

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“EVALUACIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL VINO  
BASE Y DEL PISCO DE LAS VARIEDADES DE UVA: ITALIA,  
MOSCATEL Y TORONTEL”**

**Presentada por:**

**ROSMERY SÁENZ BUSTAMANTE**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Lima - Perú**

**2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**“Evaluación de los compuestos volátiles del vino base y del pisco de las variedades de  
uva: Italia, Moscatel y Torontel”**

**Presentada por:**

**ROSMERY SÁENZ BUSTAMANTE**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

.....  
*Dra. Ana C. Aguilar Galvez*  
*Presidenta*

.....  
*Mg. Sc. Juan Carlos Palma*  
*Miembro*

.....  
*Mg. Sc. Mirtha P. Martínez Tapia*  
*Miembro*

.....  
*Mg. Sc. Beatriz Hatta Sakoda*  
*Asesora*

.....  
*Mg. Sc. Joanna Gambeta Maggiocalda*  
*Co-Asesora*

**Lima - Perú**

**2016**

## **DEDICATORIA**

**Con amor para mis padres, Carlos Alberto y María Julia.**

## **AGRADECIMIENTOS**

- **A mi Asesora Mg. Sc. Beatriz Hatta, por compartir conmigo su entusiasmo en la investigación de nuestra bebida bandera, Pisco.**
- **Al Laboratorio de Genómica de la UPCH, en especial a Joanna Gambeta y Esteban Herrera por compartir sus conocimientos y por su amistad.**
- **Al Sr. Max y a Sarita por su apoyo en la realización de la parte experimental.**
  - **A Carmen, Maca y Alison, grandes amigas que me acompañaron en el transcurso de mi vida universitaria.**
  - **A mis hermanos por las risas y por la tolerancia.**

## ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA .....	2
2.1	DEFINICIÓN DE PISCO.....	2
2.2	VARIEDADES PISQUERAS .....	2
2.3	TIPOS DE PISCO .....	3
2.4	ELABORACIÓN DEL PISCO .....	4
2.5	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN AROMÁTICA DEL PISCO .....	7
2.5.1	AROMA VARIETAL.....	7
2.5.2	AROMAS PRE-FERMENTATIVOS Y FERMENTATIVOS.....	12
2.5.3	AROMAS DESARROLLADOS EN LA DESTILACIÓN .....	23
2.5.4	AROMAS DESARROLLADOS EN REPOSO.....	24
2.6	COMPONENTES VOLÁTILES DEL PISCO .....	25
2.7	METODOLOGÍAS PARA DETECTAR COMPUESTOS VOLÁTILES EN EL VINO Y BEBIDAS DESTILADAS.....	27
2.7.1	EXTRACCIÓN .....	28
2.7.2	SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN.....	32
2.8	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA) .....	36
III.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	37
3.1	LUGAR DE EJECUCIÓN .....	37
3.2	MATERIALES .....	37
3.2.1	MATERIA PRIMA .....	37
3.2.2	EQUIPOS E INSTRUMENTOS .....	37
3.2.3.	REACTIVOS.....	38
3.3	MÉTODOS DE ANÁLISIS .....	40
3.3.1	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO .....	40
3.3.2	CALIBRACIÓN .....	44
3.3.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	45
3.4	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	45
3.5	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	47
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	49

<b>4.1</b>	<b>CARACTERÍSTICAS DE LOS MOSTOS.....</b>	<b>49</b>
<b>4.2</b>	<b>CARACTERÍSTICAS DE LOS VINOS BASE.....</b>	<b>50</b>
<b>4.2.1</b>	<b>CARACTERÍSTICAS DE LA FERMENTACIÓN .....</b>	<b>50</b>
<b>4.2.2</b>	<b>CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS VINOS BASE .....</b>	<b>52</b>
<b>4.2.3</b>	<b>COMPUESTOS VOLÁTILES EN LOS VINOS BASE .....</b>	<b>54</b>
<b>4.3</b>	<b>CARACTERÍSTICAS DE LOS PISCOS .....</b>	<b>63</b>
<b>4.3.1</b>	<b>GRADO ALCOHÓLICO .....</b>	<b>63</b>
<b>4.3.2</b>	<b>COMPUESTOS VOLÁTILES EN LOS PISCOS .....</b>	<b>63</b>
<b>4.4</b>	<b>VARIACIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES ENTRE EL VINO BASE Y EL PISCO .....</b>	<b>75</b>
<b>4.5</b>	<b>DIFERENCIAS VARIETALES ENTRE PISCOS .....</b>	<b>85</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>88</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>90</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>91</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>101</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Cuadro 1: Variedades de uvas pisqueras .....</b>	<b>2</b>
<b>Cuadro 2: Localización de aromas y precursores de aromas en las uvas .....</b>	<b>8</b>
<b>Cuadro 3: Terpenos encontrados en uvas Moscatel.....</b>	<b>9</b>
<b>Cuadro 4: Contenido de terpenos expresados en mg/l de etanol puro .....</b>	<b>10</b>
<b>Cuadro 5: Relaciones entre análisis químico y sensorial en el aguardiente.....</b>	<b>14</b>
<b>Cuadro 6: Efectos negativos sobre la calidad en el transcurso de la vendimia .....</b>	<b>15</b>
<b>Cuadro 7: Incidencias enológicas de diversas condiciones fermentativas .....</b>	<b>17</b>
<b>Cuadro 8: Alcoholes simples presentes en el vino .....</b>	<b>20</b>
<b>Cuadro 9: Contenido de terpenos en Pisco Italia .....</b>	<b>25</b>
<b>Cuadro 10: Requisitos físicos y químicos del pisco .....</b>	<b>26</b>
<b>Cuadro 11: Ventajas e inconvenientes de los métodos de extracción .....</b>	<b>31</b>
<b>Cuadro 12: Características fisicoquímico de los mostos.....</b>	<b>50</b>
<b>Cuadro 13: Características fisicoquímicas de los vinos base.....</b>	<b>53</b>
<b>Cuadro 14: Compuestos volátiles en los vinos base analizados mediante GC-FID.....</b>	<b>57</b>
<b>Cuadro 15: Compuestos volátiles en los vinos base analizados mediante GC-MS.....</b>	<b>62</b>
<b>Cuadro 16: Grado alcohólico de los Piscos .....</b>	<b>63</b>
<b>Cuadro 17: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante GC-FID (expresados sobre pisco).....</b>	<b>68</b>
<b>Cuadro 18: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante GC-FID (expresados sobre alcohol anhidro).....</b>	<b>68</b>
<b>Cuadro 19: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante GC-MS (expresados sobre pisco).....</b>	<b>73</b>
<b>Cuadro 20: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante GC-MS (expresados sobre alcohol anhidro).....</b>	<b>74</b>
<b>Cuadro 21: Resultados del análisis estadístico para muestras relacionadas .....</b>	<b>75</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1: Tratamiento de la vendimia durante los cinco primeros minutos .....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 2: Formación de compuestos durante la fermentación.....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 3: Fase sólida (a) y elución selectiva en SPE y símbolos (b) .....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 4: Cartuchos de Polipropileno pre-empacados con Resinas LiChrolut.....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 5: Etapas del proceso SPE .....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 6: Cromatograma de un destilado típico de uva (40 por ciento v/v) .....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 7: Esquema de microextracción en fase líquida para vinos base.....</b>	<b>41</b>
<b>Figura 8: Sistema de extracción VacElut, Cartucho LiChrolut EN y Reservorio .....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 9: Extracción en Fase Sólida de los vinos base .....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 10: Flujo de operaciones para elaborar pisco.....</b>	<b>47</b>
<b>Figura 11: Diseño experimental .....</b>	<b>48</b>
<b>Figura 12: Cinética de fermentación del vino base de uva Italia .....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 13: Cinética de fermentación del vino base de uva Moscatel.....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 14: Cinética de fermentación del vino base de uva Torontel .....</b>	<b>52</b>
<b>Figura 15: Comparación entre vino base y pisco para el isobutanol determinados mediante GC-FID .....</b>	<b>76</b>
<b>Figura 16: Comparación entre vino base y pisco para el 3-metil-1-butanol determinados mediante GC-FID .....</b>	<b>77</b>
<b>Figura 17: Comparación entre vino base y pisco para el 2-fenil etanol determinados mediante GC-FID .....</b>	<b>78</b>
<b>Figura 18: Comparación entre vino base y pisco para el lactato de etilo determinados mediante GC-FID .....</b>	<b>79</b>
<b>Figura 19: Comparación entre vino base y pisco para el acetato de etilo determinados mediante GC-FID .....</b>	<b>80</b>
<b>Figura 20: Comparación entre el vino base y el pisco respectivo para compuestos terpénicos determinados mediante SPE/GC-MS.....</b>	<b>81</b>
<b>Figura 21: Comparación entre vino base y pisco para ésteres etílicos de ácidos grasos determinados mediante SPE/GC-MS .....</b>	<b>83</b>
<b>Figura 22: Comparación entre vino base y pisco para ésteres acéticos determinados mediante SPE/GC-MS.....</b>	<b>84</b>



<b>Figura 23: Comparación entre vino base y pisco para guayacol determinados mediante SPE/GC-MS.....</b>	<b>85</b>
<b>Figura 24: Gráfico de puntuación del análisis de componentes principales (PCA) ....</b>	<b>87</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1: Datos de la calibración de los compuestos analizados mediante GC-FID en vinos base.....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXO 2: Datos de la calibración de los compuestos analizados mediante GC-FID en piscos.....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXO 3: Datos de la calibración de los compuestos analizados mediante SPE-GCMS (vinos base y piscos).....</b>	<b>102</b>
<b>ANEXO 4: Cromatogramas obtenidos del análisis a los vinos y piscos Italia, Moscatel y Torontel .....</b>	<b>103</b>
<b>ANEXO 5: Concentración de los compuestos volátiles analizados MEDIANTE GC-FID en vinos base.....</b>	<b>120</b>
<b>ANEXO 6: Concentración de los compuestos volátiles analizados mediante GC-MS en vinos .....</b>	<b>121</b>
<b>ANEXO 7: Concentración de los compuestos volátiles analizados mediante GC-FID en piscos .....</b>	<b>122</b>
<b>ANEXO 8: Concentración de los compuestos volátiles analizados mediante GC-MS en piscos.....</b>	<b>123</b>
<b>ANEXO 9: Análisis estadístico de las características fisicoquímicas de los mostos, vinos y piscos .....</b>	<b>124</b>
<b>ANEXO 10: Análisis estadístico de los compuestos volátiles de los vinos base .....</b>	<b>127</b>
<b>ANEXO 11: Análisis estadístico de los compuestos volátiles de los piscos.....</b>	<b>131</b>
<b>ANEXO 12: Análisis estadístico de la evaluación de diferencias entre el pisco y vino de cada compuesto aromático.....</b>	<b>142</b>

## RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar los cambios en los compuestos volátiles de los vinos base y sus respectivos piscos, elaborados a partir de uvas aromáticas: Italia, Torontel y Moscatel. En los vinos base, mediante Microextracción en Fase Líquida seguida de Cromatografía de gases (GC-FID), se determinaron compuestos mayoritariamente provenientes de la fermentación alcohólica como: 3-metil-1-butanol, isobutanol, feniletanol y acetato de etilo, además, mediante Extracción en Fase Sólida (SPE) seguida de Cromatografía de gases (GC-MS), se determinaron compuestos mayoritariamente de la familia terpénica y otros como el octanoato de etilo, el decanoato de etilo y el acetato de 2-feniletilo. En piscos, mediante inyección directa en un Cromatógrafo de gases (GC-FID), se determinaron compuestos mayoritariamente provenientes de la fermentación alcohólica como: 3-metil-1-butanol, isobutanol, acetaldehído, 2-feniletanol, ácido acético y acetato de etilo, además, mediante SPE-GC-MS se determinaron compuestos mayoritariamente de la familia terpénica y otros como el octanoato de etilo, el decanoato de etilo y el acetato de 2-feniletilo. En general, los compuestos volátiles se ven disminuidos en el paso de vino base a pisco, esto es debido a los cortes de cabeza que regulan su concentración en los destilados; sin embargo, no se debe descartar la formación de los mismos en el proceso de destilación, principalmente del octanoato de etilo que se ve aumentado en el pisco Moscatel y del compuesto acetato de 2-feniletilo, puesto que, éste disminuye, pero en menor proporción de lo que lo hacen otros ésteres acéticos. Por otra parte, se determinaron las diferencias entre los piscos Italia, Torontel y Moscatel, los resultados evidenciaron que los piscos Italia y Torontel muestran perfiles de compuestos volátiles similares y que los piscos Italia (asociados al terpineol y nerol) y Moscatel (asociados al octanoato de etilo) se discriminan claramente en relación a sus compuestos volátiles.

**Palabras clave:** Compuestos volátiles, Vino, Pisco aromático, Extracción, GC-FID, GC-MS

## ABSTRACT

The main aim of this research was to evaluate changes in the volatile compounds of the base wines and their respective piscos, made from aromatic grapes: Italia, Torontel and Moscatel. For base wines, Liquid Phase Microextraction followed by gas chromatography (GC-FID) was carried out, there were determined predominantly compounds derived from alcoholic fermentation such as: 3-methyl-1-butanol, isobutanol, phenylethanol and ethyl acetate, furthermore, by Solid Phase Extraction (SPE) followed by gas chromatography (GC-MS), terpene compounds and others such as ethyl octanoate, ethyl decanoate and 2-phenylethyl acetate were determined. For piscos, direct injection into a gas chromatograph (GC-FID) was carried out, there were determined predominantly compounds derived from alcoholic fermentation such as: 3-methyl-1-butanol, isobutanol, acetaldehyde, 2-phenylethanol, acetic acid and ethyl acetate, furthermore, by SPE-GC-MS, there were determined terpene compounds and others such as ethyl octanoate, ethyl decanoate and 2-phenylethyl acetate. Overall, the volatiles compounds were diminished in step of base wine to pisco, this is due to head cut that regulate its concentration in distillates, however, should not rule out the formation of them in the distillation process, mainly, ethyl octanoate that is increased in Moscatel Pisco and 2-phenylethyl acetate, since, it decreases, but to a lesser extent than do other acetic esters. Moreover, differences between Italy, Torontel and Moscatel piscos were determined, the results showed that Italy and Torontel piscos display similar aromatic profiles and Italy pisco (associated to terpineol and nerol) and Moscatel pisco (associated to ethyl octanoate) are discriminated clearly related to its aromatic compounds.

**Keywords:** Volatiles, Wine, Aromatic Pisco, Extraction, GC-FID, GC-MS.

## I. INTRODUCCIÓN

El pisco es un aguardiente característico del Perú y puede definirse como un producto obtenido exclusivamente por destilación de mostos frescos, de uvas pisqueras, recientemente fermentados. Los piscos provenientes de las uvas aromáticas Italia, Moscatel y Torontel presentan particular interés por pertenecer a la familia de los moscateles, la cual se caracteriza por mayores concentraciones de terpenos que intervienen fuertemente en la tipicidad de las variedades.

El interés por conocer los componentes volátiles de los vinos base y sus respectivos piscos está sustentado en tres razones fundamentales. En primer lugar, porque la calidad de los aguardientes es consecuencia en gran medida de la calidad de los vinos de destilación. En segundo lugar, por la importancia del aroma a la hora de evaluar la calidad de un pisco y por lo tanto la aceptación por parte del consumidor; son precisamente los componentes volátiles los que sensorialmente permite emitir un juicio acerca de la calidad de un pisco. Finalmente, debido a la capacidad de discriminación varietal que parecen tener estos compuestos volátiles (en especial los compuestos varietales como los terpenos), en base a su concentración y aplicando métodos estadísticos, es posible diferenciar piscos desde un punto de vista objetivo y no en base análisis sensorial siempre sujeto a un grado de subjetividad.

El objetivo principal de la presente investigación fue evaluar los cambios en los compuestos volátiles entre los vinos base y los respectivos piscos, elaborados a partir de uvas aromáticas de las variedades: Italia, Torontel y Moscatel.

Los objetivos específicos fueron: determinar los componentes volátiles en el vino base de las uvas: Italia, Torontel y Moscatel, determinar los compuestos volátiles en el pisco de las uvas: Italia, Torontel y Moscatel y determinar las diferencias entre los componentes volátiles de los piscos de las variedades Italia, Torontel y Moscatel.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 DEFINICIÓN DE PISCO

El pisco es el producto obtenido exclusivamente por destilación de mostos frescos de “Uvas Pisqueras” recientemente fermentados, utilizando métodos que mantengan los principios tradicionales de calidad; y producido en la costa de los departamentos de Lima, Ica, Arequipa, Moquegua y los Valles de Locuma, Sama y Caplina del departamento de Tacna (Consejo Regulador del Pisco, 2015).

### 2.2 VARIEDADES PISQUERAS

El Pisco debe ser elaborado exclusivamente utilizando las denominadas “uvas pisqueras” cultivadas en las zonas de producción reconocidas. Las uvas pisqueras son ocho (8). (Consejo Regulador del Pisco, 2015). Su especie y sus zonas de cultivo se muestran en el Cuadro 1.

**Cuadro 1: Variedades de uvas pisqueras**

<b>Uva Pisquera</b>	<b>Especie</b>	<b>Zona de Cultivo</b>
<b>Quebranta</b>	<i>Vitis vinifera</i> L.	Todas las zonas pisqueras
<b>Negra Criolla</b>	<i>Vitis vinifera</i> L.	Todas las zonas pisqueras
<b>Mollar</b>	<i>Vitis vinifera</i> L.	Todas las zonas pisqueras
<b>Italia</b>	<i>Vitis vinifera</i> L.	Todas las zonas pisqueras
<b>Moscatel</b>	<i>Vitis vinifera</i> L.	Todas las zonas pisqueras
<b>Albilla</b>	<i>Vitis vinifera</i> L.	Todas las zonas pisqueras
<b>Torontel</b>	<i>Vitis vinifera</i> L.	Todas las zonas pisqueras
<b>Uvina</b>	<i>Vitis aestivalis</i> M.- <i>cinerea</i> E. x <i>Vitis</i> <i>vinifera</i> L.	Cultivo y producción circunscritos únicamente a los distritos de Lunahuaná, Pacarán y Zuñiga, de la provincia de Cañete, departamento de Lima.

FUENTE: Consejo Regulador del Pisco (2015)

Son uvas no aromáticas las uvas: Quebranta, Negra Criolla, Mollar y Uvina y uvas aromáticas las uvas Italia, Moscatel, Albilla y Torontel (Consejo Regulador del Pisco, 2015). En cuanto a las variedades aromáticas Italia, Moscatel y Torontel, Venturini (2010) presenta la siguiente descripción:

- **Italia:** esta variedad de uvas blancas es utilizada tanto como uva de mesa como para elaborar pisco aromático, resultando un excelente producto. Sus racimos son sueltos, sus granos grandes, de forma oval, su película es gruesa y de color verde claro pasando a amarillo pajoso por efecto de la insolación y de una maduración más intensa. Se caracteriza por su riqueza en compuestos aromáticos tipo moscato muy pronunciado haciendo que se obtenga un pisco de exquisito perfume.
- **Torontel:** esta variedad aromática pertenece a la familia de los moscatos. Presenta cáscara de color verde pálido, pero por la acción de los rayos solares, las uvas pueden tornarse de color dorado tostado. Ofrece aromas de moscatel, similares a la uva Italia pero más fina. Sus piscos son elegantes, de aromas delicados y bien estructurados, evoca frutas tropicales y flores blancas como jazmín y magnolia.
- **Moscatel:** esta variedad es importada. Sus racimos de mediano tamaño y de forma casi cilíndrica. Su mosto posee aroma característico de moscato, siendo muy azucarado. Presenta rendimiento menor que las demás variedades, pero ofrece un pisco muy fino de aroma y sabor delicado.

### 2.3 TIPOS DE PISCO

Se reconocen los siguientes tipos de Pisco (Consejo Regulador del Pisco, 2015):

- Pisco puro: es el Pisco obtenido exclusivamente de una sola variedad de uva pisquera.
- Pisco mosto verde: es el Pisco obtenido de la destilación de mostos frescos de uvas pisqueras con fermentación interrumpida.
- Pisco acholado: es el Pisco obtenido de la mezcla de:
  - Uvas pisqueras, aromáticas y/o no aromáticas.
  - Mostos de uvas pisqueras aromáticas y/o no aromáticas
  - Mostos frescos completamente fermentados (vinos frescos) de uvas pisqueras aromáticas y/o no aromáticas.
  - Piscos provenientes de uvas pisqueras aromáticas y/o no aromáticas.

## 2.4 ELABORACIÓN DEL PISCO

A continuación, se describen las operaciones seguidas con algunas recomendaciones para elaborar un pisco de calidad (Venturini, 2010).

- **Cosecha**

Se debe hacer cuando la uva alcance una madurez adecuada, la cual se determina midiendo la concentración de azúcar y la acidez. Se recomienda que se coseche la uva cuando tenga una concentración de azúcar de 222 g/l (que equivale a 13 por ciento (v/v) alcohol potencial) y cuando la acidez esté entre 5-8 g de ácido tartárico por litro (pH 3,2-3,5). Durante la cosecha se debe evitar desgranar, aplastar y calentar los racimos, pues eso traería como consecuencia la contaminación y fermentación indeseada.

- **Transporte de la uva a la bodega**

Debe ser hecho en cajas plásticas de poca capacidad para asegurar que los granos no se rompan y así evitar que se produzca en su interior deterioro microbiano y oxidativo.

- **Recepción y pesado de la uva**

La uva es pesada y se recibe en los lagares, que son depósitos de cemento amplios, de poca altura, construidos en las entradas de las bodegas.

- **Estrujado**

Se realiza para romper los granos y liberar el jugo y, de esa forma, obtener el mosto. En esta operación se debe evitar el triturado excesivo de la cáscara, ya que proporciona mayor producción de metanol debido a la liberación y activación de enzimas pectinasas que se encuentra en la cáscara, además hay un aumento de la oxidación del mosto debido a la liberación y la activación de las enzimas polifenoloxidasas que disminuyen el rendimiento por la formación de una mayor cantidad de lodos.

En las bodegas artesanales, esta operación se realiza en los lagares mediante la pisa que consiste en aplastar los racimos con los pies (de un grupo de personas), en cuanto a las bodegas industriales esta operación es realizada mediante el uso de molidoras o prensas mecánicas.



- **Encubado y fermentación**

El mosto se llena en los tanques o cubas de fermentación dejando un cuarto de su capacidad vacío. La fermentación alcohólica es un proceso por el cual el azúcar es transformado en alcohol etílico y gas carbónico, es realizada por las levaduras nativas que se encuentran en la cáscara de las uvas; la temperatura adecuada para la fermentación es de 25°C, no debiendo pasar los 30°C, se debe controlar la temperatura y la densidad del mosto diariamente con el fin de determinar el término de la fermentación.

La fermentación puede ser realizada sin maceración o con maceración parcial o completa de los orujos (cáscara y semillas) de las uvas. Se recomienda hacer una maceración corta (24 horas) para que las levaduras presentes en las cáscaras pasen al jugo y comience la fermentación lo más rápido posible. En el caso de la elaboración de piscos aromáticos, la maceración puede durar un tiempo mayor (48 horas) para permitir una mejor extracción de terpenos. No es recomendable hacer maceraciones más prolongadas (más de 48 horas), porque podría aumentar el contenido de metanol significativamente.

Al inicio se debe agitar el mosto sobre todo cuando éste se encuentre en contacto con las cáscaras (remontaje), con el fin de propiciar la reproducción de las levaduras naturales y la extracción de aromas. Se considera que la fermentación ha concluido cuando se tenga una densidad menor a 1 000 (aproximadamente 994-996).

