración del hexanol encontrada en los piscos, analizados por HS-SPME-GC-FID (n=3).

En la **Tabla 22**, se reportan las concentraciones de las sustancias químicas cuantificadas en las muestras de piscos estudiados, al igual que la desviación estándar relativa (RSD, %) de cada resultado.

Tabla 22. Concentración del etanol, *iso*-butanol, alcohol *iso*-amílico y hexanol en los piscos peruanos estudiados.

Pisco	Etanol		<i>iso</i> -Butanol		Alcohol <i>iso</i> -amílico		Hexanol	
	%v/v *	RSD, %	ppm *	RSD, %	ppm *	RSD, %	ppm *	RSD, %
(1) Albilla, puro	44±3	7,8	29±4	15,3	480±76	15,8	0,010±0,001	8,7
(2) Italia, mosto verde	42±5	4,6	36±5	13,8	120±16	13,9	0,011±0,001	10,9
(3) Italia, puro	44±4	9,5	21±3	11,7	80±10	12,2	0,007±0,001	10,7
(4) Mollar, puro	43±4	10,1	42±3	6,7	220±13	6,1	0,015±0,002	13,4
(5) Moscatel, puro	46±1	3,1	21±1	4,2	210±16	7,5	0,0059±0,0004	6,3
(6) Negra Criolla, puro	46±6	13,5	34±3	7,4	260±22	8,2	0,003±0,001	11,3
(7) Quebranta, puro	45±5	8,9	35±2	6,4	350±20	5,6	0,018±0,001	5,2
(8) Quebranta, mosto verde	35±2	6,7	2,09±0,02	0,7	210±11	5,4	0,018±0,001	1,3
(9) Torontel, mosto verde	39±2	5,3	65±5	7,8	171±8	4,8	0,034±0,001	1,8
(10) Torontel, puro	40±4	9,9	37±3	8,9	120±17	13,9	0,018±0,002	9,5
(11) Uvina, puro	45±5	11,3	46±2	4,9	360±24	6,8	0,018±0,001	6,3

*Promedio ± desviación estándar, n=3.

RSD-Desviación estándar relativa, %.

4.2 CUANTIFICACIÓN DEL ETANOL POR MEDIO DE LA TÉCNICA HEADSPACE ESTÁTICO

La extracción del etanol en las muestras de pisco peruano, se realizó en un *Headspace Sampler*, el etanol se cuantificó por GC-FID. Los parámetros cromatográficos se encuentran reportados en la **Sección 3.4.1**.

Los datos (Véase **Tabla 23**) se sometieron a un análisis de regresión lineal, para calcular la ecuación de calibración y el coeficiente de correlación lineal; se construyó una gráfica, en la cual el eje vertical expresa el área del pico cromatográfico y el eje horizontal, la concentración (Véase **Figura 30**). La linealidad del sistema se observó por el promedio del trazado de los cinco puntos (diluciones) de la curva de calibración. El rango de linealidad de la curva de calibración se estimó en (35-55 %v/v), al igual que la respuesta del detector, con coeficiente de correlación de 0,9829. La curva de calibración se representó por la ecuación: $r=146921C+8 \times 10^6$ ($r^2 = 0,9829$).

Tabla 23. Curva de calibración del etanol obtenida por la técnica de *headspace* estático.

Concentración, %v/v	Área*, cuentas	RSD, %
35	12000000±1100000	8,8
40	13500000±950000	7,1
45	14600000±490000	3,3
50	15000000±1000000	6,9
55	15700000±390000	2,5

*Promedio ± desviación estándar, n=3.

RSD-Desviación estándar relativa, %.

En la **Figura 30**, se observa la curva de calibración del etanol con la técnica de *headspace* estático.

Los límites de detección y cuantificación son las señales mínimas distinguibles del ruido en múltiplos de 3 y 10 unidades, respectivamente. A medida que el rango dinámico lineal se encuentre en concentraciones más altas, la sensibilidad de la medición disminuye conduciendo a un aumento en los valores de LOD y LOQ calculados con base en la ecuación de la curva de calibración (**Ecuaciones 1 y 2**).

A partir de las **Ecuaciones 1 y 2** se calcularon los LOD y LOQ, los resultados obtenidos por S-HS fueron 8 y 27 %v/v de etanol, respectivamente, y HS-SPME fueron 0,2 y 1 %v/v de etanol, respectivamente. Estos límites difieren en ambas técnicas, debido a que las ecuaciones utilizadas para el cálculo, involucran el rango dinámico lineal y la ecuación de la curva de calibración, que cambian con respecto al rango de concentración estudiada (véanse **Figuras 24 y 30**).

La concentración del etanol en las muestras de pisco se calcularon con la ecuación de regresión lineal, obtenida en la curva de calibración de S-HS (Véase

Tabla 24).

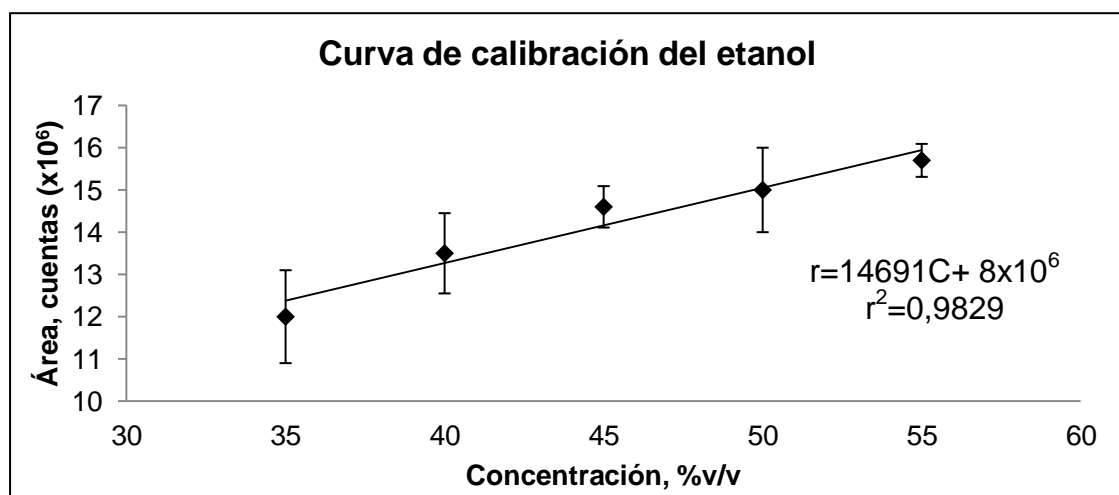


Figura 30. Curva de calibración del etanol, obtenida por la técnica de S-HS-GC-FID.

En la **Figura 31**, se observa que el promedio de la concentración del etanol, determinada por la técnica headspace estático, es de 43 %v/v, en donde el pisco de uva Italia de tipo puro (3), presentó mayor concentración de etanol (48 %v/v), que las otras muestras de pisco, y el pisco Quebranta de tipo mosto verde (8) presentó la concentración de etanol más baja (34 %v/v), que el promedio de las muestras de pisco.

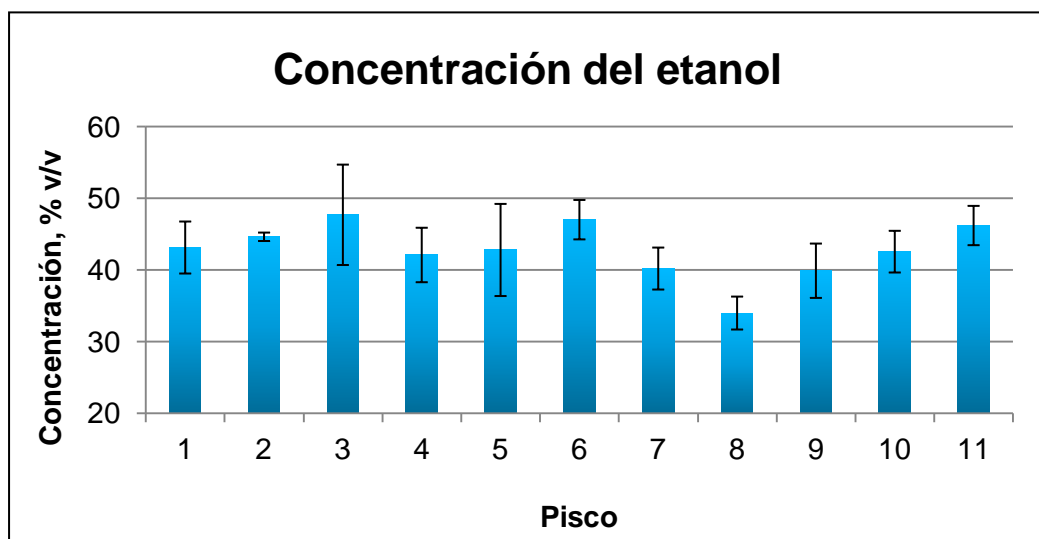


Figura 31. Concentración del etanol en los piscos estudiados, empleando la técnica de S-HS-GC-FID (n=3).

Se observó, que los valores obtenidos para el contenido de etanol por las técnicas de S-HS y HS-SPME (Véase

Tabla 24), presentaron similitudes, y coincidieron en que el pisco de uva Quebranta, de tipo mosto verde (8), contiene la cantidad de etanol más baja, 34 y 35 %v/v, para las técnicas de S-HS y HS-SPME, respectivamente.

Tabla 24. Comparación del contenido de etanol en los piscos estudiados, aislado por las técnicas de S-HS y HS-SPME (n=3).

Muestra pisco	S-HS		HS-SPME	
	%v/v	RSD, %	%v/v	RSD, %
(1) Albilla, puro	43±4	8,4	44±3	7,8
(2) Italia, mosto verde	45±1	1,3	42±5	4,6
(3) Italia, puro	48±7	14,7	44±4	9,5
(4) Mollar, puro	42±4	9,0	43±4	10,1
(5) Moscatel, puro	43±6	15,0	46±1	3,1
(6) Negra Criolla, puro	47±3	5,8	46±6	13,5
(7) Quebranta, puro	40±3	7,3	45±5	8,9
(8) Quebranta, mosto verde	34±2	6,8	35±2	6,7
(9) Torontel, mosto verde	40±4	9,5	39±2	5,3
(10) Torontel, puro	43±3	6,8	40±4	9,9
(11) Uvina, puro	46±3	5,9	45±5	11,3

RSD-Desviación estándar relativa, %.

4.3 ESTUDIO DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL AISLADA POR EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO DE LOS PISCOS PERUANOS ESTUDIADOS

La extracción líquido-líquido se realizó con diclorometano, ya que fue el solvente que aisló la mayor cantidad de compuestos volátiles y semivolátiles del pisco. El análisis de las once muestras de pisco peruano se realizó empleando un GC-MS, y la columna polar (Véase **Sección 3.4.2.**). El análisis de los cromatogramas, se realizó mediante la comparación entre los espectros de masas obtenidos con los reportados en las bases de datos Wiley, NIST y Adams, al igual que por los índices de retención en columna polar.

En la **Tabla 25**, se registraron los compuestos aislados en las muestras de pisco, por la extracción líquido-líquido, y analizadas por GC-MS. Los compuestos se identificaron usando medio de las bases de datos, junto con los índices de retención, IR, calculados en una columna polar. Los cromatogramas, obtenidos por GC-MS para la extracción con solvente, se presentan en el **Anexo 2**.

De los compuestos aislados, se encontraron 29 terpenos, 14 ésteres, 20 alcoholes y 5 compuestos carbonílicos. En la **Figura 32**, se exponen el número de compuestos presentes en las muestras de pisco según la familia de compuestos.

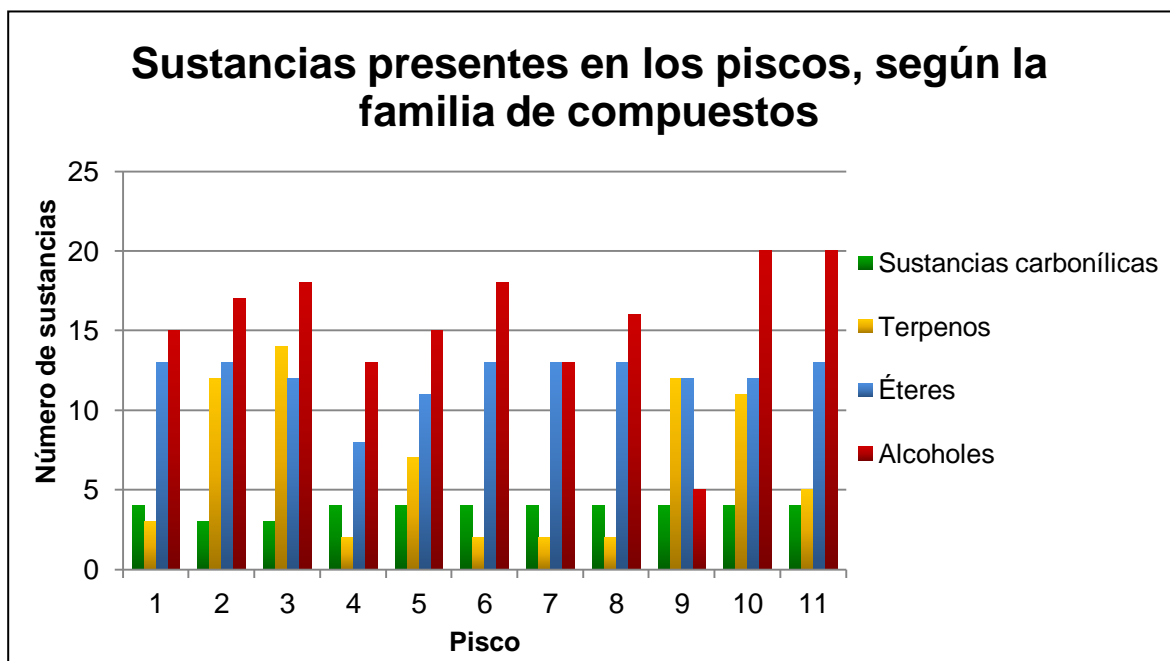


Figura 32. Número de sustancias químicas, por familias, presentes en el pisco, aisladas con solvente.

Según la **Figura 32**, los piscos de uvas Torontel y Uvina de tipo puro (10, 11), presentaron mayor número de sustancias alcohólicas (20). El propanol (3 %), *iso*-butanol (13 %), alcohol *iso*-amílico (50 %), *n*-butanol (3 %) y el alcohol feniletílico (7 %), fueron los alcoholes encontrados en mayor cantidad relativa.

En la **Figura 33**, se expone la cantidad relativa de alcoholes, aislados con solvente, de las muestras de pisco.

En la **Figura 34**, se muestran las cantidades relativas de ésteres, terpenos y sustancias carbonílicas, encontrados en los piscos estudiados.



Figura 33. Cantidad relativa (%) de compuestos alcohólicos aislados con solvente (diclorometano, n=3).

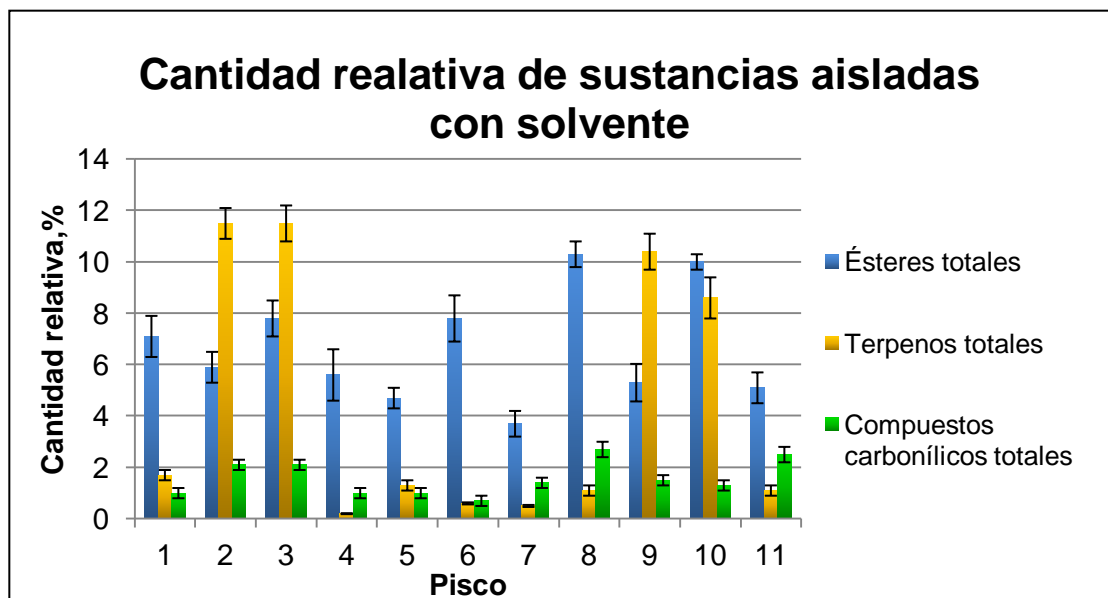


Figura 34. Cantidad relativa de los compuestos químicos aislados con solvente (diclorometano, n=3).

Los piscos de uva Italia (2 y 3) y Torontel (9 y 10) presentaron mayor cantidad de terpenos (ca. 10 y 11 %), que los otros piscos. De los terpenos identificados, el α -terpineol (2 %), linalol (3 %) y el *cis*-óxido de linalol (furan) (1 %), fueron los terpenos aislados en cantidad relativa más alta.

Los ésteres son los compuestos, que caracterizan el *flavour* en los piscos [56-58]. El pisco de uva Quebranta de tipo puro (7), presentó menor cantidad de ésteres (ca. 4 %), que las demás muestras de pisco. En general, se encontró una cantidad relativa de ésteres ca. 7 %.

El lactato de etilo, fue el éster que se encontró en mayor cantidad relativa en las muestras de pisco (ca. 5 %). El pisco Torontel de tipo puro (10), fue el que presentó la cantidad relativa más alta de lactato de etilo (8,8 %).

El succinato de dietilo se encontró en cantidad relativa más alta en los piscos de uvas Albilla, Moscatel y Negra Criolla (1,5, 6), 2, 3 y 4 %, respectivamente. Por último, el octanoato de etilo se encontró en cantidad relativa más alta (2 %), en el pisco de uva Quebranta de tipo mosto verde (8).

El ácido acético es un producto de la fermentación aeróbica del mosto [59], la cantidad relativa más alta de este compuesto (10 %), se aisló del pisco de uva Torontel de tipo mosto verde (10). En los piscos de uva Albilla de tipo puro y de Italia de tipo mosto verde, el ácido acético no se identificó, por lo tanto, el proceso de fermentación de sus mostos fue anaerobio.

Como producto de la destilación, se registró el furfural, que se apreció en una cantidad relativa más alta (1 %), en el pisco de uva Italia de tipo puro (3) y, en una cantidad relativa más baja (0,3 %), en el pisco de uva Negra Criolla de tipo puro (6).

La 3-hidroxiбутанона, también conocida como la acetoina, es producto de la fermentación alcohólica producida por levaduras *Saccharomyces* [55]. Este compuesto, se obtuvo en cantidad relativa más alta (ca. 1 %), en los piscos de uva Quebranta de tipo mosto verde (8) y Uvina de tipo puro (11).

En el **Anexo 3**, se reportan los espectros de masas y las rutas de fragmentación de algunas sustancias, identificadas en el extracto y mencionadas en la **Tabla 25**; a saber: *iso*-butanol, alcohol *iso*-amílico, lactato de etilo, *cis*-3-hexenol, octanoato de etilo, *cis*-óxido de linalol (furano), furfural, *trans*-óxido de linalol (furano), (*meso*)-2,3-butanodiol, ho-trienol, succinato de dietilo, *cis*-óxido de linalol (pirano), metilfenil oxima y *trans*-óxido de linalol (pirano).

De acuerdo con la caracterización de las sustancias extraídas con solvente (Véase **Tabla 25**), se identificó el 2,3-butanodiol en los picos 54 y 59, ya que presentaron igual espectro de masas (Véase **Anexo 3 – Figura 9**). La formación del 2,3-butanodiol se promovidada por las levaduras *Saccharomyces*, a partir de la acetoina [55, 60].

Existen tres estereoisómeros del 2,3-butanodiol: D, L y *meso* [60]. En la fermentación alcohólica del mosto se reportan dos estereoisómeros: L y *meso* [61]; la asignación del estereoisómero correspondiente a los picos 54 y 59, se realizó con base en los índices de retención y los tiempos de retención, calculados y los encontrados en la literatura [61, 62].

Sobre los compuestos aislados con solvente, se realizó un análisis bibliográfico, con el fin de proporcionar parámetros sensoriales (olor) de algunos compuestos volátiles y semivolátiles encontrados en los piscos estudiados; los resultados del estudio se presentan en el **Anexo 4**.

Tabla 25. Compuestos volátiles extraídos con solvente (diclorometano) de los piscos peruanos estudiados (n=3).

N°	Compuesto	IR DB-WAX		Tipo	Parámetro	Pisco										
		Exp.	Lit.			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	N.I.	1053	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-
2	Butanoato de etilo	1073	-	E	CR, %	0,1	0,1	-	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	-
					RSD, %	21,5	17,1	-	22,6	24	6	3,4	0,7	7,9	7,2	-
3	Propanol	1090	1091	A	CR, %	2,5	9,2	6,9	4,7	3,4	3,9	3,8	14	5,7	6,4	3,1
					RSD, %	11,8	5,9	2,4	23,9	11,2	6,2	6,5	1,9	8,1	5,9	8,1
4	N.I.	1103	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	0,03
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	11,9
5	N.I.	1136	-	O	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	0,04	-
					RSD, %	-	22,1	11,9	-	-	-	-	-	-	7,8	-
6	iso-Butanol	1140	1099	A	CR, %	9,4	15,6	12,5	14,5	11,6	13,2	12,6	7,8	16,8	13,5	13
					RSD, %	11,1	10,4	3,9	21,3	8,8	5,6	4,1	5,7	8,9	5	3,8
7	C ₉ H ₂₀ O ₂	1137	-	T	CR, %	-	-	-	-	-	-	0,1	-	0,04	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	1	-	8,5	-	-
8	Acetato de iso-amílo	1151	1124	E	CR, %	0,3	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1
					RSD, %	14,5	11,8	7,1	20,2	12,6	6,5	4,6	2	11,6	19,1	10,8
9	Alcohol alílico	1158	1127	A	CR, %	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	1,9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	C ₆ H ₁₀ O	1184	-	T	CR, %	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-
11	n-Butanol	1181	1191	A	CR, %	0,3	0,3	0,3	3,5	0,3	0,3	0,3	0,4	0,2	0,2	0,4
					RSD, %	15,6	8,6	1,7	19,4	10	7,3	8,5	17,8	9,9	8,1	3,2

Tabla 25. Continuación.

12	C ₆ H ₁₀ O	1183	-	T	CR, %	0,1	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
					RSD, %	0,5	23,3	-	18,8	7,4	6,8	11,8	8,7	19	13,7	8,7
13	C ₅ H ₁₀ O ₂	1217	-	T	CR, %	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	0,03	-
					RSD, %	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	15,7
14	Limoneno	1219	1210	T	CR, %	-	-	-	-	0,1	-	0,04	0,1	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	28,7	-	19	17,4	-	-	-
15	Dehidróxido de <i>cis</i> -óxido de linalol	1245	-	T	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-	-
					RSD, %	-	6,8	2,2	-	-	-	-	-	28	-	-
16	Alcohol <i>iso</i> -amílico	1245	1217	A	CR, %	63,7	48,2	46,1	53,8	60,6	55,8	64,2	53,8	41,6	43,9	56,9
					RSD, %	7,7	5,5	1,8	19,1	7,3	3,8	5,4	3,3	7,7	6,5	4,4
17	Hexanoato de etilo	1262	1242	E	CR, %	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	1	0,04	0,1	0,1
					RSD, %	15,5	8,2	3,7	9	24,3	7,7	4,8	3,3	9,5	11,9	8,3
18	N.I.	1264	-	O	CR, %	-	-	-	-	0,1	-	0,1	-	0,1	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	7,4	-	0,7	-	13,4	-	-
19	Dehidróxido de <i>trans</i> -óxido de linalol	1270	-	T	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-
					RSD, %	-	11,7	2,1	-	-	-	-	-	21,9	10,3	-
20	3-Metil-3-butenol	1277	1205	A	CR, %	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,04	0,03	0,03	0,2	0,1	0,03
					RSD, %	-	12	3,6	16,2	9	3,8	3,9	3,9	12,2	8,7	8,7
21	1-Pentanol	1281	1296	A	CR, %	-	0,1	0,04	0	-	0,02	-	0,04	0,1	0,04	0,03
					RSD, %	-	9,6	3,6	8	-	4,5	-	5,2	17,5	8,8	6,3
22	N.I.	1288	-	O	CR, %	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
					RSD, %	14,4	10,5	7,7	13,4	4,1	6,7	4,4	9,3	8,4	3,3	5,7
23	C ₁₀ H ₁₄	1293	-	T	CR, %	-	-	-	-	-	0,02	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	7,1	-	-	-	-	-

Tabla 25. Continuación.

24	N.I.	1305	-	O	CR, %	0,7	0,4	-	0,4	1,3	-	1,2	0,03	0,4	-	0,03
					RSD, %	6,4	26,4	-	12,3	11,1	-	21,5	9,7	8,1	-	17,1
25	3-Hidroxibutanona	1308	1277	CC	CR, %	0,2	1	0,6	0,1	0,2	0,04	0,6	1,7	0,3	0,1	1,3
					RSD, %	2,1	5,8	3,2	21	8,4	8,7	3,4	8,6	18	7,7	3,1
26	1,1,3-Trietoxipropano	1338	-	O	CR, %	-	-	0,1	-	-	0,02	-	-	-	0,04	-
					RSD, %	-	-	2,6	-	-	5,5	-	-	-	14,9	-
27	4-Metilpentanol	1344	1328	A	CR, %	0,04	-	-	-	-	0,03	0,03	0,03	-	-	-
					RSD, %	12,7	-	-	-	-	5,6	11,6	9,9	-	-	-
28	3-Metil-2-butenol	1349	-	A	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,03	0,04
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	14,4	15,5	16,3
29	N.I.	1351	-	O	CR, %	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
30	C ₁₀ H ₁₆	1354	-	T	CR, %	-	0,1	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-
					RSD, %	-	12,6	-	-	-	-	-	-	16,7	-	-
31	3-Metilpentanol	1356	1329	A	CR, %	0,1	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,03
					RSD, %	3,9	-	-	-	8,5	5,6	8,5	3,3	-	3,6	2,5
32	N.I.	1356	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,3	-
33	Lactato de etilo	1369	1348	E	CR, %	5,1	1,4	5,2	4,6	3,4	5,6	0,6	2,7	3,8	8,8	4
					RSD, %	4,4	7,1	0,9	23,6	6,2	3,5	10,1	7	11	7,3	2,4
34	Hexanol	1382	1398	A	CR, %	0,4	0,8	0,5	0,6	0,3	0,4	0,7	0,8	1	0,8	0,6
					RSD, %	10,1	8,9	0,8	15,6	8,6	6,2	10,9	7,4	10,2	10,2	2,9
35	<i>cis</i> -3-Hexenol	1391	1378	A	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,2

Tabla 25. Continuación.