- **Trasiego**

Se realiza una vez concluida la fermentación. Consiste en separar el vino de sus borras (sedimentos), mediante decantación, de tal manera que se obtenga un líquido limpio para ser destilado. Sin embargo, se recomienda dejar un poco de borra de levadura, porque confiere un mejor aroma, debido a que las levaduras liberan ácidos grasos durante la destilación, que a su vez reaccionan con los alcoholes (etílico y superiores), resultando en ésteres (compuestos aromáticos).

- **Destilación**

Se realiza en destiladores de cobre de diferentes diseños como: falcas, alambiques simples y alambiques con calentavinos. Al iniciar la destilación se separan los primeros litros que se denominan “cabezas”, constituidos por compuestos como el metanol, acetaldehído, ésteres y alcoholes superiores, y al final de la destilación, de acuerdo al grado final del pisco (recomendable como término medio 42 por ciento (v/v)) se separan las “colas” constituidas por compuestos como el furfural y también metanol y algunos alcoholes superiores.

- **Reposo**

El pisco debe tener un reposo mínimo de 3 meses en recipientes de vidrio, acero inoxidable o cualquier otro material que no altere sus características físicas, químicas y organolépticas, antes de su embotellado y comercialización. En el reposo, ocurre el desarrollo de procesos de equilibrio químico que da como resultado el afinamiento y la eliminación del sabor a quemado.

- **Embotellado**

El pisco es acondicionado en botellas de vidrio transparente, de 500 y 750 ml de capacidad, que se sellan con tapas de metal.

Cabe mencionar que la OIV (2016a) considera un aguardiente de uva, a la bebida espirituosa obtenida por destilación exclusivamente del vino, de vino encabezado o de vino con una eventual adición de destilado de vino o por re-destilación de un destilado de vino, de manera tal que el producto conserve un gusto y un aroma de las materias primas mencionadas. El grado alcohólico del producto terminado no debe ser inferior a 37,5 por ciento (v/v).

El Consejo Regulador del Pisco (2015), menciona lo siguiente en cuanto a la elaboración de pisco:

- El proceso de fermentación puede realizarse sin maceración o con maceración parcial o completa de orujos de uvas pisqueras, controlando la temperatura y el proceso de degradación de los azúcares del mosto.
- El inicio de la destilación de los mostos fermentados debe realizarse inmediatamente después de concluida su fermentación, a excepción del pisco mosto verde, que se destila antes de concluida la fermentación de mostos.
- El pisco debe tener un reposo mínimo de tres (3) meses en recipientes de vidrio, acero inoxidable o cualquier otro material que no altere sus características físicas, químicas y organolépticas antes de su envasado y comercialización con el fin de promover la evolución de los compuestos alcohólicos y mejora de las propiedades del producto final.
- La elaboración del pisco será por destilación directa y discontinua, separado las cabezas y colas para seleccionar únicamente la fracción central del producto llamado cuerpo o corazón, los equipos serán fabricados de cobre o estaño; se pueden utilizar pailas de acero inoxidable.

## **2.5 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN AROMÁTICA DEL PISCO**

Según Hatta (2010), dentro de los factores que influyen la presencia de componentes en el pisco se tienen: materia prima, referida a las variedades de uvas empleadas, que a su vez están influidas por factores como el clima y suelo, cultivo, abono, poda y tratamientos fitosanitarios. El segundo factor influyente es el método de elaboración del pisco.

Flanzy (2000), menciona que la calidad de los aguardientes es consecuencia en gran medida de la calidad de los vinos de destilación. Esta calidad se construye ya en la viña, a lo largo del año, con el fin de obtener una vendimia sana y una maduración óptima. De la recolección a la puesta en cuba del mosto, la uva sufre cierto número de operaciones mecánicas, cuya influencia puede ser grande sobre la calidad de los futuros aguardientes. Las estructuras tradicionales de vinificación se han transformado para integrar nuevas tecnologías. Esta adaptación indispensable debe hacerse respetando la calidad y la tradición que le dan el renombre a los aguardientes con Denominación de Origen Controlada.

### **2.5.1 AROMA VARIETAL**

Los constituyentes varietales que provienen de la uva, dependen esencialmente de la variedad, pero también de otros factores (fitosanitarios, climáticos, del paraje o comarca, conducción de la viña, etc.) (Flanzy, 2000).

Los aromas procedentes de las uvas pueden encontrarse bien en estado libre, o combinados en forma de moléculas no volátiles. Éstas, denominadas precursores del aroma, por acción de las enzimas y de la acidez del vino, se hidrolizan y liberan las moléculas volátiles que se percibe en el vino (Cacho, 2003).

Hidalgo (2011) menciona que los aromas varietales son los que proceden de los racimos, localizándose fundamentalmente en el hollejo y que, pasando al vino, pueden caracterizar algunas variedades de uva. En el Cuadro 2 se muestra la localización en la uva de los compuestos aromáticos (terpenos) y los precursores de aromas varietales.

**Cuadro 2: Localización de aromas y precursores de aromas en las uvas**

Aromas y Precursores	Localización en la uva
Terpenos	Repartidos entre la pulpa y la parte interior del hollejo (linalol) o mayoritariamente en el hollejo (geraniol, nerol).
Terpenoglucósidos	Mayoritariamente en el hollejo.
Carotenos	Exclusivamente en partes sólidas de la uva, sobre todo en el hollejo. No existe en mostos sin macerar.
Ácidos grasos	60 a 75 por 100 en el hollejo y 25 a 40 por 100 en la pulpa.
Ésteres fenólicos	Mayoritariamente en el hollejo.

FUENTE: Hidalgo (2011)

- **Compuestos Terpénicos**

Los terpenos son sustancias muy extendidas en el reino vegetal, poseyendo propiedades odorantes los de diez átomos de carbono (monoterpenos) y los de quince átomos de carbono (sesquiterpenos). Los monoterpenos se encuentran bajo la forma de aldehídos, alcoholes, ácidos, ésteres e hidrocarburos simples. Los más odorantes son los alcoholes monoterpénicos o terpenoles, donde destacan los siguientes: linalol,  $\alpha$ -terpineol, citronelol, nerol, geraniol y ho-trienol (Hidalgo, 2011). Entre estos compuestos, el compuesto más activo organolépticamente activo es el linalol, que presenta en el mosto un umbral de percepción en torno a los 50  $\mu\text{g/l}$  (Usseglio-Tomasset, 1998).

Los monoterpenos dan el carácter floral y cítrico al vino, se incrementan en la maduración de la uva y son extraídos durante la fermentación (Ebeler y Thorngate, 2009). El principal enriquecimiento de terpenos libres en el vino se podría dar por la hidrólisis de terpenos ligados en la fermentación, sin embargo, no se da a pesar de que las bayas estén provistas de  $\beta$ -glucosidasas por el hecho que estas enzimas son muy inhibidas por el azúcar (Flanzy, 2000). Por otro lado, en particular, el linalol se puede transformar en  $\alpha$ -terpineol, hidroxilinalol, geraniol o nerol bajo condiciones acuosas y ácidas (Ebeler y Thorngate, 2009).

Entre los aldehídos terpénicos se encuentran el geranial, el neral o citronelal, que son muy aromáticos, pero menos importantes que los terpenoles; del mismo modo los hidrocarburos terpénicos son el limoneno, p-cimeno,  $\alpha$ -terpineno o mirceno; o los sesquiterpenos como el farnesol o el  $\gamma$ -cadinol; óxidos terpénicos, etc. (Hidalgo, 2011).

Existen números estudios que relacionan la concentración de monoterpenos con las propiedades aromáticas de las uvas y atendiendo a ese criterio, Moreno y Peinado (2010) han clasificado las distintas variedades como:

- Variedades con intensas propiedades aromáticas (uvas Moscatel): la concentración total de terpenos libres y combinados oscila entre 4 a 6 mg/l (Moscatel de Alejandría, Moscatel de grano pequeño) (Moreno y Peinado, 2010). Hidalgo (2011) menciona que dichas variedades son muy ricas en terpenos, con relación geraniol/nerol de 2,5 a 5 respectivamente, localizándose estos compuestos no sólo en el hollejo de la uva, sino también en su pulpa (Cuadro 3), algunos ejemplos son: Moscatel de Alejandría o de Málaga, Moscatel fino o de grano menudo y Malvasía.
- Variedades muy aromáticas (no moscatel): su concentración de monoterpenos totales varía de 1 a 4 mg/l, algunos ejemplos son: Riesling, Sylvaner y Gewürztraminer (Moreno y Peinado, 2010). Estas uvas presentan valores muy altos de compuestos aromáticos, pero inferiores de 5 a 20 veces respecto de las anteriores (Hidalgo, 2011).
- Variedades aromáticas: concentración de terpenos inferior a 1 mg/l (Merlot, Cabernet-Sauvignon) (Moreno y Peinado, 2010), sin embargo, Hidalgo (2011) menciona que los valores en terpenos de dichas variedades oscilan entre 1 a 30 mg/l, fundamentalmente el  $\alpha$ -terpineol.
- Variedades neutras: las concentraciones en monoterpenos son muy inferiores a 1mg/l y sus características olorosas no dependen de los compuestos monoterpénicos que contienen. Son ejemplos: Pedro Ximénez, Airen (Moreno y Peinado, 2010).

**Cuadro 3: Terpenos encontrados en uvas Moscatel**

Terpenol	Aroma	Moscatel ( $\mu$ g/l)
Linalol	Rosa	460
$\alpha$ -terpineol	Herbáceo	80
Nerol	Rosa	120
Geraniol	Pelargonio	450

FUENTE: Hidalgo (2011)

Existen formas glicosiladas de los terpenos volátiles, la existencia en la uva Moscatel de una fracción no volátil e inodora del aroma terpénico, puede ser revelada por vía química o enzimática. Se han establecido que los principales monoterpenoles y polioles terpénicos existen en las uvas bajo la forma de glicósidos, cuyas osas constitutivas son la glucosa, la arabinosa, la ramnosa y la apiosa, todos los cepajes encierran tales glicósidos, pero los cepajes moscatelados son los más ricos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

Cabe resaltar la importancia del contenido de terpenos debido a que son los principales compuestos aromáticos presentes en las uvas pisqueras Moscatel, Italia y Torontel, en donde su concentración es de 10 a 100 veces superior a su concentración en otras uvas (Valenzuela, 2002, citado por Hatta, 2004).

Por otro lado, Moreno y Peinado (2010) mencionan que en el caso de las variedades tipo moscatel, el aroma del vino viene determinado por la presencia de compuestos terpénicos, el linalol, geraniol y nerol son los principales terpenos que además poseen bajos umbrales de percepción (0,5-1 mg/l), estos tres terpenos se encuentran en numerosas variedades, pero cada uno de estos compuestos por sí solos no aporta una característica aromática del tipo moscatel, mientras que si lo hace una mezcla de los tres.

Domenech (2006) presenta valores del contenido de terpenos encontrados en Pisco aromáticos de origen chileno (Cuadro 4).

**Cuadro 4: Contenido de terpenos expresados en mg/l de etanol puro**

TERPENOS	Según Loyola <i>et al.</i> (1987)			Según Herraiz <i>et al.</i> (1990)		Según Migone (1986)		
	Min.	Max.	Prom.	Min.	Max.	Cabeza	Cuerpo	Cola
<b>Linalol</b>	0,8	9,0	4,1	0,1	20	4,7	1,8	0,2
<b>Geraniol</b>	0,5	3,4	1,7	0,1	5			
<b>Nerol</b>	0,2	0,4	0,2	0,1	1	0,22	0,14	0,05
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	0,6	5,6	2,6	0,1	10	0,38	0,65	0,28
<b>Citronelol</b>	0,2	1,2	0,5	0,1	5			
<b>Hotrienol</b>				1,0	50	1,2	4,3	1,6

FUENTE: Domenech (2006)

Domenech (2006) menciona que la maceración de orujos durante la fermentación afecta significativamente los contenidos de terpenos en los destilados, siendo mayor el enriquecimiento tras las primeras 18 horas de maceración, con un incremento porcentual de los terpenos totales (linalol, geraniol y nerol) del 93,1 por ciento; tras la maceración de 36 horas el incremento que se alcanza es de 131,1 por ciento.

El mismo investigador afirma que el linalol es el terpeno más abundante en piscos de la variedad Italia, siendo el contenido de éste aproximadamente 5 veces superior al contenido de geraniol y 12 veces superior al contenido de nerol.

- **Derivados C13-Norisoprenoides**

La degradación oxidativa de los carotenoides, que pertenecen a la familia de los terpenos de 40 átomos de carbono (tetraterpenos), conduce a derivados que poseen 9, 10, 11, 13 átomos de carbono, entre estos compuestos, los derivados norisoprenoides con 13 átomos de carbono (C13-norisoprenoides) presentan propiedades odoríferas interesantes (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

Desde un punto de vista químico se distinguen dos grupos principales que contienen cada uno de ellos una cantidad importante de productos volátiles: las formas megastigmanas y las formas no megastigmanas. Los megastigmanos son norisoprenoides en C13 oxigenados. Poseen un esqueleto oxigenado sobre carbono 7 (serie damascona) o sobre el carbono 9 (serie ionona), entre esos compuestos, la  $\beta$ -damascenona, que posee un olor complejo de flor, de fruta exótica y de compota de manzana, ese compuesto ha sido identificado primero en los jugos de uvas de Riesling y de Scheurebe, de moscatel, pero probablemente existe en todos los cepajes (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

La  $\beta$ -ionona, compuesto que tiene olor característico a violeta, fue puesta en evidencia en las uvas de distintos cepajes blancos y de Moscatel, tal como la  $\beta$ -damascenona, existe en todos los cepajes (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

- **Ácidos Grasos**

Los ácidos grasos pueden ser también precursores de compuestos aromáticos, sobre todo los ácidos linoleico y linolénico que representan del 50 al 69 por 100 de estos compuestos en las bayas, así como los palmítico, oleico, esteárico, bencénico y araquídico. Estos en la vendimia se encuentran bajo forma esterificada, siendo los fosfolípidos los más abundantes (65 a 70 por 100), así como los lípidos neutros y los glicolípidos (Hidalgo, 2011).

- **Compuestos Fenólicos**

Según Cacho (2003), la familia de los fenoles tiene su origen en precursores que se encuentran en las uvas. Algunos de ellos, como son los ácidos fenólicos: cafeico, p-cumárico y ferúlico, y especialmente sus ésteres tartáricos: cafeoiltartárico, p-cumaroiltartárico y feruloil tartárico, por sí mismos no son odorantes, pero pueden ser transformados en compuestos volátiles aromáticos, debido a la acción de las levaduras o de determinadas enzimas estererasas. Los ésteres de los ácidos fenólicos se encuentran en las partes sólidas de la uva, especialmente en el hollejo, formándose por la síntesis del ácido shiquímico, que forma los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina; las cuales se transforman en ácido trans-cinámico y éste en los distintos fenoles: cumáricos y benzoicos (Hidalgo, 2011).

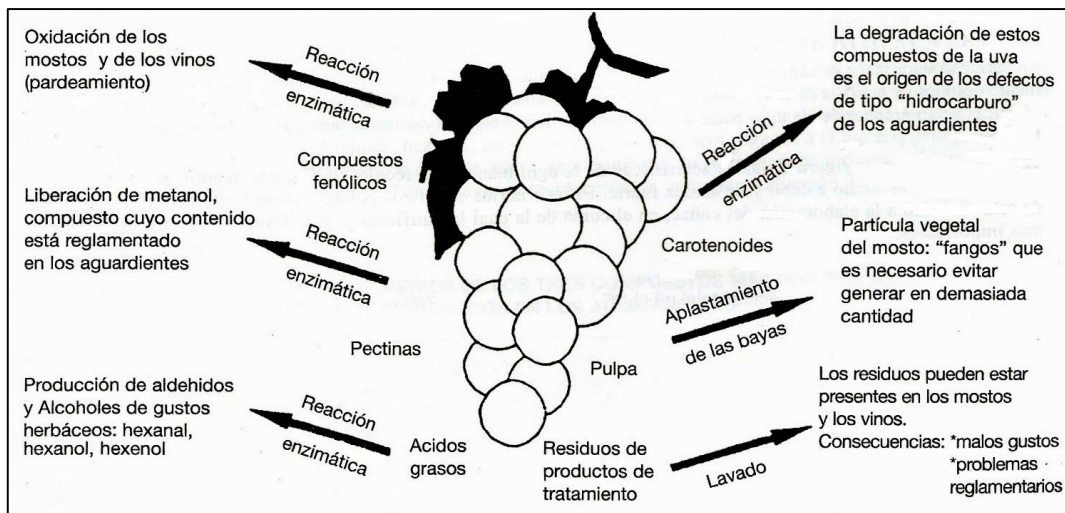
## **2.5.2 AROMAS PRE-FERMENTATIVOS Y FERMENTATIVOS**

- **Constituyentes Volátiles De La Etapa Pre-fermentativa**

Estos aromas se desarrollan durante los tratamientos sufridos por la uva desde el momento de su cosecha hasta el arranque de su fermentación, durante las operaciones de la vendimia, en particular la vendimia mecánica, de transporte, de estrujado, de despallado, de prensado, de calentamiento de la vendimia (Flanzy, 2000).

Los principales mecanismos que se desarrollan durante las operaciones que se realizan sobre la vendimia se esquematizan en la Figura 1. La intensidad de estos mecanismos es función de las condiciones de tratamiento de la vendimia (Flanzy, 2000).





**Figura 1: Tratamiento de la vendimia durante los cinco primeros minutos**

FUENTE: Flanzzy (2000)

En la uva y fundamentalmente debido a los tratamientos mecánicos que sufre desde a vendimia hasta el comienzo de la fermentación alcohólica, aparecen alcoholes y aldehídos, saturados e insaturados, de 6 átomos de carbono originados enzimáticamente por oxidación aeróbica de los ácidos linoleico y linolénico ( $C_{18:2}$  y  $C_{18:3}$ ). Estos tratamientos mecánicos producen la ruptura de las bayas y la salida del mosto, poniéndose en contacto los sustratos (ácidos grasos) con las correspondientes enzimas y dando lugar a los correspondientes compuestos C6. Estos ácidos grasos forman parte de las membranas celulares y son liberados mediante la enzima acil hidrolasa (Moreno y Peinado, 2010).

La presencia de estos compuestos en la uva y en el mosto puede potenciar el olor y sabor herbáceo que aporta características sensoriales indeseables. Así se han identificado hexanal, E-2-hexenal, Z-3-hexenal, hexanol-1, E-2-hexen-1-ol, Z-3-hexen-1-ol (Moreno y Peinado, 2010).

Hidalgo (2011) menciona que dichos compuestos aparecen cuando las operaciones mecánicas de estrujado son intensas, o las maceraciones largas. Además, indica que la acción del calor desarrollado en la fermentación alcohólica, junto con la formación de metanol y anhídrido carbónico, inhiben estas transformaciones; por lo que siempre que aparecen, pertenecen a una etapa prefermentativa de la vendimia. Los mostos desfangados blancos, con niveles de turbidez por debajo de 200 NTU, no manifiestan este problema.

La uva sufre cierto número de tratamientos mecánicos cuya influencia puede ser grande sobre la calidad de los aguardientes de origen vitícola (Cuadro 5).

**Cuadro 5: Relaciones entre análisis químico y sensorial en el aguardiente**

<b>Compuestos</b>	<b>Aspectos organolépticos</b>	<b>Umbrales cualitativos en el aguardiente nuevo <sup>(1)</sup></b>
Hexanol	Herbáceo	20 mg/l
Cis-3 hexenol	Herbáceo	3,5 mg/l
Alcoholes superiores	Un contenido superior a 3500 mg/l de la suma de alcoholes superiores (aguardiente nuevo), traduce ciertos problemas de vinificación por lo que conviene buscar causas (por ejemplo: fangos en los mostos en cantidades excesivas, temperaturas de fermentación elevadas, cepas de levadura, etc.)	

(1) Estos contenidos sólo tienen un valor indicativo. Se basan en los resultados estadísticos obtenidos por la Estación Vitícola de Cognac.

FUENTE: Flanzy (2000)

Es importante destacar que el metanol existe siempre en los vinos, en pequeñas concentraciones, comprendidas entre 60 y 150 mg/l; no tiene incidencias organolépticas, y la fermentación alcohólica no está implicada en esa formación (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002), Flanzy (2000) indica que en las primeras horas siguientes al pisado o estrujado de la vendimia se produce la hidrólisis de las cadenas de las pectinas debida a la acción de la pectinometilestearasa, que libera el metanol unido por enlace éster a las funciones carboxílicas de los ácidos galacturónicos de las pectinas naturales de la uva.

Flanzy (2000), menciona los factores (Cuadro 6) en las fases del tratamiento de la vendimia que influyen sobre la composición y la calidad de los aguardientes de origen vitícola.

**Cuadro 6: Efectos negativos sobre la calidad en el transcurso de la vendimia**

<b>Aspectos Analíticos: (VG=vendimia, M=mosto, V=vino, E=aguardiente)</b>				
<b>Factores estudiados</b>	<b>Parámetros influenciados</b>	<b>Productos afectados</b>	<b>Evoluciones (↑=aumento (↓=disminución)</b>	<b>Aspectos organolépticos (aguardiente)</b>
<b>Trituración</b>				
Recolección mecánica y transporte: estrujado, bomba de vendimia, tolva de estrujado	TDN	M,V,E	↑	Nota "hidrocarburo"
	Fangos	M	↑	
	Alcoholes superiores	V, E	↑	Pérdida de finura
Despalillado	Raspones	VG	↓	
	Restos vegetales	VG	↓	
	Hojas desmenuzadas	VG	↑	
	Peciolos	VG	↑	
	pH	M	↑	
	TDN	M,V,E	↑	
	Hexanol	M,V,E	↑	Gustos herbáceos
	Cis-3 hexenol	M,V,E	↑	
	Fangos	M	↑	
Unidades lacasa (Botrytis)	M	↑	Gustos a moho	
<b>Maceración</b>				
	Compuestos fenólicos	M	↑	
	Oxidación	V	↑	Gustos herbáceos
	Estabilidad al aire	V	↓	
	Difusión de residuos fitosanitarios	M,V,E	↑	Gustos de productos fitosanitarios
<b>Prensado excesivo</b>				
	pH	M	↑	
	Acidez	M	↓	
	Potasio	M	↑	
	Compuestos fenólicos	M	↑	
	Oxidación	M	↑	
	TDN	M,V,E	↑	Gustos herbáceos, nota "hidrocarburo"

\*TDN: trimetil-1,1,6-dihidro-1,2-naftaleno

FUENTE: Flanzky (2000)

- **Constituyentes Volátiles de la etapa Fermentativa**

La transformación del mosto en vino, como consecuencia del proceso de fermentación alcohólica, modifica profundamente la composición química del medio. La fermentación es un proceso catabólico que consiste básicamente en degradar los azúcares para obtener energía, originando como residuo etanol y dióxido de carbono. El rendimiento energético del proceso de fermentación es menor que el proceso catabólico de respiración, ambos procesos los efectúan en el mosto unos microorganismos llamados levaduras; en una fase inicial, las levaduras se desarrollan aeróbicamente, consumiendo los azúcares y proliferando hasta que el contenido en oxígeno disuelto de los mostos se hace prácticamente cero; durante esta fase la levadura no produce casi nada de etanol. Cuando las condiciones son anaeróbicas es cuando se observa la mayor transformación de glucosa y fructosa en etanol (Moreno y Peinado, 2010).

Las levaduras son responsables de la formación de compuestos que influyen notablemente en las propiedades organolépticas del vino (Moreno y Peinado, 2010).

Sabiendo que las especies de levadura poseen potencialidades de síntesis de compuestos aromáticos diferentes, y que la expresión de estas potencialidades varía según la composición del mosto (acidez, pH, azúcar, etc.) y según las condiciones fermentativas (temperatura, oxígeno, etc.), se comprende mejor la variabilidad de la composición de los vinos. Se aprecia igualmente uno de los aspectos de la noción de zona de cultivo (*terroir*) y de *cru* (viñedo) (Flanzy, 2000).

Es importante tener en cuenta las condiciones en que se lleva a cabo la fermentación, dado que éstas interfieren en diferente medida sobre la calidad y composición de los mostos, vinos y aguardientes de origen vitícola (Cuadro 7).

**Cuadro 7: Incidencias enológicas de diversas condiciones fermentativas**

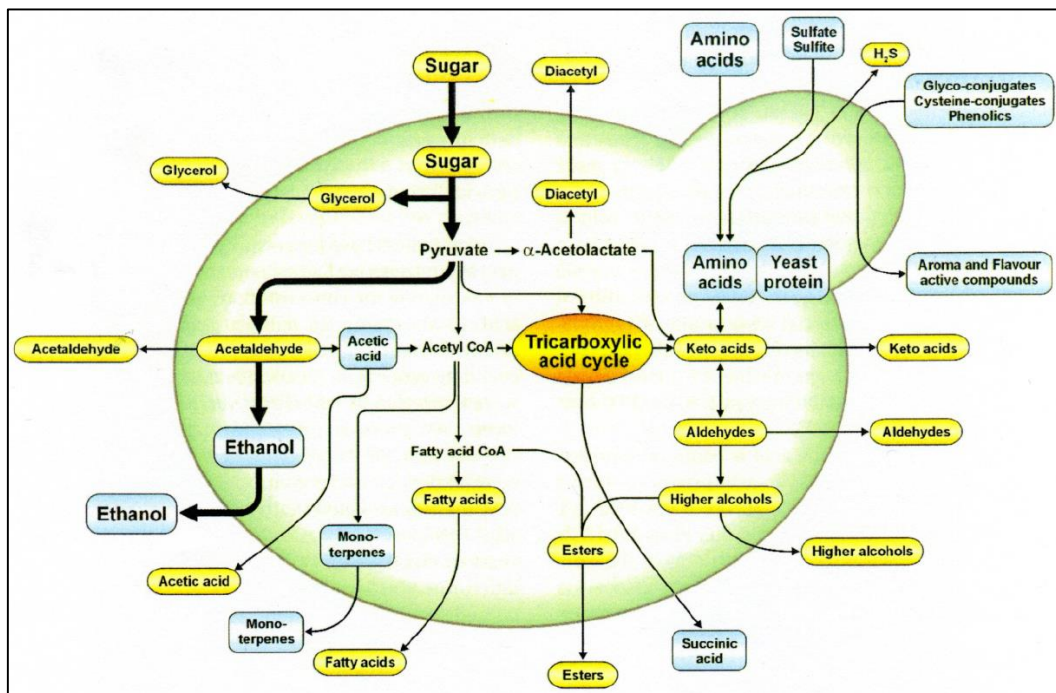
<b>Aspectos analíticos: (V=vendimia, M=mosto, V=vino, E=aguardiente)</b>				
<b>Factores estudiados</b>	<b>Parámetros influenciados</b>	<b>Productos afectados</b>	<b>Evoluciones (↑=aumento (↓=disminución))</b>	<b>Aspectos organolépticos (aguardiente)</b>
<b>Hiperoxigenación</b>				
	Oxidación de los compuestos fenólicos	M	↑	Equilibrado, redondo, vinoso, floral pero, pérdida de tipicidad
		V	↓	
	Acetatos de isoamilo y de feniletilo	E	↑	
<b>Desfangado</b>				
	Fangos (eliminación)	M	↓	Pérdida de carácter y tipicidad
	Elementos nutritivos de las levaduras	M	↓	
	Levaduras	M	↓	
	Alcoholes superiores	V,E	↓	
<b>Adición de levaduras</b>				
Pie de cuba o LSA*	Tiempo de latencia	M+V	↓	Finura, tipicidad
LSA* comerciales no adaptadas				Pérdida de riqueza aromática
<b>Temperaturas fermentativas</b>				
A baja temperatura (a 18 o 22 °C)	Alcoholes superiores	V,E	↓	Muy floral y muy afrutado, pérdida de tipicidad (a 18°C solamente)
	Esteres de ácidos grasos	E	↑	
	Etanal	V,E	↓	
	Acetales	V,E	↓	
	Acetatos de alcoholes superiores	E	↑	
A 22 °C	Idem	Idem		Carácter agradable: floral, redondo
A temperatura elevada			Variaciones inversas para los mismos compuestos	Pérdida de finura, nota herbácea, vegetal

\*LSA: levaduras secas activas

FUENTE: Flanzky (2000)

Botelho (2008) menciona que la fermentación alcohólica representa el proceso principal en el desarrollo de compuestos de sabor-activo, puesto que, en comparación con el vino, el aroma y el sabor del jugo de uva/mosto es relativamente bajo. El aroma de los vinos jóvenes, tintos o blancos, está muy influenciada por los productos secundarios de la fermentación alcohólica, como, ésteres, alcoholes, ácidos volátiles, o fenoles volátiles. Los ácidos orgánicos, alcoholes superiores, compuestos azufrados orgánicos poco volátiles y ésteres son componentes sensoriales significativos del vino y constituyen el principal grupo de compuestos que forman el "bouquet de fermentación". La complejidad del desarrollo del aroma durante la fermentación alcohólica es todavía relativamente pobre entendida, durante la fermentación pueden ser identificadas tres rutas principales de desarrollo de compuestos, a saber, el hecho de que mientras que algunos compuestos derivados de la uva permanecen esencialmente intactos químicamente, otros son metabolizados para formar metabolitos de sabor-activo, y otros experimentan reacciones hidrolíticas o biotransformación, ya sea intra- o extra-celularmente, que modifican sus contribuciones al vino.

La Figura 2 proporciona una representación esquemática de la derivación y la síntesis de compuestos de sabor-activo a partir de azúcar, aminoácidos y del metabolismo de azufre por la *Saccharomyces cerevisiae* (Botelho, 2008).



**Figura 2: Formación de compuestos durante la fermentación**

FUENTE: Botelho (2008)

- **Alcohol Etilico**

El etanol o alcohol etílico es, después del agua, el constituyente cuantitativamente más importante del vino. Posee un poder disolvente utilizado para disolver los compuestos fenólicos del orujo durante la vinificación; esa misma propiedad interviene en la solubilización de ciertas moléculas odorantes y participa ciertamente en la expresión global del aroma del vino (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

- **Alcoholes Superiores**

Los alcoholes que poseen más de dos átomos de carbono son llamados alcoholes superiores (Cuadro 8); varios son de origen fermentativo. Están presentes en los vinos en dosis globales del orden de 150 a 550 mg/l, ellos mismos y sus ésteres poseen olores intensos que juegan un rol en el aroma de los vinos. Los principales alcoholes superiores de origen fermentativo, constituyentes de los aceites de Fusel, son el alcohol isobutílico y los alcoholes amílicos (mezcla de metil-2-butanol-1 y metil-3-butanol-1) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002). El 3-metil-1-butanol (alcohol isoamílico) es uno de los odorantes más importantes en el vino (Cacho *et al.*, 2013a).

Dentro de los más importantes alcoholes superiores se encuentra el 2-feniletanol, el cual es un compuesto que aporta aroma al vino y tiene como descriptores sensoriales: floral, rosa y polen (Cedrón, 2004). Se presenta en concentraciones muy variables en los vinos, su contribución al aroma es indirecta, ya que es un éster de este alcohol, el éster acético, el que contribuye de modo más significativo al aroma del vino, comunicándole notas florales (González, 1999).

Ribereau-Gayón *et al.* (2002) mencionan que los alcoholes superiores de origen fermentativo, en baja concentración (menos de 300 mg/l), participan de la complejidad aromática del vino; a concentración más elevada su olor penetrante enmascara la fineza aromática. Un contenido superior a 3 500 mg/l de alcoholes superiores en aguardientes de uva, traduce ciertos problemas de vinificación, entre las posibles causas para estas elevadas concentraciones encontramos: cantidades excesivas de fangos, temperaturas elevadas de fermentación; o bien están relacionadas con la cepa de la levadura (Flanzy, 2000).

**Cuadro 8: Alcoholes simples presentes en el vino**

Nombre	Punto de ebullición (°C)	Tenores (g/l)	Observaciones
Metanol	65	0,1	Proviene de la hidrólisis de las pectinas, no de la fermentación
Etanol	78	100	
Propanol-1	97	0,03	
Propanol-2	82	Trazas	Alcohol isopropílico
Butanol-1	117	Trazas	
Metil-2-propanol-1	107	0,1	Alcohol isobutílico
Metil-2-propanol-2	82	?	
Butanol-2	99	Trazas	
Butanodiol-2,3	183	1	
Pentanol-1	137	Trazas	
Pentanol-2	119	Trazas	
Pentanol-3	115	?	
Metil-3-butanol-1	131	0,2	Alcohol isoamílico
Metil-2-butanol-1	129	0,05	Alcohol amílico activo
Metil-3-butanol-2	112	?	
Cis-hexeno-3-ol-1	156		Presente en la uva con olor a hierba
Hexanol-1	158	0,01	
Hexanol-2	138	?	
Heptanol-1	177	Trazas	
Heptanol-2	160	?	
Octanol-1	194	?	
Octanol-2	180	?	
Nonanol-1	212	?	
Nonanol-2		?	
Decanol-1	229	?	
Fenil-2-etanol	219	0,05	Alcohol de origen fermentativo (olor a rosa)
Tirosol			
Octen-1-ol-3			Olor a hongo

FUENTE: Ribéreau-Gayon *et al.* (2002)



- **Ácidos y sus Ésteres**

El ácido acético representa el 95 por ciento de la acidez volátil producida por la levadura con unos contenidos medios en el vino antes de la fermentación maloláctica del orden de 250 mg/l, es decir superiores a su umbral de diferenciación olfativa. A pesar de su “reputación” negativa ligada al vinagre, es un compuesto necesario en el aroma del vino (Flanzy, 2000).

Además del factor levadura, existen otros que influyen en la producción de ácido acético durante la fermentación alcohólica, destacando entre estos la anaerobiosis, algunas carencias de vitaminas y aminoácidos, las temperaturas de fermentación elevadas durante la fase de multiplicación celular (25° a 30° C), y los pH muy bajos inferiores a 3,1 o excesivamente altos superiores a 4,0 (Hidalgo, 2011).

Migone (1986) citado por Domenech (2006) reporta al respecto, que los ácidos volátiles son de olor muy penetrante y desagradable, perjudicando al destilado con su presencia, pero siempre es necesaria una pequeña cantidad de ácido acético para que los aguardientes adquieran cuerpo, muy importante en la calidad; pero un exceso de ácido acético genera un elevado contenido de acetato de etilo que desmejora la calidad del producto.

Cacho (2003), menciona que los derivados del metabolismo de los aminoácidos, fundamentalmente están constituidos por los acetatos de alcoholes superiores, ésteres etílicos de los ácidos, ácidos y alcoholes superiores. Los primeros son los que comunican el conocido olor a plátano, del que el principal responsable es el acetato de isoamilo, aunque también contribuyen los acetatos de isobutilo, hexilo y feniletilo. Su concentración está relacionada con la de los aminoácidos del mosto y no con la de alcoholes superiores. También son decisivas en la generación de este aroma la cepa de levadura y el grado de anaerobiosis de la cuba de fermentación.

Las cantidades ésteres producidas en la fermentación son influenciadas por múltiples factores como son: la maduración de la uva, el contenido de azúcar, la cepa usada, la temperatura de fermentación, los métodos de vinificación, la materia insoluble en el mosto, el tiempo de contacto con la cáscara, el cultivar y el pH del mosto (Lambrechts y Pretorius, 2000).

Entre los diferentes ésteres tenemos al lactato de etilo que es un compuesto con descripción sensorial frutal y jabonosa (Cedrón, 2004), Ebeler y Thorngate (2009) señalan que el acetato de etilo (aroma a esmalte de uñas) es uno de los ésteres típicamente predominante en vinos. El acetato de isopentilo o acetato de isoamilo, tiene como descriptores sensoriales al plátano, manzana y frutal, mientras que el acetato de 2-feniletilo posee descriptores sensoriales a rosa, miel y dulzón (Cedrón, 2004).

La esterificación del ácido acético con alcoholes superiores durante la fermentación depende de la cantidad de alcoholes superiores, sin embargo, la formación de ésteres de ácido acético llevada a cabo por las levaduras es mucho más rápida que la esterificación del ácido acético con el alcohol a través de la reacción química (Nykänen y Nykänen, 1991). La formación directa de ésteres es muy lenta para explicar las concentraciones de ésteres encontradas en bebidas alcohólicas (Lambrechts y Pretorius, 2000).

Los derivados del metabolismo de lípidos son los ácidos grasos y sus ésteres etílicos. Los ácidos grasos son responsables de notas aromáticas que recuerdan al queso, la mantequilla, la grasa, y por si mismos se pueden considerar un grupo o familia, que es denominado: queso. Los esterres etílicos de estos ácidos presentan olores que encontramos en las manzanas y por eso constituyen una familia que se denomina así. El conjunto de aromas de este apartado es el responsable de la mitad de las unidades de aroma de los vinos tranquilos corrientes, lo que nos da idea de su importancia. El aroma frutal (frutas carnosas) que describen los enólogos cuando hacen el seguimiento de los tanques de fermentación está formado por las familias de la manzana, el plátano y la piña. (Cacho, 2003).

Los ésteres etílicos de ácidos grasos, tienen olores muy agradables de cera y de miel, participan de la fineza aromática de vinos blancos, esencialmente, el hexanoato y octanoato de etilo son formados por la levadura durante la fermentación alcohólica (Ribereau-Gayón *et al.*, 2002). El hexanoato de etilo desprende aromas florales y afrutados, mientras que el decanoato de etilo presenta un carácter similar pero más “jabonoso” (Hidalgo, 2011). Los ésteres etílicos de ácidos grasos desde el hexanoato al dodecanoato de etilo poseen aroma a fruta madura, el perfil de los ésteres etílicos de C18 depende del tipo de levadura y nutrición relevante (López-Vásquez *et al.*, 2010b).

Se debe destacar la importancia de la lisis celular en el aroma del vino. Las lías (levaduras muertas), además de liberar aromas y polisacáridos, protegen a ciertos aromas de la oxidación. Los polisacáridos interactúan con los aromas (Cacho, 2003).

### **2.5.3 AROMAS DESARROLLADOS EN LA DESTILACIÓN**

La destilación se hace con el objeto de extraer del vino sus principales componentes volátiles buscando recuperar la mayor cantidad de etanol y aromas favorables, separándolos de los desfavorables (Domenech, 2006).

El metal más ampliamente usado en los alambiques de destilación es el cobre. Este material presenta múltiples ventajas ya que es muy maleable, buen conductor del calor, resistente a la corrosión, y juega un papel de catalizador para ciertas reacciones químicas y de acomplejamiento de moléculas poco agradables a nivel organoléptico (tioles, mercaptanos, ácidos grasos) (Flanzy, 2000).

Según Valenzuela (2002), citado por Hatta (2004), los distintos compuestos volátiles se pueden clasificar según su afinidad con el etanol y/o agua, lo que determinará el momento en que se destilarán:

- Compuestos de bajo punto de ebullición (menor a 100° C) y solubles en etanol, destilan primero (acetaldehído, acetato de etilo).
- Compuestos con un mayor punto de ebullición y completa o parcialmente solubles en etanol, destilan durante la primera fase de la destilación (ácidos grasos y ésteres).
- Compuestos de bajo punto de ebullición, solubles en etanol y completa o parcialmente solubles en agua, destilan durante la cabeza y todo el cuerpo del destilado (metanol, alcoholes superiores).
- Compuestos cuyo punto de ebullición es cercano al agua y son solubles en agua, destilan en la mitad del cuerpo (ácido acético, 2-feniletanol, lactato de etilo, succinato de dietilo).
- Compuestos de alto punto de ebullición y muy solubles en agua, pueden llegar a destilar en la parte final del cuerpo y la cola de la destilación (furfural).

Por otro lado, Usseglio-Tomasset (1998), menciona que por obra del calor se produce la liberación de los alcoholes terpénicos libres de sus productos de combinación. Al pH del mosto y con calor, partiendo de soluciones de linalol, nerol, geraniol se llega a obtener presencia contemporánea de linalol, nerol, geraniol y  $\alpha$ -terpineol. Sucede que cada uno de los tres alcoholes terpénicos no sólo se convierten parcialmente en los otros dos, sino que da cantidades muy relevantes de  $\alpha$ -terpineol, el cual parece ser el compuesto al que tienden a transformarse los otros dos alcoholes terpénicos.

#### **2.5.4 AROMAS DESARROLLADOS EN REPOSO**

El Consejo Regulador de Pisco (2015) menciona que el pisco debe tener un reposo mínimo de tres (03) meses antes de su envasado y comercialización.

Un estudio acerca del tiempo de reposo en Pisco Quebranta llevado a cabo por Toledo (2012), menciona que los tres meses de reposo exigidos por el Reglamento de la Denominación de Origen Pisco, no son suficientes para demostrar un equilibrio y cambio fisicoquímico en los componentes de pisco, llamados congenéricos totales, los cuales son obtenidos por la suma de acetaldehído, isobutiraldehído, acidez volátil, metanol, furfural y alcoholes superiores totales. El investigador menciona que se refleja el comportamiento inestable de los componentes del Pisco en tan corto tiempo de reposo, y el no tan marcado cambio que se presenta en los tres meses que exige el reglamento como mínimo de reposo.

Rodríguez y Suarez (2015) mencionan que, a modo de orientación, se puede señalar que un periodo de ocho meses, con una buena oxigenación mediante la aireación (remontados mensuales del aguardiente), garantiza un cierto equilibrio en el aroma del destilado, marcado por la presencia de 1,1,3-trietoxipropano (acetalización) por la ausencia de acroleína (aldehído) y la hidrólisis de los ésteres etílicos del acético, principalmente. Éste puede ser considerado el tiempo recomendado para la maduración del aguardiente de sidra. Sin embargo, periodos más prolongados de maduración propician un mayor aumento del contenido en ésteres, dando lugar a aguardientes con un mayor aumento del contenido de ésteres, y a aguardientes con una mejor valoración aromática.

## 2.6 COMPONENTES VOLÁTILES DEL PISCO

Según Valenzuela (2002), citado por Hatta (2004), la calidad aromática del pisco está dada por la concentración de los compuestos minoritarios o aromas presentes en él. Estos compuestos son ésteres, terpenos, alcoholes, fenoles y ácidos grasos, los que se encuentran en muy bajas concentraciones (ng/l - mg/l). Tanto los aromas como los compuestos que los producen pueden agruparse en aromas positivos o negativos. Son considerados positivos los ésteres (aromas frutales), terpenos (aromas florales) y el 2-feniletanol (aroma a rosas), mientras que son negativos los ácidos grasos (aromas rancios), los alcoholes superiores (aromas fenólicos) y los aldehídos (olor picante).

En el Cuadro 9 se muestra el contenido de los terpenos (linalol, nerol y geraniol) en pisco de uva aromática Italia (tratamiento de 18 horas de maceración con orujos) reportado por Domenech (2006).

**Cuadro 9: Contenido de terpenos en Pisco Italia**

Compuesto	Promedio (µg/l alcohol anhidro)
Linalol	19 736
Nerol	1 470
Geraniol	3 973

FUENTE: Domenech (2006).

Cacho *et al.* (2012b) mencionan que los compuestos mayoritarios del pisco Italia son, en su mayoría, metabolitos de la fermentación, tales como: 3-metil-1-butanol, ácido acético, etil acetato, isobutanol, 2-metil-1-butanol y propanol. Comparando el perfil aromático del pisco peruano Italia con piscos chilenos, se puede concluir que en general los niveles de compuestos mayoritarios son muy similares. Sin embargo, son destacables algunas diferencias en cuanto a su composición; el pisco Italia difiere de otros destilados por las siguientes razones: (1) compuestos como el 1-butanol, 3-hidroxi-2-butanona y el ácido acético se presentan en los más altos niveles, (2) en contraste, esta variedad de pisco se caracteriza por tener los niveles más bajos de compuestos como: 2- y 3-metil-butanol, dietilsuccinato y etilhexanoato.

De acuerdo al Reglamento de la Denominación de Origen Pisco, el pisco debe presentar los siguientes compuestos aromáticos (Consejo Regulador del Pisco, 2015) (Cuadro 10).

**Cuadro 10: Requisitos físicos y químicos del pisco**

Requisitos Físicos y Químicos	Mínimo	Máximo	Tolerancia	Método de ensayo
Grado alcohólico volumétrico a 20/20 °C (por ciento) <sup>(1)</sup>	38,0	48,0	+/- 1,0	NTP 210.003
Extracto seco a 100 °C (g/l)	-	0,6		NTP 211.041
Componentes Volátiles y Congéneres (mg/100 ml A.A.) <sup>(2)</sup>				
Esteres, como acetato de etilo	10,0	330,0		NTP 211.035
• Formiato de etilo <sup>(3)</sup>	-	-		
• Acetato de etilo	10,0	280,0		
• Acetato de isoamilo <sup>(3)</sup>	-	-		
Furfural	-	5,0		NTP 210.025 NTP 211.035
Aldehídos, como acetaldehído	3,0	60,0		NTP 211.038 NTP 211.035
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales	60,0	350,0		NTP 211.035
• Iso-propanol <sup>(4)</sup>	-	-		
• Propanol <sup>(5)</sup>	-	-		
• Butanol <sup>(5)</sup>	-	-		
• Iso-butanol <sup>(5)</sup>	-	-		
• 3-metil-1-butanol/2-metil-1-butanol <sup>(5)</sup>	-	-		
Acidez volátil (como ácido acético)	-	200		NTP 211.040 NTP 211.035
Alcohol metílico				NTP 201.022
• Pisco Puro y Mosto Verde de uvas no aromáticas	4,0	100,0		
• Pisco Puro y Mosto Verde de uvas aromáticas y Pisco Acholado	4,0	150,0		NTP 211.035
Total Componentes Volátiles y Congéneres	150,0	750,0		

(1) Esta tolerancia se aplica al valor declarado en la etiqueta, pero de ninguna manera deberá permitirse valores de grado alcohólico menores a 38 ni mayores a 48. (2) Se consideran componentes volátiles y congéneres del Pisco, las siguientes sustancias: ésteres, furfural, ácido acético, aldehídos, alcoholes superiores y alcohol metílico. (3) Es posible que no estén presentes, pero de estarlos la suma con el acetato de etilo no debe sobrepasar 330 mg/100ml. (4) Es posible que no esté presente. (5) Deben estar presentes sin precisar exigencias de máximos y mínimos.

FUENTE: Consejo Regulador del Pisco (2015)

## 2.7 METODOLOGÍAS PARA DETECTAR COMPUESTOS VOLÁTILES EN EL VINO Y BEBIDAS DESTILADAS

Para estudiar las sustancias volátiles de un vino se debe superar 4 etapas sucesivas: extracción, separación, identificación y cuantificación. Estas operaciones resultan complejas por el gran número de sustancias presentes en el vino que pertenecen a distintos grupos químicos y que poseen diferente reactividad, lo cual hace que algunas de ellas se puedan transformar en el transcurso de la extracción y análisis. La investigación de los aromas en vinos apunta a lo siguiente (Belancic y Agosin, 2002):

- Identificar compuestos responsables de los aromas.
- Estudiar interacciones sensoriales.
- Predecir el desarrollo del aroma en la transformación de mosto a vino.
- Justificar las particularidades aromáticas de un vino en relación con la variedad y prácticas vitícolas y enológicas.