36	3-Etoxi-1-propanol	1404	-	A	CR, %	-	0,1	0,1	0,05	0,04	0,04	-	0,6	0,05	0,04	0,04
					RSD, %	-	7,4	19,2	25,3	1,8	3,8	-	7,5	12,2	19,7	2
37	Hexenol	1412	1407	A	CR, %	0,04	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,02
					RSD, %	9,2	10,1	6,7	-	-	-	-	-	10,7	10,9	2,6
38	N.I.	1417	-	O	CR, %	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	15,7	-	-	-	-	-	-
39	2-Ciclohexenona	1462	1412	CC	CR, %	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
					RSD, %	10,4	17,5	2,9	18,1	4,7	8,1	14,9	13,7	21,9	27,7	4,5
40	Octanoato de etilo	1466	1430	E	CR, %	0,3	0,7	0,4	0,2	0,4	0,7	0,4	2,4	-	-	0,2
					RSD, %	12,1	9,9	2,2	11,2	14	7,5	8,7	4,6	-	-	7,8
41	Ácido acético	1469	1452	O	CR, %	-	-	4,4	7,1	1,6	2,4	0,7	0,3	10,3	7,5	4,6
					RSD, %	-	-	2	7,4	8,6	6,5	3,5	5	21,1	16,7	10,3
42	<i>cis</i> -Óxido de linalol (furano)	1473	1068	T	CR, %	1	1,2	1,3	-	-	-	-	-	1,4	1,3	-
					RSD, %	15	22	3,5	-	-	-	-	-	4,4	3,2	-
43	N.I.	1480	-	O	CR, %	-	0,2	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	8,5	10,8	-	-	-	-	-	-	-	-
44	N.I.	1482	-	O	CR, %	-	-	-	-	0,01	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	12,3	-	-	-	-	-	-
45	Furfural	1484	1459	CC	CR, %	0,4	0,8	1,2	0,5	0,4	0,3	0,4	0,6	0,8	0,8	0,7
					RSD, %	8,8	7,8	8,1	16,2	6,7	4,3	13,7	1,8	11,2	8	1,9
46	2-Ciclohexenol	1497	1484	CC	CR, %	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
					RSD, %	12,8	20,7	19,3	14,1	6,8	10,4	19,3	13,5	19,7	18,9	5,9
47	Óxido de nerol	1501	1474	T	CR, %	-	0,4	0,2	-	0,1	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	8,5	11,6	-	17,3	-	-	-	-	-	-

Tabla 25. Continuación.

48	<i>trans</i> -Óxido de linalol (furano)	1501	1483	T	CR, %	-	-	0,3	-	-	-	-	-	0,5	0,3	0,04
					RSD, %	-	-	0,5	-	-	-	-	-	18,1	9	15,8
49	N.I.	1511	-	O	CR, %	0,1	0,04	-	0,7	0,1	-	0,1	-	-	-	-
					RSD, %	23,7	10,6	-	3	1,8	-	21,5	-	-	-	-
50	N.I.	1519	-	O	CR, %	-	0,03	-	-	-	0,05	-	-	0,4	-	-
					RSD, %	-	3,4	-	-	-	25,1	-	-	18,4	-	-
51	N.I.	1533	-	O	CR, %	0,05	0,1	0,1	0,1	0,1	0,04	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
					RSD, %	3,1	4,3	6,6	5,2	5,9	8,4	12,8	8,3	9,3	7,8	6,8
52	C ₁₀ H ₁₈ O	1544	-	T	CR, %	0,03	0,1	0,1	-	0,1	0,1	0,03	0,04	0,1	0,1	0,03
					RSD, %	2,7	9,3	2,9	-	9,4	6,8	8,9	9	14,4	13,5	8,2
53	N.I.	1553	-	O	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-
					RSD, %	-	11,1	2,7	-	-	-	-	-	16,7	11,7	-
54	L-2,3-Butanodiol	1565	1545	A	CR, %	0,2	0,4	0,3	0,3	0,6	0,7	0,5	0,6	0,3	0,4	0,7
					RSD, %	7,8	3	16,2	27,7	4,6	4,2	11,8	7,4	8,8	13	3,6
55	4-Metil-2-pentanol	1571	-	A	CR, %	-	-	-	-	-	0,1	-	0,03	-	0,05	0,1
					RSD, %	-	-	-	-	-	11,3	-	25,5	-	9,5	7,8
56	Linalol	1576	1506	T	CR, %	0,1	3	2,7	0,1	0,2	0,05	0,04	-	2,3	1,9	0,1
					RSD, %	10,6	8,2	0,6	10,6	4,6	11,2	11,4	-	12,5	10	8,1
57	N.I.	1588	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	22,4	4,9	-	-
58	N.I.	1597	-	O	CR, %	-	-	-	-	0,05	0,1	-	-	-	0,05	0,1
					RSD, %	-	-	-	-	12,7	3,1	-	-	-	8,1	14
59	<i>(meso)</i> -2,3-Butanodiol	1601	-	A	CR, %	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,4
					RSD, %	18,6	15,5	18,9	30,3	2,5	4,3	4,9	23,2	7,5	16,2	3,3

Tabla 25. Continuación.

60	C ₁₀ H ₁₆ O	1615	-	T	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,05	-
					RSD, %	-	16	1,9	-	-	-	-	-	-	24	15,5
61	N.I.	1634	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,02	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	11,1	-
62	Ho-trienol	1638	1623	T	CR, %	0,03	0,6	0,9	-	0,1	-	-	-	1	0,8	0,04
					RSD, %	0,7	9,3	2	-	11,8	-	-	-	11,6	8,6	3,9
63	Butirolactona	1653	1632	CC	CR, %	0,1	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
					RSD, %	8,4	-	-	16,5	14,2	7,8	9,7	5,7	6,3	4,6	10,1
64	N.I.	1674	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-
65	Decanoato de etilo	1674	1655	E	CR, %	0,2	1,3	0,5	0,2	0,1	0,2	0,2	1,4	0,3	0,1	0,1
					RSD, %	17,5	8,4	3,2	18,1	17	10,3	4,7	7,4	8,3	13,3	4,4
66	N.I.	1680	-	O	CR, %	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	-	-	0,2	0,1
					RSD, %	9	-	1,2	13	26,9	12,3	13,5	-	-	14	17,6
67	N.I.	1685	-	O	CR, %	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
					RSD, %	11,9	10,4	2,4	9,8	22,3	13,6	2,7	8,9	15	8	1,7
68	Succinato de dietilo	1705	1702	E	CR, %	2,3	-	0,1	0,7	2,7	3,8	0,3	0,8	0,04	0,6	1
					RSD, %	7	-	1,1	19,6	7	4,7	10,3	7	12,9	11,8	1,3
69	C ₁₀ H ₁₆	1707	-	T	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	9,9	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-
70	α-Terpineol	1728	1731	T	CR, %	0,1	2,6	2,1	0,04	0,1	-	-	-	1,4	1,1	0,03
					RSD, %	9	9,9	2,1	16,4	8,3	-	-	-	12,9	10,5	6,4
71	C ₁₀ H ₁₈ O	1731	-	T	CR, %	-	0,5	0,5	-	-	-	-	-	0,4	0,4	-
					RSD, %	-	8,4	2,2	-	-	-	-	-	13,6	11,3	-

Tabla 25. Continuación.

72	3-Metiltiopropanol	1742	1725	A	CR, %	0,1	-	-	-	0,04	0,1	-	-	0,05	-	0,1
					RSD, %	5,4	-	-	-	7,1	2,7	-	-	13,9	-	1,8
73	N.I.	1762	-	O	CR, %	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
					RSD, %	-	14,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	Carvona	1767	1715	T	CR, %	-	-	-	-	0,1	-	-	0,3	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	13,6	-	-	124,5	-	-	-
75	<i>cis</i> - Óxido de linalol (pirano)	1767	1716	T	CR, %	-	0,1	0,2	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-
					RSD, %	-	10,9	8,7	-	-	-	-	-	14,1	11,1	-
76	Metoxifenil oxima	1782	-	O	CR, %	-	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1	-	0,4	0,3	0,4	0,2
					RSD, %	-	18,8	20,8	26	10,7	7,3	-	15,9	18,6	12,7	2,5
77	<i>trans</i> -Óxido de linalol (pirano)	1792	1781	T	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,02
					RSD, %	-	13,3	10,8	-	-	-	-	-	8,7	7,9	17,9
78	Citronelol	1796	1765	T	CR, %	-	0,4	0,3	-	0,1	-	-	-	0,6	0,4	-
					RSD, %	-	9,5	5,7	-	10,9	-	-	-	11,5	16,2	-
79	Nerol	1838	1819	T	CR, %	-	0,2	0,2	-	0,1	0,03	-	-	0,2	0,2	0,1
					RSD, %	-	11,3	3,4	-	10,6	8,7	-	-	12,9	13,8	3,5
80	Acetato de feniletilo	1856	1821	E	CR, %	0,1	0,2	-	0,1	0,1	-	1	-	0,2	0,1	0,1
					RSD, %	13	10,8	-	19,8	8,5	-	10,1	-	12,6	13,6	4,4
81	Geraniol	1897	1842	T	CR, %	-	0,4	0,4	-	-	-	-	-	0,4	0,3	-
					RSD, %	-	12,7	7,3	-	-	-	-	-	15,3	15,3	-
82	Dodecanoato de etilo	1903	1927	E	CR, %	0,2	0,9	0,3	-	0,1	0,2	0,5	0,6	0,4	0,1	0,1
					RSD, %	12,5	7,6	2,3	-	25,7	9,5	10,8	9,5	18,7	32,8	16,6
83	Alcohol bencílico	1927	1888	A	CR, %	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,6	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1
					RSD, %	9,8	16,1	9,2	23,4	6	4	35,1	10,1	17,1	10,3	2,2

Tabla 25. Continuación.

84	Alcohol feniletílico	1973	1892	A	CR, %	10,1	4,5	5,6	5,9	8,7	8,4	9,1	5,4	4,3	4,5	9,4
					RSD, %	5,8	8,9	1,1	18,8	6,1	4,5	9,9	9,8	11,6	10,2	2,4
85	2,6-Dimetil-3,7-octadieno-2,6-diol	2016	-	T	CR, %	-	0,8	0,8	-	-	-	-	-	0,9	0,7	-
					RSD, %	-	12,3	3	-	-	-	-	-	15,7	12,5	-
86	2,6-Dimetil-7-octeno-2,6-diol	2055	-	T	CR, %	-	0,2	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-
					RSD, %	-	14,6	1,2	-	-	-	-	-	15,5	13,6	-
87	Tetradecanoato de etilo	2157	2042	E	CR, %	0,1	0,2	0,1	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-
					RSD, %	12,2	16,5	4,9	-	-	8,1	10,3	11	16	-	-
88	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	2201	-	T	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,03	-	-
					RSD, %	-	12,5	7,9	-	-	-	-	-	3,3	-	-
89	<i>p</i> -Hidroxi- etilbenceno	2283	-	O	CR, %	0,04	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,3	-
					RSD, %	14	-	-	-	-	-	-	-	18,8	13,5	-
90	N.I.	2296	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	45	-	-	-	-
91	Hexadecanoato de etilo	2394	2255	E	CR, %	0,3	0,3	0,7	-	0,2	0,3	0,2	1,5	0,3	0,5	0,3
					RSD, %	9,2	15	6,1	-	12,3	23,9	13	5,6	12,6	11,3	11,7
92	N.I.	2420	-	O	CR, %	-	0,1	0,1	-	-	0,04	-	0,1	0,1	0,1	0,3
					RSD, %	-	3,4	9,5	-	-	10,4	-	3,5	15,3	10,8	2,4
93	N.I.	2474	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,03	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	4,3	4,5	-
94	C ₈ H ₈ O	-	-	T	CR, %	0,2	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
					RSD, %	5,9	-	-	-	10,8	10,1	7,8	8,2	11,7	3,3	13
95	N.I.	-	-	O	CR, %	0,1	-	-	-	0,04	0,1	-	0,1	-	-	-
					RSD, %	4,3	-	-	-	5,6	16,5	-	3	-	-	-

Tabla 25. Continuación.

96	Octadecanoato de etilo	-	3408	E	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	N.I.	-	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98	Linoleato de metilo	-	-	E	CR, %	0,1	0,1	0,4	-	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2	0,3	0,2
					RSD, %	6,9	15,2	4,7	-	25,3	15,2	29,8	12,1	12,7	14,8	7,4
99	N.I.	-	-	O	CR, %	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-
					RSD, %	-	-	-	-	-	-	-	-	17	-	-
100	Linoleato de etilo	-	-	E	CR, %	0,2	0,4	0,1	-	-	0,1	0,1	0,2	-	0,1	0,1
					RSD, %	22,1	12	6,2	-	-	8,4	17,9	20,2	-	8,6	2,7
	Ésteres			E		7,1	5,9	7,8	5,6	4,7	7,8	3,7	10,3	5,3	10,0	5,1
	Terpenos			T		1,7	11,5	11,5	0,2	1,3	0,6	0,5	1,1	10,4	8,6	1,1
	Alcoholes			A		87,3	79,9	73,1	83,9	86,6	84,3	91,9	84,2	71,0	70,8	85,2
	Compuestos carbonílicos			CC		1,0	2,1	2,1	1,0	1,0	0,7	1,4	2,7	1,5	1,3	2,5
	Otros			O		3,6	1,4	5,9	9,5	6,5	6,9	3,0	2,1	12,3	9,6	6,3

N.I.-No identificado.

CR-Cantidad relativa, %.

RSD-Desviación estándar relativa, %.

Exp.-Valor experimental.

Lit.-Valor reportado en la literatura.

4.4 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Como método de caracterización del pisco peruano, también, se utilizaron algunos métodos fisicoquímicos, ya que reducen el costo del análisis; por tanto, se determinaron la acidez total, la cantidad de sacarosa disuelta en la mezcla y la densidad.

En la **Tabla 26**, se presenta un resumen de las propiedades físico-químicas determinadas en las muestras de pisco.

Tabla 26. Propiedades físico-químicas de las muestras de pisco peruano.

Pisco	AV*, mL KOH/g de pisco	Contenido de azúcar*, ° Brix	Densidad*, g/mL
(1) Albilla, puro	0,272 ± 0,001	15,0 ± 0,0	0,9482 ± 0,0005
(2) Italia, mosto verde	0,25 ± 0,03	15,2 ± 0,1	0,947 ± 0,001
(3) Italia, puro	0,51 ± 0,01	15,3 ± 0,3	0,9457 ± 0,0005
(4) Mollar, puro	0,52 ± 0,01	15,0 ± 0,0	0,9548 ± 0,0004
(5) Moscatel, puro	0,26 ± 0,01	15,0 ± 0,0	0,95135 ± 0,0002
(6) Negra Criolla, puro	0,3295 ± 0,0005	15,0 ± 0,0	0,9424 ± 0,0003
(7) Quebranta, puro	0,19 ± 0,01	15,0 ± 0,0	0,9422 ± 0,0002
(8) Quebranta, mosto verde	0,23 ± 0,02	15,25 ± 0,0	0,9388 ± 0,0004
(9) Torontel, mosto verde	0,82 ± 0,02	15,25 ± 0,0	0,94365 ± 0,0004
(10) Torontel, puro	0,62 ± 0,01	15,3 ± 0,3	0,946 ± 0,0002
(11) Uvina, puro	0,47 ± 0,01	15,25 ± 0,0	0,947 ± 0,005

AV-Valor de acidez.

*Promedio ± desviación estándar (n=3).

La acidez total en las muestras de pisco, se registró debido al contenido de ácido acético y a los alcoholes, en menor influencia. Los alcoholes no son sustancias

propiamente ácidas, pero, debido a su capacidad de donar un protón, se consideran ácidos débiles.

El índice de acidez se corroboró con los resultados de la extracción con solvente (Véase **Tabla 25**), que reporta la composición química volátil y semivolátil, según los grupos funcionales y la cantidad relativa del ácido acético para cada muestra; se observó que los piscos de uva Torontel (9 y 10) presentaron mayor contenido del ácido acético (8 %) y de alcoholes (70 %) , que las otras muestras de pisco peruano (Véase **Figura 35**).

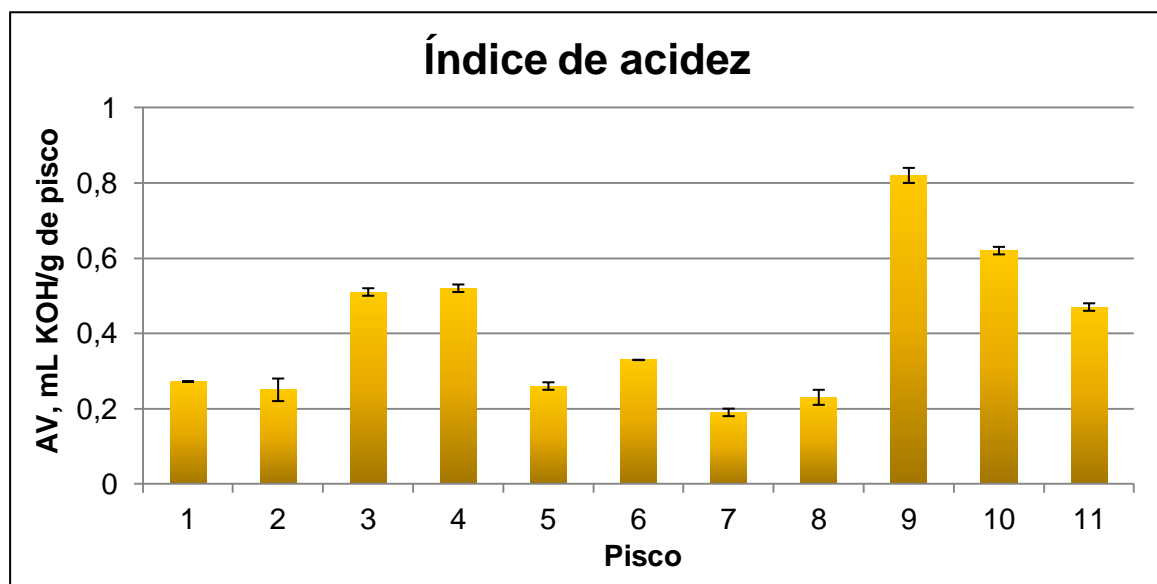


Figura 35. Índice de acidez determinado en los piscos peruanos estudiados (n=3).

El índice de refracción promedio de los piscos estudiados, se obtuvo en 15° Brix; este valor cumple con el estándar fijado por la Norma técnica peruana, para la denominación de origen [22].

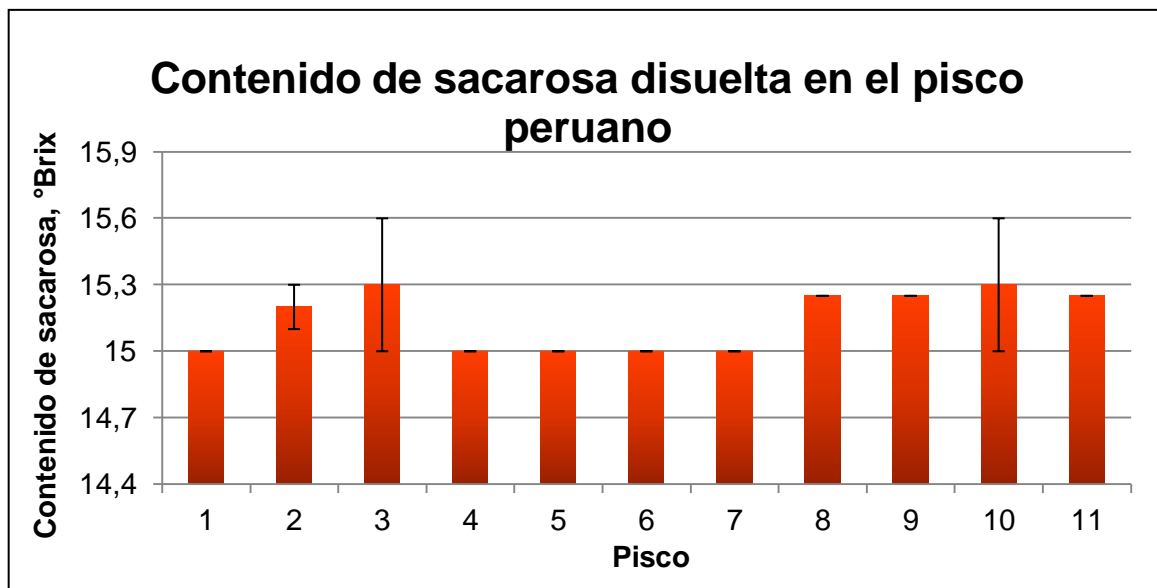


Figura 36. Contenido de sacarosa disuelta en los piscos peruanos estudiados (n=3).

De manera gráfica, se presenta el contenido total de sacarosa en la **Figura 36**: Las muestras de pisco de uva Italia, Quebranta de tipo mosto verde (2, 8) y los piscos de uva Italia y Torontel de tipo puro (3, 10), fueron los que mostraron cantidades as altas de sacarosa disuelta, ca. 15,2 y 15,3 °Brix.

Las densidades de las muestras de pisco se presentaron en la **Tabla 26**, sin embargo, son equivalentes a la densidad del agua, debido a que el pisco presenta agua (ca. 50 %) como un compuesto mayoritario, seguido del etanol (ca. 45 %) (**Figura 37**).

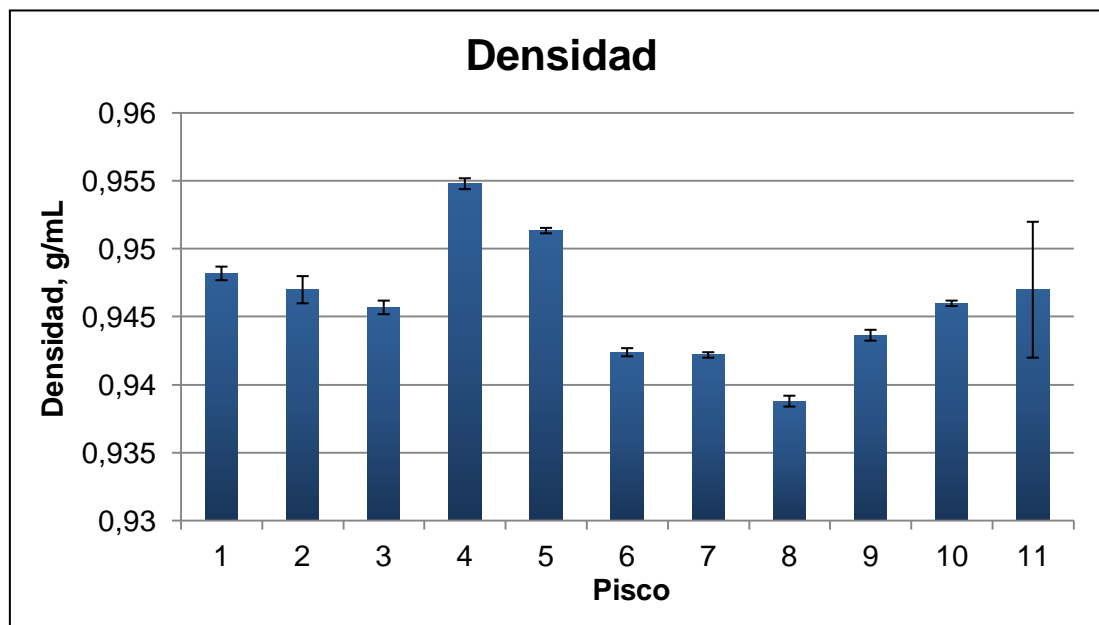


Figura 37. Densidad determinada en los piscos peruanos estudiados (n=3).

4.5 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Los resultados del análisis de las fracciones volátiles, aisladas por la HS-SPME y por la extracción con solvente, además de la determinación de las propiedades físico-químicas de los piscos, se sometieron a un análisis estadístico, para encontrar una posible clasificación de los piscos con base en su composición química y propiedades físico-químicas.

El análisis estadístico realizado fue de componentes principales (PCA). Los resultados se evaluaron con el programa de cálculo *Statistica 8* y se graficaron los factores, que presentaron mayor variación o incidencia.

El PCA realizado a las constantes físico-químicas logró diferenciar mejor las muestras de pisco, clasificándolas de acuerdo con la variedad de uva y el tipo de fermentación de cada pisco.

4.5.1 Microextracción en fase sólida

El aislamiento con la SPME, mostró como mínimo 81 sustancias en la composición química volátil del pisco, que se sometieron al análisis PCA. Cada sustancia química aislada fue reconocida como una variable. Los resultados del estudio se muestran en la **Figura 38**.

En el PCA realizado a las muestras de pisco, que se analizaron por la HS-SPME-GC-MS, se determinó, que la mayoría de las muestras presentaron una composición química similar. Sin embargo, en la **Figura 38**, se reflejaron ligeras diferencias de acuerdo con la variedad de uva y el tipo de fermentación, que se utilizó para la fabricación del pisco.

Los piscos fabricados con las variedades de uva Albilla, Italia y Torontel (1, 2 y 3, 9 y 10), presentaron diferencias considerables en composición con respecto a las demás muestras de pisco, que provienen de las variedades de uva Mollar, Moscatel, Negra Criolla, Quebranta y Uvina.

Para las variedades de piscos de uvas Italia y Torontel (3, 10), se observó una similitud en los piscos provenientes de la fermentación ininterrumpida del mosto, *i.e.*, los piscos tipo puro.

Los piscos tipo mosto verde provenientes de las uvas Albilla, Italia y Torontel (1, 2, 9), presentaron variaciones significativas entre ellas y con respecto a las demás muestras estudiadas.

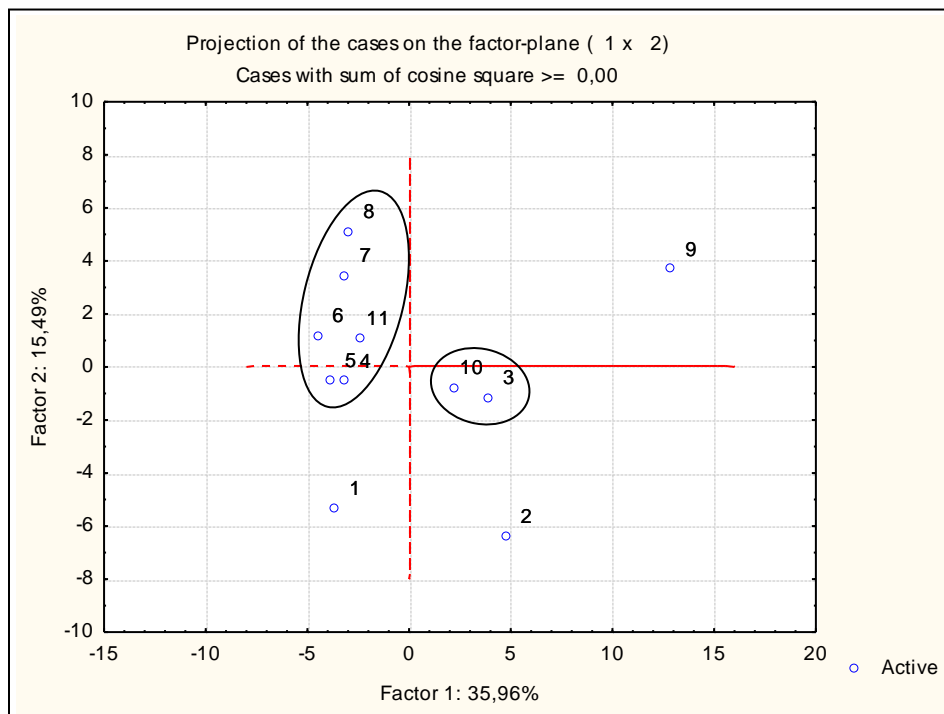


Figura 38. PCA de las fracciones volátiles de los piscos peruanos, obtenidas en la HS-SPME-GC-FID.

4.5.2 Extracción líquido-líquido

En el PCA, realizado a los compuestos químicos aislados por extracción líquido-líquido, se contempló cada compuesto químico como una variable dentro de la matriz de pisco (Véase **Figura 39**).

El análisis de componentes principales, mostró que los piscos peruanos presentaron una composición con ca. 60 % de similitud. Sin embargo, en la **Figura 39**, se observaron algunas diferencias, las cuales mostraron que la composición de los piscos fabricados con uva Italia (2, 3), Uvina (11) y Torontel (9, 10), presentaron una composición química diferente, con respecto a los demás piscos estudiados.

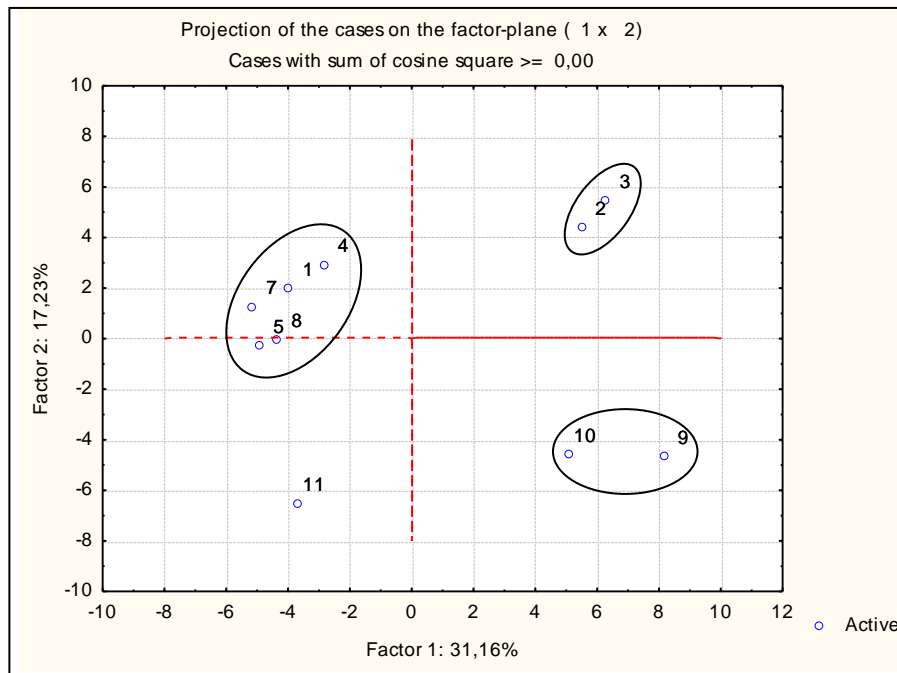


Figura 39. PCA de los extractos aislados de los piscos peruanos, usando la extracción líquido-líquido.

La diferencia en la composición de los piscos se marcó por las variedades de uvas utilizadas en su fabricación del pisco; a saber: Uvina, Italia y Torontel. La fermentación, a la cual se sometió el mosto (pisco mosto verde y puro), no influye en la composición química del producto terminado, ya que se encuentran dentro de un mismo grupo, con su respectiva variedad de uva.

El pisco de uva Negra Criolla de tipo puro (6), no se registró en el PCA realizado, puesto que la composición química aislada, no presentó una variación con respecto a los demás piscos, es decir, el pisco de uva Negra Criolla de tipo puro (6) es similar en su composición química a cualquier otra muestra de pisco, según el PCA (Véase **Figura 39**).

4.5.3 Propiedades físico-químicas

El PCA se realizó con cada propiedad físico-química, determinada como una variable dentro de la matriz de pisco (Véase **Figura 40**).

Los piscos presentaron una variación superior de 70 %, por tanto, en la **Figura 40**, se muestra una clasificación comparativa mejor, que los PCA realizados anteriormente, con la fracción volátil aislada por la HS-SPME y la extracción con solvente. Los piscos se clasificaron de acuerdo con la variedad de uva y con el tipo de fermentación.

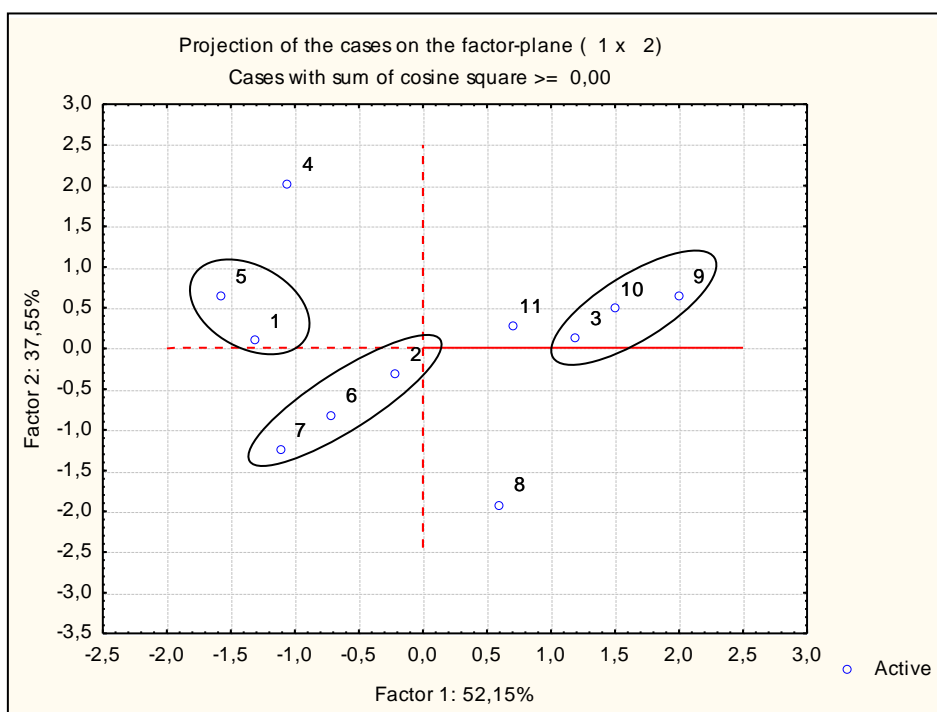


Figura 40. PCA de los resultados, basados en las propiedades físico-químicas de los piscos estudiados.

Los piscos fabricados con uva Torontel (9, 10), mostraron coincidencias, sin tener en cuenta el tipo de fermentación, al cual se sometió su mosto. Además, el pisco de uva Italia de tipo puro (3), tiene propiedades físico-químicas semejantes a los piscos de uva Torontel (9, 10).

Según el PCA, el pisco de uva Mollar de tipo puro (4) registró propiedades físico-químicas diferentes, con respecto a las demás muestras de pisco estudiadas. Los piscos fabricados con uvas Italia y Quebranta (2 y 3, 7 y 8), manifestaron variaciones en sus propiedades físico-químicas con respecto al tipo de fermentación de sus mostos (puro y mosto verde).

Los piscos de uvas Albilla y Moscatel (1 y 5), manifestaron similitudes entre sus propiedades físico-químicas, por lo cual, se encontraron dentro de un mismo grupo, en la gráfica del PCA.

Según el PCA, se pueden clasificar los piscos de tipo puro en los cuadrantes superiores, como se observó en los piscos de tipo puro de uvas Albilla, Italia, Mollar, Moscatel, Torontel y Uvina (1, 3, 4, 5, 10 y 11). Por otra parte, los piscos de tipo mosto verde, pueden clasificarse en los cuadrantes inferiores del PCA, como se observó, para los piscos de tipo mosto verde de uvas Italia y Quebranta (2 y 8).

Para algunas variedades de uvas (Quebranta y Torontel), esta clasificación puede presentar variaciones, ya que se encontró que algunos piscos procedentes de ambos tipos de fermentación y de la misma variedad de uva (7 y 8, 9 y 10), se encuentran dentro de un mismo cuadrante (superior o inferior). Por lo tanto, la clasificación no es suficientemente robusta.

4.5.4 Clasificación de los piscos basada en las técnicas utilizadas

Esta sección fue basada en los resultados obtenidos por la HS-SPME-GC-MS, extracción con solvente GC-MS y las propiedades físico-químicas de los piscos. Para el PCA, cada respuesta se tomó como una variable, *i.e.*, los compuestos químicos aislados y las propiedades físico-químicas determinadas (Véase **Figura 41**).

En la **Figura 41**, se observa cómo el tipo de fermentación del mosto, afecta la clasificación de los piscos, *i.e.*, la misma variedad de uva sometida a ambos tipos de fermentación manifestó una composición diferente en el producto destilado.

En general, los piscos estudiados de tipo puro, presentaron la menor variación, indistintamente de la variedad de uva: Albilla, Mollar, Moscatel, Negra Criolla, Quebranta y Uvina (1, 4, 5, 6, 7, 11). Solo los piscos de tipo puro de las variedades de uva Italia y Torontel (3, 10), expresaron una variación significativa con respecto a las demás muestras de pisco de tipo puro.

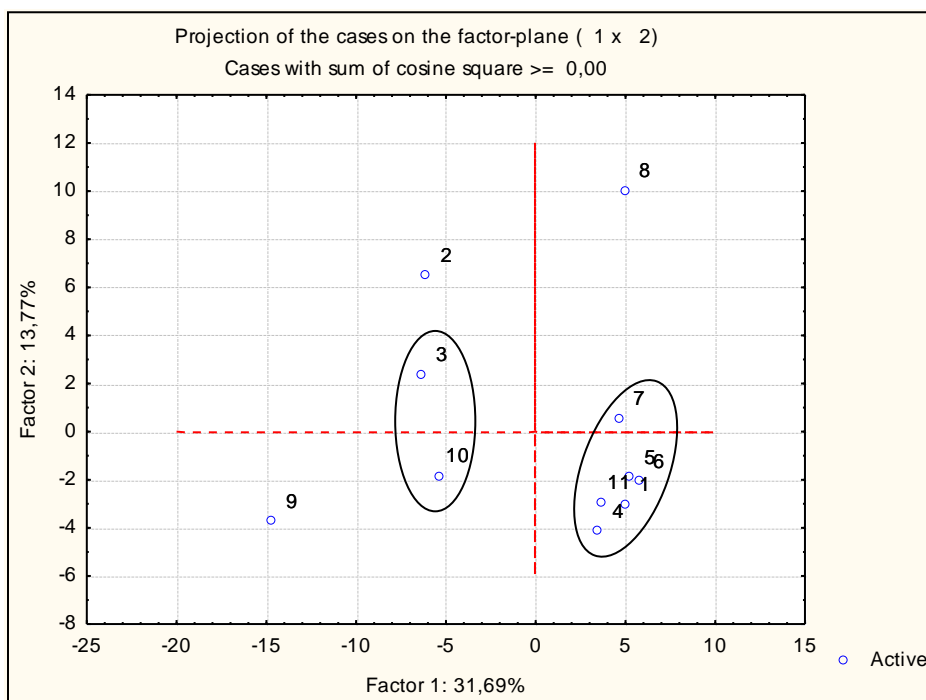


Figura 41. Análisis comparativo de componentes principales de los resultados, comparando los extractos y fracciones volátiles de los piscos aislados por extracción con solvente, HS-SPME, y las propiedades fisicoquímicas determinadas.

Los piscos de tipo mosto verde estudiados (2, 8 y 9) mostraron una variación considerable entre ellos y con respecto a las demás muestras de pisco.

Con base en el PCA comparativo, se pueden clasificar muestras problema por la variedad de uva usada para la fabricación del pisco. La **Figuras 41**, ilustra, que en el cuadrante superior izquierdo, se ubican los piscos provenientes de uva Italia, en el cuadrante inferior izquierdo, los piscos de uva Torontel y en el cuadrante superior derecho, los piscos provenientes de uva Quebranta.

La mayoría de los piscos de tipo puro se agruparon en un solo conjunto de muestras, por lo tanto, sí una muestra se aleja considerablemente del conjunto, posiblemente, se trata de un pisco de tipo mosto verde (**Figura 41**).

5. CONCLUSIONES

La fibra CAR/PDMS presentó mayor capacidad de adsorción de los compuestos volátiles presentes en piscos peruanos, que en comparación con las fibras de PDMS, PA y PDMS/DVB. Esto se debe a que los compuestos volátiles son, en su mayoría, alcoholes, ésteres y terpenos oxigenados, *i.e.*, compuestos polares.

Las mejores condiciones de extracción, determinadas para la HS-SPME, de los piscos peruanos fueron: Tiempo de equilibrio 10 min; Tiempo de exposición de la fibra 21 min; y una temperatura de 48° C. Las extracciones con la técnica de SPME se realizaron con concentraciones del etanol inferiores a 30 %v/v, debido a que concentraciones superiores promovían la saturación de la fibra.

Se aislaron 100 y 81 compuestos en total con las técnicas de extracción líquido-líquido y HS-SPME, respectivamente; se encontraron terpenos (4,4 y 0,002 %), ésteres (6,7 y 0,2%), compuestos carbonílicos (1,6 y 0,001 %) y alcoholes (80,7 y 98,9 %), en los extractos y fracciones volátiles.

Las muestras de pisco peruano se encuentran dentro de los parámetros descritos por la Norma técnica peruana para el contenido del etanol, sin embargo, el pisco de tipo mosto verde de uva Quebranta (8) contenía 35 %v/v, del etanol, lo que no aplica al rango alcohólico permitido por la NTP (38-48 %v/v); este descenso en la cantidad del etanol, posiblemente, pudo ser causado por un tiempo de destilación más corto.

Los compuestos químicos volátiles y semivolátiles del pisco se aislaron con diclorometano, empleando la extracción líquido-líquido, ya que el pisco contenía alcoholes, terpenos oxigenados y ésteres, que se solubilizan en un solvente polar.

A partir del PCA comparativo, realizado con los resultados obtenidos para la HS-SPME, la extracción líquido-líquido y para las propiedades físico-químicas, se

concluyó que, el tipo de fermentación al cual se sometió el mosto, es un factor determinante en la clasificación de los piscos peruanos.

6. RECOMENDACIONES

Durante la vendimia, fermentación y destilación, se recomienda monitorear en intervalos de tiempo con la técnica de HS-SPME, el funcionamiento de levaduras, bacterias y procesos químicos dados durante el proceso de producción del pisco peruano. Con base en los resultados obtenidos, se propondría una clasificación de la composición química volátil del pisco peruano, de acuerdo con la etapa en la cual la producción de sustancias químicas volátiles incrementa.

Para la clasificación, que se presentó de los piscos peruanos, se recomienda analizar todas las variedades de uvas, según los diferentes tipos de fermentación de pisco peruano. De esta manera, se comprueba con un análisis comparativo multivariable, que en las variedades de pisco, el tipo de fermentación es un factor influyente en la composición química.

En esta investigación se estudiaron los piscos de tipo mosto verde y puro, pero existe un tercer tipo de pisco, acholado. Se recomienda realizar el estudio de las fracciones volátiles, de pisco de tipo acholado, ya que este podría contener mayor número de sustancias volátiles, debido a la combinación de diferentes variedades de uvas para su fabricación.

Se recomienda realizar el estudio organoléptico, con catadores, para obtener información sensorial sobre el *flavour* del pisco; esto proporcionaría, con ayuda de la composición química volátil presentada en este trabajo, una clasificación de acuerdo con el gusto, por algún pisco, ya sea según su composición química o el tipo de fermentación.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. KANNER, J.; FRANKEL, E.; GRANIT, R.; GERMAN, R.; y KINSELLA, J.; Natural antioxidants in grapes and wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1994**, 42(1), pp. 64-69.
2. CONAPISCO. Comisión Nacional del Pisco. [Sitio en internet]. Disponible en: http://www.conapisco.org.pe/pdfs/libro_la_uva_y_el_pisco.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.
3. BIGONGIARI, D.; *Viñas, bodegas y vinos de América del Sur*. Buenos Aires: Editorial AUSTRAL SPECTATOR. **2005**, pp. 564-570.
4. HERRAIZ, M.; REGLERO G.; HERRAIZ, T.; y LOYOLAE, E.; Analysis of wine distillates made from muscat grapes (pisco) by multidimensional gas chromatography and mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1990**, 38(7), pp. 1540-1543.
5. REINHARD, H.; SAGER, F.; y ZOLLER, O.; Citrus juice classification by SPME-GC-MS and electronic nose measurements. *Food Science and Technology*, **2008**, 41, pp. 1906-1912.
6. SCHEPPERS, S.; *Solid phase microextraction. A practical guide*. New York: Editorial Taylor & Francis group LLC. **1999**, pp. 59-110.
7. GARCÍA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; y RUIZ, J.; Study of the effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, **2004**, 64(2), pp. 458-466.
8. KHOURY, F.; *Multistage separation processes*. Capítulo 11. Liquid-liquid extraction and supercritical extraction. Tercera edición. New York: Editorial CRC PRESS. **2005**.
9. STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J.; Algunos aspectos de la detección en cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a

- espectrometría de masas. Selectividad e identificación. *Scientia Chromatographica*, **2009**, 1(3), pp. 29-45.
10. STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J.; GC y GC-MS: configuración del equipo versus aplicaciones. *Scientia Chromatographica*, **2010**, 2(3), pp. 23-46.
 11. ALPENDURADA, M.; Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, **2000**, 889(1-2), pp 3–14.
 12. GUIOCHON. G.; GUILLEMIN. C.; *Journal of Chromatography Library. Quantitative Gas Chromatography*. Volumen 2. New York: Editorial ELSEVIER SCIENCE. **1988**, pp 18-28.
 13. Agrobanco, Área de desarrollo. Cultivo de la uva. **2008**. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.agrobanco.com.pe/pdfs/publicacionagroinforma/4_cultivo_de_la_uva.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.
 14. THIS, P.; LACOMBE, T.; y THOMAS, M.; Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Review Trends in Genetics*, **2006**, 22(9), pp. 511-519.
 15. PSZCZOLKOWSKI, P.; LATORRE, B.; y CEPPI DI LECCO, C.; Efectos de los mohos presentes en uvas cosechadas tardíamente sobre la calidad de los mostos y vinos cabernet sauvignon. *Ciencia e Investigación Agraria*, **2001**, 28(3), pp. 157-163.
 16. BOSS, P.; DAVIES, C.; y ROBINSON, S.; Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv. shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, **1996**, 111(4), pp. 1059-1066.
 17. COELHO, E.; ROCHA, S.; DELGADILLO, I.; y COIMBRA, M.; Headspace-SPME applied to varietal volatile Component evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening. *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 563(1-2), pp. 204–214.

18. CHUNXIANG, Y.; YIJU, W.; ZHENCHANG, L.; PEIGE, F.; BENHONG, W.; LIU, Y.; YOUNIAN, W.; y SHAOHUA, L.; Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC–MS. *Food Chemistry*, **2009**, 113(3), pp. 1106–1114.
19. SÁNCHEZ-PALOMO. E.; DÍAZ-MAROTO, M.; y PÉREZ-COELLO, M.; Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC–MS. *Talanta*, **2005**, 66(5), pp. 1152-1157.
20. CANUTI, V.; CONVERSANO, M.; CALZI, M.; HEYMANN, H.; MATTHEWS, M.; y EBELER, S.; Headspace solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry for profiling free volatile compounds in Cabernet Sauvignon grapes and wines. *Journal of Chromatography A*, **2009**, 1216(15), pp. 3012-3022.
21. HOWARD, A.; PIGGOTT. J.; *Fermented beverage production*. Segunda edición. New York: Editorial Plenum publishers. **2003**, pp 349-354.
22. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la propiedad intelectual (INDECOPI), *Norma técnica peruana (NTP)*, séptima edición, Lima, Perú, 2006, NTP 211.001.
23. HATTA, B.; Formación de los compuestos mayoritarios del pisco y su evaluación durante la destilación. Universidad Nacional Agraria la Molina. *Tau Alimentario*, **2006**, 2, pp. 20, 21.
24. DIÉGUEZ, S.; PEÑA, M.; y GÓMEZ, E.; Approaches to spirit aroma: contribution of some aromatic compounds to the primary aroma in samples of *orujo* spirits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, 51(25), pp.7385-7390.
25. Vino. [Sitio en Internet]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/59097407/Vino>. Acceso el 16 de julio de 2012.
26. ANTALICK, G.; PERELLO, M.; y REVEL, G.; Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine

- esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, **2010**, 121(4), pp. 1236-1245.
27. DIÉGUEZ, S.; DÍAZ, L.; LUISA, M.; DE LA PEÑA, G.; y GÓMEZ, E.; Variation of volatile organic acids in spirits during storage at low and room temperatures. *Food Science and Technology*, **2002**, 35(5), pp. 452-457.
 28. ZHONG, Z.; LI, G.; ZHU, B.; LUO, Z.; HUANG, L.; y WU, X.; A rapid distillation method coupled with ion chromatography for the determination of total sulphur dioxide in food. *Food Chemistry*, **2012**, 131, pp. 1044-1050.
 29. SIERRALTA, A.; *Negociaciones comerciales internacionales textos y casos*. Lima: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. **2005**, pp. 270-272.
 30. VERAPINTO, M.; *Elaboración de pera y derivados*. Lima: Editorial AC comunicación y publicidad SRL. **2009**, pp. 26-32.
 31. OSORIO, D.; REZ, R.; BIEGLER, L.; y AGOSIN, E.; Wine distillates: practical operating recipe formulation for stills. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2005**, 53(16), pp. 6326-6331.
 32. CHRISTOPOULOU-GEROGIANNAKI, M.; GEROGIANNAKI, I.; ANAGNOSTARTAS, E.; STAVRAKAS, D.; y POLISSIOU, M.; Identification of volatile compounds in hellenic alcoholic beverages from native white grape varieties (*Vitis vinifera L.*). *Journal of Food Technology*, **2007**, 5(3), pp. 233- 241.
 33. CONAPISCO. Comisión Nacional del Pisco. www.CONAPISCO.org.pe/index.html. Acceso el 16 de julio de 2012.
 34. PROSEN, H.; ZUPANČIČ-KRALJ, L.; Solid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*, **1999**, 18(4), pp. 272-282.
 35. ARTHUR, C.; PAWLISZYN, J.; Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, **1990**, 62(19), pp. 2145-2148.

36. PAWLISZYN, J.; PAWLISZYN, B.; y PAWLISZYN, M.; Solid phase microextraction. *The chemical educator*, **1997**, 2(4), pp. 1-7.
37. GARCÍA, D.; REICHENBÄCHER, M.; DANZER, K.; HURLBECK, C.; BARTZSCH, C.; y FELLE, K-H.; Use of solid-phase microextraction-capillary-gas chromatography (SPME-CGC) for the varietal characterization of wines by means of chemometrical method. *Journal of Analytical Chemistry*, **1998**, 360(7-8), pp. 784–787.
38. MORALES-VALLE, H.; SILVA, L.; PATERSON, R.; OLIVEIRA, J.; VENÂNCIO, A.; y LIMA, A.; Microextraction and gas chromatography/mass spectrometry for improved analysis of geosmin and other fungal “off” volatiles in grape juice. *Journal of Microbiological Methods*, **2010**, 83(1), pp. 48–52.
39. ROCHA, S.; RAMALHEIRA, V.; BARROS, A.; DELGADILLO, I.; y COIMBRA, M.; Headspace solid phase microextraction (SPME) analysis of flavor compounds in wines. effect of the matrix volatile composition in the relative response factors in a wine model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2001**, 49(11), pp. 5142-5151.
40. BICCHI, C.; IORI, C.; RUBIOLO, P.; y SANDRA, P.; Headspace sorptive extraction (HSSE), stir bar sorptive extraction (SBSE), and solid phase microextraction (SPME) applied to the analysis of roasted arabica coffee and coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50(3), pp. 449–459
41. YANG, R.; y XIE, W.; Preparation and usage of a new solid phase microextraction membrane. *Fosrensic Science International*, **2004**, 139(2-3), pp. 177–181.
42. OUYANG, G.; y PAWLISZYN, J.; SPME in environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2006**, 386(4), pp. 1059–1073.