Las bebidas alcohólicas contienen componentes aromáticos de gran actividad presentes en concentraciones tan bajas como varios nano-gramos por litro. El análisis de estos compuestos exige etapas de enriquecimiento altamente selectivas y eficientes, como la cromatografía de gases. En el caso de las bebidas alcohólicas, se encuentra una dificultad adicional porque los compuestos ultra-trazas del aroma se presentan "ocultos" detrás de una cortina profunda de los principales componentes volátiles formados principalmente durante el metabolismo de la levadura, y que puede estar presente en concentraciones superiores a 100 mg/L (Ferreira *et al.*, 1999).

Generalmente, las bebidas destiladas son inyectadas en el sistema cromatográfico sin ninguna dilución o etapa de pretratamiento, usando el modo *split* (con división de muestra), la cual es adecuada para el análisis de compuestos mayoritarios en estas bebidas. Cuando el objetivo del análisis es la determinación de compuestos presentes en pequeñas cantidades ( $\mu\text{g/l}$ ), alguna etapa de extracción y/o concentración es necesaria, seguida por la inyección de la muestra en modo *splitless* (sin división de la muestra). Por otro lado, para bebidas fermentadas, la introducción de la muestra es básicamente la misma que para las destiladas,

sin embargo, para muchas muestras complejas, no es recomendable inyectarlas en el cromatógrafo sin una etapa de pretratamiento (Lanças y De Moraes, 2005).

### 2.7.1 EXTRACCIÓN

Los procedimientos de aislamiento de los compuestos volátiles del vino del resto de la matriz están basados en distintas propiedades físico-químicas como son la volatilidad, la solubilidad en distintas fases orgánicas inmiscibles con la matriz y la capacidad de ser absorbidos selectivamente sobre ciertos materiales (Cedrón, 2004).

- **Microextracción en Fase Líquida**

La desmixtura o microextracción es un método de concentración conseguido por saturación de sales minerales, y posterior adición o no de disolvente como fase orgánica, por medio del cual, algunos compuestos poco solubles en agua pasan a la fase alcohólica, o bien a la fase orgánica que se forma si se utiliza un disolvente. La técnica consiste en añadir al vino las sales en proporciones adecuadas, agitar y disolver, añadir el disolvente (en caso de utilizarse) y dejar que se produzca la separación de fases encontrándose en la fase alcohólica u orgánica los compuestos extraídos (Cedrón, 2004).

Ortega *et al.* (2001), desarrollaron un método para el análisis rápido de compuestos volátiles de importancia en vino, basado en el análisis mediante cromatografía de gases (GC) acoplado a un sistema de detección de ionización de llama (FID) de microextractos en diclorometano. Dicho método permitió la determinación satisfactoria de más de 30 compuestos volátiles en el vino.

La microextracción por desmezcla se basa en utilizar un disolvente orgánico muy inmiscible en agua y adicionar sobre la fase acuosa una elevada concentración de sales, disminuyendo así la capacidad solvatante del agua, favoreciendo la desmezcla de las dos fases, así como la solubilidad en la fase orgánica de los compuestos a extraer. La adición de sales es un fenómeno físico-químico conocido. Se fundamenta en el tipo de interacciones que existen en una disolución acuosa que contiene una cierta cantidad de soluto orgánico. La solubilidad de un soluto orgánico en un medio acuoso es función de la capacidad de sus moléculas de unirse a la estructura de puentes de hidrógeno del agua. Por supuesto, estas moléculas



orgánicas no tendrán la misma capacidad que las del agua para formar parte de la red, pero sí se adherirán lo suficiente como para solubilizarse. La introducción de una especie iónica fuertemente disociada en el medio acuoso, requiere que las moléculas del agua se orienten en torno a los iones de la disolución. En esta situación, la estructura de la red de puentes de hidrógeno de la disolución acuosa se ve alterada, y este hecho provoca que las moléculas orgánicas, presentes en esa disolución, integradas en la estructura de los puentes de hidrógeno, encuentren ahora, una mayor dificultad para participar en la red, de forma que su solubilidad disminuye. Esta pérdida de solubilidad puede originar la separación de la disolución original en dos fases, una principalmente acuosa que contiene casi toda la sal disuelta y otra principalmente orgánica, aunque conteniendo una pequeña parte de sal y agua, hasta llegar a un punto de saturación en el que el sistema no admite más sal (Cedron, 2004).

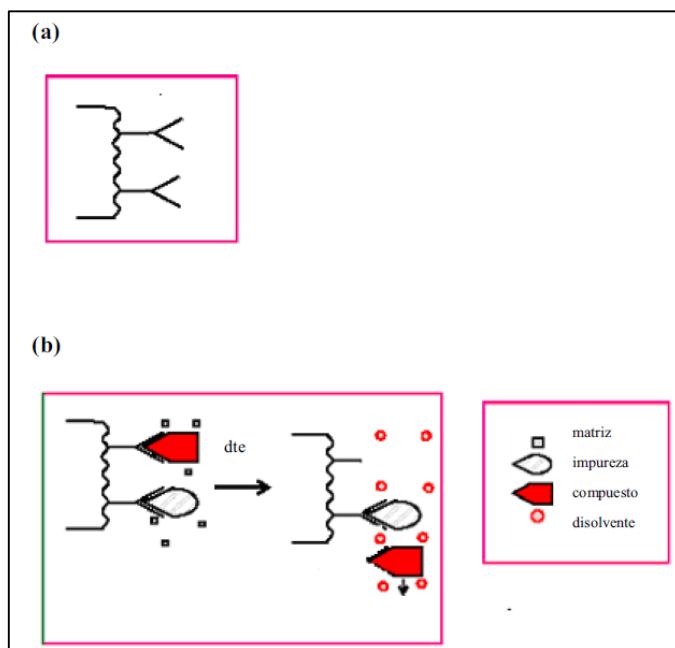
- **Extracción en Fase Sólida (SPE)**

La extracción en fase sólida o *Solid Phase Extraction* (SPE), consiste en hacer pasar la disolución que contiene los analitos a estudiar sobre una fase sólida que los adsorbe de manera específica. Con ella se reduce el uso de disolventes orgánicos y la utilización de material caro y frágil (Cedron, 2004).

López *et al.* (2002), desarrollaron un método de determinación de compuestos volátiles minoritarios y trazas en vino, mediante extracción en fase sólida (SPE) y cromatografía de gases (GC) acoplado a un sistema de detección de espectrometría de masas (MS). Esta metodología permitió determinar cuantitativamente 27 aromas importantes en vino en una sola corrida.

La forma de operar con esta técnica consiste en hacer pasar la disolución que contiene los analitos a estudiar sobre una fase sólida que los adsorbe de manera específica. Tras la adsorción, los analitos son extraídos con una pequeña cantidad de disolvente que tiene más afinidad por ellos que la fase sólida. Son numerosas las fases sólidas que existen en el mercado al igual que sus aplicaciones. La fase sólida puede ser un disco de papel de filtro de pocos centímetros de diámetro químicamente modificado, hasta una pequeña columna empaquetada, un cartucho tubular en forma de jeringa hipodérmica o un pequeño embudo empacado parcialmente con pequeñas partículas adsorbentes (Cedron, 2004).

La retención de los analitos orgánicos en los materiales SPE es debida, principalmente, a las fuerzas de van de Waals o fuerzas de dispersión. El proceso de separación de los compuestos se representa en la Figura 3. Al pasar la muestra se adsorben tanto los compuestos de interés como impurezas. La elección del disolvente adecuado hace que, en la elución obtengamos los compuestos en estudio (Cedrón, 2004).



**Figura 3: Fase sólida (a) y elución selectiva en SPE y símbolos (b)**

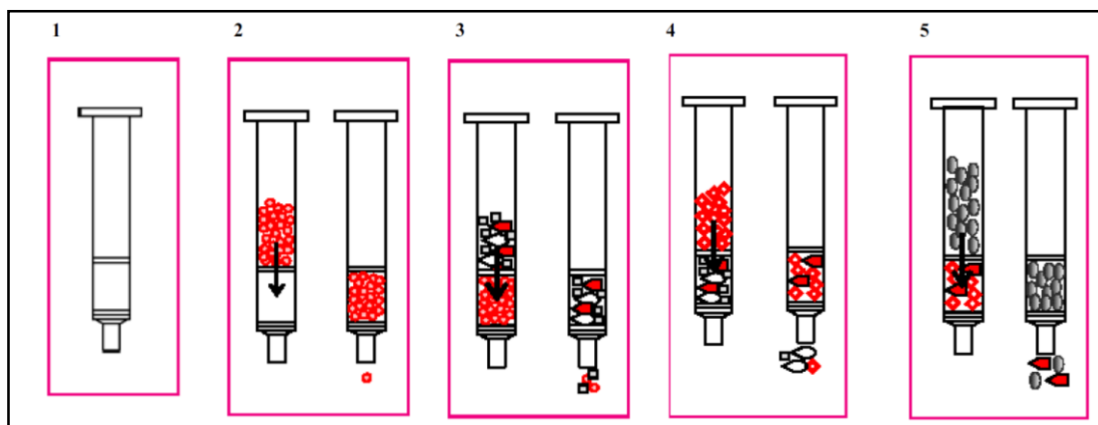
FUENTE: Cedrón (2004)

Las resinas LiChrolut EN (Merck) (Figura 4.) usadas como trampa para retener los componentes volátiles de pisco fueron usadas por Moncayo (2013), estas resinas fueron seleccionadas por su alta eficiencia en la extracción de compuestos volátiles, demostrada en otras bebidas alcohólicas (López *et al.*, 2002); los cartuchos de extracción en fase sólida se prepararon utilizando tubos de polipropileno estándar para SPE, (0,8 cm de diámetro interno, 3 mL de volumen interno), empaquetados con 400 mg de las resinas LiChrolut EN (Moncayo, 2013).



**Figura 4: Cartuchos de Polipropileno pre-empacados con Resinas LiChrolut**

La SPE es un proceso en etapas que se muestra gráficamente en la Figura 5. (1) El primer paso es la selección del cartucho, (2) acondicionamiento o activación de la fase sólida con un volumen de disolvente, (3) adición de la muestra lentamente, generalmente no suele exceder de 5 ml/min, (4) posibilidad de lavado para eliminar impurezas y (5) elución de los compuestos a analizar, se hace con un pequeño volumen de disolvente que desplaza los compuestos de interés (Cedrón, 2004).



**Figura 5: Etapas del proceso SPE**

FUENTE: Cedrón (2005)

Una comparación en función de ventajas e inconvenientes operacionales que en muchos casos van a ser cuestiones decisivas, se muestra en el Cuadro 11. Aparecen reflejados aspectos como rapidez, comodidad, coste, consumo de disolventes, etc. (Cedrón, 2004).

**Cuadro 11: Ventajas e inconvenientes de los métodos de extracción**

Método	Ventajas	Desventajas
<b>Microextracción por desmezcla</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Material convencional</li> <li>• Escaso consumo de disolventes orgánicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Posible pérdida de volátiles</li> <li>• Largo y tedioso</li> </ul>
<b>SPE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapidez</li> <li>• Posibilidad de automatización</li> <li>• Poca manipulación de la muestra</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Material específico</li> <li>• Posible pérdida de volátiles</li> </ul>

FUENTE: Cedrón (2004)

Una vez que se han obtenido los extractos y que contiene los compuestos a estudiar, el siguiente paso es su determinación (Cedrón, 2004).

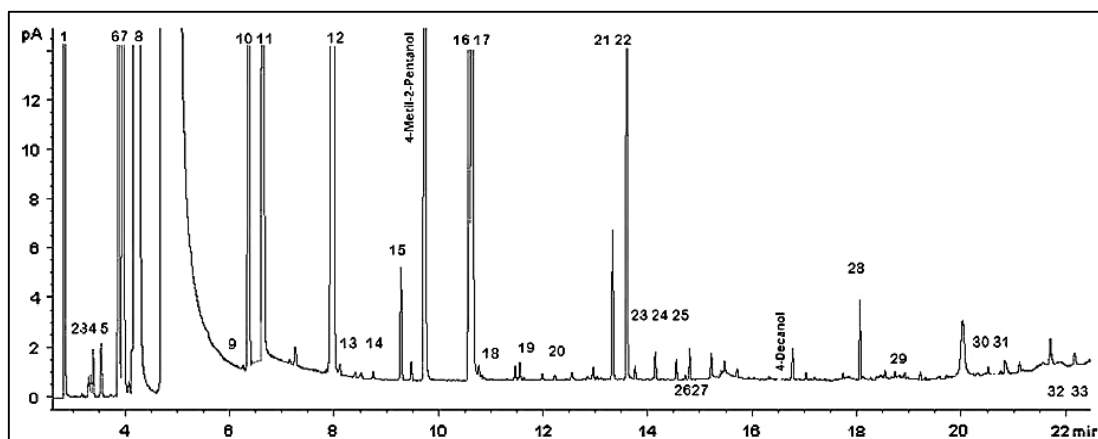
## 2.7.2 SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN

Debido a que la cromatografía de gases es una técnica analítica en la cual ocurre la separación y la identificación de los componentes volátiles, ésta debería ser considerada la mejor técnica para las bebidas alcohólicas (Lanças y De Moraes, 2005).

La técnica de elección para la separación de aromas es la cromatografía gaseosa (GC). Esta permite una separación altamente resolutive de las moléculas en estado gaseoso. Se utiliza para esto columnas capilares hechas de un tubo fino de sílice fundido, donde un film de menos de 1 micrón está fijado químicamente al tubo. La mezcla de moléculas introducidas en la columna se desplaza empujada por un gas vector. Las moléculas se separan a medida que progresan a través de la columna, en función de su afinidad por la fase de ésta y la temperatura aplicada. Los compuestos separados deben ser identificados y/o cuantificados; para esto, a la salida de la columna se tiene un detector. Para determinar la estructura química de los componentes la técnica que se utiliza es la espectrometría de masa (GC-MS) (Belancic y Agosin, 2002).

En cromatografía de gases, la muestra se inyecta en la fase móvil, la cual es un gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Actualmente, las más empleadas son las columnas capilares. La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados (Gutiérrez y Droguet, 2002).

La cromatografía en fase gaseosa permite separar los compuestos diferentes de una mezcla extremadamente compleja y también identificarlos por la medida del tiempo de retención, que es el tiempo transcurrido desde la inyección de la muestra hasta que se obtiene el máximo pico. El pico corresponde a la representación gráfica de un compuesto identificado (Hatta, 2004). La Figura 6 muestra un cromatograma con sus respectivos picos de un destilado típico de uva.



**Figura 6: Cromatograma de un destilado típico de uva (40 por ciento v/v)**

FUENTE: López-Vásquez *et al.* (2010a)

- **Cromatografía de Gases acoplado a Detector de Ionización de Llama (FID)**

Los compuestos, cuando salen de la columna del cromatógrafo, pasan por un detector unido a un amplificador y a un aparato de registro. El registro que se obtiene se denomina cromatograma y en él cada componente aparece como un pico, al representarse los valores que proporciona el detector frente al tiempo. Se utilizan diferentes detectores para poder determinar la elución de los compuestos a analizar (Roca *et al.*, 2003).

El detector de ionización de llama (FID, *Flame Ionization Detector*) es uno de los detectores más comúnmente usados en el análisis de bebidas por GC, así como es adecuado también para la mayoría de grupos de compuestos investigados en bebidas alcohólicas. Esto debido a que casi todos los compuestos de interés en dichas muestras son capaces de quemarse en una llama, formando iones y produciendo una diferencia de potencial medida por un electrodo colector (Lanças y De Moraes, 2005).

El FID se basa en que la energía térmica de una llama produce un cierto grado de ionización de las moléculas de la misma llama. Los iones se recogen en un par de electrodos polarizados y la corriente producida se amplifica y se registra. El grado de ionización varía con la composición de la mezcla gaseosa, pudiendo seguirse los cambios de corriente producidos, en función de los cambios en la composición del eluido (Roca *et al.*, 2003).

Es importante tener en cuenta que en realidad muchas de las individualizaciones de sustancias basadas exclusivamente en el valor del tiempo de retención y en la hipótesis de una separación perfecta de los componentes hay que tomarlas con prudencia (Usseglio - Tomasset, 1998).

- **Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)**

La asociación de las dos técnicas, GC (*Gas Chromatography*) y MS (*Mass Spectrometry*) da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas. Las principales cualidades de la espectrometría de masas (MS) son (Gutiérrez y Droguet, 2002):

- Capacidad de identificación de forma prácticamente inequívoca, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula.
- Cuantitativa: permite medir la concentración de las sustancias.
- Gran sensibilidad: habitualmente se detectan concentraciones del orden de mg/l o  $\mu\text{g/l}$  y en casos específicos se puede llegar hasta ng/l e incluso pg/l.
- Universal y específica.
- Proporciona información estructural sobre la molécula analizada.
- Suministra información isotópica.
- Es una técnica rápida: se puede realizar un espectro en décimas de segundo, por lo que puede monitorizarse para obtener información en tiempo real sobre la composición de una mezcla de gases.

La combinación GC-MS ha llegado a ser uno de los más importantes acoplamientos en la química analítica usada para la confirmación de resultados obtenidos de otros detectores. Esta técnica se basa en la fragmentación de las moléculas que llegan al detector. La

formación de iones ocurre y ellos son separados por el ratio masa/carga ( $m/z$ ) generalmente detectado por un multiplicador de electrones (Lanças y De Moraes, 2005).

Dentro del espectrómetro de masas, se procede a la ionización de la muestra mediante diferentes métodos. El sistema de ionización más frecuente es el de impacto electrónico que bombardea las moléculas con electrones de una cierta energía, capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón de las moléculas y así ionizarlas (Gutiérrez y Droguet, 2002).

Además de moléculas ionizadas o iones moleculares ( $M^+$ ) también se forman iones fragmento debido a la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía. El tipo y proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característico de las moléculas analizadas y de las condiciones del proceso de ionización. Una vez ionizadas las moléculas, se aceleran y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos o magnéticos. La velocidad alcanzada por cada ión será dependiente de su masa. La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, suponiendo que se trate de una sustancia pura, produce el espectro de masas de la sustancia, que es diferente para cada compuesto químico y que constituye una identificación prácticamente inequívoca del compuesto analizado. El espectro de masas puede almacenarse en la memoria del ordenador para compararse con los espectros de una colección de espectros (o librería) y proceder a su identificación o puede estudiarse para averiguar la naturaleza de la molécula que le dio origen, etc. (Gutiérrez y Droguet, 2002).

En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas (Gutiérrez y Droguet, 2002).

Usseglio-Tomasset (1998) menciona que sólo el acoplamiento, cada vez más difundido, de la cromatografía de gases con la espectrometría de masas, permite llegar a identificaciones seguras.

## 2.8 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

La instrumentalización analítica moderna permite obtener en un tiempo muy corto mucha información dando lugar a tablas de datos en función de dos o más variables (señales multivariantes). A través de la quimiometría se pueden evaluar e interpretar esos datos. Se pueden utilizar para realizar pruebas de significación o para clasificarlos. Entre las distintas técnicas quimiométricas se encuentra el análisis de componentes principales (PCA) (Cedrón, 2004).

El análisis de componentes principales (PCA, *Principal Components Analysis*) es una técnica multivariante encuadrada dentro del grupo de técnicas de simplificación o reducción de la dimensión. Este análisis permite transformar un grupo inicial de variables correlacionadas en otro de variables ortogonales denominadas Componentes Principales (PC), de modo que se reduce el número de datos cuando está presente la correlación (Cedrón, 2004).

Este análisis es aplicado para obtener una visualización en una dimensión reducida de la estructura de los datos (López-Vázquez *et al.*, 2010b). En esta técnica, los componentes principales se construyen usando combinaciones lineales de las variables originales, estas componentes maximizan la varianza de datos y constituyen un espacio ortogonal (Peña y Lillo *et al.*, 2005).

La idea que se encuentra detrás del PCA es encontrar componentes principales que sean combinaciones lineales de las variables originales que describe cada muestra. Las componentes principales se eligen de modo que la primera componente principal recoge la mayor parte de la variación y así sucesivamente. Como resultado, los datos se pueden representar en dos dimensiones en lugar de en las totales de origen (Cedrón, 2004).



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN**

La presente investigación se desarrolló en los laboratorios de Biotecnología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias pertenecientes a la Universidad Nacional Agraria La Molina y en los laboratorios de la Unidad de Genómica de Laboratorios y Unidades de Investigación y Desarrollo de Ciencia y Tecnología – LID, pertenecientes a la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

#### **3.2 MATERIALES**

##### **3.2.1 MATERIA PRIMA**

Se trabajó con uvas del valle de Ica:

- Variedad Italia de los viñedos: Hacienda Hoja Redonda (Distrito El Carmen), Fundo Viejo Tonel (Distrito Salas Guadalupe) y Fundo Citevid (Distrito Salas Guadalupe).
- Variedad Torontel de los viñedos: Hacienda Hoja Redonda (Distrito El Carmen), Fundo Santa Lucía (Distrito Santiago) y Fundo Viejo Tonel (Distrito Salas Guadalupe).
- Variedad Moscatel de los viñedos: Fundo de Yolanda Tinoco (Distrito Ocucaje), Fundo Viejo Tonel (Distrito Salas Guadalupe) y Fundo Santa Lucía (Distrito Santiago).

##### **3.2.2 EQUIPOS E INSTRUMENTOS**

- Alambique de cobre de 3 l de capacidad (Perú)
- Cocina eléctrica (Perú)
- Balanza de 50 kg de capacidad, marca Sores, Modelo AFS (Perú)
- Balanza de 200 g de capacidad, marca OHAUS, Modelo Scout TM Pro (EEUU)

- Balanza analítica, marca A& D Company Limited, Modelo HR-250<sup>a</sup> (Japón)
- Centrífuga, marca Thermo Scientific, Modelo Legend XTR (EEUU)
- Agitador horizontal, marca Thermo Scientific, Modelo Max Q 8000 (EEUU)
- Cromatógrafo de gases, marca Agilent Technologies, Modelo 7890<sup>a</sup> (EEUU)
- Columna Cromatográfica DB-WAX, marca Agilent J&W (EEUU)
- Sistema de Extracción VacElut, marca Aligent (EEUU)
- Cartuchos de polipropileno pre-empacados con resinas LiChrolut EN, marca Merck (Alemania)
- Equipo de destilación (Perú)
- Mostímetro, marca BOECO Germany (Alemania)
- Alcoholímetro Gay-Lussac, marca BOECO Germany (Alemania)
- Termómetro de 0-100°C, marca Ludwig-Schneider (Alemania)
- Picnómetro de 25 ml calibrado a 20°C, marca Brand Duran (Alemania)
- Potenciómetro, marca HANNA, modelo H18424 (España)
- Recipientes de 50 l y 25 l de capacidad
- Damajuanas de vidrio de 4 l de capacidad
- Materiales de vidrio diverso: probetas de 500 ml, 250 ml, pipetas, vasos de precipitado, tubos de ensayo, tubos de centrifuga, viales, etc.
- Otros materiales: coladores, jarras medidoras, embudos, etc.