43. PIÑERO, M.; Desarrollo de nuevos métodos de microextracción en fase sólida para la determinación de contaminantes emergentes en matrices acuosas. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Instituto de Investigaciones y Análisis Alimentarios. **2007**, pp. 75-91.
44. TAT, L.; COMUZZO, P.; STOLFO, I.; y BATTISTUTTA, F.; Optimization of wine headspace analysis by solid-phase microextraction capillary gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *Food Chemistry*, **2005**, 93(2), pp. 361-369.
45. PAWLISZYN, J.; *Solid phase microextraction. Theory and practice*. New York: Editorial Wiley-VCH. **1997**, pp. 16-110.
46. BRUNTON, N.; CRONIN, D.; MONAHAN, F.; y DURCAN, R.; A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*, **2000**, 68(3), pp. 339-345.
47. COSTA, A.; PARREIRA, C.; y VILAS-BOAS, L.; Comparison of two SPME fibers for differentiation of coffee by analysis of volatile compounds. *Chromatographia*, **2001**, 54, pp. 647-652.
48. CAZES, J.; *Encyclopedia of Chromatography*. Capítulo 212. Headspace sampler in GC. Tercera edición. New York: Editorial CRC Press. **2010**, pp. 1048-1055.
49. LYLE, F.; *Albright's chemical engineering handbook*. Capítulo 10. Liquid liquid extraction. Indiana: Editorial Albright CRC Press. **2008**, pp. 709-712.
50. RYDBERG, J.; COX, M.; MUSIKAS, C.; y CHOPPIN, G.; *Solvent extraction principles and practice, Revises and Expanded*. Capítulo 1. Introduction to solvent extraction. New York: Editorial CRC Press. **2004**.
51. GARCÍA-MARTÍN, S.; HERRERO, C.; PEÑA, R.; y BARCIELA, J.; Solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-

- GC-MS) determination of volatile compounds in orujo spirits: Multivariate chemometric characterization. *Food Chemistry*, **2010**, 118: pp. 456-461.
52. GARNER, W., BARGE, M., y USSURY, J.; *Good laboratory practice standards*. Washington: Editorial ACS Professional Reference Book. **1992**, pp. 321.
53. Hoja de seguridad MSDS, iso-butanol. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.ciaquimica.com.ar/pdf/msds/1011-ISOBUTANOL_MSDS.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.
54. PARÉS, R.; y JUÁREZ, A.; *Bioquímica de los microorganismos*. Barcelona: Editorial REVERTÉ S.A. **1997**, pp. 49.
55. FLANZY, C.; *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Segunda edición. Madrid: Editorial Mundi prensa. **2003**, pp. 660.
56. XIAO-LEI, L.; LUAN, K.; JING-JING, H.; XUE-FEI, L.; y XIANG, S.; Aroma volatile compound analysis of SPME *headspace* and extract samples from crabapple (*Malus* sp.) fruit using GC-MS. *Agricultural Sciences in China*, **2008**, 7(12), pp. 1451-1457.
57. LUKIĆ, I.; MILIČEVIĆ, B.; BANOVIĆ, M.; TOMAS, S.; RADEKA, S.; y PERŠURIĆ, Đ.; Characterization and differentiation of monovarietal grape marc distillates on the basis of varietal aroma compound composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2010**, 58, pp. 7351-7360.
58. PEÑA Y LILLO, M.; LATRILLE, E.; CASAUBON, G.; AGOSIN, E.; BORDEU, E.; y MARTIN, N.; Comparison between odour and aroma profiles of chilean pisco spirit. *Food Quality and Preference*, **2005**, 16, pp. 59-70.
59. ESCALANTE, W.; RYCHTERA, M.; MELZOCH, K.; QUILLAMA, E.; y HATTA, B.; Estudio de la actividad fermentativa de *Hansenula anomala* y producción de compuestos químicos de importancia sensorial. *Review Reviste Peruana de Biología*, **2011**, 18(3), pp. 325-334.

60. VOLOCH, M.; JANSEN, N.; LADISCH, M.; TSAO, G.; NARAYAN, R.; y RODWELL, V.; *Comprehensive biotechnology*. Capítulo 45. 2,3-Butanedio. West Lafayette: Editorial Purdue University. pp. 933-944.
61. SCHURIG, V.; Separation of enantiomers by gas chromatography. Review *Journal of Chromatography A*, **2001**, 906, pp. 275-299.
62. GÓMEZ, E.; SÁNCHEZ-PALOMO, E.; GÓMEZ, M.; y GONZÁLES-VINAS, M.; Free an bound volatile compounds as markers of typicalness of Morivia Dulce, Rojal and Tortosí red wines. *Food Chemistry*, **2012**, 131, pp. 90-98.
63. HUI, Y.; *Handbook of fruit and vegetable flavors*. Hoboken: Editorial Wiley. **2010**, pp. 363, 369, 371, 408.
64. GUASCH, J.; SUÁREZ, J.; FERREIRA, V.; TORRENS, J.; POLO, M.; y GONZÁLEZ, M.; Análisis sensorial [vino], ponencias [CS2002]. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.percepnet.com/documenta/CS02_03.pdf. **2002**, pp. 11. Acceso el 16 de julio de 2012.
65. Instituto Nacional de Higiene en el Trabajo. Documentación toxicológica para el establecimiento del límite de exposición profesional del alcohol alílico. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.insht.es/inshtweb/Contenidos/Documentacion/textosonline/Valores_Limite/Doc_Toxicologica/Ficheros/DLEP07.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.
66. Departamento de salud y servicios para personas mayores. Hoja informativa sobre sustancias peligrosas. [Sitio en Internet]. Disponible en: <http://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1330sp.pdf>. Acceso el 16 de julio de 2012.
67. CALDEIRA, I.; BRUNO DE SOUSA, R.; BELCHIOR, A.; y CLÍMACO, M.; A sensory and chemical approach to the aroma of wooden aged *Lourinhã* wine brandy. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **2008**, 23(2): pp. 97-110.

68. DUQUE, C.; y MORALES, A.; *El aroma frutal de Colombia*. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia. **2005**, pp. 18, 186, 253.
69. ETAIO, I.; PÉREZ, F.; ALBISU, M.; SALMERÓN, J.; OJEDA, M.; Y GASTÓN, E.; *Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa*. Volumen 10. Vitoria-Gasteiz: Editorial Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. **2007**, pp. 49, 54.
70. VIVAS, N.; *Manual de tonelería*. Madrid: Editorial Mundi-Prensa. **2004**, pp. 183.
71. BREITMAIER, E.; *Terpenos: flavors, fragances, pharmaca, pheromones*. Weinheim: Editorial Wiley-VCH. **2006**, pp. 12.
72. ILUCH ESSENCE. Ficha de datos de seguridad. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.iluche.com/cas/pdf/01077QQQQL_ES.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrobanco, Área de desarrollo. Cultivo de la uva. **2008**. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.agrobanco.com.pe/pdfs/publicacionagroinforma/4_cultivo_de_la_uva.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.

ALPENDURADA, M.; Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, **2000**, 889(1-2), pp 3–14.

ANTALICK, G.; PERELLO, M.; y REVEL, G.; Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, **2010**, 121(4), pp. 1236-1245.

ARTHUR, C.; PAWLISZYN, J.; Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, **1990**, 62(19), pp. 2145-2148.

BICCHI, C.; IORI, C.; RUBIOLO, P.; y SANDRA, P.; Headspace sorptive extraction (HSSE), stir bar sorptive extraction (SBSE), and solid phase microextraction (SPME) applied to the analysis of roasted arabica coffee and coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50(3), pp. 449–459

BIGONGIARI, D.; *Viñas, bodegas y vinos de América del Sur*. Buenos Aires: Editorial AUSTRAL SPECTATOR. **2005**, pp. 564-570.

BOSS, P.; DAVIES, C.; y ROBINSON, S.; Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv. shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, **1996**, 111(4), pp. 1059-1066.

BREITMAIER, E.; *Terpenos: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*. Weinheim: Editorial Wiley-VCH. **2006**, pp. 12.

BRUNTON, N.; CRONIN, D.; MONAHAN, F.; y DURCAN, R.; A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*, **2000**, 68(3), pp. 339-345.

CALDEIRA, I.; BRUNO DE SOUSA, R.; BELCHIOR, A.; y CLÍMACO, M.; A sensory and chemical approach to the aroma of wooden aged *Lourinhã* wine brandy. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **2008**, 23(2): pp. 97-110.

CANUTI, V.; CONVERSANO, M.; CALZI, M.; HEYMANN, H.; MATTHEWS, M.; y EBELER, S.; Headspace solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry for profiling free volatile compounds in Cabernet Sauvignon grapes and wines. *Journal of Chromatography A*, **2009**, 1216(15), pp. 3012-3022.

CAZES, J.; *Encyclopedia of Chromatography*. Capítulo 212. Headspace sampler in GC. Tercera edición. New York: Editorial CRC Press. **2010**, pp. 1048-1055.

CHRISTOPOULOU-GEROGIANNAKI, M.; GEROGIANNAKI, I.; ANAGNOSTARTAS, E.; STAVRAKAS, D.; y POLISSIOU, M.; Identification of volatile compounds in hellenic alcoholic beverages from native white grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Food Technology*, **2007**, 5(3), pp. 233- 241.

CHUNXIANG, Y.; YIJU, W.; ZHENCHANG, L.; PEIGE, F.; BENHONG, W.; LIU, Y.; YOUNIAN, W.; y SHAOHUA, L.; Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC–MS. *Food Chemistry*, **2009**, 113(3), pp. 1106–1114.

COELHO, E.; ROCHA, S.; DELGADILLO, I.; y COIMBRA, M.; Headspace-SPME applied to varietal volatile Component evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening. *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 563(1-2), pp. 204–214.

CONAPISCO. Comisión Nacional del Pisco. [Sitio en internet]. Disponible en: http://www.conapisco.org.pe/pdfs/libro_la_uva_y_el_pisco.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.

CONAPISCO. Comisión Nacional del Pisco. www.CONAPISCO.org.pe/index.html. Acceso el 16 de julio de 2012.

COSTA, A.; PARREIRA, C.; y VILAS-BOAS, L.; Comparison of two SPME fibers for differentiation of coffee by analysis of volatile compounds. *Chromatographia*, **2001**, 54, pp. 647-652.

Departamento de salud y servicios para personas mayores. Hoja informativa sobre sustancias peligrosas. [Sitio en Internet]. Disponible en: <http://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1330sp.pdf>. Acceso el 16 de julio de 2012.

DIÉGUEZ, S.; DÍAZ, L.; LUISA, M.; DE LA PEÑA, G.; y GÓMEZ, E.; Variation of volatile organic acids in spirits during storage at low and room temperatures. *Food Science and Technology*, **2002**, 35(5), pp. 452-457.

DIÉGUEZ, S.; PEÑA, M.; y GÓMEZ, E.; Approaches to spirit aroma: contribution of some aromatic compounds to the primary aroma in samples of *orujo* spirits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, 51(25), pp.7385-7390.

DUQUE, C.; y MORALES, A.; *El aroma frutal de Colombia*. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia. **2005**, pp. 18, 186, 253.

ESCALANTE, W.; RYCHTERA, M.; MELZUCH, K.; QUILLAMA, E.; y HATTA, B.; Estudio de la actividad fermentativa de *Hansenula anomala* y producción de compuestos químicos de importancia sensorial. Review *Reviste Peruana de Biología*, **2011**, 18(3), pp. 325-334.

ETAIO, I.; PÉREZ, F.; ALBISU, M.; SALMERÓN, J.; OJEDA, M.; Y GASTÓN, E.; *Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa*. Volumen 10. Vitoria-Gasteiz: Editorial Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. **2007**, pp. 49, 54.

FLANZY, C.; *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Segunda edición. Madrid: Editorial Mundi prensa. **2003**, pp. 660.

GARCÍA, D.; REICHENBÄCHER, M.; DANZER, K.; HURLBECK, C.; BARTZSCH, C.; y FELLE, K-H.; Use of solid-phase microextraction-capillary-gas chromatography (SPME-CGC) for the varietal characterization of wines by means of chemometrical method. *Journal of Analytical Chemistry*, **1998**, 360(7-8), pp. 784–787.

GARCÍA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; y RUIZ, J.; Study of the effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, **2004**, 64(2), pp. 458-466.

GARCÍA-MARTÍN, S.; HERRERO, C.; PEÑA, R.; y BARCIELA, J.; Solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) determination of volatile compounds in orujo spirits: Multivariate chemometric characterization. *Food Chemistry*, **2010**, 118: pp. 456-461.

GARNER, W., BARGE, M., y USSURY, J.; *Good laboratory practice standards*. Washington: Editorial ACS Professional Reference Book. **1992**, pp. 321.

GÓMEZ, E.; SÁNCHEZ-PALOMO, E.; GÓMEZ, M.; y GONZÁLES-VINAS, M.; Free an bound volatile compounds as markers of typicalness of Morivia Dulce, Rojal and Tortosí red wines. *Food Chemistry*, **2012**, 131, pp. 90-98.

GUASCH, J.; SUÁREZ, J.; FERREIRA, V.; TORRENS, J.; POLO, M.; y GONZÁLEZ, M.; Análisis sensorial [vino], ponencias [CS2002]. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.percepnet.com/documenta/CS02_03.pdf. **2002**, pp. 11. Acceso el 16 de julio de 2012.

GUIOCHON. G.; GUILLEMIN. C.; *Journal of Chromatography Library. Quantitative Gas Chromatography*. Volumen 2. New York: Editorial ELSEVIER SCIENCE. **1988**, pp 18-28.

HATTA, B.; Formación de los compuestos mayoritarios del pisco y su evaluación durante la destilación. Universidad Nacional Agraria la Molina. *Tau Alimentario*, **2006**, 2, pp. 20, 21.

HERRAIZ, M.; REGLERO G.; HERRAIZ, T.; y LOYOLAE, E.; Analysis of wine distillates made from muscat grapes (pisco) by multidimensional gas chromatography and mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1990**, 38(7), pp. 1540-1543.

Hoja de seguridad MSDS, *iso-butanol*. [Sitio en Internet]. Disponible en: <http://www.ciaquimica.com.ar/pdf/msds/1011-ISOBUTANOL MSDS.pdf>. Acceso el 16 de julio de 2012.

HOWARD, A.; PIGGOTT. J.; *Fermented beverage production*. Segunda edición. New York: Editorial Plenum publishers. **2003**, pp 349-354.

HUI, Y.; *Handbook of fruit and vegetable flavors*. Hoboken: Editorial Wiley. **2010**, pp. 363, 369, 371, 408.

ILUCH ESSENCE. Ficha de datos de seguridad. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.iluche.com/cas/pdf/01077QQQL_ES.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.

Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la propiedad intelectual (INDECOPI), *Norma técnica peruana (NTP)*, séptima edición, Lima, Perú, 2006, NTP 211.001.

Instituto Nacional de Higiene en el Trabajo. Documentación toxicológica para el establecimiento del límite de exposición profesional del alcohol alílico. [Sitio en Internet]. Disponible en: http://www.insht.es/inshtweb/Contenidos/Documentacion/textosonline/Valores_Limite/Doc_Toxicologica/Ficheros/DLEP07.pdf. Acceso el 16 de julio de 2012.

KANNER, J.; FRANKEL, E.; GRANIT, R.; GERMAN, R.; y KINSELLA, J.; Natural antioxidants in grapes and wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1994**, 42(1), pp. 64-69.

KHOURY, F.; *Multistage separation processes*. Capítulo 11. Liquid-liquid extraction and supercritical extraction. Tercera edición. New York: Editorial CRC PRESS. **2005**.

LUKIĆ, I.; MILIČEVIĆ, B.; BANOVIĆ, M.; TOMAS, S.; RADEKA, S.; y PERŠURIĆ, Đ.; Characterization and differentiation of monovarietal grape marc distillates on the basis of varietal aroma compound composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2010**, 58, pp. 7351-7360.

LYLE, F.; *Albright's chemical engineering handbook*. Capítulo 10. Liquid liquid extraction. Indiana: Editorial Albright CRC Press. **2008**, pp. 709-712.

MORALES-VALLE, H.; SILVA, L.; PATERSON, R.; OLIVEIRA, J.; VENÂNCIO, A.; y LIMA, A.; Microextraction and gas chromatography/mass spectrometry for improved analysis of geosmin and other fungal "off" volatiles in grape juice. *Journal of Microbiological Methods*, **2010**, 83(1), pp. 48–52.

OSORIO, D.; REZ, R.; BIEGLER, L.; y AGOSIN, E.; Wine distillates: practical operating recipe formulation for stills. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2005**, 53(16), pp. 6326-6331.

OUYANG, G.; y PAWLISZYN, J.; SPME in environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2006**, 386(4), pp. 1059–1073.

PARÉS, R.; y JUÁREZ, A.; *Bioquímica de los microorganismos*. Barcelona: Editorial REVERTÉ S.A. **1997**, pp. 49.

PAWLISZYN, J.; PAWLISZYN, B.; y PAWLISZYN, M.; Solid phase microextraction. *The chemical educator*, **1997**, 2(4), pp. 1-7.

PAWLISZYN, J.; *Solid phase microextraction. Theory and practice*. New York: Editorial Wiley-VCH. **1997**, pp. 16-110.

PEÑA Y LILLO, M.; LATRILLE, E.; CASAUBON, G.; AGOSIN, E.; BORDEU, E.; y MARTIN, N.; Comparison between odour and aroma profiles of chilean pisco spirit. *Food Quality and Preference*, **2005**, 16, pp. 59-70.

PIÑERO, M.; Desarrollo de nuevos métodos de microextracción en fase sólida para la determinación de contaminantes emergentes en matrices acuosas. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Instituto de Investigaciones y Análisis Alimentarios. **2007**, pp. 75-91.

PROSEN, H.; ZUPANČIČ-KRALJ, L.; Solid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*, **1999**, 18(4), pp. 272-282.

PSZCZOLKOWSKI, P.; LATORRE, B.; y CEPPI DI LECCO, C.; Efectos de los mohos presentes en uvas cosechadas tardíamente sobre la calidad de los mostos

y vinos cabernet sauvignon. *Ciencia e Investigación Agraria*, **2001**, 28(3), pp. 157-163.

REINHARD, H.; SAGER, F.; y ZOLLER, O.; Citrus juice classification by SPME-GC-MS and electronic nose measurements. *Food Science and Technology*, **2008**, 41, pp. 1906-1912.

ROCHA, S.; RAMALHEIRA, V.; BARROS, A.; DELGADILLO, I.; y COIMBRA, M.; Headspace solid phase microextraction (SPME) analysis of flavor compounds in wines. effect of the matrix volatile composition in the relative response factors in a wine model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2001**, 49(11), pp. 5142-5151.

RYDBERG, J.; COX, M.; MUSIKAS, C.; y CHOPPIN, G.; *Solvent extraction principles and practice, Revoices and Expanded*. Capítulo 1. Introduction to solvent extraction. New York: Editorial CRC Press. **2004**.

SÁNCHEZ-PALOMO. E.; DÍAZ-MAROTO, M.; y PÉREZ-COELLO, M.; Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. *Talanta*, **2005**, 66(5), pp. 1152-1157.

SCHEPPERS, S.; *Solid phase microextraction. A practical guide*. New York: Editorial Taylor & Francis group LLC. **1999**, pp. 59-110.

SCHURIG, V.; Separation of enantiomers by gas chromatography. Review *Journal of Chromatography A*, **2001**, 906, pp. 275-299.

SIERRALTA, A.; *Negociaciones comerciales internacionales textos y casos*. Lima: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. **2005**, pp. 270-272.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J.; Algunos aspectos de la detección en cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de

masas. Selectividad e identificación. *Scientia Chromatographica*, **2009**, 1(3), pp. 29-45.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J.; GC y GC-MS: configuración del equipo versus aplicaciones. *Scientia Chromatographica*, **2010**, 2(3), pp. 23-46.

TAT, L.; COMUZZO, P.; STOLFO, I.; y BATTISTUTTA, F.; Optimization of wine headspace analysis by solid-phase microextraction capillary gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *Food Chemistry*, **2005**, 93(2), pp. 361-369.

THIS, P.; LACOMBE, T.; y THOMAS, M.; Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Review Trends in Genetics*, **2006**, 22(9), pp. 511-519.

VERAPINTO, M.; *Elaboración de pera y derivados*. Lima: Editorial AC comunicación y publicidad SRL. **2009**, pp. 26-32.

Vino. [Sitio en Internet]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/59097407/Vino>. Acceso el 16 de julio de 2012.

VIVAS, N.; *Manual de tonelería*. Madrid: Editorial Mundi-Prensa. **2004**, pp. 183.

VOLOCH, M.; JANSEN, N.; LADISCH, M.; TSAO, G.; NARAYAN, R.; y RODWELL, V.; *Comprehensive biotechnology*. Capítulo 45. 2,3-Butanedio. West Lafayette: Editorial Purdue University. pp. 933-944.

XIAO-LEI, L.; LUAN, K.; JING-JING, H.; XUE-FEI, L.; y XIANG, S.; Aroma volatile compound analysis of SPME *headspace* and extract samples from crabapple (*Malus* sp.) fruit using GC-MS. *Agricultural Sciences in China*, **2008**, 7(12), pp. 1451-1457.

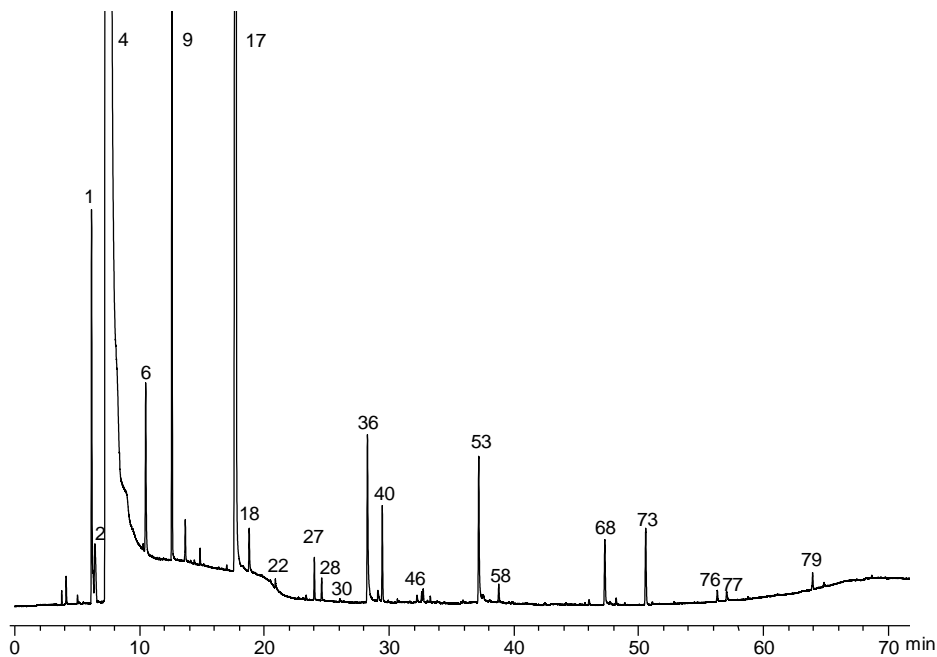
YANG, R.; y XIE, W.; Preparation and usage of a new solid phase micro-extraction membrane. *Fosrensic Science International*, **2004**, 139(2-3), pp. 177–181.

ZHONG, Z.; LI, G.; ZHU, B.; LUO, Z.; HUANG, L.; y WU, X.; A rapid distillation method coupled with ion chromatography for the determination of total sulphur dioxide in food. *Food Chemistry*, **2012**, 131, pp. 1044-1050.

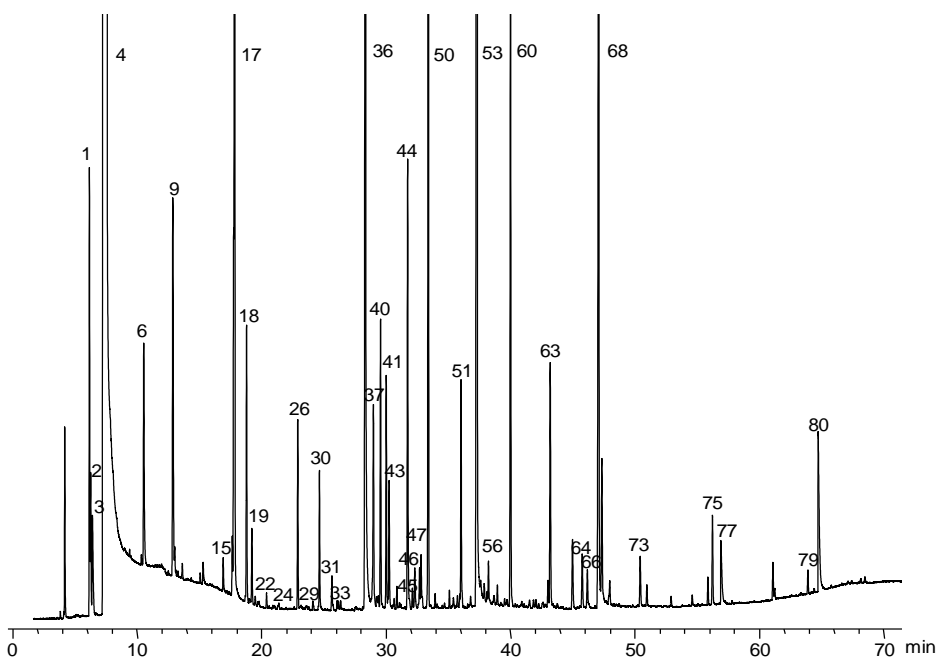
ANEXOS

ANEXO 1. Cromatogramas obtenidos por HS-SPME-GC-FID, de las muestras de pisco peruanos estudiadas.

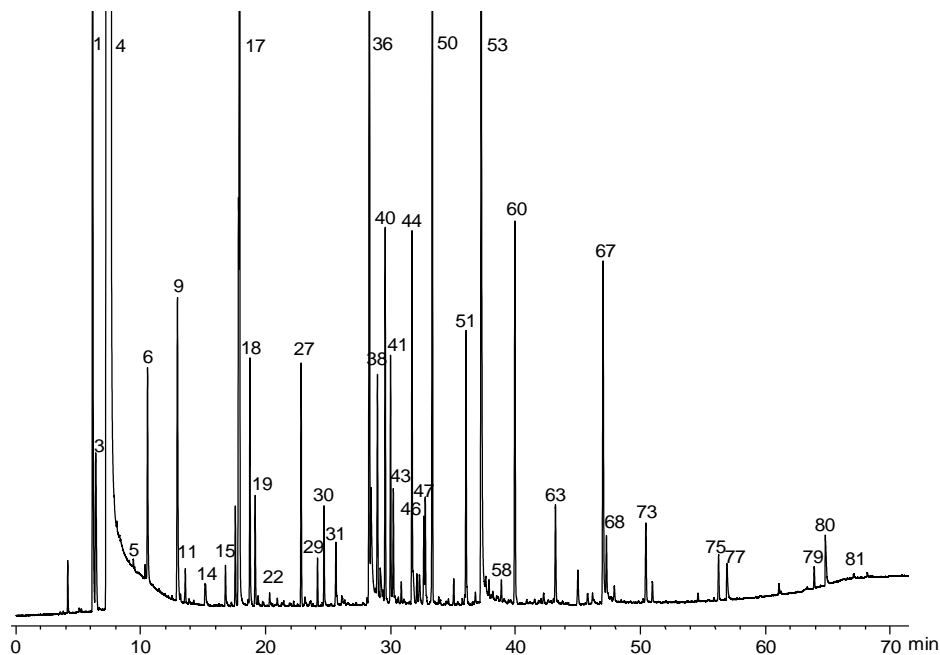
Anexo 1 - Figura 1. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Albilla, de tipo puro (1). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



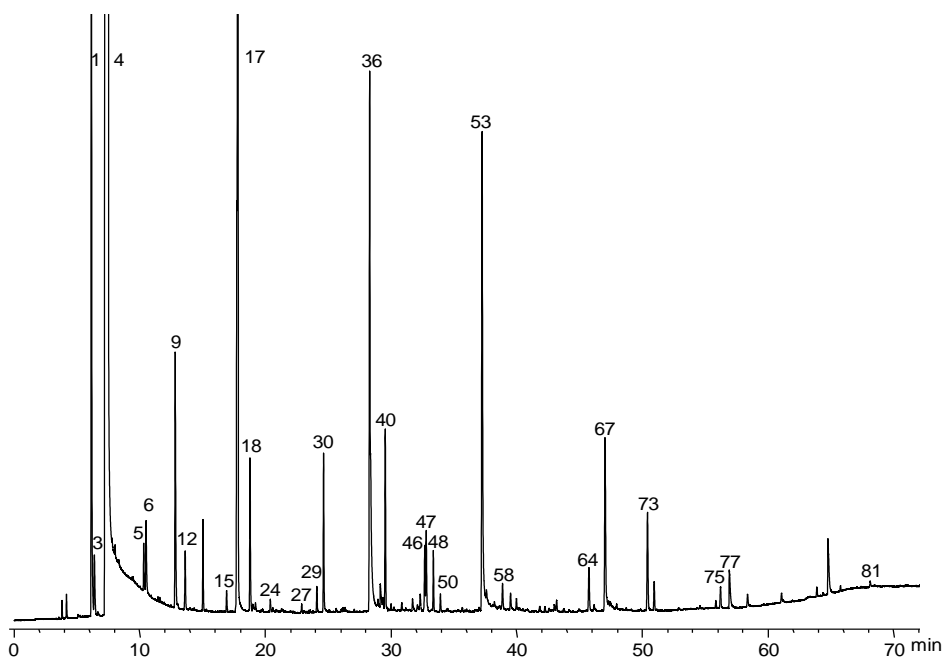
Anexo 1 - Figura 2. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Italia, de tipo mosto verde (2). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



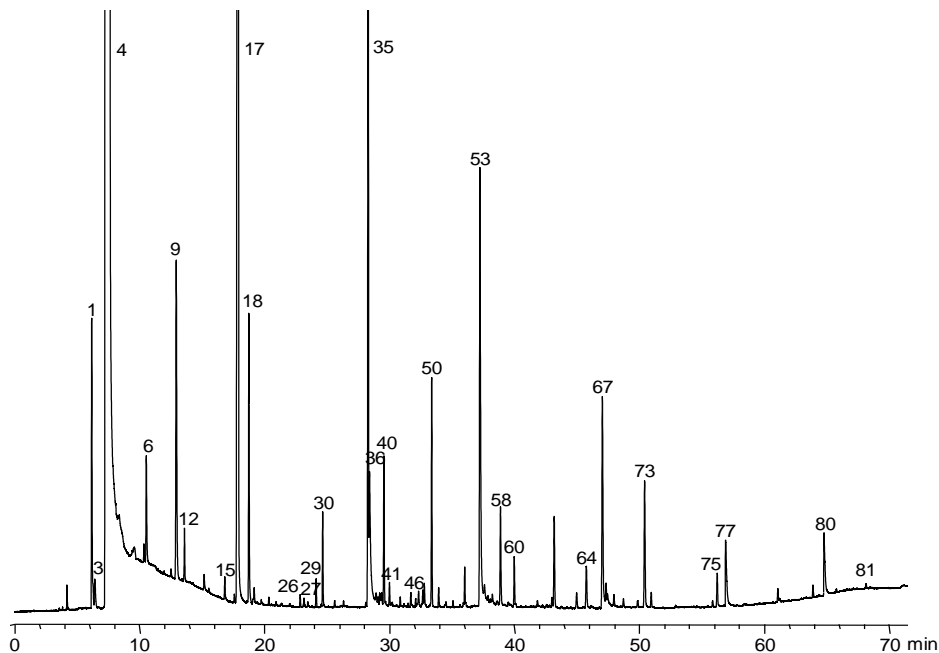
Anexo 1 - Figura 3. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Italia, de tipo puro (3). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



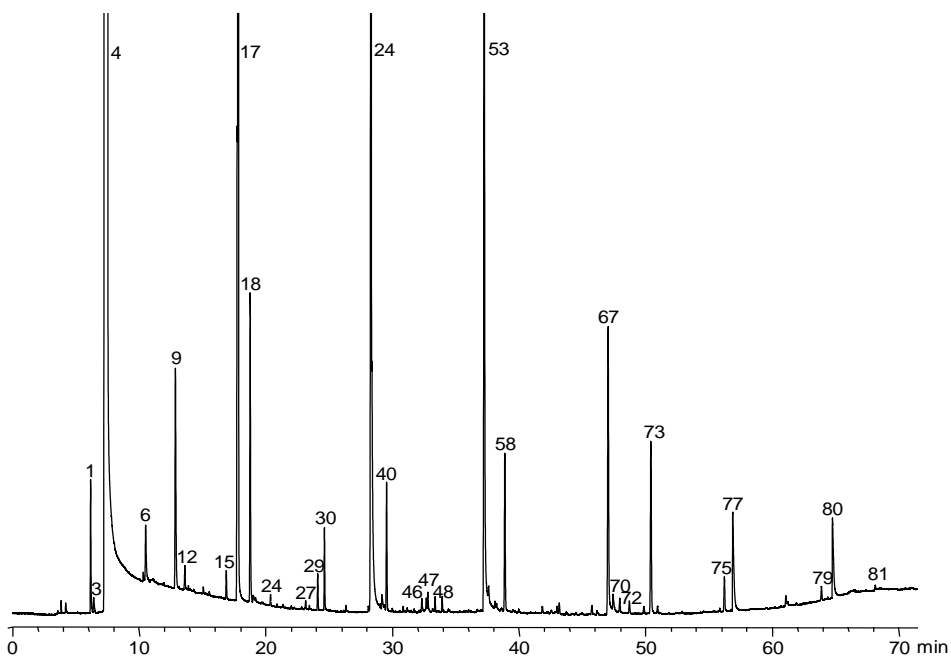
Anexo 1 - Figura 4. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Mollar, de tipo puro (4). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



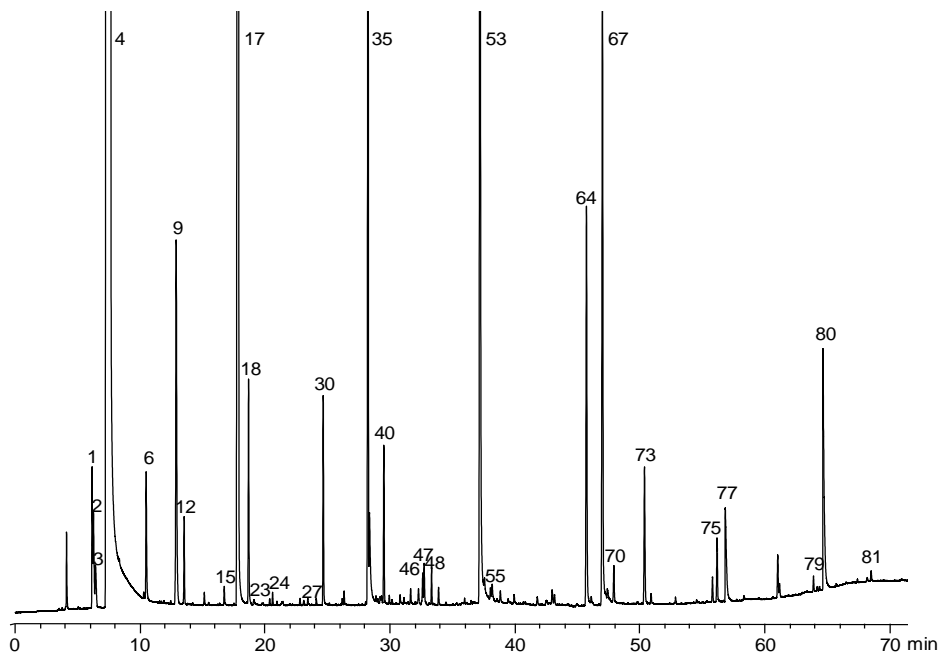
Anexo 1 - Figura 5. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Moscatel, de tipo puro (5). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



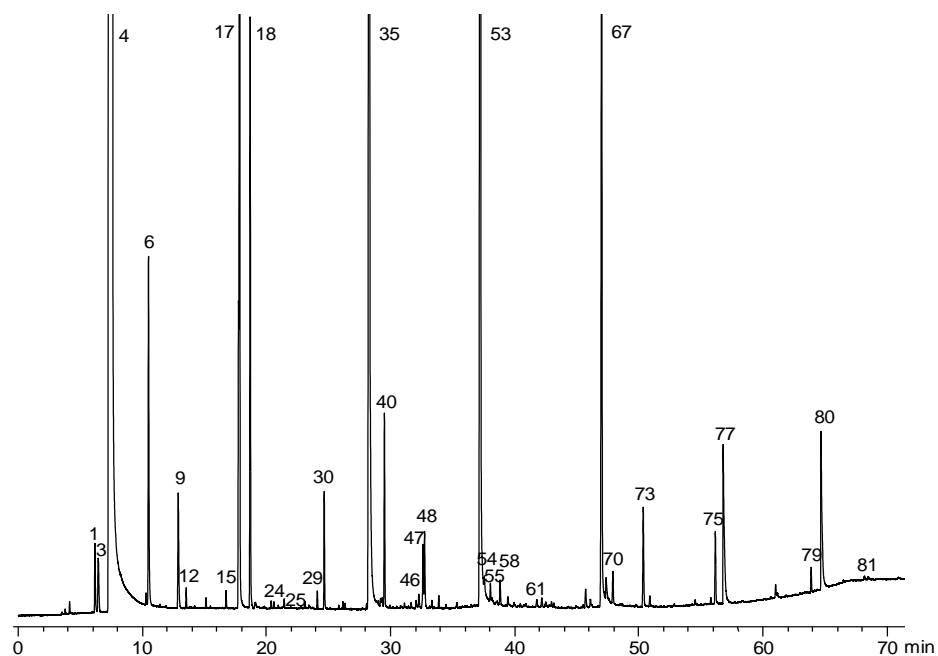
Anexo 1 - Figura 6. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Negra Criolla, de tipo puro (6). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



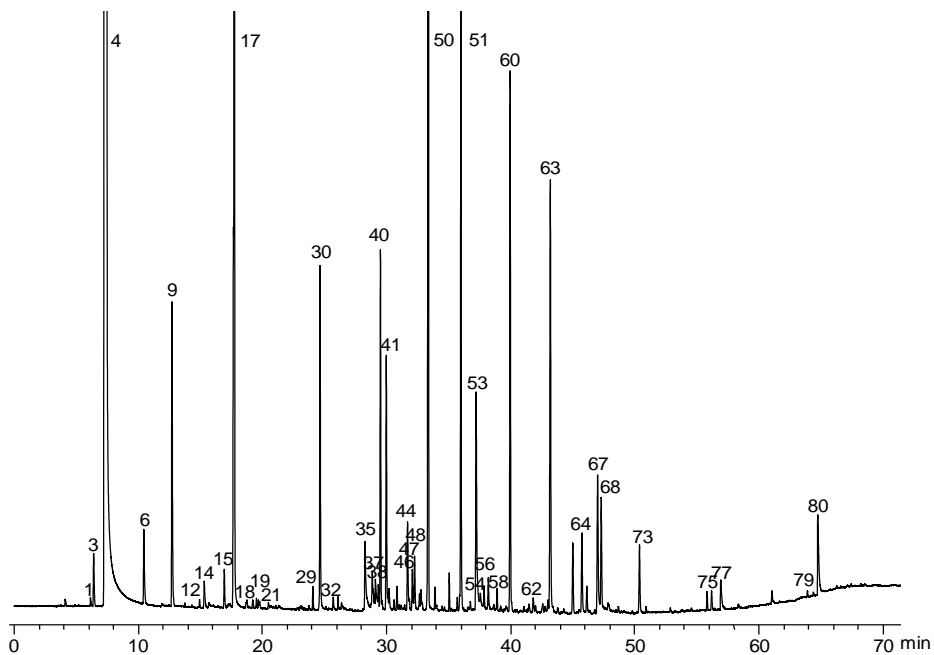
Anexo 1 - Figura 7. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenido por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Quebranta, de tipo puro (7). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



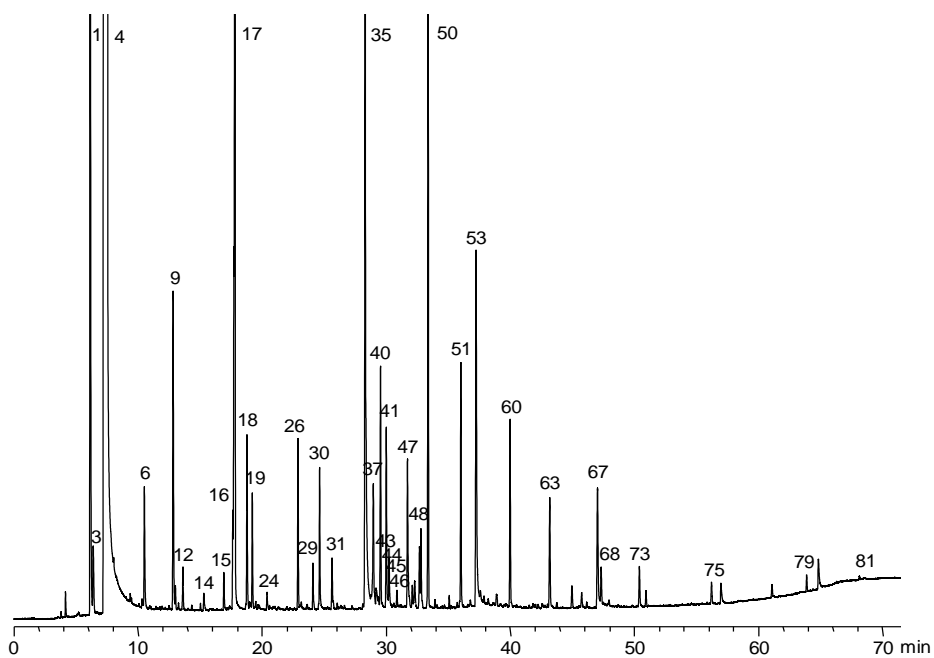
Anexo 1 - Figura 8. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Quebranta, de tipo mosto verde (8). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



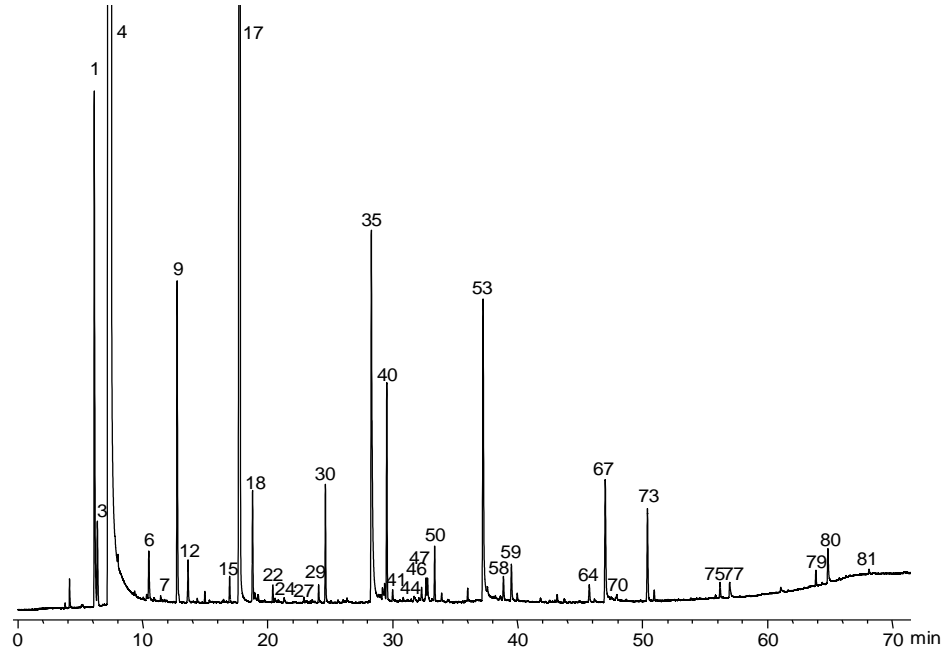
Anexo 1 - Figura 9. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenido por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Torontel, de tipo mosto verde (9). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.



Anexo 1 - Figura 10. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Torontel, de tipo puro (10). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.

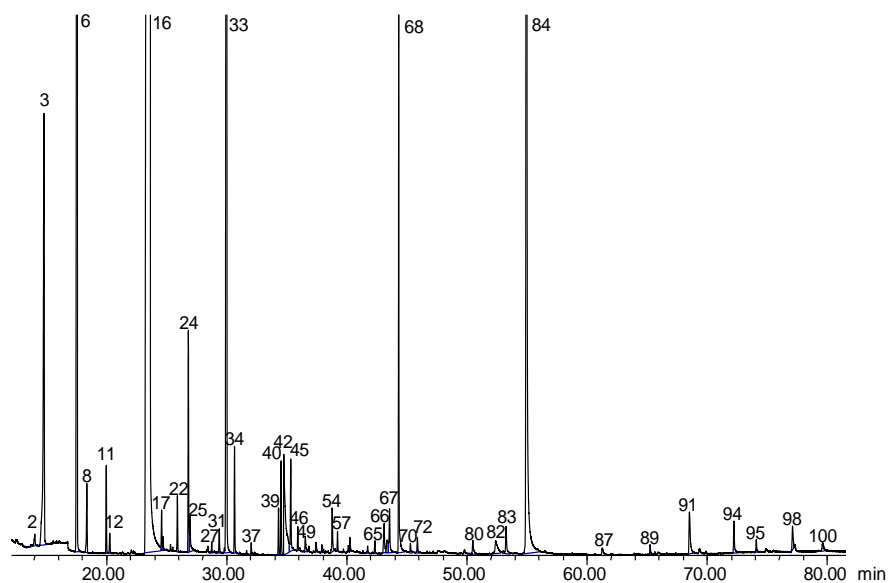


Anexo 1 - Figura 11. Perfil cromatográfico de la fracción volátil, obtenida por HS-SPME-GC-FID, del pisco de uva Uvina, de tipo puro (11). Columna DB-WAX (60 m). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 19**.

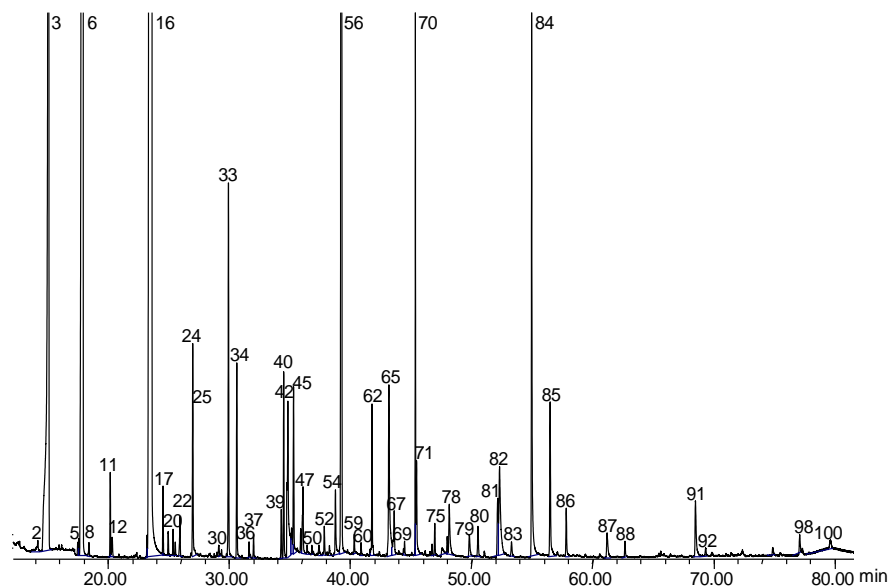


ANEXO 2. Cromatogramas obtenidos por extracción líquido-líquido GC-MS, de las muestras de pisco peruanos estudiadas.

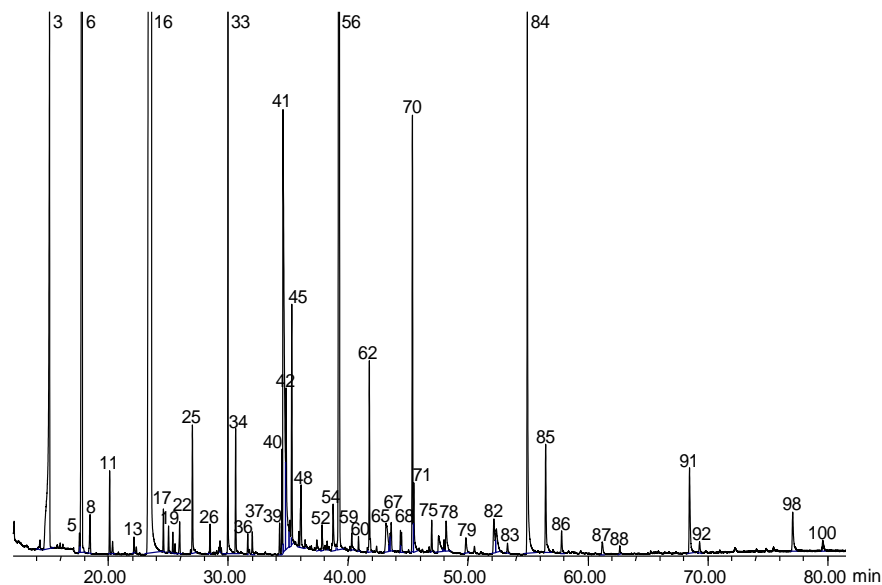
Anexo 2 - Figura 1. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Albilla, de tipo puro (1). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.



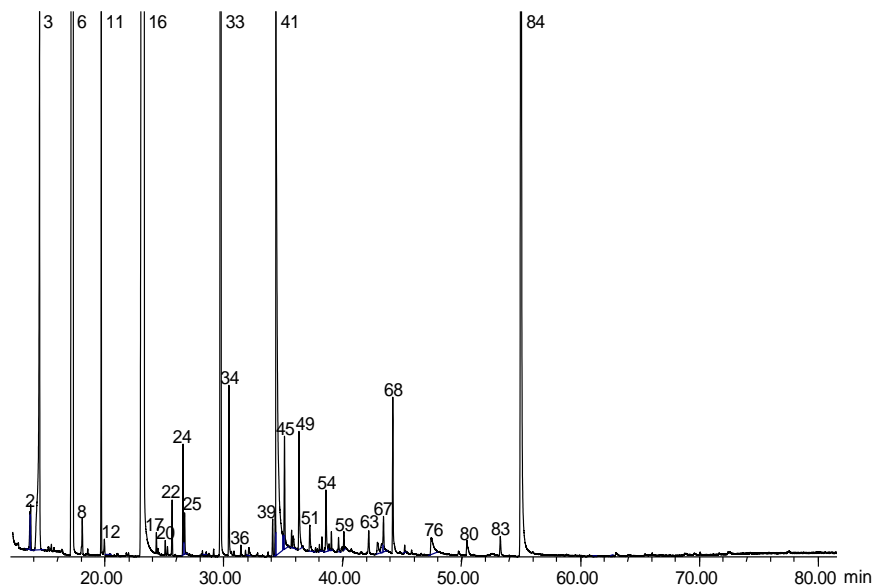
Anexo 2 - Figura 2. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Italia, de tipo mosto verde (2). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.



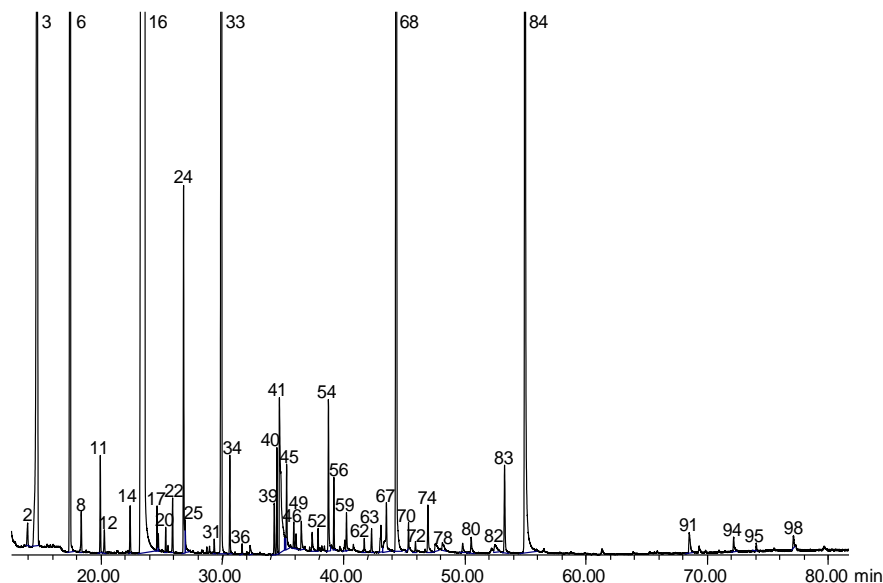
Anexo 2 - Figura 3. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Italia, de tipo puro (3). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25.**



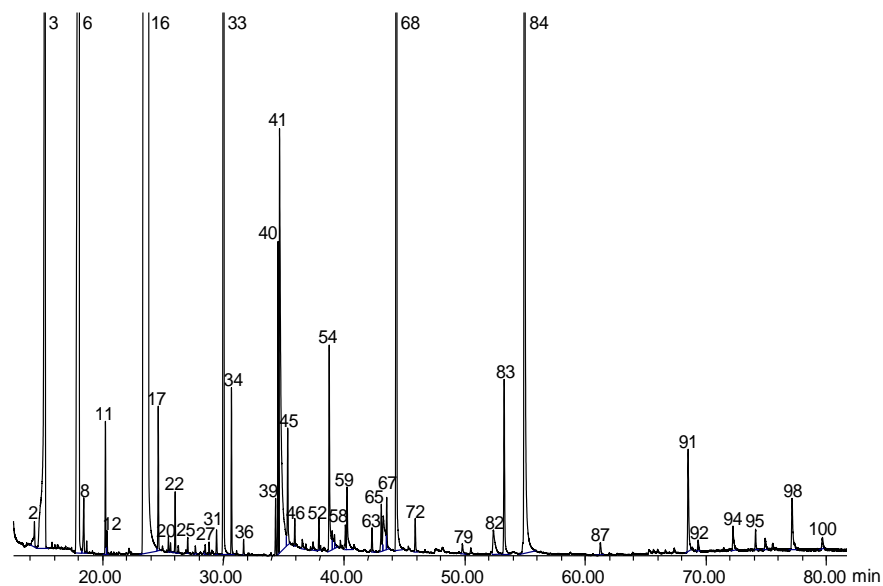
Anexo 2 - Figura 4. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Mollar, de tipo puro (4). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25.**



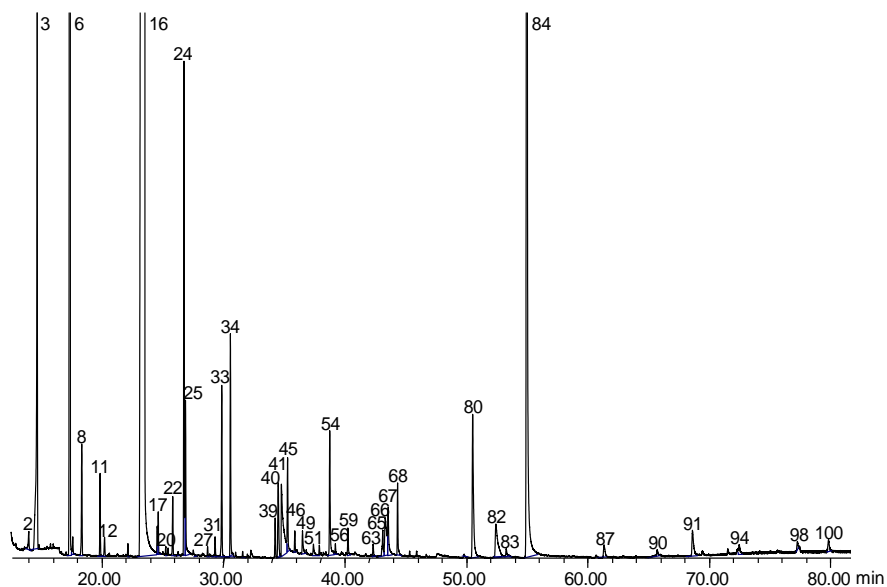
Anexo 2 - Figura 5. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Moscatel, de tipo puro (5). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.