### 3.2.3. REACTIVOS

- Licor Fehling A: sulfato de cobre pentahidratado y ácido sulfúrico
- Licor Fehling B: hidróxido de sodio y tartrato neutro de potasio
- Solución de glucosa
- Azul de metileno (Merck)
- Carbón activado (Merck)
- Fenolftaleína (Merck)
- Hidróxido de sodio (Merck)
- Sulfato de amonio (Merck)
- Metanol (J.T. Baker)
- Etanol (Merck)

- Diclorometano (Merck)
- Agua Milli-Q
- Estándares internos cromatográficos
  - 2-butanol (Merck)
  - 4-metil-2-pentanol (Merck)
  - 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (Merck)
  - 2-octanol (Merck)
  - 3-octanona (Merck)
  - $\beta$ -damascona (Sigma Aldrich)
  - 4-nonanol (Merck)
- Estándares cromatográficos para compuestos determinados por GC-FID
  - Acetaldehído (Sigma Aldrich)
  - Acetato de etilo (Sigma Aldrich)
  - Isobutanol (Sigma Aldrich)
  - 3-metil-1-butanol (Sigma Aldrich)
  - Lactato de etilo (Sigma Aldrich)
  - Ácido acético (Sigma Aldrich)
  - 2,3-butanodiol (Sigma Aldrich)
  - 2-feniletanol (Sigma Aldrich)
- Estándares cromatográficos para compuestos determinados por SPE-GCMS
  - (+)- $\beta$ -citronelol (Sigma Aldrich)
  - (-)-Linalol (Sigma Aldrich)
  - Nerol (Sigma Aldrich)
  - Geraniol (Sigma Aldrich)
  - (+)- $\alpha$ -terpineol (Sigma Aldrich)
  - Terpinoleno (Sigma Aldrich)
  - Guayacol (Sigma Aldrich)
  - 4-etilguayacol (SAFC Supply Solutions)
  - Decanoato de etilo (SAFC Supply Solutions)
  - Octanoato de etilo (SAFC Supply Solutions)
  - Hexanoato de etilo (SAFC Supply Solutions)
  - Estearato de etilo (Sigma Aldrich)

- Acetato de isoamilo (Sigma Aldrich)
- Acetato de geraniol (Sigma Aldrich)
- Acetato de 2-feniletilo (Chem Service)

### 3.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS

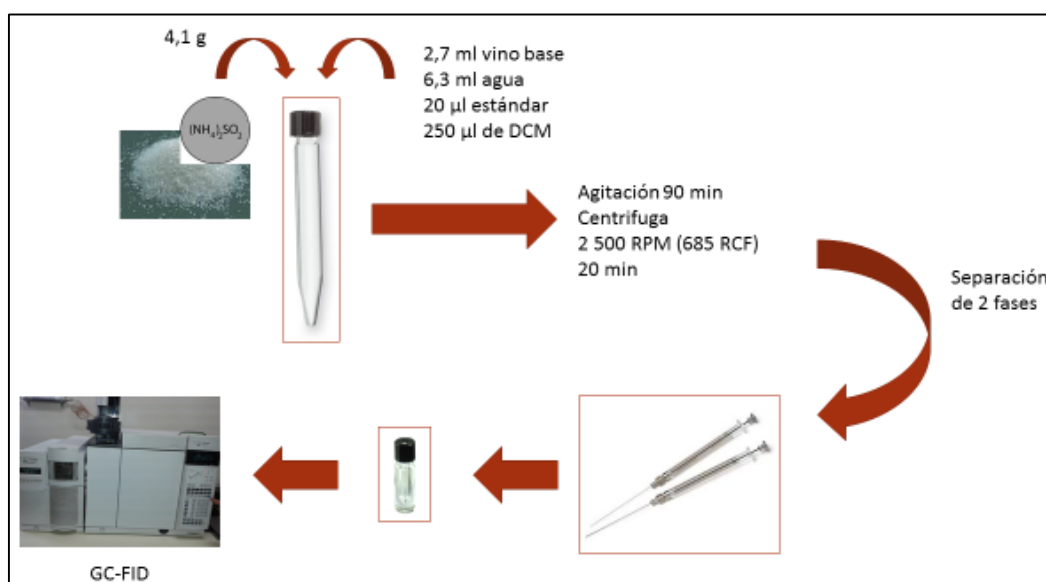
#### 3.3.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

- Densidad: método aerométrico (Rankine, 1989)
- pH: método potenciométrico (Madrid *et al.*, 2003)
- Grado alcohólico: método AOAC 942.06 (AOAC, 2007)
- Azúcares reductores: método Lane y Eynon (Rankine, 1989)
- Acidez total: método AOAC 962.12 (AOAC, 2005)
- Acidez volátil: método Duclaux-Gayon (Ribereau-Gayon *et al.*, 1980)
  
- **Componentes volátiles para vino base:**
  - a. **Análisis químico cuantitativo mediante microextracción en fase líquida seguida por inyección en un cromatógrafo de gases (GC-FID)**

La microextracción en fase líquida, se basa en utilizar un disolvente orgánico muy inmisible en agua (como el diclorometano) y adicionar sobre la fase acuosa (vino base) una elevada concentración de sales, disminuyendo así la capacidad solvatante del agua, favoreciendo la desmezcla de las dos fases, así como la solubilidad en la fase orgánica de los compuestos a extraer. En esta situación, la estructura de la red de puentes de hidrógeno de la disolución acuosa se ve alterada, y este hecho provoca que las moléculas orgánicas, presentes en esa disolución, integradas en la estructura de los puentes de hidrógeno, encuentren ahora, una mayor dificultad para participar en la red, de forma que su solubilidad disminuye. Esta pérdida de solubilidad puede originar la separación de la disolución original en dos fases, una principalmente acuosa que contiene casi toda la sal disuelta y otra principalmente orgánica (Cedrón, 2004).

Posteriormente a la extracción de estos compuestos de interés, mediante la inyección en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) se separan e identifican los componentes volátiles extraídos.

El análisis químico cuantitativo llevado a cabo mediante microextracción en fase líquida seguida por inyección en un cromatógrafo de gases (GC-FID), recomendado por Ortega *et al.* (2001), se detalla a continuación: en un tubo de centrifuga de 10 ml, se agregó 4,1 g de sulfato de amonio, 2,7 ml de muestra, 20  $\mu$ l de solución de estándar interno (2-butanol, 4-metil-2-pentanol, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona y 2-octanol a 140 mg / ml en etanol), 6,3 ml de agua Mili-Q y 250  $\mu$ l de diclorometano, el tubo conteniendo lo antes mencionado fue agitado durante 90 min en un agitador horizontal y después fue centrifugado a 2 500 RPM (685 RCF) durante 20 min, una vez que las fases se encontraron separadas, la fase de diclorometano se recuperó con una jeringa de 500  $\mu$ l y se transfirió a un vial de inserto. El extracto se analizó mediante cromatografía de gases (GC) con sistema de detección de Ionización de Llama (FID) bajo las siguientes condiciones: columna cromatográfica DB-WAX de 50 m x 0,2 mm de diámetro interno, con 0,2  $\mu$ m de espesor de película, el gas portador es H<sub>2</sub> a 3 ml/min, el programa de temperaturas fue el siguiente: 40°C por 3 minutos, aumenta a 6°C/min hasta 75°C, y a 9°C/min hasta 220°C, y finalmente mantenida por 9 minutos a 220°C (Figura 7).



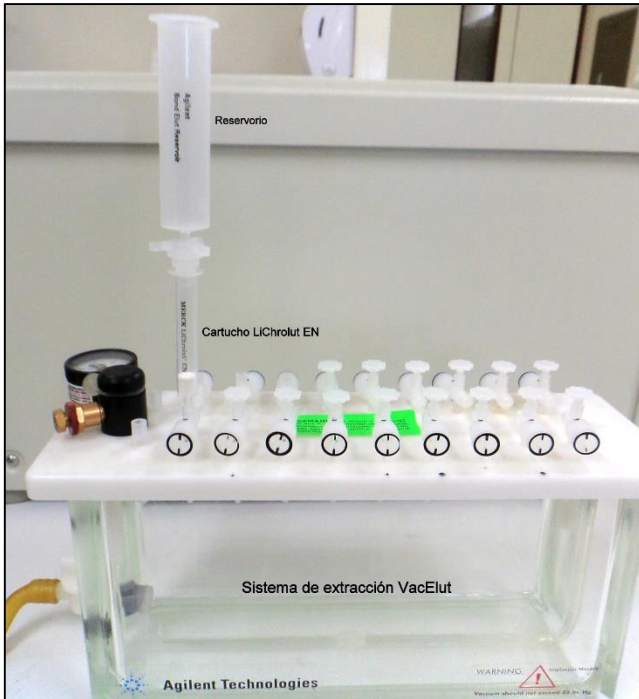
**Figura 7: Esquema de microextracción en fase líquida para vinos base**

## **b. Análisis químico cuantitativo mediante extracción en fase sólida (SPE) seguida por inyección en un cromatógrafo de gases (GC-MS)**

La extracción en fase sólida o *Solid Phase Extraction* (SPE), consiste en hacer pasar la disolución que contiene los analitos a estudiar sobre una fase sólida que los adsorbe de manera específica. La forma de operar con esta técnica consiste en hacer pasar la disolución que contiene los analitos a estudiar (vino base) sobre una fase sólida que los adsorbe de manera específica. Tras la adsorción, los analitos son extraídos con una pequeña cantidad de disolvente (diclorometano) que tiene más afinidad por ellos que la fase sólida (Cedrón, 2004).

Para la separación e identificación los componentes volátiles extraídos, luego de la respectiva extracción, se realiza la inyección en un cromatógrafo de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MS).

El análisis químico cuantitativo mediante extracción en fase sólida (SPE) seguido por inyección en un cromatógrafo de gases (GC-MS), recomendado por López *et al.* (2002), consistió en lo siguiente: se colocó el cartucho en el sistema de extracción VacElut con el adaptador y el reservorio (Figura 8). Primero se acondicionan las resinas gota a gota con 4 ml de diclorometano, seguidos de 4 ml de metanol y finalmente 4 ml de una mezcla agua-etanol al 12 por ciento v/v. Un volumen de 26  $\mu$ l de solución estándar (3-octanona y  $\beta$ -damascona a 200 mg/l) se adicionó a 50 ml de vino base que luego es pasado a través del cartucho LiCrolut EN, previamente acondicionado, a un ritmo de 2 ml/min aproximadamente. El absorbente fue secado pasando aire a través del mismo. Los analitos se recuperaron mediante elusión con 1,6 ml de Diclorometano, a esta muestra se añadió 34  $\mu$ l de solución de estándar interno (4-hidroxi-4-metil-2-pentanona y 2-octanol 200 mg/l en diclorometano). El extracto fue analizado mediante cromatografía de gases (GC) con sistema de detección de trampa de iones espectrometría de masa (MS) bajo las siguientes condiciones: columna cromatográfica DB-WAX de 50 m x 0,2 mm de diámetro interno, con 0,2  $\mu$ m de espesor de película, el gas portador es He a 1ml/min, una programación de temperaturas de 40°C por 2 minutos, 20°C/min hasta 100°C y 5°C/min hasta 240°C, temperatura mantenida por 15 minutos (Figura 9).



**Figura 8: Sistema de extracción VacElut, Cartucho LiChrolut EN y Reservorio**



**Figura 9: Extracción en Fase Sólida de los vinos base**

- **Compuestos volátiles para Pisco:**

- a. Análisis químico cuantitativo mediante inyección directa del destilado en un cromatógrafo de gases (GC-FID)**

El análisis químico cuantitativo mediante inyección directa del destilado en un cromatógrafo de gases (GC-FID), recomendado por Cacho *et al.* (2012a), consistió en la inyección directa del destilado puro en un sistema de cromatografía de gases, después de la adición de un estándar interno. Un volumen de 1,6 ml de pisco conteniendo 20 µl de solución de estándar interno (4-nonanol, 2 000 mg/l) se analizó mediante cromatografía de gases (GC) con sistema de detección de Ionización de Llama (FID) bajo las siguientes condiciones. Columna cromatográfica DB-WAX de 50 m x 0,2 mm de diámetro interno, con 0,2 µm de espesor de película. El gas portador fue H<sub>2</sub> a 3ml/min. El programa de temperaturas fue el siguiente: 40°C por 3 minutos, aumenta a 6°C/min hasta 75°C, y a 9°C/min hasta 220°C, y finalmente mantenida por 9 minutos a 220°C.

- b. Análisis químico cuantitativo mediante extracción en fase sólida (SPE) seguida por inyección en un cromatógrafo de gases (GC-MS)**

El análisis químico cuantitativo mediante extracción en fase sólida (SPE) seguida por inyección en un cromatógrafo de gases (GC-ion trap-MS), recomendado por Cacho *et al.* (2012a), consistió en lo siguiente: 13,4 ml de pisco se diluyeron con agua Mili-Q hasta 50 ml con la finalidad de obtener 12 por ciento (v/v) de etanol y se proseguió con metodología antes descrita en análisis de compuestos volátiles mediante SPE y GC-MS para vinos base.

### **3.3.2 CALIBRACIÓN**

Para las curvas de calibración fueron preparadas diferentes soluciones conteniendo cantidades conocidas de estándares de los compuestos de interés y de estándares internos. Dichas soluciones fueron analizadas mediante GC-FID y GC-MS (Anexo 1, Anexo 2 y Anexo 3).



### 3.3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la data que se obtuvo del análisis fisicoquímico de los mostos, vinos base y piscos, se llevó a cabo el Test ANVA para un factor: variedad de uva aromática. Con este test, se buscó encontrar si existen diferencias significativas en las características fisicoquímicas entre las variedades. Se realizó la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples. El *Software* empleado fue SPSS *Statistics* 21.0 de IBM (Anexo 9).

Para la data que se obtuvo de los análisis de compuestos volátiles en vinos base y piscos, se llevó a cabo el Test ANVA para un factor: variedad de uva aromática. Con este test, se buscó encontrar diferencias significativas en los compuestos volátiles entre las variedades. Se realizó la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples. El *Software* empleado fue SPSS *Statistics* 21.0 de IBM (Anexo 10 y Anexo 11).

Para la evaluación de los cambios en los compuestos volátiles entre el vino base y el respectivo pisco, se realizó la prueba T Student para muestras relacionadas, con este test, se buscó encontrar si existen diferencias significativas en la media de las concentraciones de los compuestos volátiles entre el vino y el respectivo pisco. El *Software* empleado fue SPSS *Statistics* 21.0 de IBM (Anexo 12).

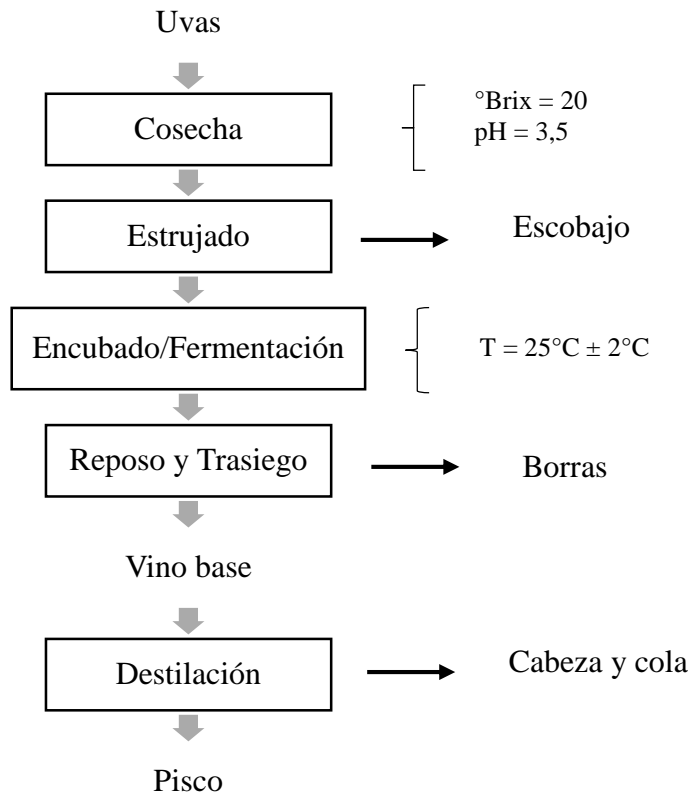
Además, para discriminar entre las variedades de piscos mediante sus compuestos volátiles, se llevó a cabo el Análisis de Compuestos Principales (PCA), análisis que permite obtener una visualización de la estructura de datos simplificada. El *Software* empleado fue el *The Unscrambler X* Versión 10.4 de CAMO *Software* AS.

### 3.4 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se elaboró pisco para cada variedad y procedencia de uva teniendo en cuenta el método presentado por Hatta (2004). El flujo de operaciones se presenta en la Figura 10.

- **Cosecha:** Las uvas fueron cosechadas a mano y transportadas al laboratorio para su posterior procesamiento. La cosecha se realizó cuando las uvas tuvieron un grado Brix de aproximadamente 20°Brix y un pH promedio de 3,5.

- **Estrujado:** se eliminó el escobajo y se estrujó mediante el método de la “pisa”, con la finalidad de obtener el mosto. En esta etapa se realizaron los siguientes análisis: densidad, pH, grados Brix y acidez total.
- **Encubado/Fermentación:** el mosto con orujo (cáscaras y semillas) permaneció por 24 horas en maceración, luego se filtró y el mosto se vertió en damajuanas hasta los 3/4 de su capacidad. Se llevó a cabo a una temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Se realizó el control diario de densidad y temperatura, y se dio por concluido el proceso cuando la densidad tuvo valores por debajo de 1,000 g/ml, y fue constante en dos días consecutivos.
- **Reposo y Trasiago:** el vino base se mantuvo en reposo a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  por uno a dos días para favorecer la sedimentación de borras (sólidos del mosto y levadura), luego éstas se eliminaron mediante el trasiago. Al finalizar esta etapa se realizaron los siguientes análisis al vino base: grado alcohólico, acidez volátil y total, azúcares reductores y compuestos volátiles por GC.
- **Destilación:** se realizó en un alambique de cobre, esta operación tuvo como objetivo separar los compuestos volátiles del vino, los que constituyen el pisco. Para obtener el pisco (cuerpo), se hizo el corte de “cabeza” en base al 1 por ciento del volumen total del vino base a destilar (la cabeza se eliminó) y para el corte de “cola” se consideró como grado alcohólico final del cuerpo 42 por ciento (v/v). Al finalizar esta etapa se realizaron los siguientes análisis al pisco: grado alcohólico, y compuestos volátiles por GC.



**Figura 10: Flujo de operaciones para elaborar pisco**

### 3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental llevado a cabo para la presente investigación se muestra en la Figura 11.

Las muestras de uva Italia (I1, I2 y I3), Moscatel (M1, M2 y M3) y Torontel (T1, T2 y T3) pasaron por el proceso de cosecha y estrujado, para obtener el mosto respectivo, en donde se realizaron los análisis de densidad, pH, °Brix y Acidez total. A partir de este momento se realizó el encubado/fermentación, proceso en el que se controló densidad y temperatura diaria del mosto. Finalizada la fermentación, se llevó a cabo el reposo y trasiego, al vino base obtenido se determinó el grado alcohólico, acidez volátil, acidez total, azúcares reductores y compuestos volátiles (mediante Microextracción en Fase Líquida seguida de GC-FID y mediante SPE-CGMS). La última etapa de proceso fue la destilación, obteniéndose el pisco respectivo, en este punto se realizó el análisis del grado alcohólico y de los compuestos volátiles (mediante inyección directa en GC-FID y mediante SPE-CGMS).

Variedad de uva	Viñedo	Código	Cosecha	Estrujado	Encubado/ Fermentación	Reposo y trasiego	Destilación
Italia	Hoja Redonda	I1	→	→	→	→	→
	Viejo Tonel	I2	→	→	→	→	→
	Citevid	I3	→	→	→	→	→
Moscatel	Yolanda Tinoco	M1	→	→	→	→	→
	Viejo Tonel	M2	→	→	→	→	→
	Santa Lucía	M3	→	→	→	→	→
Torontel	Hoja Redonda	T1	→	→	→	→	→
	Santa Lucía	T2	→	→	→	→	→
	Viejo Tonel	T3	→	→	→	→	→
Análisis				Mosto	Densidad y Temperatura diaria	Vino base	Pisco
				Densidad, pH, °Brix y Acidez total		Grado alcohólico, Acidez volátil y total, Azúcares reductores y Compuestos volátiles	Grado alcohólico y Compuestos volátiles

**Figura 11: Diseño experimental**

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS MOSTOS

En el Cuadro 12 se muestran las características fisicoquímicas de los mostos. Siendo los azúcares fermentables la principal fuente de alimentación de las levaduras, es importante que el mosto tenga la concentración adecuada para la fermentación. Los valores determinados se encontraron en concordancia con lo mencionado por Hidalgo (2011) y por Moreno y Peinado (2010), quienes sostienen que, generalmente, las vendimias contienen azúcares en concentraciones de 170 a 220 g/l y de 150 a 250 g/l, respectivamente.

Dichas concentraciones permitieron el crecimiento y favorecieron el metabolismo de la levadura, puesto que son concentraciones menores a los 300 g/l, concentraciones superiores a este valor presentan alta presión osmótica, lo cual influye negativamente sobre el crecimiento y capacidad fermentativa de las levaduras (Moreno y Peinado, 2010).

Por otro lado, el producir de 10 a 13 por ciento (v/v) de alcohol, tienen un efecto de inhibición para evitar contaminación del vino, puesto que, Hidalgo (2011) menciona que el efecto antibacteriano comienza a manifestarse partir de los 8 a 10 por ciento (v/v), siendo los 13 o 14 por ciento (v/v) el límite máximo por encima del cual la actividad bacteriana es imposible.

En lo que respecta a la acidez y al pH de los mostos, Domenech (2006) indica que la acidez regula el pH y un mosto con pH bajo es más difícil de ser atacado por enfermedades, aquí radica la importancia de tener valores de pH bajo. Los resultados muestran que los mostos presentaron una acidez menor y un pH mayor a lo mencionado por Hatta (2010), quien recomienda una acidez entre 5 a 8 g/l de ácido tartárico y un pH de 3,3 a 3,5. Tomando en cuenta que las uvas provienen del departamento de Ica, es frecuente encontrar que se presente baja acidez en los mostos, debido a las altas temperaturas de la zona, puesto que los ácidos principales de la uva (málico y tartárico) son sensibles a estas condiciones (Domenech, 2006).

A pesar de que los mostos no presentaron pH bajos, Hidalgo (2011) refiere que en mostos con pH que varía entre 3,0 y 3,8 la fermentación alcohólica se realiza sin dificultades, del mismo modo, Moreno y Peinado (2010) mencionan que, el pH de los mostos oscila, en general, entre 3,0 y 3,9 y que, si la vendimia viene sana, es decir, con poco riesgo de alteraciones de origen bacteriano, se pueden fermentar los mostos con pH superior a 3,6.

Según los resultados obtenidos, existen diferencias significativas en la acidez entre los pares de mostos Italia y Moscatel e Italia y Torontel. Las diferencias en la acidez pueden ser debidas a diferencias entre variedades, condiciones ambientales y otros factores (Muñoz-Robredo *et al.*, 2011), por un lado, el tenor de ácido tartárico en el mosto varía según el cultivar y las condiciones de producción de la uva, especialmente de la disponibilidad de agua, por otro lado, entre los factores que interfieren en el tenor de ácido málico del mosto, destacan el vigor (intensidad del crecimiento vegetativo) del viñedo y la disponibilidad de cationes (especialmente potasio) (Rizzon y Sganzerla, 2007).

**Cuadro 12: Características fisicoquímico de los mostos**

Característica	Variedad		
	Italia	Moscatel	Torontel
Densidad (g/ml)	1,084 ± 0,011	1,087 ± 0,007	1,080 ± 0,011
Azúcar (g/l)	197,6 ± 27,5	206,2 ± 18,7	187,5 ± 26,9
Grado Alcohólico Probable (%v/v)	11,7 ± 1,7	12,0 ± 0,7	11,2 ± 1,6
Acidez (g/l ácido tartárico) *	4,64 ± 0,66 <sup>a</sup>	2,88 ± 0,47 <sup>b</sup>	3,23 ± 0,17 <sup>b</sup>
pH	3,53 ± 0,34	3,98 ± 0,25	3,80 ± 0,13

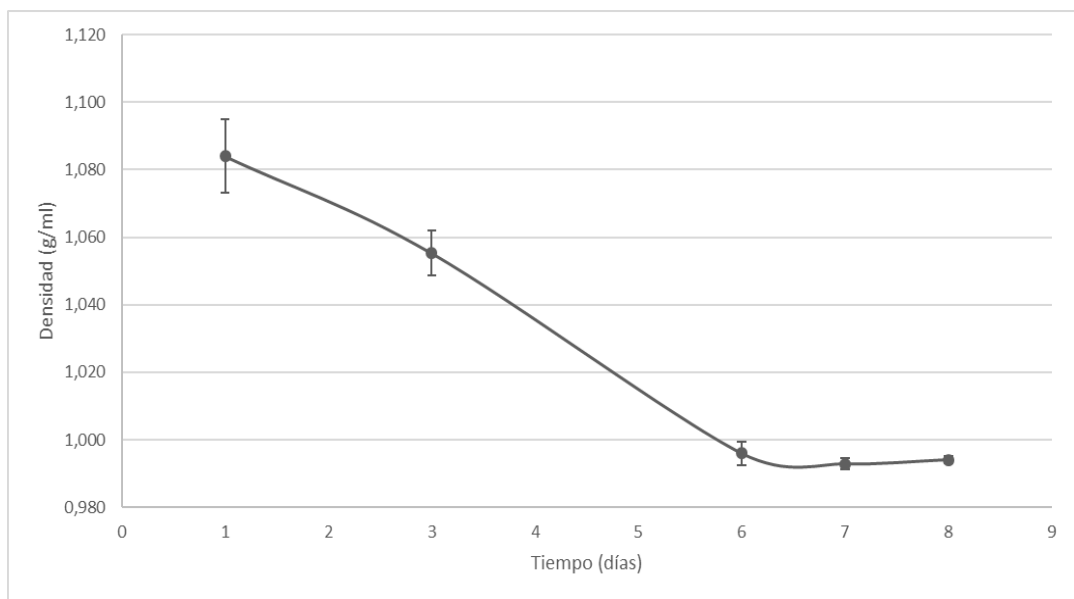
#: por ciento, \*: diferentes letras (a, b) en la fila representan diferencia significativa en los promedios.

## 4.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS VINOS BASE

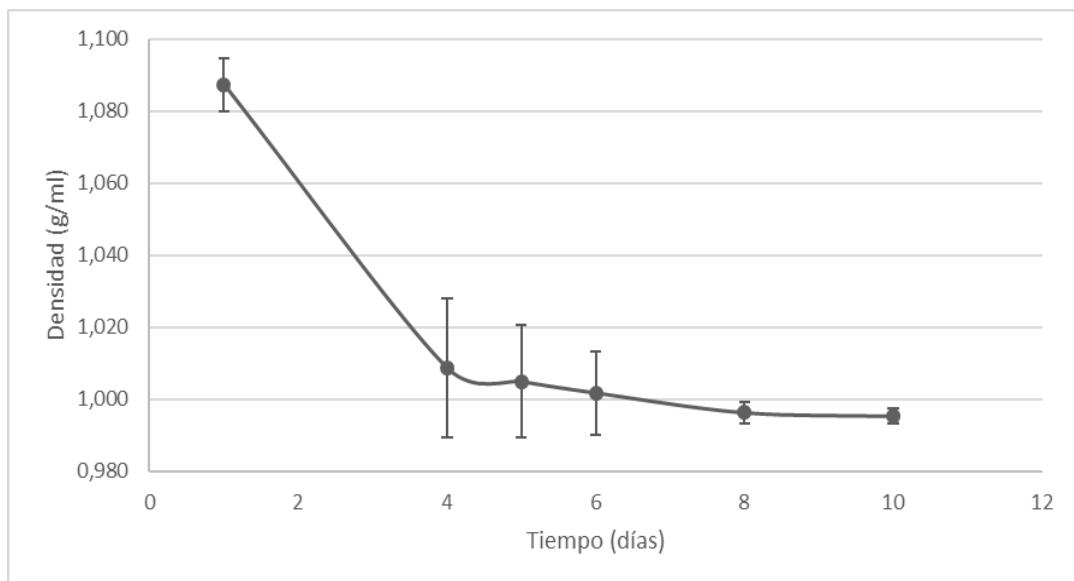
### 4.2.1 CARACTERÍSTICAS DE LA FERMENTACIÓN

En las Figuras 12, 13 y 14 se muestra la cinética de fermentación de los mostos Italia, Moscatel y Torontel, respectivamente.

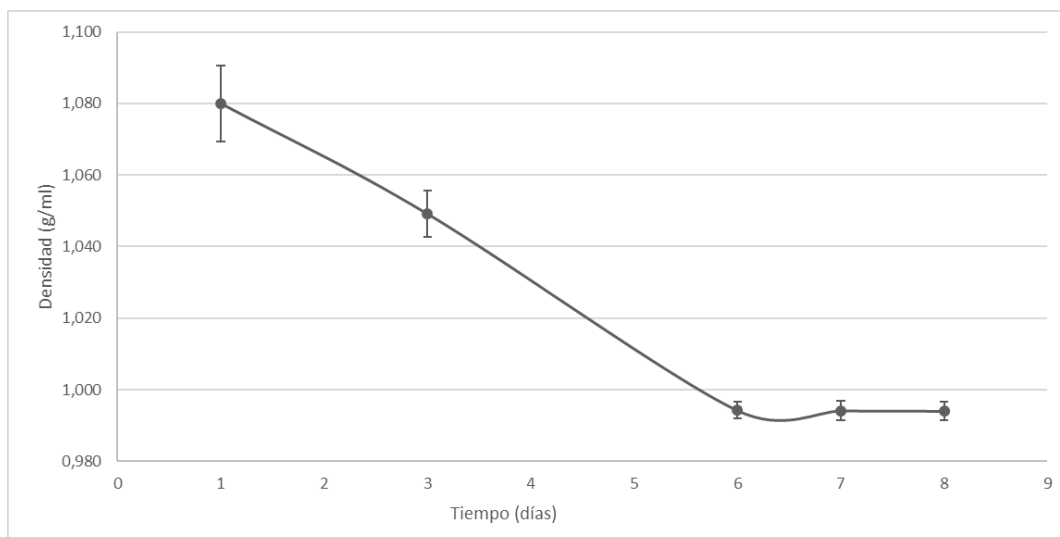
La temperatura a la cual se llevó a cabo la fermentación fue de 25°C, valor que se encontró dentro del rango óptimo (25°C a 30°C), en el cual la levadura se multiplica con mayor rapidez (Moreno y Peinado, 2010). El término de la fermentación se dio, aproximadamente, a los 8 días de iniciado el proceso, resultados similares fueron reportados por Hatta (2004), quien encontró que en mostos de la variedad Italia la duración de la fermentación fue de 7 días, a una temperatura de 26°C. Por otra parte, Moreno y Peinado (2010) indican que la velocidad de la fermentación es influenciada por la temperatura, siendo una fermentación a 25°C más lenta que una a 30°C o a 35°C, pero es una fermentación completa con mayor cantidad de azúcares fermentados; lo cual es conveniente para el rendimiento y calidad del vino.



**Figura 12: Cinética de fermentación del vino base de uva Italia**



**Figura 13: Cinética de fermentación del vino base de uva Moscatel**



**Figura 14: Cinética de fermentación del vino base de uva Torontel**

#### 4.2.2 CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LOS VINOS BASE

En el Cuadro 13 se muestran las características fisicoquímicas de los vinos base. En cuanto a las densidades, estos valores se encontraron en concordancia con lo mencionado por Hatta (2010), quien sostiene que la densidad debe ser menor de 1 g/ml (0,994 – 0,996 g/ml) cuando la fermentación ha terminado. Estos valores se explican porque, en los vinos secos la densidad del etanol (0,79 g/ml) impone una densidad inferior a la del agua (1 g/ml), valor tanto más bajo cuando más elevado es el grado alcohólico. (Ribereau-Gayón *et al.*, 2002).

Por otro lado, al término de la fermentación, las concentraciones de azúcar residual, azúcares no fermentados por la levadura, se encontraron en concordancia con lo mencionado por la OIV (2016a), quien indica que un vino seco contiene máximo 4 g/l de azúcar y por Moreno y Peinado (2010) quienes sostienen que la concentración de azúcares reductores en vinos secos es de 1,2-3 g/l (menores de 5 g/l).

En cuanto al grado alcohólico y la acidez total de los vinos base, los resultados estuvieron dentro de lo requerido por la Norma Técnica Peruana del Vino, la cual indica que el grado alcohólico mínimo de un vino debe ser 10 por ciento (v/v) y que la acidez total del mismo debe estar entre 3,0 y 7,0 g/l (ácido tartárico) (INDECOPI, 2011). Por otra parte, Hidalgo (2011) indica que se pueden alcanzar concentraciones de alcohol etílico en el medio fermentativo de hasta 12 a 14 por ciento (v/v) en condiciones normales, como en el caso del vino Moscatel.



El análisis estadístico demostró que existieron diferencias significativas en la acidez entre los vinos Italia y Moscatel, diferencias que pueden ser atribuidas a las diferentes especies de levaduras presentes en las variedades de uva, Moreno y Peinado (2010) mencionan que durante la vinificación aparecen una serie de ácidos procedentes del metabolismo de las levaduras, fundamentalmente ácido succínico, ácido acético (principal componente de la llamada acidez volátil) y pequeñas cantidades de ácido láctico.

En lo que respecta a la acidez volátil, Flanzky (2000), indica que el ácido acético representa más del 95 por ciento de la acidez volátil producida por las levaduras y que a pesar de su “reputación” negativa ligada al vinagre, es un compuesto que es necesario en el aroma del vino, con unos contenidos óptimos comprendidos entre 0,2 y 0,7 g/l, pudiéndose encontrar como máximo 0,9 g/l en vinos. Los resultados mostraron concordancia con lo anteriormente citado y con los requerimientos de la Norma Técnica Peruana del Vino, la cual indica que la acidez volátil no debe ser mayor a 1,2 g/l (INDECOPI, 2011). Por otra parte, en el análisis estadístico, se observaron diferencias significativas entre los vinos Italia y Moscatel y entre Moscatel y Torontel, diferencias que pueden deberse a las diferentes especies de levaduras presentes en las uvas, puesto que, Hidalgo (2011) refiere que la formación de ácido acético depende, entre otras condiciones, de la especie de levadura.

**Cuadro 13: Características fisicoquímicas de los vinos base**

Característica	Variedad		
	Italia	Moscatel	Torontel
Densidad (g/ml)	0,994 ± 0,001	0,995 ± 0,002	0,994 ± 0,003
Azúcares reductores (g/l)	0,9 ± 0,6	1,5 ± 0,7	0,5 ± 0,1
Grado alcohólico (% v/v)	11,23 ± 1,72	12,17 ± 0,87	10,32 ± 1,34
Acidez total (g/l ácido tartárico) *	6,45 ± 1,06 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,19 <sup>b</sup>	4,88 ± 0,68 <sup>ab</sup>
Acidez volátil (g/l ácido acético) *	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>

%; por ciento, \*: diferentes letras (a, b) en la fila representan diferencia significativa en los promedios.

### 4.2.3 COMPUESTOS VOLÁTILES EN LOS VINOS BASE

#### a. COMPUESTOS OBTENIDOS MEDIANTE MICROEXTRACCION EN FASE LIQUIDA Y GC-FID

En el Cuadro 14 se muestran los compuestos determinados mediante Microextracción en Fase Líquida seguida de Cromatografía de Gases (GC) acoplada a Detector de Ionización de Llama (FID) (Anexo 5).

La técnica de aislamiento utilizada (Microextracción en Fase Líquida) permitió determinar compuestos como, alcoholes superiores y ésteres etílicos. Este método fue empleado debido a que con él se consiguen altos grados de pre-concentración y no requiere ningún material especial para su realización (Cedrón, 2004). Además, investigadores como Mesías (1998), Ribereau-Gayón *et al.* (1975), Sáenz-Barrio y Cedrón-Fernández (2000), Ortega *et al.* (2001) y Lukic *et al.* (2010) emplearon esta técnica para aislar compuestos volátiles en bebidas alcohólicas, lo cual nos da indicios de la confiabilidad en el empleo de esta técnica.

El ácido acético y el acetaldehído son compuestos formados por la levadura. En cuanto al acetaldehído, éste es un producto intermediario formado a partir del piruvato y es un precursor de acetatos, acetoína y etanol (Lambrechts y Pretorius, 2000), del mismo modo, el ácido acético es formado a partir de piruvato, y también es formado a partir de acetaldehído mediante su oxidación (Hidalgo, 2011). Según los resultados obtenidos, las concentraciones de ácido acético (entre 2,18 a 7,72 mg/l) y acetaldehído (promedio 0,68 mg/l) en todas las muestras de vino base correspondieron a valores por debajo de los promedios reportados por: González (1999) en vinos blancos jóvenes del País Vasco, analizados mediante GC-FID (ácido acético: 910 mg/l y acetaldehído: 20 mg/l), por Flanzky (2000) en vinos blancos (ácido acético: 350 mg/l y acetaldehído: entre 24 – 218 mg/l), por Ribereau-Gayón *et al.* (2002) en vinos en general (ácido acético: 500 mg/l y acetaldehído: 100 mg/l) y por Etiévant (1991) en vinos en general (acetaldehído: entre 7 – 252 mg/l). Esto podría deberse a que el método empleado en el análisis de los vinos base, microextracción en fase líquida, proporciona una extracción pobre para compuestos muy solubles en agua, como el caso del ácido acético y del acetaldehído (extracción menor al 15 por ciento) (Ortega *et al.*, 2001).

En cuanto a los alcoholes superiores, su presencia en los vinos se debe a la biosíntesis de los mismos por la levadura. Dichos compuestos se producen, ya sea vía catabólica mediante la conversión de aminoácidos de cadena ramificada presentes en el medio, como: valina, leucina, isoleucina, treonina y fenilalanina; o vía anabólica son producidos *de novo* a partir del sustrato de azúcar (Lambrechts y Pretorius, 2000).

Según los resultados obtenidos, las concentraciones de isobutanol (2-metil-1-propanol) se encontraron entre 18,11 – 42,70 mg/l y las de 3-metil-1-butanol (alcohol isoamílico) entre 202,26 – 409,63 mg/l. Dichos valores son cercanos a los reportados por Flanzy (2000) en vinos blancos (isobutanol: entre 28 – 170 mg/l y 3-metil-1-butanol: entre 45 – 316 mg/l) y se encontraron dentro del rango reportado por Cedrón (2004) en vinos tintos (isobutanol: entre 9 – 174 mg/l) y por Etiévant (1991) en vinos en general (3-metil-1-butanol: entre 6 – 490 mg/l).

Las concentraciones de 2-feniletanol determinadas en los diferentes vinos evaluados van desde 12,23 a 27,35 mg/l. Dichos resultados se encuentran cercanos a los reportados por Flanzy (2000) en vinos tintos (10 – 183 mg/l), dentro del rango citado por Cedrón (2004) en vinos tintos (4 – 197 mg/l), y por encima de lo mencionado por Ortega *et al.* (2001) en vinos blancos analizados mediante GC-FID (promedio: 7,20 mg/l), Usseglio-Tomasset (1998) reporta un promedio de 0,015 mg/l en vinos de la variedad Pinot Blanc, valor mucho menor a lo determinado en esta investigación.

Las variaciones entre los resultados obtenidos y lo reportado por los diferentes investigadores pueden ser atribuidas a diferentes factores, por un lado, la producción de alcoholes superiores parece depender de la cepa de levadura, es decir de su perfil de utilización de los aminoácidos y su demanda de nitrógeno total (Flanzy, 2000), la pobreza del mosto en nitrógeno amoniacal, hace aumentar la formación de alcoholes superiores, por tener que proveerse las levaduras de nitrógeno a partir de los aminoácidos presentes en el mismo (Hidalgo, 2011), es así que, una carencia de nitrógeno asimilable entraña una acumulación de  $\alpha$ -cetoácidos, productores de cantidades importantes de alcoholes correspondientes; por el contrario, la presencia de cantidades elevadas de aminoácidos provoca la retro-inhibición de la vía anabólica y, por lo tanto, la disminución de los alcoholes correspondientes por esta vía, pero su producción por la vía catabólica es aumentada (Flanzy, 2000). Por otro lado, Hidalgo (2011) menciona que factores del medio fermentativo como:

valores de pH elevados, aireación, temperatura de fermentación elevada, aumentan la formación de estos alcoholes. Este no sería el caso, puesto que, las concentraciones halladas se encontraron en el rango medio o menor a lo reportado por los diferentes investigadores.

Dentro del grupo de ésteres, el lactato de etilo presentó concentraciones entre 0,47 a 5,43 mg/l. Dichos valores se encuentran dentro del rango reportado por Cedrón (2004), quien sostiene que las concentraciones habituales de este compuesto en vinos tintos varían de 0,17 a 382 mg/l, y por Flanzky (2000), quien señala que en vinos blancos se presentan concentraciones entre 3 a 15 mg/l. Este último autor indica que el lactato de etilo es producido por la levadura en cantidades demasiado débiles como para influir en el aroma, por otro lado, las cantidades reportadas corresponden a vinos que no presentan envejecimiento, lo cual explicaría las concentraciones bajas halladas, puesto que, Ribereau-Gayón *et al.* (2002) indican que el tenor de este compuesto aumenta durante el envejecimiento por vía química.

En cuanto al acetato de etilo, los resultados obtenidos fueron de 3,62 – 28,93 mg/l, y se encontraron dentro de los valores reportados por Cedrón (2004), quien menciona que la concentración habitual en vinos tintos es de 0,17 – 382 mg/l, además, de ser menores a lo presentado por Usseglio – Tomasset (1998), quien reporta que en vinos italianos el contenido varía entre 30 – 200 mg/l y por Flanzky (2000), quien indica que en vinos blancos el rango es de 26 – 160 mg/l. Siendo las concentraciones de este compuesto menores a las reportadas, esto es atribuible a que los vinos base carecen de procesos de conservación previos a su destilación, Ribereau-Gayón *et al.* (2002) mencionan que una pequeña cantidad de este compuesto la forma la levadura durante la fermentación, pero las dosis elevadas provienen de la intervención de bacterias acéticas aerobias, principalmente, durante la conservación de los vinos en tonel de roble.

Según el análisis estadístico, existen diferencias significativas en los promedios de isobutanol, 2-feniletanol y lactato de etilo, entre los vinos base. Puesto que, dichos compuestos son formados por la levadura en la fermentación, las diferencias encontradas se atribuirían a los diferentes mecanismos del metabolismo de las mismas, se descartarían los otros factores como: contenido de azúcar, temperatura, espacio de cabeza, método de vinificación y pH del mosto, porque todas ellas fueron fermentadas bajo las mismas condiciones.

**Cuadro 14: Compuestos volátiles en los vinos base analizados mediante Microextracción en Fase Líquida y GC-FID**

Método de análisis	Tipo de compuesto	Compuesto	Vino Italia	Vino Moscatel	Vino Torontel
<b>COMPUESTOS ANALIZADOS MEDIANTE GC-FID (mg/l de Vino)</b>	Ácido	Ácido acético	2,79 ± 0,39	4,49 ± 2,06	3,09 ± 0,57
	Aldehído	Acetaldehído	0,68 ± 0,01	0,68 ± 0,001	0,68 ± 0,01
	Alcohol superior	Isobutanol*	30,50 ± 7,97 <sup>ab</sup>	29,94 ± 3,63 <sup>a</sup>	22,74 ± 2,00 <sup>b</sup>
		3-metil-1-butanol	294,59 ± 72,23	323,18 ± 28,77	241,88 ± 32,24
		2-feniletanol*	17,34 ± 5,14 <sup>ab</sup>	16,12 ± 1,87 <sup>a</sup>	21,85 ± 2,86 <sup>b</sup>
	Éster	Lactato de etilo*	1,48 ± 0,69 <sup>a</sup>	2,15 ± 0,62 <sup>a</sup>	4,30 ± 0,89 <sup>b</sup>
		Acetato de etilo	16,06 ± 9,98	20,31 ± 7,54	14,24 ± 11,4

nd: no determinado, \*Diferentes letras (a, b) en la fila representan diferencia significativa en los promedios.

## **b. COMPUESTOS OBTENIDOS MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) Y ANÁLISIS GC-MS**

En el Cuadro 15 se muestran los compuestos determinados mediante la técnica de Extracción en Fase Sólida (SPE) seguida de Cromatografía de Gases (GC) acoplada a Espectrometría de Masas (MS) (Anexo 6).

El procedimiento de aislamiento utilizado (SPE) permitió determinar un rango considerable de compuestos volátiles presentes en el vino en concentraciones minoritarias. Sin embargo, compuestos muy polares, como el alcohol furfurílico, furfural, alcohol isoamílico y 2-feniletanol presentan mala extracción mediante estas resinas poliméricas (López *et al.*, 2002), es por este motivo que compuestos muy polares no fueron evaluados.

Esta técnica fue empleada debido a que presenta ventajas como, la simplicidad de la extracción semi-automatizada de la SPE y la sensibilidad particular a la trampa de iones de la Espectrometría de masas (López *et al.*, 2002). Además, investigadores como Cedrón (2004), López *et al.* (2002), Ferreira *et al.* (2004), Campo *et al.* (2005, 2007), Fragasso *et al.* (2010) y Noguerol-Pato *et al.* (2012) emplearon este método para aislar compuestos volátiles trazas en vinos, lo cual confirma su uso como un medio confiable para la determinación de estos analitos.

En cuanto a los terpenos, las concentraciones encontradas en los vinos base fueron de 56,74-58,51  $\mu\text{g/l}$  para  $\beta$ -citronelol, 206,52-206,69  $\mu\text{g/l}$  para  $\alpha$ -terpineol, 127,54-127,69  $\mu\text{g/l}$  para nerol, 211,60-213,28  $\mu\text{g/l}$  para linalol y 20,64-113,39  $\mu\text{g/l}$  para geraniol, este último sólo detectado en la variedad Italia.

Dichas concentraciones se encontraron dentro del tenor reportado por Marais (1983) en vinos de diferentes variedades de uvas, incluyendo la variedad Morio Muscat (geraniol: hasta 69  $\mu\text{g/l}$ , linalol: 6-375  $\mu\text{g/l}$ ,  $\alpha$ -terpineol: 5-399  $\mu\text{g/l}$ ). Así mismo, Moreno y Peinado (2010) reportan valores de terpenos en vinos de la variedad moscatel Pequeños Granos cercanos a los determinados en este estudio (nerol: 100  $\mu\text{g/l}$ , geraniol: 100  $\mu\text{g/l}$ ). Kostadinovic *et al.* (2013) mediante HS-SPME/GC-MS, con el uso de enzimas pectolíticas (para liberar terpenos glicosilados), reportan concentraciones de terpenos ( $\alpha$ -terpineol: promedio 230  $\mu\text{g/l}$ ,  $\beta$ -citronelol: promedio 56,48  $\mu\text{g/l}$ ) en vinos añejos de la variedad Muscat Ottonel,

cercanos a los conseguidos en esta investigación. Por otra parte, las concentraciones estimadas mediante SPE/GC-MS estuvieron en buena concordancia con los resultados publicados para uvas Moscatel por Kang *et al.* (2010) (linalol: promedio 245 µg/l, geraniol: promedio 103 µg/l), análisis realizado mediante HS-SPME/GC-MS.