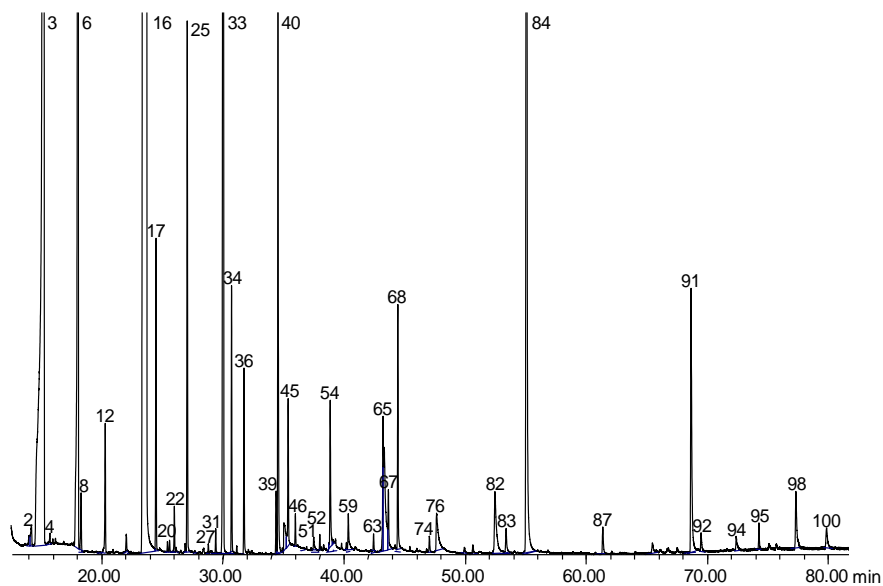
Anexo 2 - Figura 6. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Negra Criolla, de tipo puro (6). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.



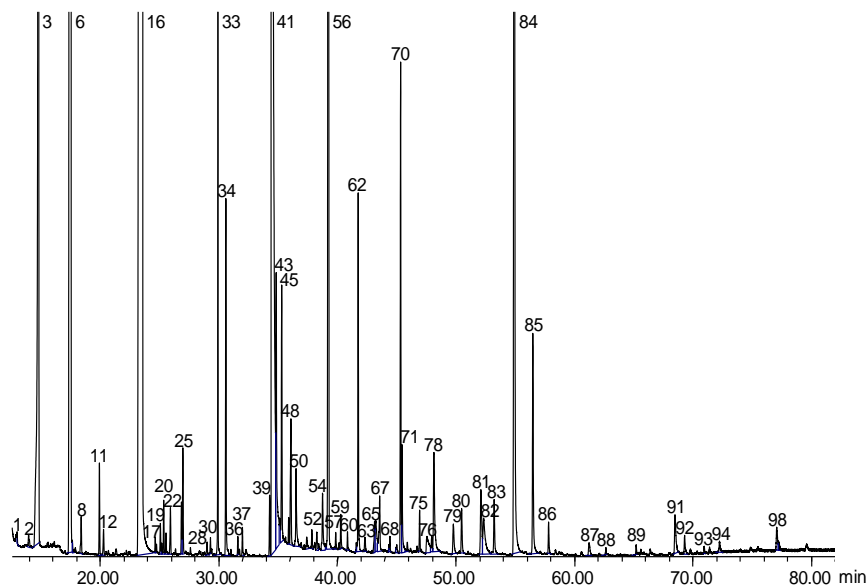
Anexo 2 - Figura 7. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Quebranta, de tipo puro (7). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.



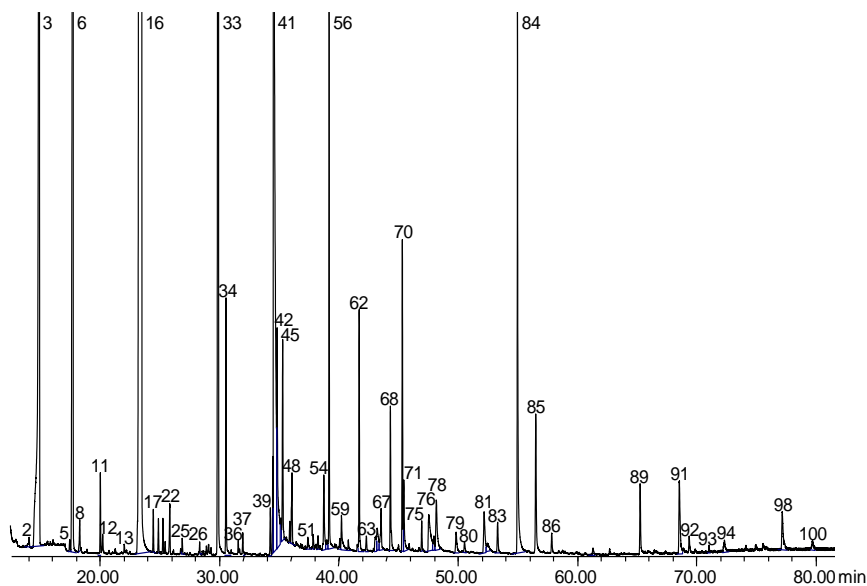
Anexo 2 - Figura 8. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Quebranta, de tipo mosto verde (8). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.



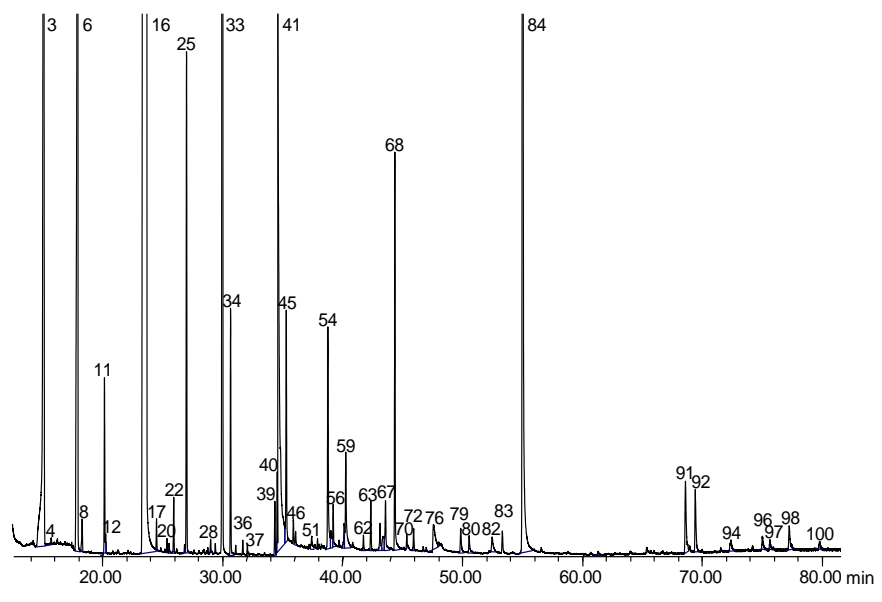
Anexo 2 - Figura 9. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Torontel, de tipo mosto verde (9). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.



Anexo 2 - Figura 10. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Torontel, de tipo puro (10). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.

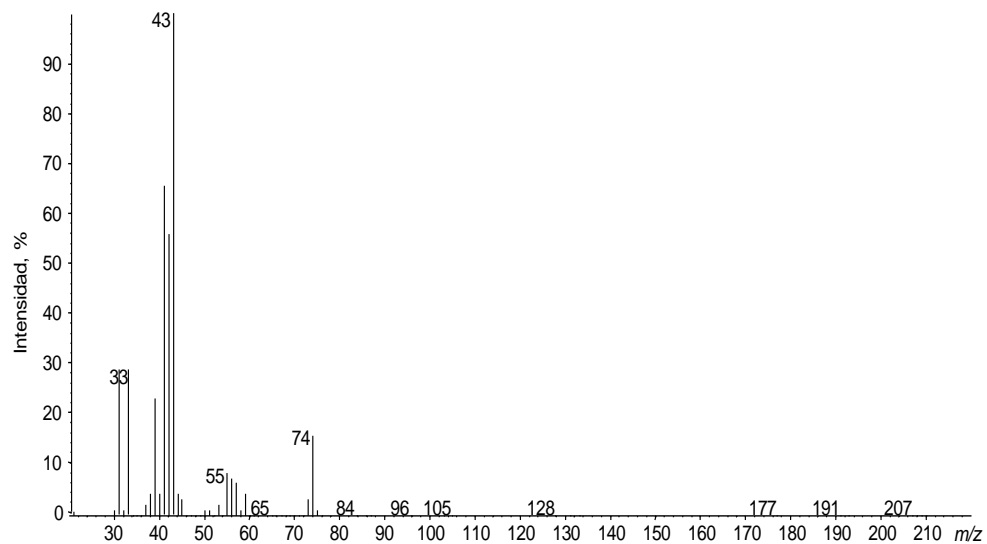


Anexo 2 - Figura 11. Perfil cromatográfico del extracto obtenido por extracción líquido-líquido, del pisco de uva Uvina, de tipo puro (11). Columna DB-WAX (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 25**.

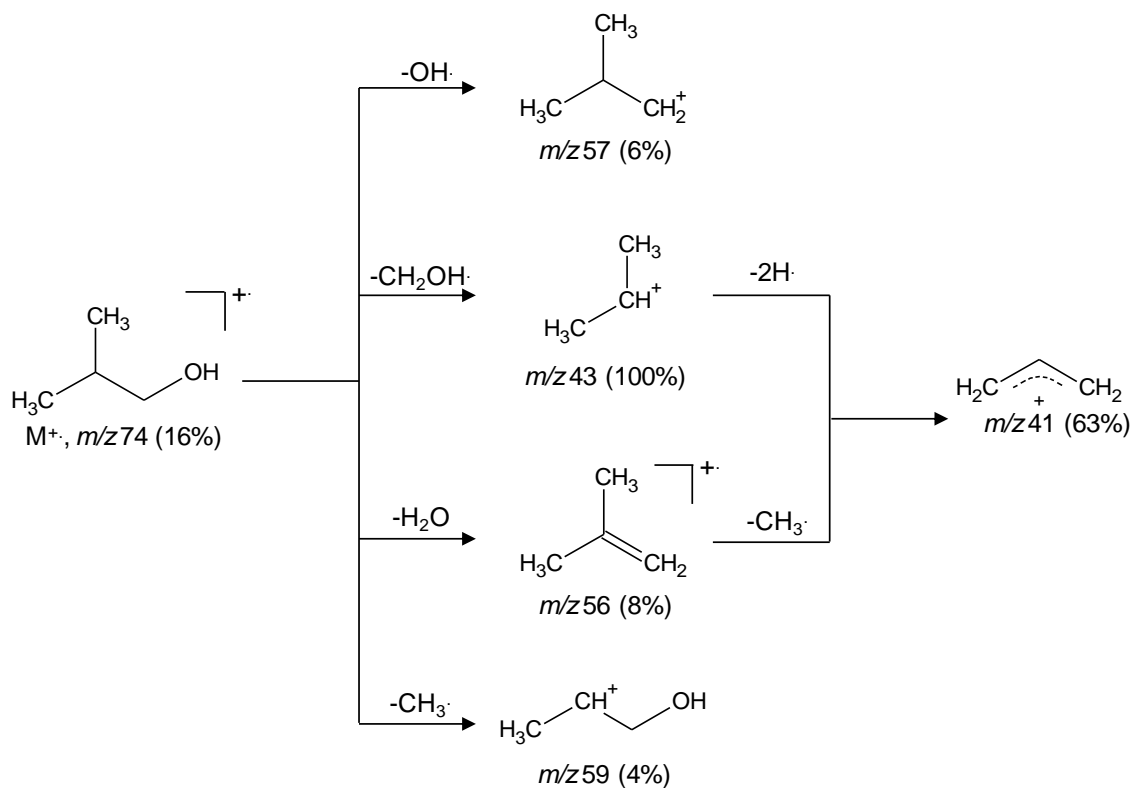


ANEXO 3. Espectros de masas de algunos compuestos encontrados en los piscos peruanos estudiados y sus rutas de fragmentación.

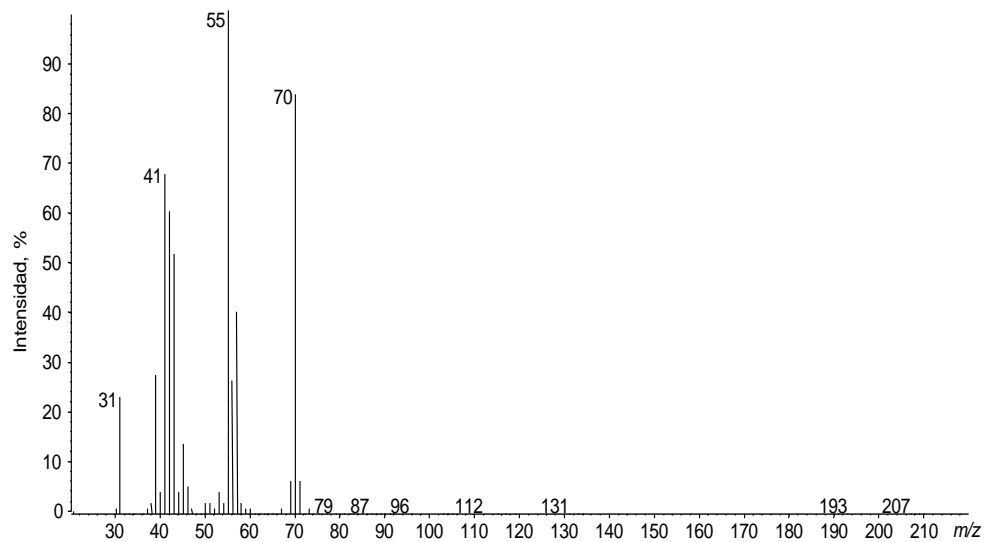
Anexo 3 - Figura 1. Espectro de masas del *iso*-butanol (EI, 70 eV).



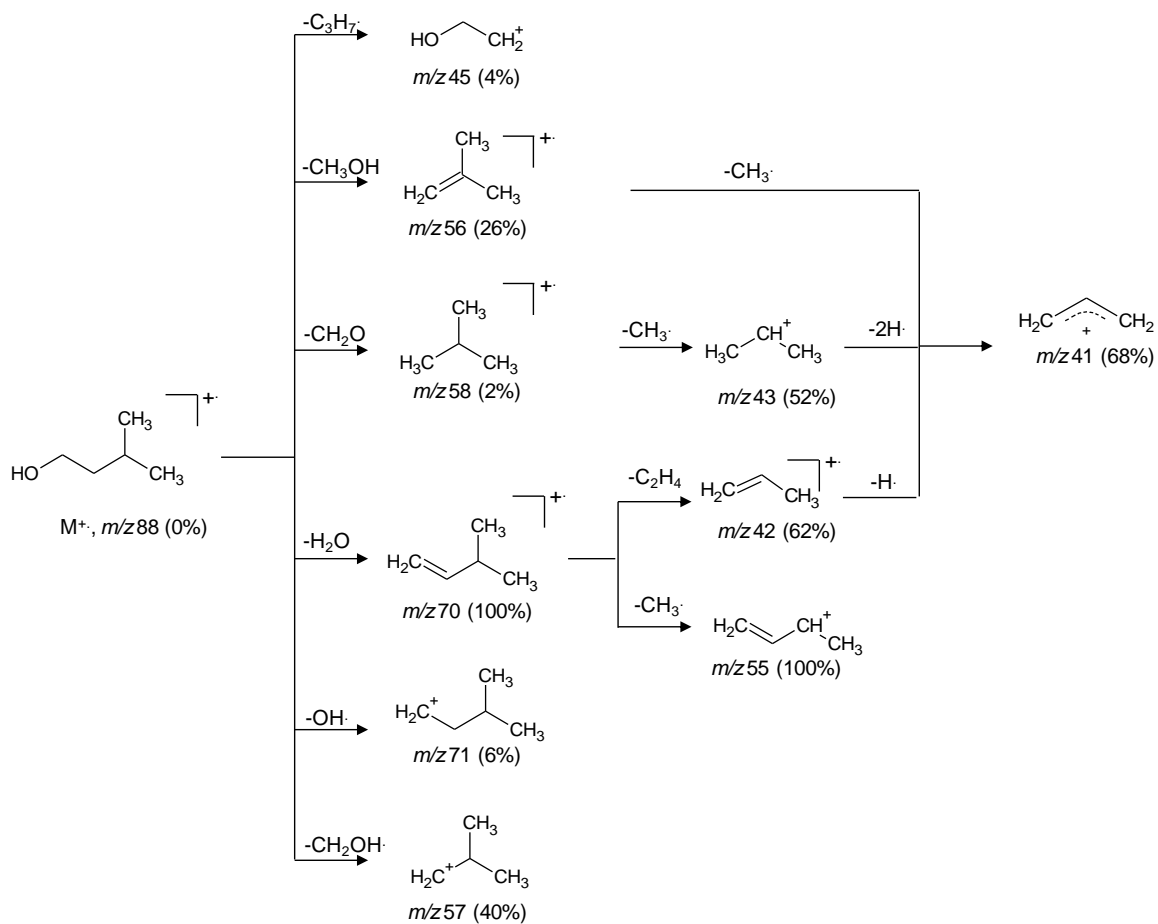
Esquema 1. Posibles rutas de fragmentación del *iso*-butanol.



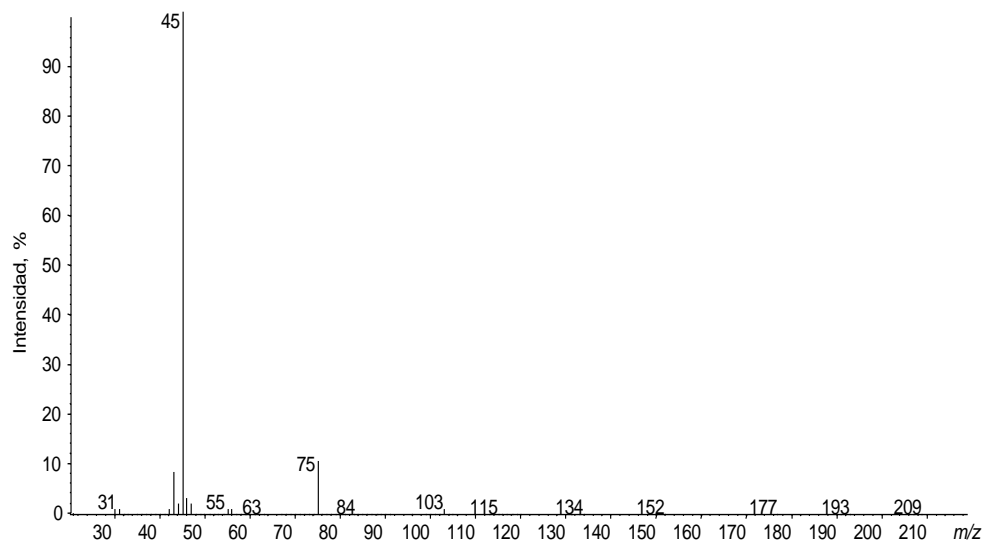
Anexo 3 - Figura 2. Espectro de masas del alcohol *iso*-amílico (EI, 70 eV).



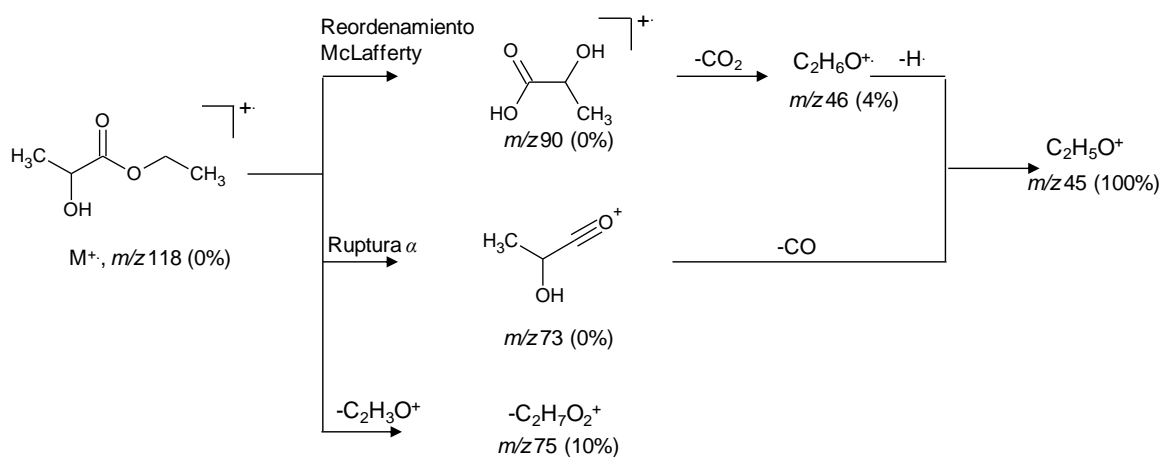
Esquema 2. Posibles rutas de fragmentación del alcohol *iso*-amílico.



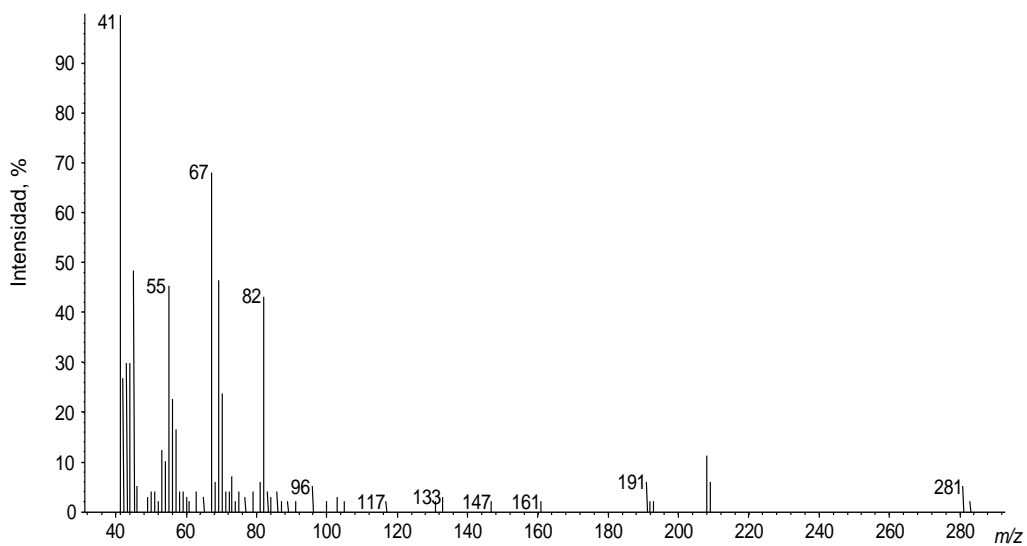
Anexo 3 - Figura 3. Espectro de masas del lactato de etilo (EI, 70 eV).



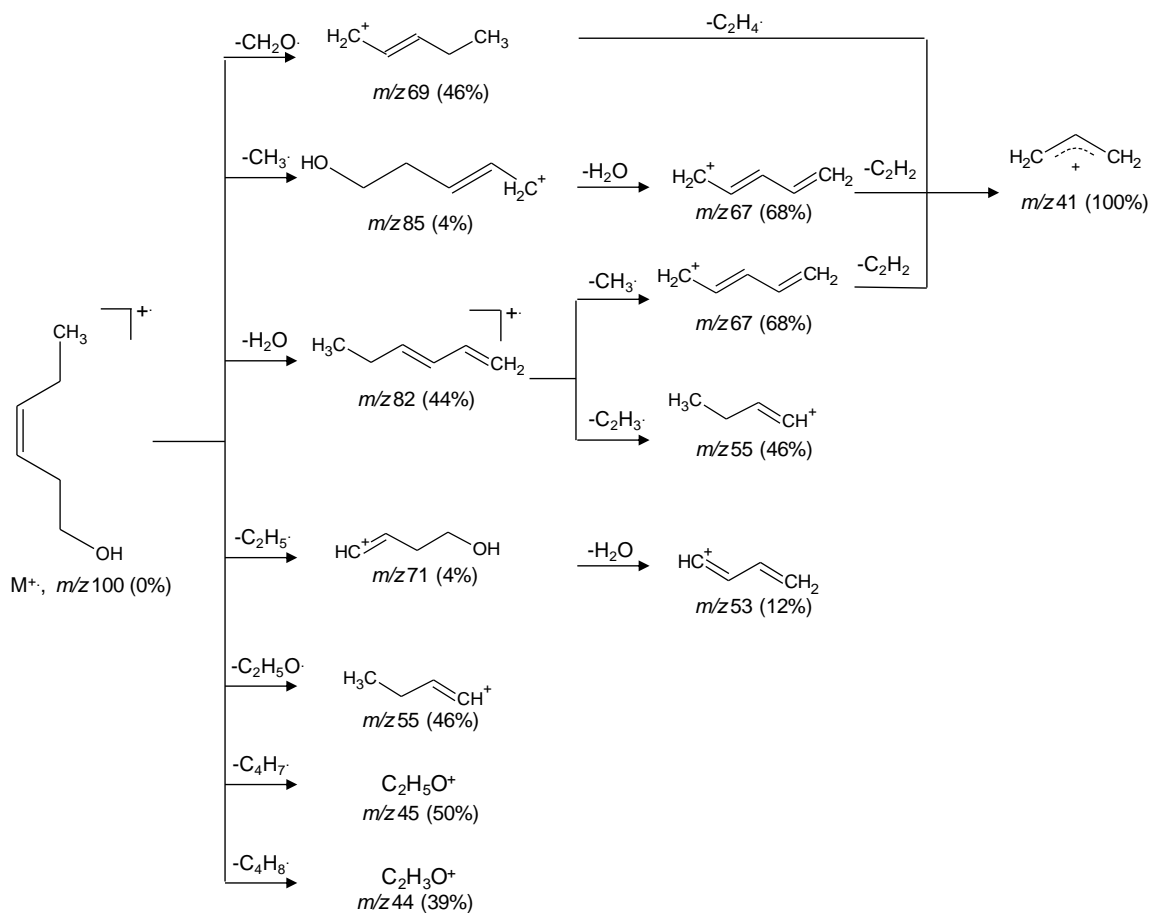
Esquema 3. Posibles rutas de fragmentación del lactato de etilo.