Siendo los terpenos, sustancias de origen varietal, ellos se forman en la uva y se les encuentra intactos o relativamente poco transformados en el vino (Flanzy, 2000); las uvas de la familia moscatel, como las Italia, Torontel y Moscatel, contienen altas concentraciones de terpenos, sin embargo, el perfil de terpenos varía de una variedad a otra y puede diferenciarse dependiendo de numerosos factores, entre ellos los más significativos son la exposición al sol y las condiciones de cosecha (Peña y Lillo *et al.*, 2005), asimismo, la composición de terpenos en las uvas puede ser influenciada por el clima y las condiciones de viticultura, en general, climas fríos y sombra disminuyen la concentración de terpenos (Ebeler y Thorngate, 2009).

Los monoterpenos como el linalol,  $\alpha$ -terpineol, citronelol, nerol y geraniol, dan el carácter floral y cítrico al vino, dichos compuestos incrementan en la maduración de la uva (Ebeler y Thorngate, 2009), así las uvas maduras pueden contener terpenos en una proporción 5 o 6 veces superior a las no maduras (Moreno y Peinado, 2010). El principal enriquecimiento de terpenos libres en el vino se podría dar por la hidrólisis de terpenos ligados en la fermentación, sin embargo, no se da a pesar de que las bayas estén provistas de  $\beta$ -glucosidasas por el hecho que estas enzimas son muy inhibidas por el azúcar (Flanzy, 2000), además, tienen un pH óptimo de 5, dando bajas actividades a pH comprendidos entre 3 y 4 (pH de los vinos), siendo fuertemente inhibidas por altas concentraciones de glucosa y etanol y son incapaces de hidrolizar azúcares conjugados con alcoholes terciarios como el linalol o el  $\alpha$ -terpineol (Arévalo, 2006).

En cuanto a los ésteres etílicos de ácidos grasos, los rangos se encontraron entre 2,81 a 19,33 µg/l para el hexanoato de etilo, entre 22,02 a 145,19 µg/l para el octanoato de etilo, entre 242,82 a 250,49 µg/l para el decanoato de etilo y entre 0,81 a 6,11 µg/l para el estearato de etilo. Dichas concentraciones se encontraron en el rango inferior de las reportadas por Lambrechts y Pretorius (2000) en vinos en general (hexanoato de etilo: trazas – 3400 µg/l, octanoato de etilo: entre 50-3800 µg/l y decanoato de etilo: trazas – 2100 µg/l) y se encontraron por debajo de lo indicado por Etiévant (1991) en vinos blancos (hexanoato de

etilo: entre 30-1300 µg/l), por Flanzky (2000) en vinos tintos (decanoato de etilo: entre 300-1800 µg/l) y por Ortega *et al.* (2001) en vinos blancos mediante GC-FID (decanoato de etilo: promedio 270 µg/l). Las concentraciones halladas de estearato de etilo fueron las de menor cuantía entre los ésteres evaluados, valores bajos de este compuesto pueden ser atribuidos a que siendo este éster de C18, su paso de la célula de la levadura al medio se ve afectado, Nykänen *et al.* (1977) mencionan que la proporción de ésteres etílicos de ácidos grasos que son transferidos de la levadura al medio disminuye con el incremento del largo de la cadena.

En relación a los ésteres de ácido acético, las concentraciones de acetato de isoamilo se encontraron entre 4,28 a 34,06 µg/l, las cuales fueron menores a las reportados por Lambrechts y Pretorius (2000) en vinos en general (30-8100 µg/l) y por Etiévant (1991) en vinos blancos (30-500 µg/l), aunque, Cedrón (2014) indica que este compuesto se encuentra desde 0 a 23 000 µg/l en vinos tintos. Asimismo, en cuanto al acetato de 2-feniletilo, el rango encontrado en este estudio fue de 51,36-51,66 µg/l, el cual estuvo en concordancia a lo reportado por Cedrón (2004) en vinos tintos (20 - 8 000 µg/l), por Lambrechts y Pretorius (2000) en vinos en general (10-4500 µg/l), por López *et al.* (2002), mediante SPE-GCMS, en vinos tintos añejos (7-65 µg/l) y por Flanzky (2000) en vinos tintos (10-2100 µg/l).

Flanzky (2000) menciona que, biogénicamente, tanto los ésteres etílicos de ácidos grasos como los acetatos de alcoholes superiores producidos en la fermentación, derivan todos del acil S-coenzima A, por otra parte, a pesar de que todos los alcoholes y ácidos pueden reaccionar y formar ésteres, Lambrechts y Pretorius (2000) sostienen que la formación directa de ésteres es muy lenta como para tener en cuenta las concentraciones encontradas en bebidas alcohólicas y que los niveles producidos dependen de la cepa de levadura; es así que, cepas de *S. cerevisiae* generalmente producen más ésteres que las de *S. uvarum* (Nykänen *et al.*, 1977). Las variaciones entre las concentraciones halladas y las reportadas por los diferentes autores podrían ser tribuidas al factor levadura antes mencionado.

De forma específica, las concentraciones bajas del acetato de isoamillio se podrían explicar por provenir de mostos pobres en leucina, debido a que según Cacho (2003), la concentración de acetatos de alcoholes superiores en los vinos está relacionada con la de los aminoácidos del mosto y no con la de alcoholes superiores, asimismo, en el caso del alcohol isoamílico el aminoácido precursor es la leucina (Hidalgo, 2011).



Dentro de los fenoles encontrados, el guayacol es un compuesto proveniente de la uva, un odorante que presenta aroma medicinal y fenólico como descriptores sensoriales (Cacho *et al.*, 2012a). En la presente investigación, el guayacol se encontró en los vinos base de las variedades Moscatel (promedio: 0,51 µg/l) y Torontel (promedio: 0,35 µg/l), al respecto, López *et al.* (2002) reportan que, en un vino blanco joven, mediante SPE-GCMS, la concentración promedio de guayacol es de 0,37 µg/l, valor cercano a lo encontrado en esta investigación. Singh *et al.* (2011) mencionan que el guayacol se encuentra presente en las uvas y en los vinos, en algunos casos no llega a ser detectado, o es detectado a bajos niveles en la fruta mientras que mayores niveles se identifican durante o después de la vinificación, las investigaciones indican que la concentración de este compuesto aumenta durante la vinificación debido a la liberación hidrolítica del guayacol a partir de sus formas glucosiladas.

Otro fenol determinado fue el 4-etilguayacol, el cual es un constituyente volátil de la etapa fermentativa, específicamente es un fenol volátil con umbral de percepción bastante bajo que presenta olor a especia, caramelo y quemado (Flanzy, 2000). Dicho compuesto sólo se encontró en los vinos base de las variedades Italia (promedio: 0,02 µg/l) y Torontel (promedio: 42,54 µg/l). La concentración de este compuesto en vinos puede estar entre 0 a 1 561 µg/l, además, levaduras de los géneros *Brettanomyces/Dekkera* sp. serían responsables del desarrollo del carácter fenólico en vinos tintos (Lambrechts y Pretorius, 2000), es decir se pueden atribuir las diferencias encontradas a las diferentes levaduras que fermentan el mosto. Los valores obtenidos son similares a los reportados por López *et al.* (2002) en vinos tintos añejos mediante SPE-GCMS (4-etilguayacol: entre 0,53-420 µg/l) y por Etiévant (1991) en vinos blancos (4-etilguayacol: entre 1-220 µg/l), Lambrechts y Pretorius (2000) refieren que el 4-etilguayacol es resultado de la transformación microbiológica del ácido *trans* ferúlico, precursor no volátil, sin aroma presente en todos los vinos.

Según el análisis estadístico llevado a cabo, existen diferencias significativas en los promedios de citronelol, hexanoato de etilo, acetato de isoamilo y acetato de 2-feniletilo, entre los vinos base. En cuanto a las concentraciones de citronelol las diferencias se deberían a las características varietales de cada uva, por otra parte, puesto que los ésteres son formados por la levadura en la fermentación, las diferencias encontradas se atribuirían a los diferentes mecanismos del metabolismo de las mismas, tal como se analizó previamente.

**Cuadro 15: Compuestos volátiles en los vinos base analizados mediante SPE y GC-MS**

Método de análisis	Tipo de compuesto	Compuesto	Vino Italia	Vino Moscatel	Vino Torontel
<b>COMPUESTOS ANALIZADOS MEDIANTE SPE-GCMS (µg/l de Vino)</b>	Terpeno	β-citronelol*	57,63 ± 0,90 <sup>ab</sup>	57,10 ± 0,25 <sup>a</sup>	57,18 ± 0,17 <sup>b</sup>
		α-terpineol	206,63 ± 0,05	206,55 ± 0,03	206,60 ± 0,03
		Nerol	127,60 ± 0,05	127,56 ± 0,03	127,59 ± 0,02
		Linalol	212,53 ± 0,34	211,72 ± 0,10	212,49 ± 0,59
		Geraniol	69,67 ± 46,60	nd	nd
	Éster	Hexanoato de etilo*	6,77 ± 2,58 <sup>a</sup>	13,69 ± 4,57 <sup>b</sup>	11,81 ± 4,20 <sup>ab</sup>
		Octanoato de etilo	33,27 ± 8,58	72,19 ± 31,23	67,46 ± 39,78
		Decanoato de etilo	245,82 ± 3,06	245,73 ± 2,05	246,12 ± 1,84
		Estearato de etilo	2,52 ± 2,06	2,90 ± 1,66	2,93 ± 2,79
		Acetato de isoamilo*	8,84 ± 3,57 <sup>a</sup>	13,86 ± 11,91 <sup>ab</sup>	15,21 ± 5,32 <sup>b</sup>
		Acetato de 2-feniletilo*	51,46 ± 0,06 <sup>ab</sup>	51,44 ± 0,08 <sup>a</sup>	51,50 ± 0,11 <sup>b</sup>
	Fenol	Guayacol	nd	0,51 ± 0,03	0,35 ± 0,11
		4-etilguayacol	0,02 ± 0,01	nd	42,54 ± 49,42

nd: no determinado, \*Diferentes letras (a, b) en la fila representan diferencia significativa en los promedios.

### 4.3 CARACTERÍSTICAS DE LOS PISCOS

#### 4.3.1 GRADO ALCOHÓLICO

En el Cuadro 16 se presenta el grado alcohólico de las diferentes muestras analizadas, todas ellas concuerdan con El Reglamento de la Denominación de Origen Pisco (Consejo Regulador del Pisco, 2015), el cual exige que el pisco tenga un grado alcohólico entre 38°GL a 48°GL con tolerancia  $\pm 1^\circ\text{GL}$ . Por otra parte, la OIV (2016b) considera un aguardiente de uva, a la bebida espirituosa obtenida por destilación exclusivamente del vino, de vino encabezado o de vino con una eventual adición de destilado de vino o por re-destilación de un destilado de vino, de manera tal que el producto conserve un gusto y un aroma de las materias primas mencionadas, el grado alcohólico del producto terminado no debe ser inferior a 37,5 por ciento volumen, lo obtenido en esta investigación se encontró acorde a este último requisito.

**Cuadro 16: Grado alcohólico de los Piscos**

Característica	Variedad		
	Italia	Moscatel	Torontel
Grado alcohólico (%v/v)	39,20 $\pm$ 0,44	39,57 $\pm$ 0,45	38,97 $\pm$ 0,85

#: por ciento

#### 4.3.2 COMPUESTOS VOLÁTILES EN LOS PISCOS

##### a. Compuestos analizados mediante inyección directa GC-FID

En los Cuadros 17 y 18 se muestran los compuestos y las concentraciones determinadas mediante inyección directa en un cromatógrafo de gases acoplado a Detector de Ionización de Llama (FID) (Anexo 7).

Esta técnica fue empleada dado que la cromatografía de gases con detección FID es ampliamente utilizada en el análisis de bebidas alcohólicas para la cuantificación de componentes volátiles mayoritarios como los alcoholes superiores, ésteres y aldehídos (Moncayo, 2013).

Investigadores como Hatta (2004), Toledo (2012), López-Vázquez, *et al.* (2010a, 2010b), Cacho *et al.* (2012a, 2012b, 2013a, 2013b), De León-Rodríguez *et al.* (2008), Tesevic *et al.* (2009) y Gonzales (1999), emplearon esta técnica para determinar compuestos volátiles en destilados alcohólicos, lo cual confirma su uso como un medio confiable para la determinación de estos analitos.

Los compuestos determinados en las variedades de pisco Italia, Moscatel y Torontel, expresados sobre Alcohol Anhidro (AA), tales como: el ácido acético (rango: 4,37 a 11,66 mg/100ml AA), acetaldehído (rango: 10,64 a 24,82 mg/100ml AA), isobutanol (rango: 21,22 a 26,75 mg/100ml AA), 3-metil-1-butanol (rango: 89,15 a 160,62 mg/100ml AA) y acetato de isoamilo (rango: 0,71 a 7,00 µg/100ml AA) cumplieron con lo estipulado en el Reglamento de la Denominación de Origen Pisco (Consejo Regulador del Pisco, 2015).

En relación al ácido acético, los valores determinados fueron en promedio para piscos Italia: 36,56 mg/l (9,3 mg/100ml AA), para piscos Moscatel: 25,32 mg/l (6,4 mg/100ml AA) y para piscos Torontel: 18,80 mg/l (4,9 mg/100ml AA). Dichos resultados se encontraron cercanos y dentro del rango reportado por Cacho *et al.* (2012b y 2013a) en piscos comerciales de las variedades Italia (37-512 mg/l), Moscatel (24-216 mg/l) y Torontel (26-328 mg/l), y son similares a lo reportado por Hatta (2004) en pisco Italia (7,5 mg/100ml AA). Lea y Piggot (2008) mencionan que entre otras reacciones que ocurren en la destilación, se produce la reducción de aldehídos a ácidos y alcoholes en la fase de vapor.

El acetaldehído es el compuesto carbonílico más abundante en los destilados alcohólicos (Lanças y De Moraes, 2005), los resultados obtenidos en los piscos Italia (promedio: 70,53 mg/l), Moscatel (promedio: 78,92 mg/l) y Torontel (promedio: 70,09 mg/l) se encuentran dentro de los rangos reportados por Cacho *et al.* (2012b y 2013a) en piscos comerciales de las variedades Italia (12-144 mg/l), Moscatel (14-106 mg/l) y Torontel (13-118 mg/l), por otro lado, Nykänen y Nykänen (1991) menciona valores similares en bebidas destiladas como el coñac (promedio: 84 mg/l) y brandy (52-240 mg/l). Este compuesto se encuentra en los piscos, puesto que, el acetaldehído se forma en la fermentación y además es resultado de la oxidación del etanol en la destilación (Lanças y De Moraes, 2005), una mayor concentración de acetaldehído en las bebidas destiladas sería atribuida a la oxidación del etanol que además está catalizada por el cobre del alambique (Rodríguez y Suarez, 2015).

Dentro de los alcoholes determinados, los valores de 2,3-butanodiol en los piscos Italia (promedio: 1,47 mg/l), Moscatel (promedio: 1,68 mg/l) y Torontel (promedio: 1,45 mg/l) fueron menores a los reportados por Cacho *et al.* (2012b y 2013a) en piscos comerciales de las variedades Italia (14-44 mg/l), Moscatel (10-36 mg/l) y Torontel (26-328 mg/l). Las diferencias entre los resultados y los datos reportados, podrían ser atribuidas a factores como: la calidad del vino a destilar, puesto que, este polialcohol es un compuesto formado en la fermentación a partir de ácido pirúvico (Hidalgo, 2011), por otro lado, las particularidades del proceso de destilación también podrían influir en la concentración obtenida de este compuesto; Jackson (2008) indica que, en la destilación de Brandy, ajustar el grado de calentamiento y la velocidad de flujo de vino son el medio principal por el cual la composición química del destilado se puede regular, por ejemplo, el aumento de velocidad de flujo baja la temperatura, y aumenta el contenido relativo alcohol, pero reduce la concentración de aromas, tales como 2-feniletanol, lactato de etilo, y 2,3-butanodiol.

Por otra parte, las concentraciones bajas de este 2,3-butanodiol pueden ser convenientes para el aroma del pisco, puesto que, este compuesto es un polialcohol que atenúa el aroma del destilado de una manera considerable; pudiéndose manejar su presencia para esconder aromas y gustos negativos, o bien resaltar un aroma de baja intensidad cuando no se le deja destilar (compuesto de cola) (Migone, 1986 citado por Domenech, 2006).

Dentro de los alcoholes superiores, las concentraciones encontradas de isobutanol fueron en promedio para piscos Italia: 96,03 mg/l (24,5 mg/100ml AA), para Moscatel: 94,69 mg/l (23,9 mg/100ml AA) y para Torontel: 89,41 mg/l (23,1 mg/100ml AA), dichos resultados se encontraron dentro del tenor reportado por Nykänen y Nykänen (1991) en Brandy alemán (71-294 mg/l) y en Brandy español (58-90 mg/l), por Cacho *et al.* (2012b y 2013a) en piscos Italia (51-235 mg/l), Moscatel (81-225 mg/l) y Torontel (84-195 mg/l) y por Herraíz *et al.* (1990) en piscos chilenos (10-100 mg/100ml AA).

El alcohol superior, 3-metil-1-butanol, es un compuesto que tiene un aroma frutado y su presencia es deseada en bebidas alcohólicas (De León-Rodríguez, 2008), las concentraciones encontradas de dicho compuesto fueron en promedio para piscos Italia: 486,46 mg/l (124,2 mg/100ml AA), para Moscatel: 557,46 mg/l (140,8 mg/100ml AA) y para Torontel : 501,77 mg/l (129,5 mg/100ml AA), dichos resultados se encontraron cercanos y dentro del rango mencionado por Cacho *et al.* (2012b y 2013a) en piscos Italia (160-441 mg/l), Moscatel

(329-1006 mg/l) y Torontel (218-510 mg/l) y por Herraíz *et al.* (1990) en piscos chilenos (100-500 mg/100ml AA).

En cuanto al 2-feniletanol, las concentraciones promedio encontradas fueron para piscos Italia: 45,01 mg/l (11,5 mg/100ml AA), para Moscatel: 51,33 mg/l (13,0 mg/100ml AA) y para Torontel: 41,89 mg/l (10,8 mg/100ml AA). Dichos valores se encontraron cercanos y dentro del rango mencionado por Cacho *et al.* (2012b y 2013a) en piscos Italia (4-42 mg/l), Moscatel (17-75 mg/l) y Torontel (2-41 mg/l), asimismo, Herraíz *et al.* (1990) presenta valores cercanos en piscos chilenos (1-10 mg/100ml AA).

Los alcoholes superiores (alcoholes de fusel) son los congéneres más abundantes de las bebidas destiladas (Lea y Piggot, 2003), un contenido superior a 3500 mg/l de alcoholes superiores en aguardientes de uva, traduce ciertos problemas de vinificación, entre las posibles causas para estas elevadas concentraciones encontramos: cantidades excesivas de fangos, temperaturas elevadas de fermentación; o bien están relacionadas con la cepa de la levadura (Flanzy, 2000), dado que las concentraciones halladas de alcoholes superiores distan grandemente de una concentración de 3500 mg/l, se infiere que el proceso de vinificación se realizó sin problemas.

Dentro del grupo de ésteres, las concentraciones encontradas de lactato de etilo en los piscos Italia (promedio: 6,84 mg/l), Moscatel (promedio: 4,81 mg/l) y Torontel (promedio: 6,07 mg/l) fueron menores a las reportadas por Cacho *et al.* (2012b y 2013a), en piscos Italia (11-167 mg/l), Moscatel (14-79 mg/l) y Torontel (11-102 mg/l). Sin embargo, Peña y Lillo *et al.* (2005) mencionan un rango concentraciones en muestras de pisco chileno (0,8-345 mg/l) que incluyen a los resultados citados.

Las concentraciones promedio de lactato de etilo, expresados sobre alcohol anhidro, fueron de 1,74, 1,21 y 1,58 mg/100ml AA para piscos Italia, Moscatel y Torontel respectivamente. Estos valores indicarían ausencia de fermentación láctica durante el proceso de elaboración, puesto que, según Nascimento *et al.* (2008) este compuesto es un éster relacionado con contaminación bacteriana con cepas de *Lactobacillus* spp., un contenido de 2,02 mg/100ml AA determinado en whisky indica la ausencia de dicha bacteria durante la fermentación.

Las concentraciones encontradas de acetato de etilo en los piscos Italia (promedio: 19,62 mg/l), Moscatel (promedio: 21,36 mg/l) y Torontel (promedio: 18,84 mg/l) fueron menores a las reportadas por Cacho *et al.* (2012b y 2013a), en piscos Italia (37-455 mg/l), Moscatel (22-215 mg/l) y Torontel (28-245 mg/l). Sin embargo, Nykänen y Nykänen (1991) reportan valores de acetato de etilo desde 20 mg/l en Brandy francés, valor cercano al promedio de las muestras analizadas. Así mismo, este compuesto presentó valores menores al requisito del Reglamento de la Denominación de Origen Pisco (Consejo Regulador del Pisco, 2015), las concentraciones de acetato de etilo en las muestras estudiadas presentaron valores promedio de 5,0, 5,4 y 4,87 mg/100ml AA para piscos Italia, Moscatel y Torontel respectivamente; la norma exige un rango de 10 a 280 mg/100ml AA. Las diferencias encontradas pueden ser atribuidas a factores como: la baja concentración de dicho compuesto en vinos base, y por otra parte, dado que los vinos fueron mantenidos a 4°C previos a su destilación para favorecer la sedimentación de borras, este puede ser un factor que influya sobre la concentración de acetato de etilo, Jackson (2008) menciona que si el vino se almacena a una temperatura fresca antes de su destilación, reduce la acumulación de acetato de etilo y acetales, y además retrasa tanto la oxidación y el deterioro microbiano.

## **b. COMPUESTOS ANALIZADOS MEDIANTE EXTRACCIÓN SPE Y ANÁLISIS GC-MS**

En los Cuadros 19 y 20 se muestran los compuestos determinados mediante Extracción en Fase Sólida (SPE) seguida de Cromatografía de Gases (GC) acoplada a Espectrometría de Masas (MS) (Anexo 8).

Investigadores como Lukic *et al.* (2006), López-Vázquez *et al.* (2010b) y Campo *et al.* (2007) extrajeron compuestos volátiles de diferentes destilados mediante la técnica SPE. Además, Cacho *et al.* (2012a, 2012b, 2013a, 2013b), emplearon SPE/GC-MS para determinar compuestos volátiles trazas en piscos peruanos de las variedades Italia, Quebranta, Albilla, Moscatel, Torontel, Negra Criolla, Uvina y Mollar, lo cual confirma su uso como un medio confiable para la determinación de estos analitos.