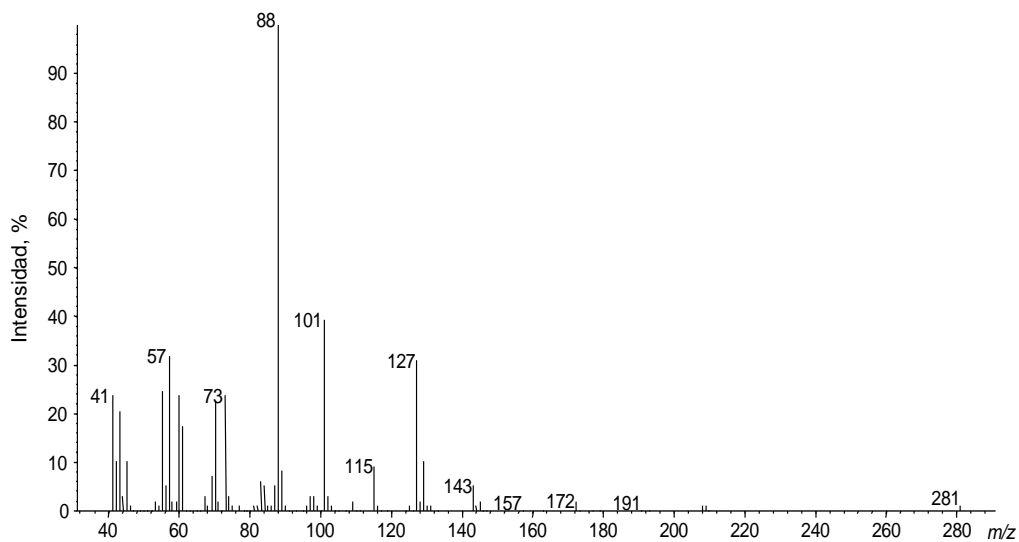
Anexo 3 - Figura 4. Espectro de masas del *cis*-3-hexenol (EI, 70 eV).



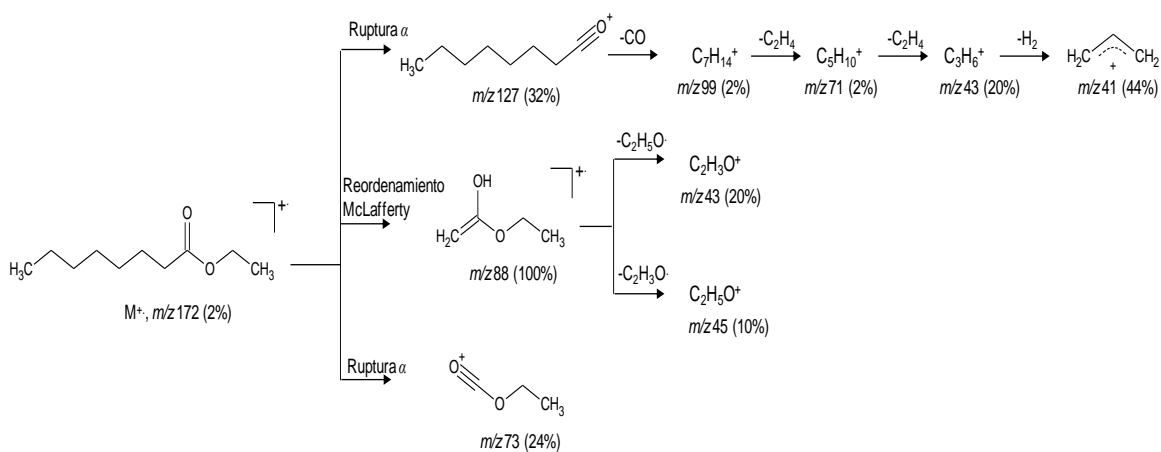
Esquema 4. Posibles rutas de fragmentación del *cis*-3-hexenol.



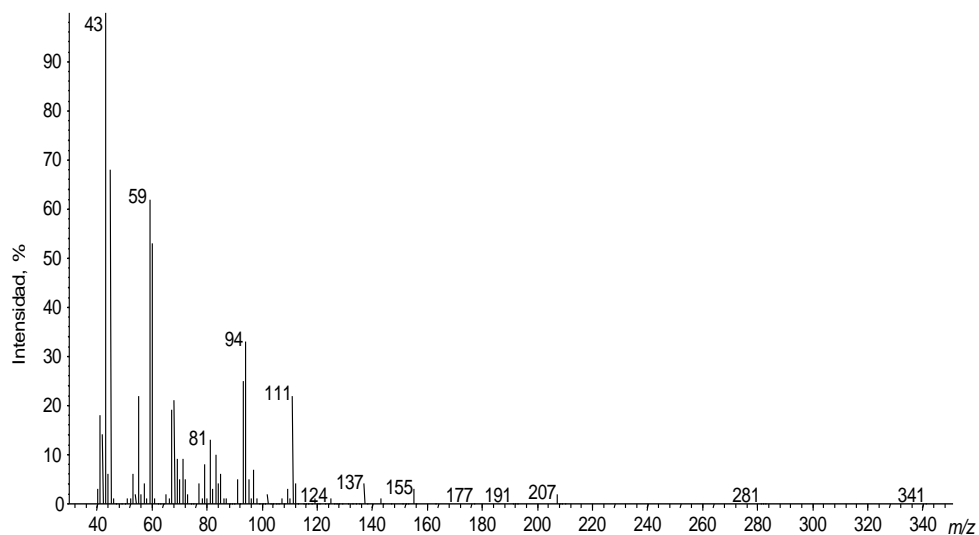
Anexo 3 - Figura 5. Espectro de masas del octanoato de etilo (EI, 70 eV).



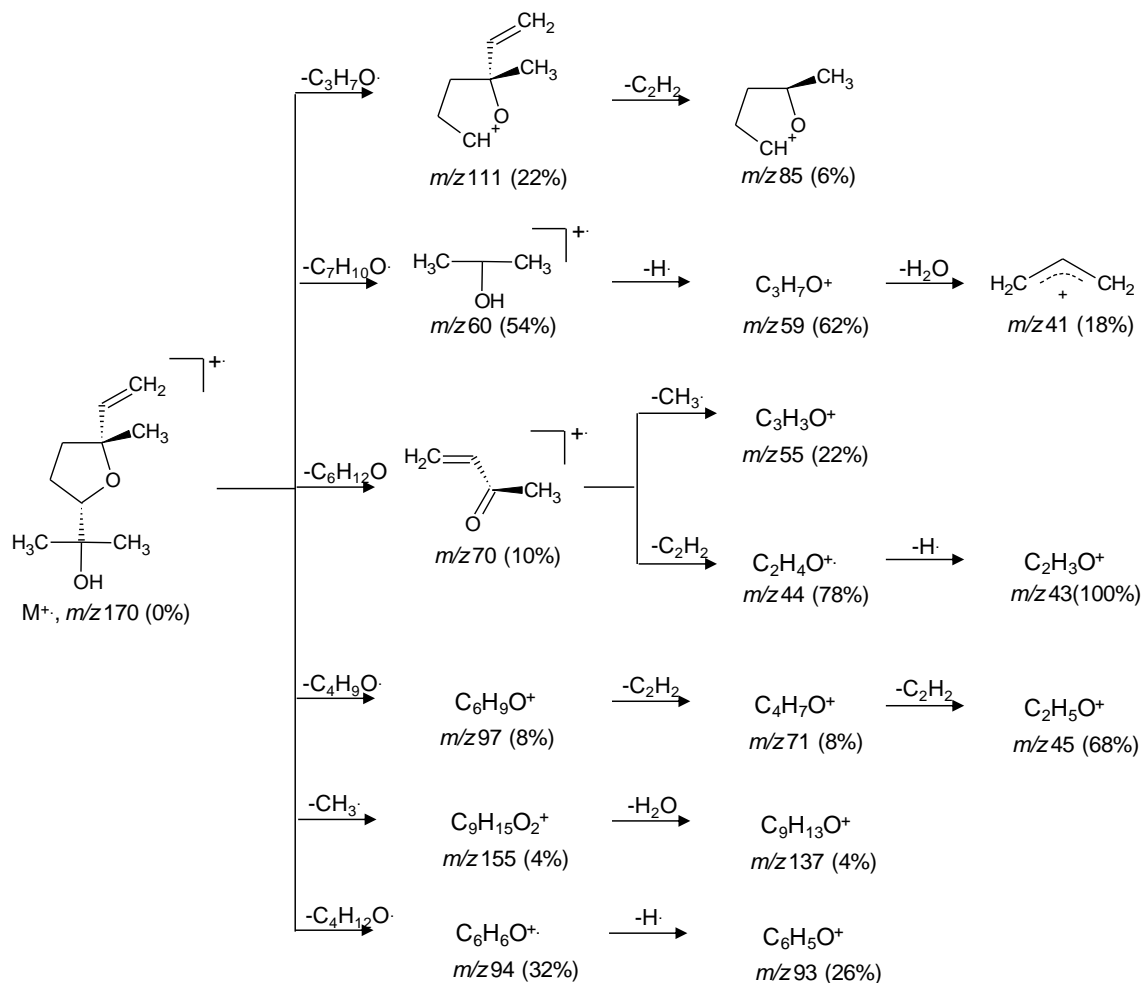
Esquema 5. Posibles rutas de fragmentación del octanoato de etilo.



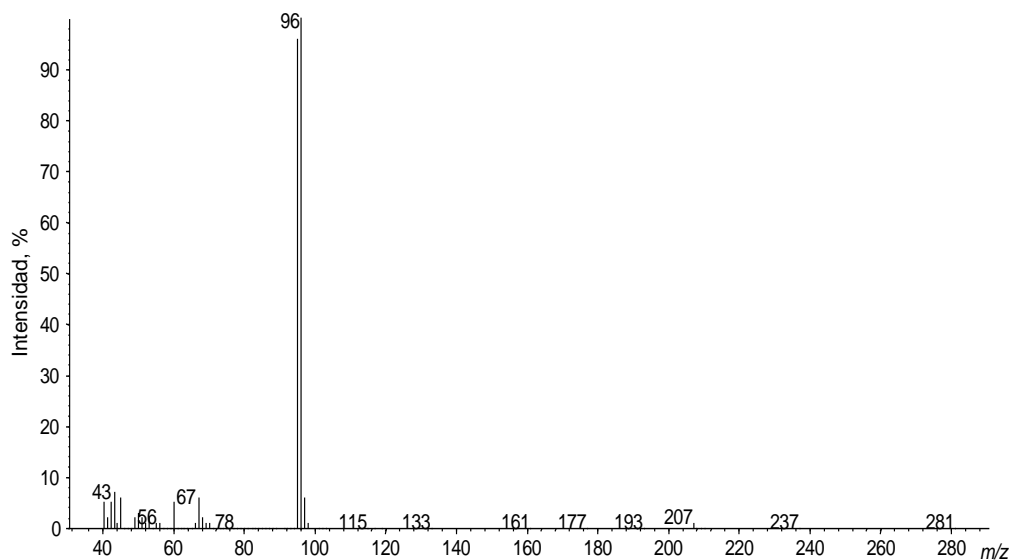
Anexo 3 - Figura 6. Espectro de masas del *cis*-óxido de linalol, furano (EI, 70 eV).



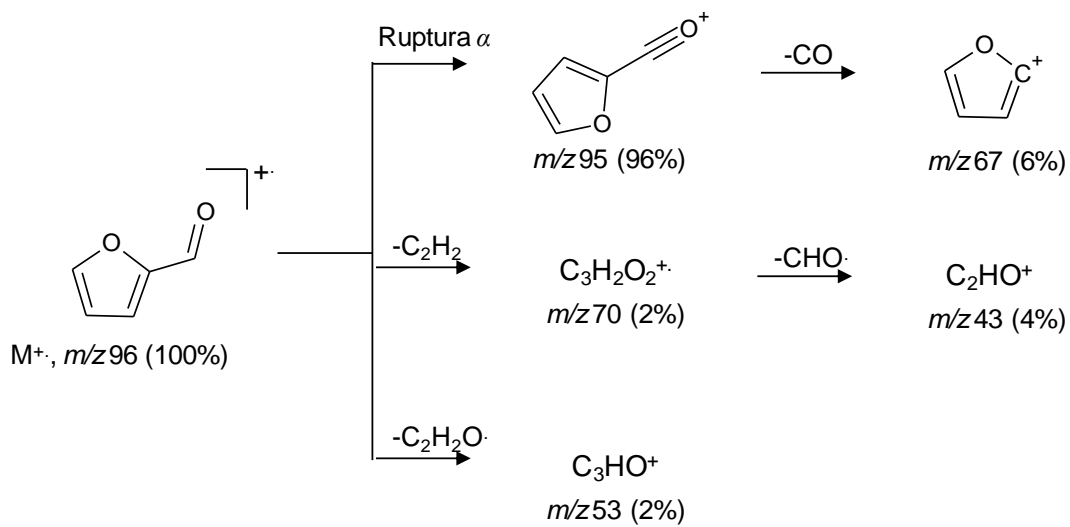
Esquema 6. Posibles rutas de fragmentación del *cis*-óxido de linalol, furano.



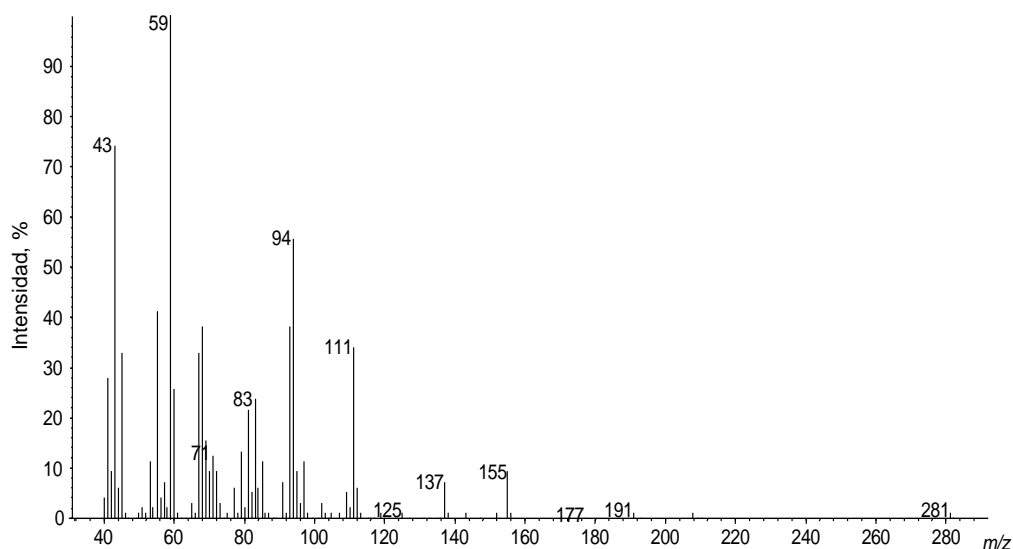
Anexo 3 - Figura 7. Espectro de masas del furfural (EI, 70 eV).



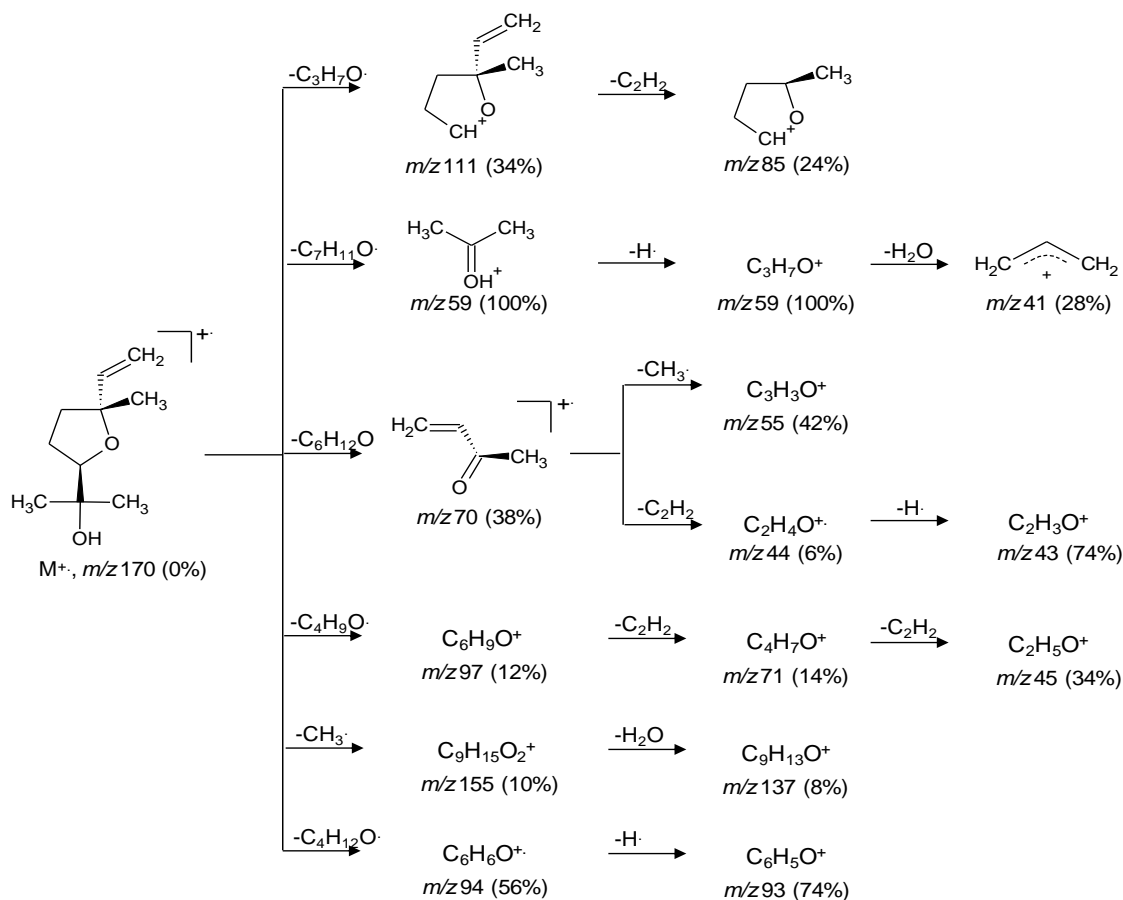
Esquema 7. Posibles rutas de fragmentación del furfural.



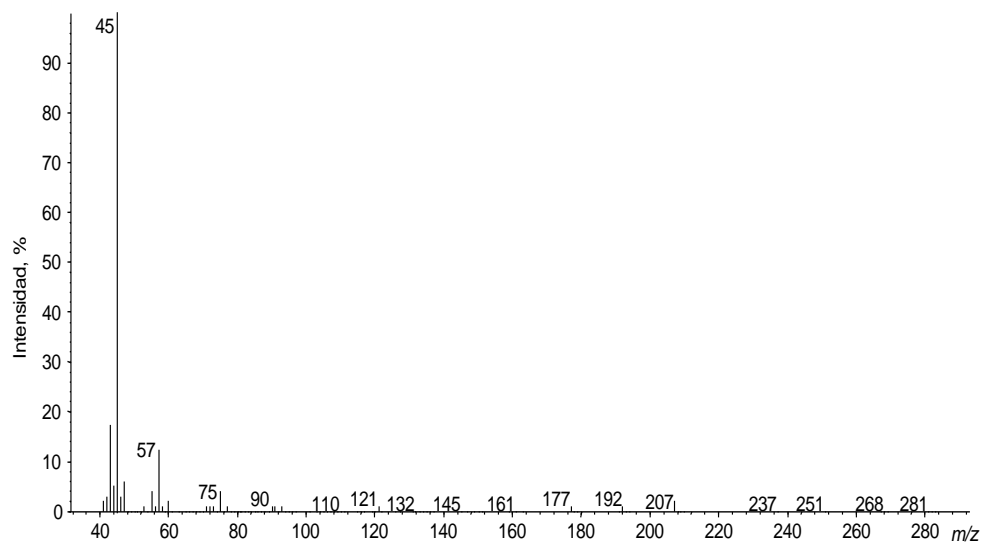
Anexo 3 - Figura 8. Espectro de masas del *trans*-óxido de linalol, furano (EI, 70 eV).



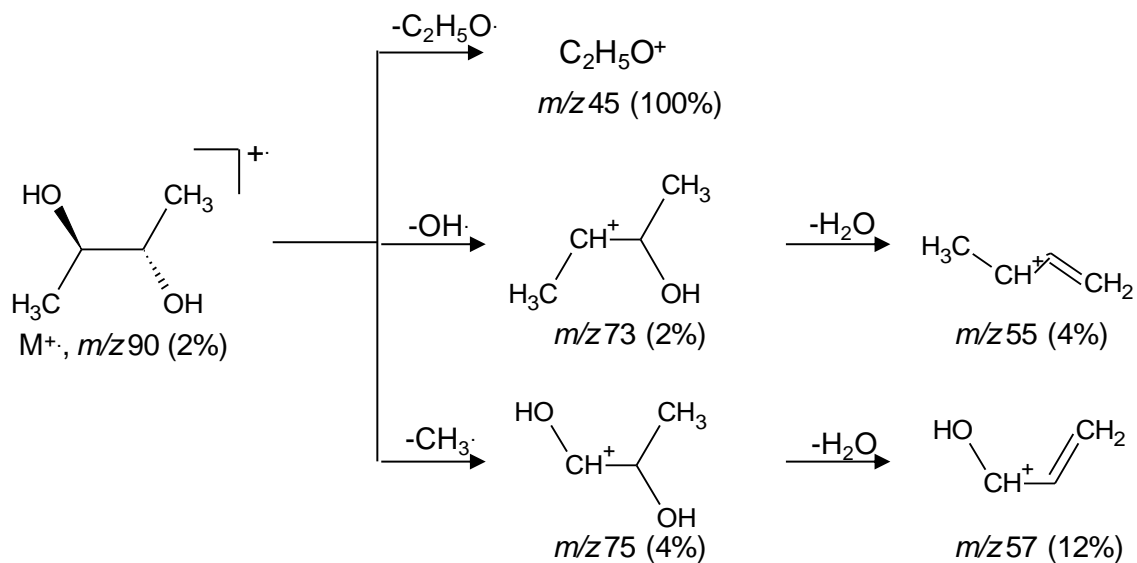
Esquema 8. Posibles rutas de fragmentación del *trans*-óxido de linalol, furano.



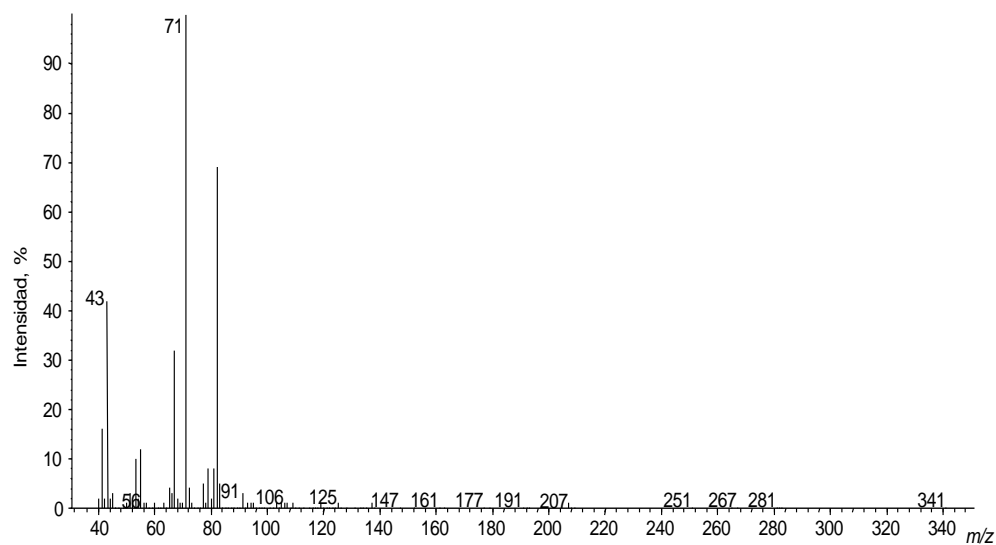
Anexo 3 - Figura 9. Espectro de masas del (*meso*)-2,3-butanodiol (EI, 70 eV).



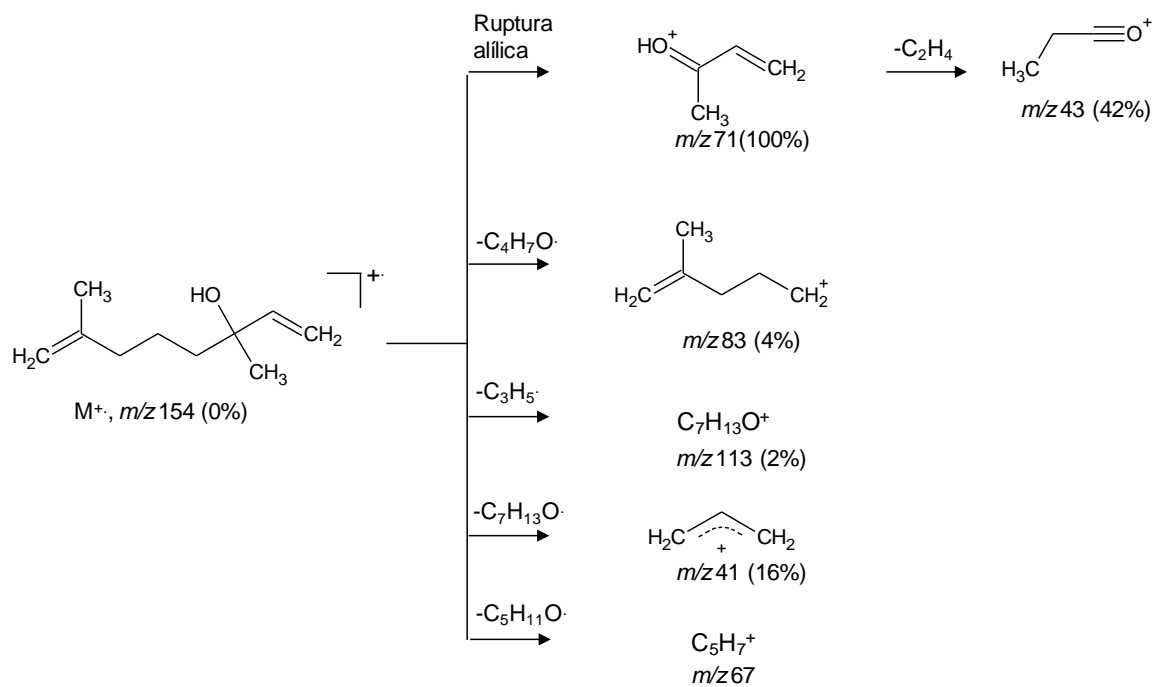
Esquema 9. Posibles rutas de fragmentación del (*meso*)-2,3-butanodiol.



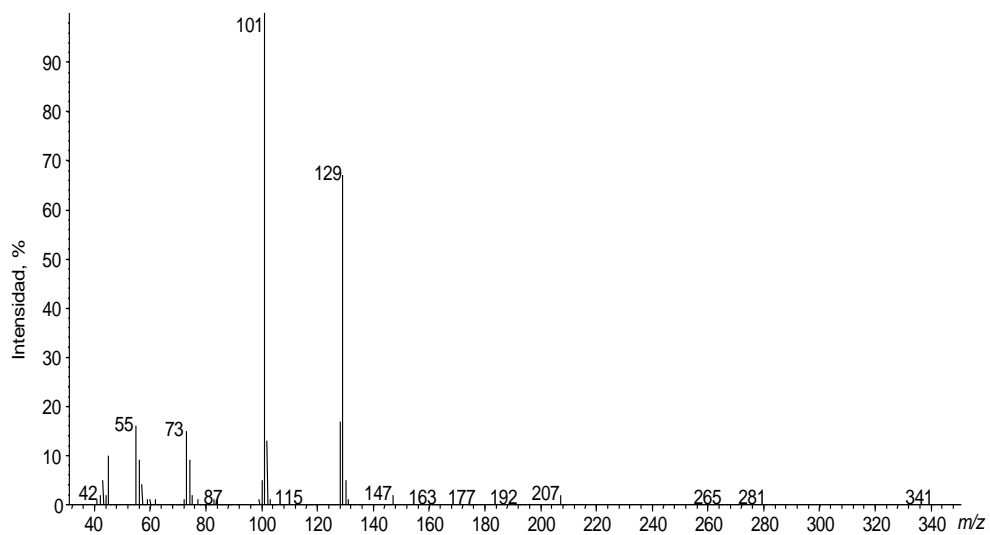
Anexo 3 - Figura 10. Espectro de masas del ho-trienol (EI, 70 eV).



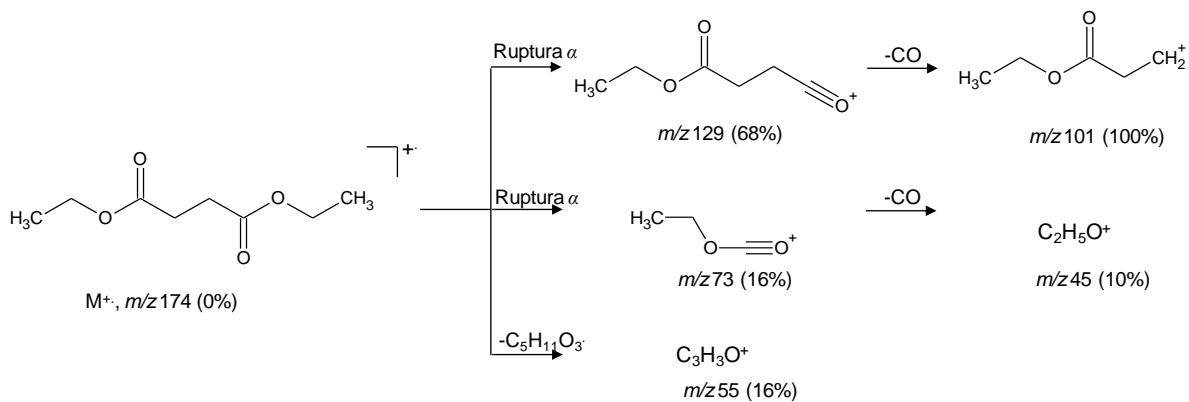
Esquema 10. Posibles rutas de fragmentación del ho-trienol.



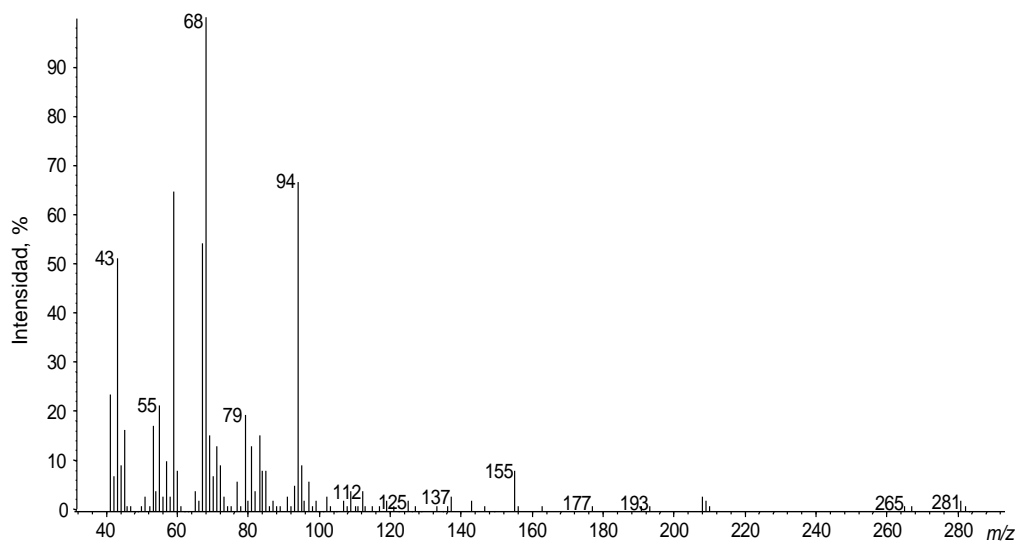
Anexo 3 - Figura 11. Espectro de masas del succinato de dietilo (EI, 70 eV).



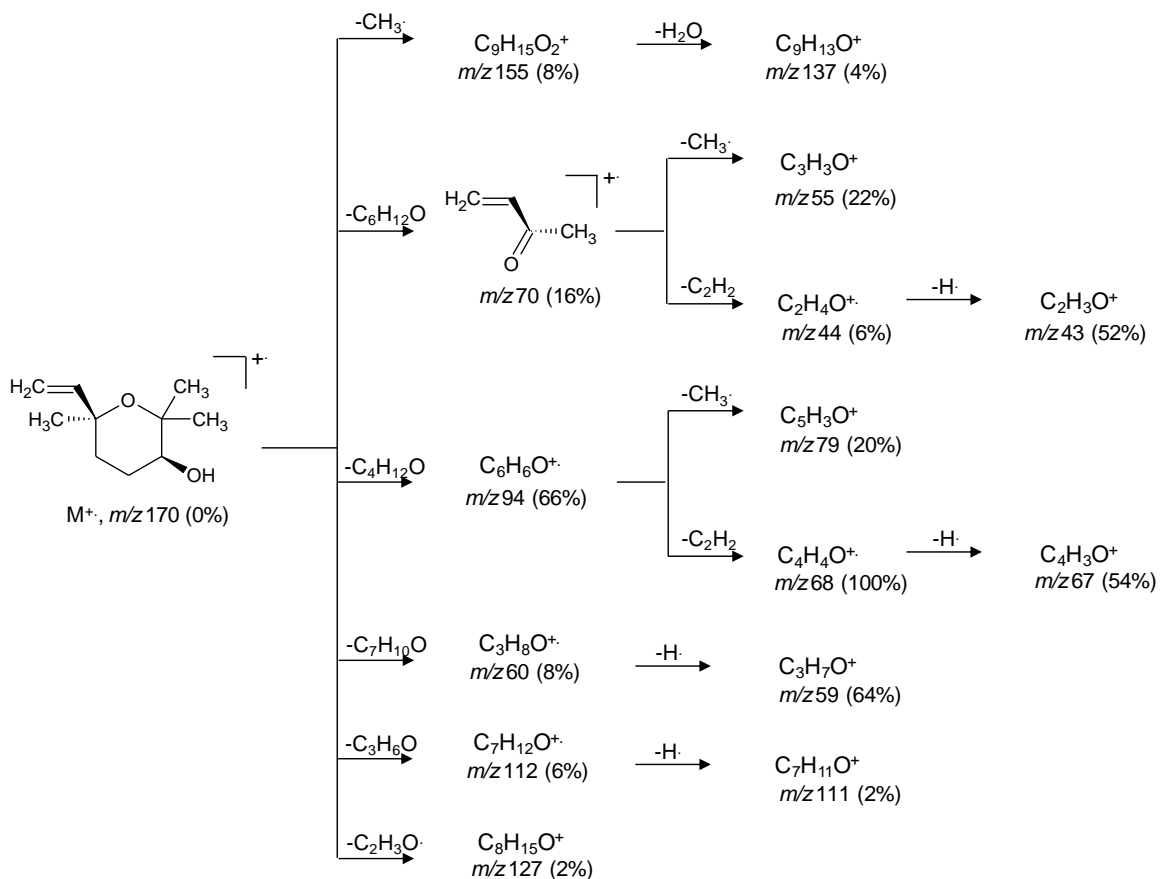
Esquema 11. Posibles rutas de fragmentación del succinato de dietilo.



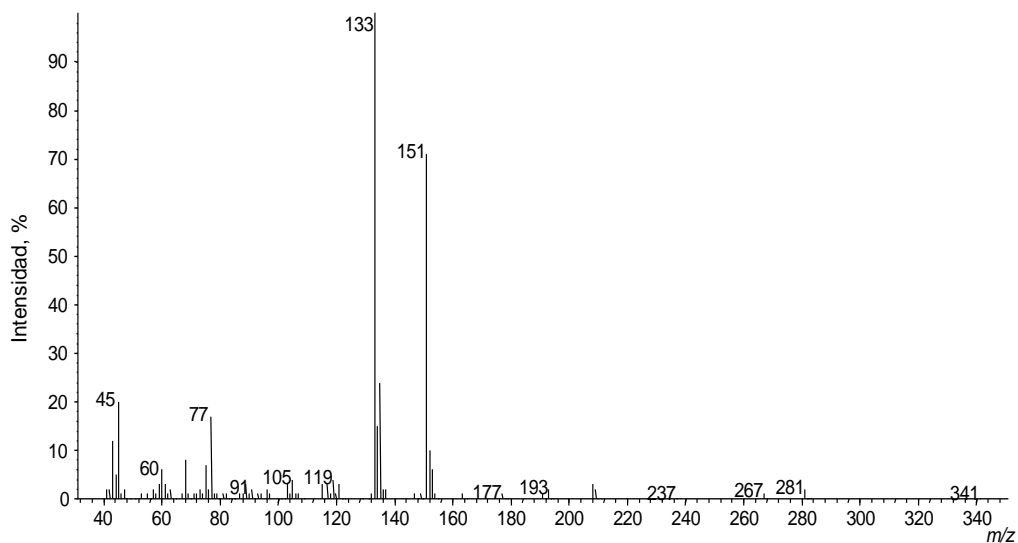
Anexo 3 - Figura 12. Espectro de masas del *cis*-óxido de linalol, pirano (EI, 70 eV).



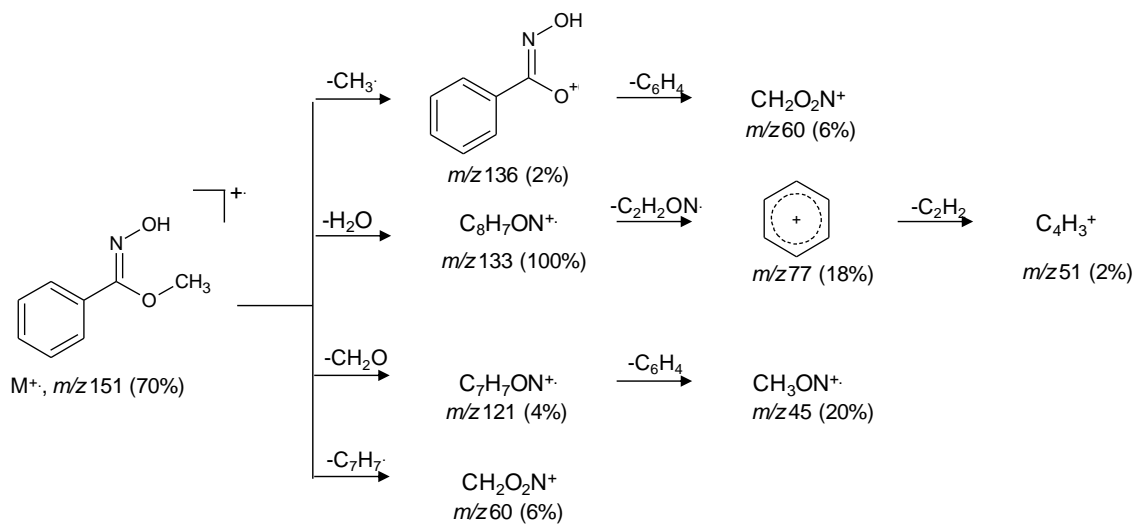
Esquema 12. Posibles rutas de fragmentación del *cis*-óxido de linalol, pirano.



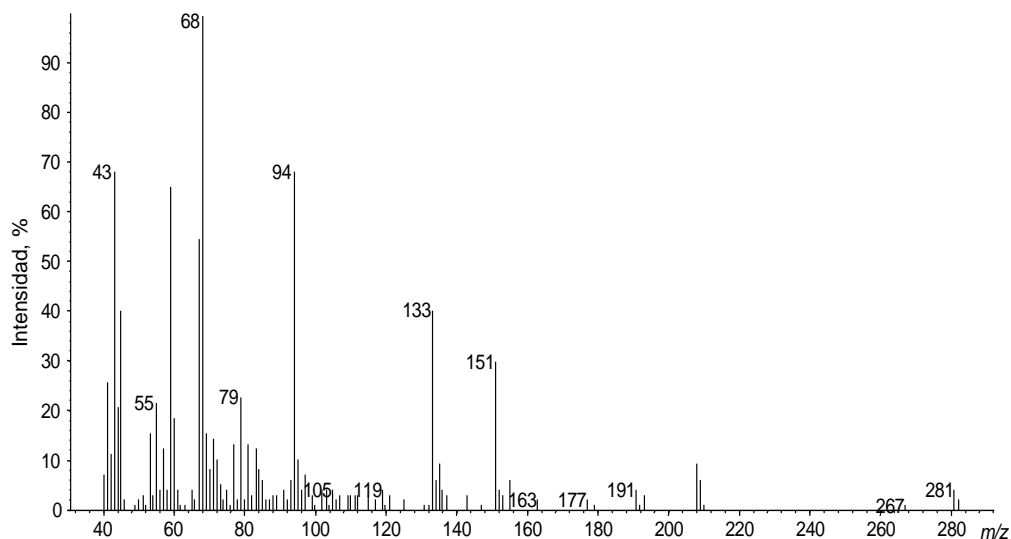
Anexo 3 - Figura 13. Espectro de masas de la metoxifenil oxima (EI, 70 eV).



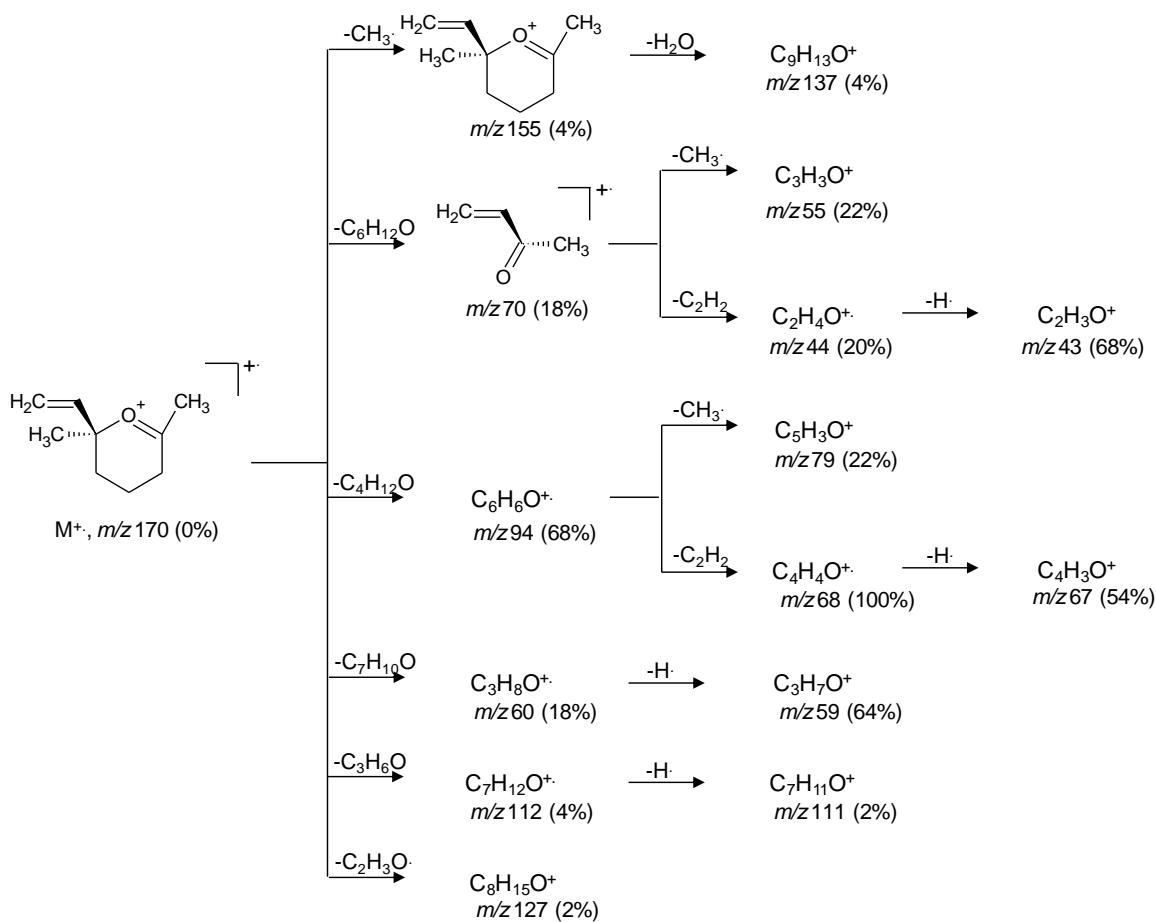
Esquema 13. Posibles rutas de fragmentación de la metoxifenil oxima.



Anexo 3 - Figura 14. Espectro de masas del *trans*-óxido de linalol, pirano (EI, 70 eV).

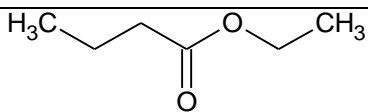
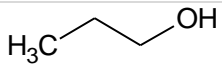
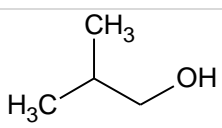
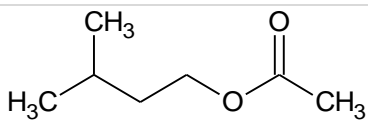
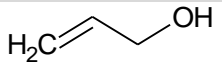

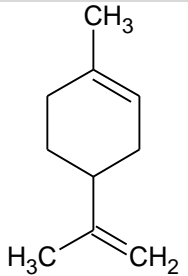


Esquema 14. Posibles rutas de fragmentación del *trans*-óxido de linalol, pirano.

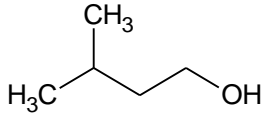
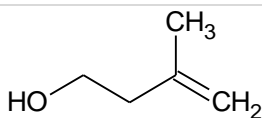
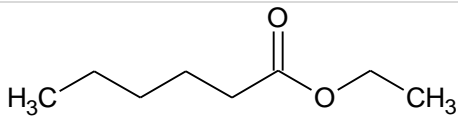
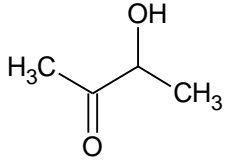
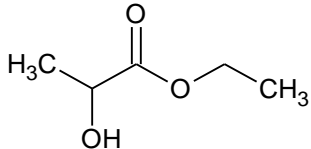
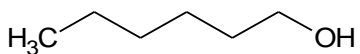
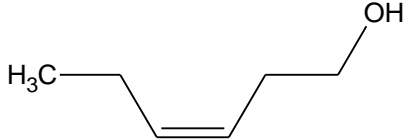


ANEXO 4. Parámetros sensoriales de algunos compuestos presentes en el pisco peruano.

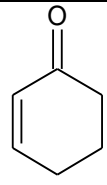
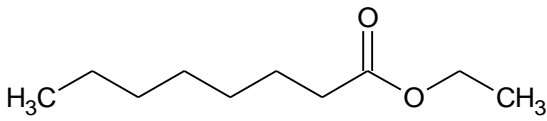
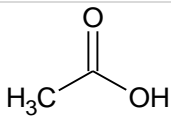
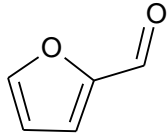
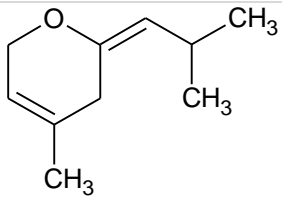
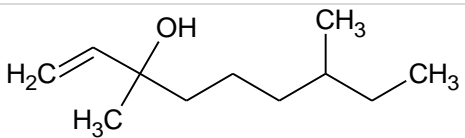
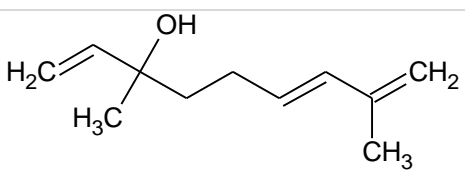
Anexo 4 – Tabla 1. Parámetros sensoriales (olor) de los compuestos químicos presentes en los piscos peruanos estudiados.

Compuesto	Descripción organoléptica	Ref.
 Butanoato de etilo	Frutal, piña.	[63]
 Propanol	Olor a mora.	[64]
 <i>iso</i> -Butanol	Fusel.	[64]
 Acetato de <i>iso</i> -amilo	Olor a plátano.	[64]
 Alcohol alílico	Olor a mostaza.	[65]
 <i>n</i> -Butanol	Nota dulce, alcohol.	[66]
 Limoneno	Olor a cítrico, pino.	[63]

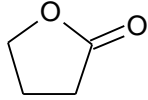
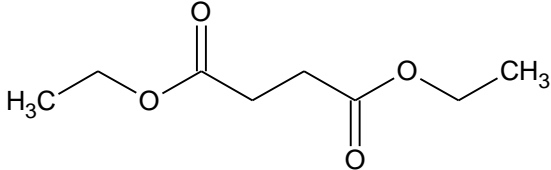
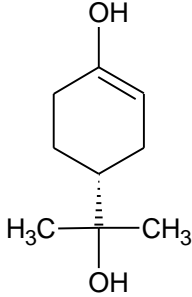
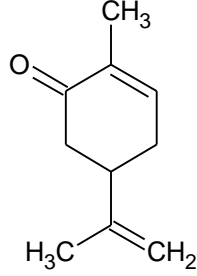
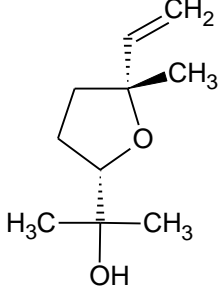
Anexo 4 – Tabla 1. Continuación.

 <p>Alcohol <i>iso</i>-amílico</p>	Olor no placentero.	[67]
 <p>3-Metil-3-butenol</p>	Nota terrosa.	[68]
 <p>Hexanoato de etilo</p>	Olor a manzana, piña.	[64]
 <p>3-Hidroxibutanona (acetoína)</p>	Olor a fruta del bosque.	[64]
 <p>Lactato de etilo</p>	Olor lácteo, agrio.	[69]
 <p>Hexanol</p>	Olor herbáceo, ligeramente graso.	[69]
 <p><i>cis</i>-3-Hexenol</p>	Olor herbáceo con una intensidad exagerada.	[69]

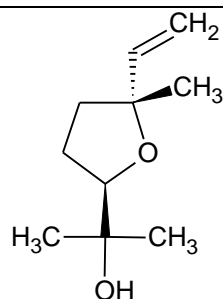
Anexo 4 – Tabla 1. Continuación.

	<p>Olor no placentero, olor a solvente.</p>	[63]
<p>2-Ciclohexenona</p>		
	<p>Olor frutal, floral, manzana, piña, plátano.</p>	[67]
<p>Ocatanoato de etilo</p>		
	<p>Olor a avinagrado.</p>	[69]
<p>Ácido acético</p>		
	<p>Nota almendrada.</p>	[70]
<p>Furfural</p>		
	<p>Olor a flor verde, azahar.</p>	[71]
<p>Óxido de nerol</p>		
	<p>Nota floral, violetas.</p>	[69]
<p>Linalol</p>		
	<p>Nota dulce y floral.</p>	[68]
<p>Ho-trienol</p>		

Anexo 4 – Tabla 1. Continuación.

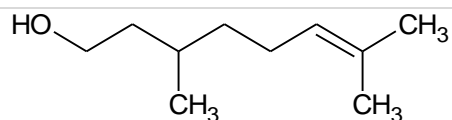
	<p>Nota dulce, [68] caramelo, piña.</p>
<p>Butirolactona</p>	
	<p>Nota de [63] algodón, floral, tela, olor suave.</p>
<p>Succinato de dietilo</p>	
	<p>Olor fresco, [64] romero.</p>
<p>α-Terpineol</p>	
	<p>Olor a menta, [63] alcaravea.</p>
<p>Carvona</p>	
	<p>Olor a madera, [63] dulce leñosa, tonos terrosos.</p>
<p><i>cis</i>- Óxido de linalol, furano</p>	

Anexo 4 – Tabla 1. Continuación.



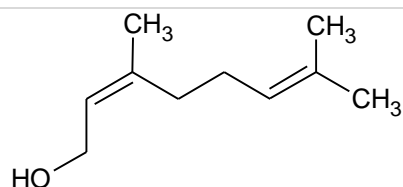
trans-Óxido de linalol, furano

Olor a madera, [63]
dulce, floral-
madera
terroso.



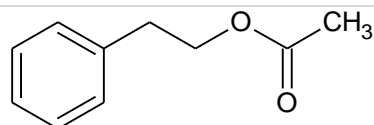
Citronelol

Nota floral. [69]



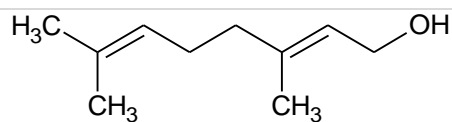
Nerol

Nota floral. [69]



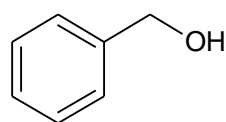
Acetato de feniletilo

Nota floral. [69]



Geraniol

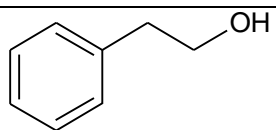
Nota floral. [69]



Alcohol bencílico

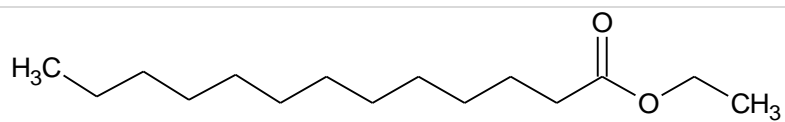
Nota floral, [68]
frutal.

Anexo 4 – Tabla 1. Continuación.



Nota floral. [69]

Alcohol feniletílico



Olor [72]
característico
a jabón.

Tetradecanoato de etilo (miristato de etilo)