**Cuadro 17: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante inyección directa GC-FID (expresados sobre pisco)**

Método de análisis	Tipo de compuesto	Compuesto	PISCO ITALIA	PISCO MOSCATEL	PISCO TORONTEL
<b>COMPUESTOS ANALIZADOS MEDIANTE GC-FID (mg/l de Pisco)</b>	Ácido	Ácido acético	36,56 ± 10,55	25,32 ± 2,44	18,80 ± 1,33
	Aldehído	Acetaldehído	70,53 ± 27,90	78,92 ± 10,81	70,09 ± 10,79
	Alcohol	2,3-butanodiol	1,47 ± 0,01	1,68 ± 0,38	1,45 ± 0,003
		Isobutanol	96,03 ± 7,73	94,69 ± 8,95	89,41 ± 5,23
		3-metil-1-butanol	486,46 ± 123,33	557,46 ± 78,53	501,77 ± 38,29
		2-feniletanol	45,01 ± 11,75	51,33 ± 7,77	41,89 ± 3,09
	Éster	Lactato de etilo	6,84 ± 3,61	4,81 ± 1,38	6,07 ± 0,29
		Acetato de etilo	19,62 ± 10,29	21,36 ± 4,73	18,84 ± 2,45

**Cuadro 18: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante inyección directa GC-FID (expresados sobre alcohol anhidro)**

Método de análisis	Tipo de Compuesto	Compuesto	PISCO ITALIA	PISCO MOSCATEL	PISCO TORONTEL
<b>COMPUESTOS ANALIZADOS MEDIANTE GC-FID (mg/100ml AA)</b>	Ácido	Ácido acético	9,30 ± 2,61	6,40 ± 0,64	4,86 ± 0,47
	Aldehído	Acetaldehído	17,99 ± 7,11	19,92 ± 2,50	18,12 ± 3,25
	Alcohol	2,3-butanodiol	0,37 ± 0,00	0,42 ± 0,09	0,37 ± 0,01
		Isobutanol	24,50 ± 2,20	23,91 ± 1,98	23,07 ± 1,73
		3-metil-1-butanol	124,19 ± 32,43	140,76 ± 18,71	129,51 ± 12,09
		2-feniletanol	11,47 ± 2,95	12,98 ± 2,01	10,79 ± 0,59
	Éster	Lactato de etilo	1,74 ± 0,91	1,21 ± 0,34	1,58 ± 0,01
		Acetato de etilo	5,01 ± 2,62	5,39 ± 1,13	4,87 ± 0,78

AA: Alcohol anhidro, \*Diferentes letras (a, b) en la fila representan diferencia significativa en los promedios.



En relación a los terpenos evaluados, las muestras de pisco Italia presentaron concentraciones promedio para citronelol: 144,45  $\mu\text{g/l}$  (36,8  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), para  $\alpha$ -terpineol: 516,80  $\mu\text{g/l}$  (131,8  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), para nerol: 319,16  $\mu\text{g/l}$  (81,4  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), para linalol: 537,99  $\mu\text{g/l}$  (137,2  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), para terpinolene: 1,21  $\mu\text{g/l}$  (0,31  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ) y para geraniol: 189,45  $\mu\text{g/l}$  (48,2  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ). Dichos resultados se encuentran dentro del rango reportado por Cacho *et al.* (2012b) para terpenos como: citronelol (37-1507  $\mu\text{g/l}$ ),  $\alpha$ -terpineol (56-5597  $\mu\text{g/l}$ ), nerol (28-2024  $\mu\text{g/l}$ ), linalol (128-10425  $\mu\text{g/l}$ ) y geraniol (38-3262  $\mu\text{g/l}$ ), en piscos comerciales de la variedad Italia. El terpeno más abundante en esta variedad de pisco fue el linalol, lo cual coincide con lo encontrado por Domenech (2006), Jiménez (2014) y Cacho *et al.* (2012b).

Por otra parte, Jiménez (2014) concuerda con las concentraciones encontradas en piscos Italia de linalol (80-670  $\mu\text{g/l}$ ), pero no de nerol (30-70  $\mu\text{g/l}$ ) y terpineol (280  $\mu\text{g/l}$ ), cita valores menores a los determinados. Del mismo modo, Domenech (2006) concuerda con las concentraciones de nerol (70-80  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ) más no con las concentraciones de linalol (1210 - 2 210  $\mu\text{g}/100 \text{ ml AA}$ ) y geraniol (210-500  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), cita valores mayores a los determinados.

Los terpenos encontrados en los piscos Moscatel fueron: citronelol (promedio 142,78  $\mu\text{g/l}$ ),  $\alpha$ -terpineol (promedio 516 10  $\mu\text{g/l}$ ), nerol (promedio 318,63  $\mu\text{g/l}$ ) y linalol (promedio 530,06  $\mu\text{g/l}$ ). Dichos resultados se encontraron dentro de los rangos reportados por Cacho *et al.* (2013a):  $\alpha$ -terpineol (303-1590  $\mu\text{g/l}$ ), nerol (119 - 1 624  $\mu\text{g/l}$ ), linalol (474 - 4 664  $\mu\text{g/l}$ ).

Los terpenos encontrados en los piscos Torontel fueron: citronelol (promedio 143,21  $\mu\text{g/l}$ ),  $\alpha$ -terpineol (promedio 516,91  $\mu\text{g/l}$ ), nerol (promedio 319,44  $\mu\text{g/l}$ ), linalol (promedio 534,16  $\mu\text{g/l}$ ) y terpinolene (promedio 6,19  $\mu\text{g/l}$ ). Dichos resultados difieren a los rangos reportados el Cacho *et al.* (2013a): citronelol (493-1959  $\mu\text{g/l}$ ),  $\alpha$ -terpineol (1786-5954  $\mu\text{g/l}$ ), nerol (371-2411  $\mu\text{g/l}$ ), linalol (4813-11695  $\mu\text{g/l}$ ) y terpinolene (68-377  $\mu\text{g/l}$ ) en piscos comerciales.

Las concentraciones de terpenos determinadas en todas las variedades de piscos se encuentran dentro de los rangos de linalol (51-3637  $\mu\text{g/l}$ ) y geraniol (59-337  $\mu\text{g/l}$ ) reportados por Peña y Lillo *et al.* (2005) en pisco chileno, el cual está elaborado con uvas de la familia Moscatel. Además, los resultados se encuentran dentro de los rangos de citronelol (10-500  $\mu\text{g}/100\text{mlAA}$ ), terpineol (10-1000  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), nerol (10-100  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), linalol (10-

2000  $\mu\text{g}/100\text{mlAA}$ ) y geraniol (10-500  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ) encontrados por Herraíz *et al.* (1990) en pisco de origen chileno.

Las diferencias existentes entre las concentraciones de terpenos en los piscos analizados y los referentes bibliográficos se pueden deber a que, los terpenos en las uvas de la familia moscato varían largamente entre sus variedades, por otra parte, el factor destilación afecta la concentración de terpenos, Jackson (2008) indica que durante la destilación el calor promueve la descomposición hidrolítica de glucósidos de terpenos no volátiles, así mismo, Usseglio-Tomasset (1998) menciona que por obra del calor se produce la liberación de los alcoholes terpénicos libres de sus productos de combinación, partiendo de soluciones de linalol, nerol, geraniol al pH del mosto y con calor, se llega a obtener presencia contemporánea de linalol, nerol, geraniol y  $\alpha$ -terpineol, sucede que cada uno de los tres alcoholes terpénicos no sólo se convierten parcialmente en los otros dos, sino que origina cantidades muy relevantes de  $\alpha$ -terpineol, el cual parece ser el compuesto al que tienden a transformarse los otros dos alcoholes terpénicos.

Cabe mencionar que la concentración de terpenos en los piscos se ve incrementada sensiblemente con tiempo de la maceración de orujos en el proceso de fermentación (Domenech, 2006), puesto que, la película de la uva es más rica en monoterpenos libres y unidos, que la pulpa o el jugo, por ejemplo, el geraniol y nerol son más abundantes en la película que en la pulpa y el jugo (Ribereau-Gayón *et al.*, 2002).

En las diferentes variedades de pisco evaluadas, las concentraciones de ésteres etílicos de ácidos grasos encontradas fueron, para el hexanoato de etilo: 1,75-21,64  $\mu\text{g}/\text{l}$  (0,5-5,5  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), para el octanoato de etilo: 71,71-586,27  $\mu\text{g}/\text{l}$  (18,2-149,9  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), para el decanoato de etilo: 631,41-899,66  $\mu\text{g}/\text{l}$  (159,7-230,1  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ) y para el estearato de etilo: 2,00-3,88  $\mu\text{g}/\text{l}$  (0,5-1,0  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ). Los resultados estuvieron cercanos y dentro del rango mencionado por Cacho *et al.* (2012b) en pisco Italia (decanoato de etilo: 45-1734  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), por Jiménez (2014) en pisco Italia (octanoato de etilo: 60-720  $\mu\text{g}/\text{l}$ , decanoato de etilo: 90-2490  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), por Cacho *et al.* (2012b) en pisco Moscatel (octanoato de etilo: 200-1700  $\mu\text{g}/\text{l}$ , decanoato de etilo: 200-2791  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), por Cacho *et al.* (2013a) en pisco Torontel (hexanoato de etilo: 13-171  $\mu\text{g}/\text{l}$ , decanoato de etilo: 89-6285  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), por Peña y Lillo *et al.* (2005) en pisco chileno (octanoato de etilo: 348-5377  $\mu\text{g}/\text{l}$ , decanoato de etilo: 398-12701  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), por Herraíz *et al.* (1990) en pisco chileno (octanoato de etilo: 10-500  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ,

decanoato de etilo: 10-500  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ), por López-Vázquez *et al.* (2010b) en orujo español (estearato de etilo: 0-180  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ).

Las diferencias en los perfiles de ésteres de ácidos grasos pueden atribuirse a las diferentes cantidades de lias (levaduras) en el alambique, Flanzky (2000) indica que es precisamente la cantidad de lias aportadas al vino en el alambique la que puede modificar sensiblemente el perfil aromático de los aguardientes obtenidos, puesto que, los ésteres de ácidos grasos y los ácidos de alto peso molecular son liberados por el calentamiento de las levaduras, sus células sufren una autólisis que libera los constituyentes intracelulares y especialmente los ácidos grasos volátiles, estos ácidos y sus ésteres correspondientes participan en el aroma del aguardiente, en esta fase, la cepa de levadura utilizada en vinificación no representa más que un factor secundario, Lea y Piggot (2008) indican que en el proceso de destilación existen reacciones químicas inducidas térmicamente, de esta manera, ácidos y alcoholes reaccionan para formar ésteres durante este proceso.

En cuanto a los ésteres de ácido acético encontrados en las diferentes variedades de pisco, las concentraciones de acetato de isoamilo fueron de 2,82-27,36  $\mu\text{g}/\text{l}$  (0,7-7,0  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ) y las concentraciones de acetato de 2-feniletilo fueron de 128,21-129,00  $\mu\text{g}/\text{l}$  (32,0-34,4  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ). Las concentraciones determinadas de acetato de isoamilo son menores a las reportadas por Cacho *et al.* (2012b, 2013a) en pisco Italia (40-2132  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), en pisco Moscatel (119-1051  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) y en pisco Torontel (74-1433  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), por Peña y Lillo *et al.* (2005) en pisco chileno (381-3207  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) y por Herraíz *et al.* (1990) también en pisco de origen chileno (10-500  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ). Este evento se explicaría dado que las concentraciones de este compuesto encontradas en los vinos base, también fueron menores a las reportadas por las diferentes referencias bibliográficas, por probablemente provenir de muestras pobres en leucina.

En relación al acetato de 2-feniletilo, las concentraciones determinadas son similares a las reportadas por Cacho *et al.* (2012b, 2013a) en pisco Italia (26-3262  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) y en pisco Moscatel (32-2521  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), por Peña y Lillo *et al.* (2005) en pisco chileno (22-662  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) y por Herraíz *et al.* (1990) también en pisco de origen chileno (10-500  $\mu\text{g}/100\text{ml AA}$ ). Las concentraciones de este éster también estarían ligadas a la riqueza de cierto aminoácido en el mosto, por ejemplo, Cacho *et al.* (2012a) indican que en piscos Quebranta de la zona de Lima las

cantidades de 2-feniletanol y de su éster acético son altas debido a que provendrían de mostos ricos en fenilalanina.

En el caso particular del acetato de geraniol, este compuesto se determinó sólo en el pisco de la variedad Moscatel (5,54  $\mu\text{g/l}$ ), su presencia puede explicarse debido a que durante la fermentación se pueden llevar a cabo reacciones de esterificación entre terpenoles y ácidos acéticos, la presencia de estos ésteres en destilados de uvas moscato puede ser considerada como una característica varietal debido a que está directamente relacionada con la presencia y abundancia de sus precursores (Lukic *et al.*, 2010), además, su presencia podría estar relacionada con la cepa de levadura presente en las uvas Moscatel, puesto que, la *S. cerevisiae* es capaz de transformar el geraniol en acetato de geraniol, acetato de citronelol y citronelol (Mateo y Jiménez, 2000).

Dentro del grupo de los fenoles, el guayacol se determinó sólo en el pisco de la variedad Moscatel (0,62  $\mu\text{g/l}$ ). Cacho *et al.* (2013a) reportan en piscos Moscatel concentraciones entre 1,9 a 36,1  $\mu\text{g/l}$ , rango un poco mayor a lo encontrado experimentalmente, aunque, Cacho *et al.* (2012a) mencionan que en piscos Quebranta este compuesto se encuentra desde concentraciones menores a 0,1  $\mu\text{g/l}$  hasta 15,2  $\mu\text{g/l}$ , intervalo que incluye el valor encontrado en esta investigación. Cabe mencionar que el proceso de destilación afecta a la concentración de fenoles, Lea y Piggot (2003) mencionan que los ácidos cumáricos y ferúlicos derivados de las uvas, pueden descomponerse en compuestos con aromas picantes o medicinales, como el 4-vinilguayacol, debido al calor de destilación.

Según el análisis estadístico llevado a cabo, existen diferencias significativas en los promedios de citronelol, linalol, octanoato de etilo y decanoato de etilo entre los diferentes piscos. En cuanto a las concentraciones de terpenos las diferencias se pueden atribuir a las características varietales de cada uva y a la liberación de sus precursores durante la destilación, por otra parte, puesto que los ésteres de ácidos grasos, provienen del proceso de fermentación y además pueden ser liberados en el proceso de destilación, las diferencias encontradas se atribuirían al metabolismo de las levaduras en fermentación y la cantidad de lias presentes en la destilación.

**Cuadro 19: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante SPE y GC-MS (expresados sobre pisco)**

Método de análisis	Tipo de compuesto	Compuesto	PISCO ITALIA	PISCO MOSCATEL	PISCO TORONTEL
<b>COMPUESTOS ANALIZADOS MEDIANTE SPE-GCMS (<math>\mu\text{g/l}</math> de Pisco)</b>	Terpeno	(+)- $\beta$ -citronelol	144,45 $\pm$ 2,12	142,78 $\pm$ 0,59	143,21 $\pm$ 0,91
		(+)- $\alpha$ -terpineol	516,80 $\pm$ 0,44	516,10 $\pm$ 0,33	516,91 $\pm$ 0,90
		Nerol	319,16 $\pm$ 0,23	318,63 $\pm$ 0,23	319,44 $\pm$ 0,64
		(-)-linalol	537,99 $\pm$ 2,43	530,06 $\pm$ 0,79	534,16 $\pm$ 2,48
		Terpinoleno	1,21 $\pm$ 0,82	nd	6,19 $\pm$ 4,12
		Geraniol	189,45 $\pm$ 36,55	nd	nd
	Éster	Hexanoato de etilo	7,55 $\pm$ 2,59	11,89 $\pm$ 5,60	7,87 $\pm$ 5,03
		Estearato de etilo	nd	3,88	2,00
		Octanoato de etilo	104,47 $\pm$ 26,13	333,32 $\pm$ 165,53	164,82 $\pm$ 64,67
		Decanoato de etilo	645,99 $\pm$ 14,46	744,37 $\pm$ 82,73	697,89 $\pm$ 54,61
		Acetato de isoamilo	9,26 $\pm$ 5,80	10,00 $\pm$ 9,19	9,93 $\pm$ 5,47
		Acetato de geraniol	nd	5,54	nd
		Acetato de 2-feniletilo	128,60 $\pm$ 0,17	128,47 $\pm$ 0,19	128,73 $\pm$ 0,16
Fenol	Guayacol	nd	0,62	nd	

nd: no determinado

**Cuadro 20: Compuestos volátiles en piscos obtenidos mediante SPE y GC-MS (expresados sobre alcohol anhidro)**

Método de análisis	Tipo de Compuesto	Compuesto	PISCO ITALIA	PISCO MOSCATEL	PISCO TORONTEL
<b>COMPUESTOS ANALIZADOS MEDIANTE SPE-GCMS (<math>\mu\text{g}/100 \text{ ml}</math> de AA)</b>	Terpeno	(+)- $\beta$ -citronelol*	36,83 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	36,08 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	36,94 $\pm$ 1,17 <sup>ab</sup>
		(+)- $\alpha$ -terpineol	131,77 $\pm$ 1,43	130,41 $\pm$ 1,47	133,33 $\pm$ 3,79
		Nerol	81,38 $\pm$ 0,87	80,51 $\pm$ 1,02	82,74 $\pm$ 2,43
		(-)-linalol*	137,17 $\pm$ 1,72 <sup>a</sup>	133,93 $\pm$ 1,48 <sup>b</sup>	137,79 $\pm$ 4,21 <sup>ab</sup>
		Terpinoleno	0,31 $\pm$ 0,21	nd	1,57 $\pm$ 1,05
		Geraniol	48,24 $\pm$ 8,89	nd	nd
	Éster	Hexanoato de etilo	1,92 $\pm$ 0,65	3,01 $\pm$ 1,44	2,02 $\pm$ 1,29
		Octanoato de etilo*	26,66 $\pm$ 6,80 <sup>a</sup>	84,37 $\pm$ 42,36 <sup>b</sup>	42,37 $\pm$ 16,08 <sup>ab</sup>
		Decanoato de etilo*	164,73 $\pm$ 5,07 <sup>a</sup>	188,21 $\pm$ 22,47 <sup>b</sup>	179,83 $\pm$ 11,91 <sup>ab</sup>
		Estearato de etilo	nd	0,98	0,51
		Acetato de isoamilo	2,36 $\pm$ 1,46	2,54 $\pm$ 2,36	2,54 $\pm$ 1,36
		Acetato de geraniol	nd	1,42	nd
	Acetato de 2-feniletilo	32,79 $\pm$ 0,36	32,46 $\pm$ 0,39	33,20 $\pm$ 0,92	
Fenol	Guayacol	nd	0,15	nd	

nd: no determinado, AA: Alcohol anhidro, \*Diferentes letras (a, b) en la fila representan diferencia significativa en los promedios.

#### 4.4 VARIACIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES ENTRE EL VINO BASE Y EL PISCO

Para evidenciar las variaciones de los compuestos volátiles entre el vino base y el respectivo pisco, se realizaron pruebas estadísticas de comparación de medias entre el vino y el pisco para cada compuesto volátil. Los resultados se muestran en el Cuadro 21 (Anexo 12).

**Cuadro 21: Resultados del análisis estadístico para muestras relacionadas**

Compuesto Volátil	Diferencia Significativa	Conclusión
Isobutanol	n.s.	
3-metil-1-butanol	*	Pisco<Vino
2-feniletanol	n.s.	
Lactato de etilo	n.s.	
Acetato de etilo	*	Pisco<Vino
Citronelol	*	Pisco<Vino
$\alpha$ -Terpineol	*	Pisco<Vino
Nerol	*	Pisco<Vino
Linalol	*	Pisco<Vino
Geraniol (en Italia)	ns	
Hexanoato de etilo	*	Pisco<Vino
Octanoato de etilo	ns	
Decanoato de etilo	*	Pisco<Vino
Acetato de isoamilo	*	Pisco<Vino
Acetato de 2-feniletilo	*	Pisco<Vino

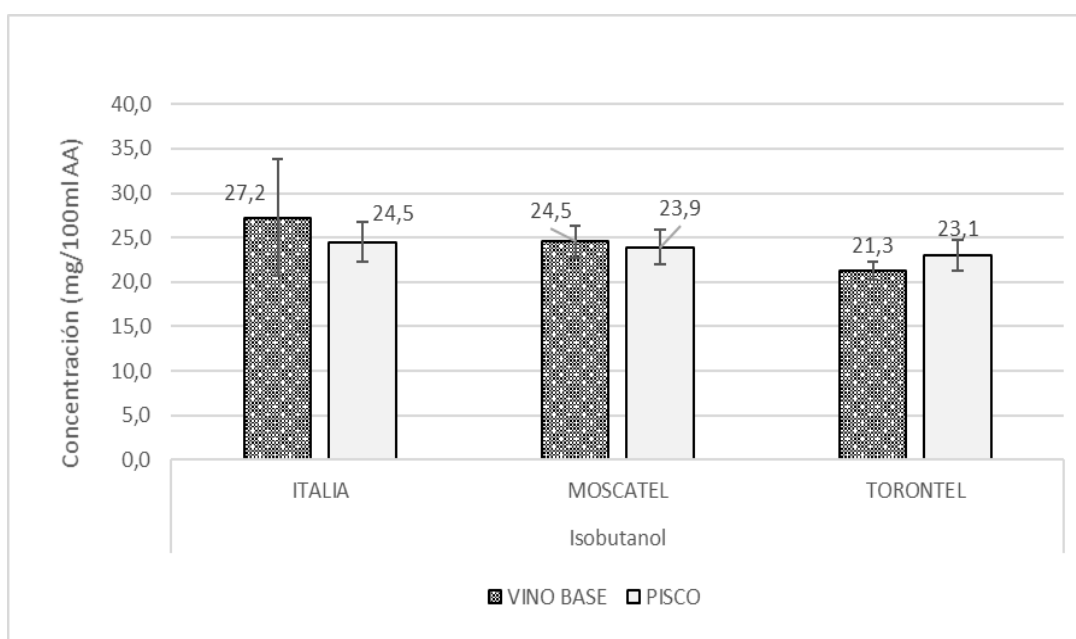
ns: diferencia no significativa, \*: diferencia significativa entre vino y pisco

A continuación, se detallan las variaciones encontradas para cada compuesto volátil, para ello es necesario tener en cuenta que en el proceso de destilación existen 2 cortes que van a regular presencia de ciertos compuestos volátiles en el pisco, según su afinidad al etanol/agua o por su punto de ebullición; el corte de cabeza y el corte de cola. Habitualmente, el corte más volátil (cabeza) es omitido de las fracciones colectadas de las bebidas alcohólicas, las fracciones de cabeza contienen muchos componentes aromáticos que usualmente son considerados de un impacto sensorial negativo (Lea y Piggot, 2003).

- **ISOBUTANOL**

En cuanto al isobutanol, en la Figura 15 se muestran las variaciones de los promedios de este compuesto entre el vino base y el pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel. Se observaron pequeñas variaciones entre el vino base y el respectivo pisco, además según el análisis estadístico no existieron diferencias significativas entre los mismos.

El isobutanol es un alcohol superior que tiene un punto de ebullición (P.E.) de 108°C (NIST, 2016) y es soluble en agua en 9,5 por ciento (Yalkowsky *et al.*, 2010), Venturini (2010) indica que compuestos de bajo P.E. (menor a 100°C), solubles en etanol y completa o parcialmente solubles en agua destilan durante la cabeza y todo el cuerpo, asimismo, Hatta (2004) sostiene que el isobutanol destila en la cabeza en un porcentaje de 13 por ciento y en el cuerpo en un porcentaje de 87 por ciento. Por lo mencionado, las pequeñas variaciones (aunque no significativas) entre vino base y pisco son atribuibles al corte de cabeza.



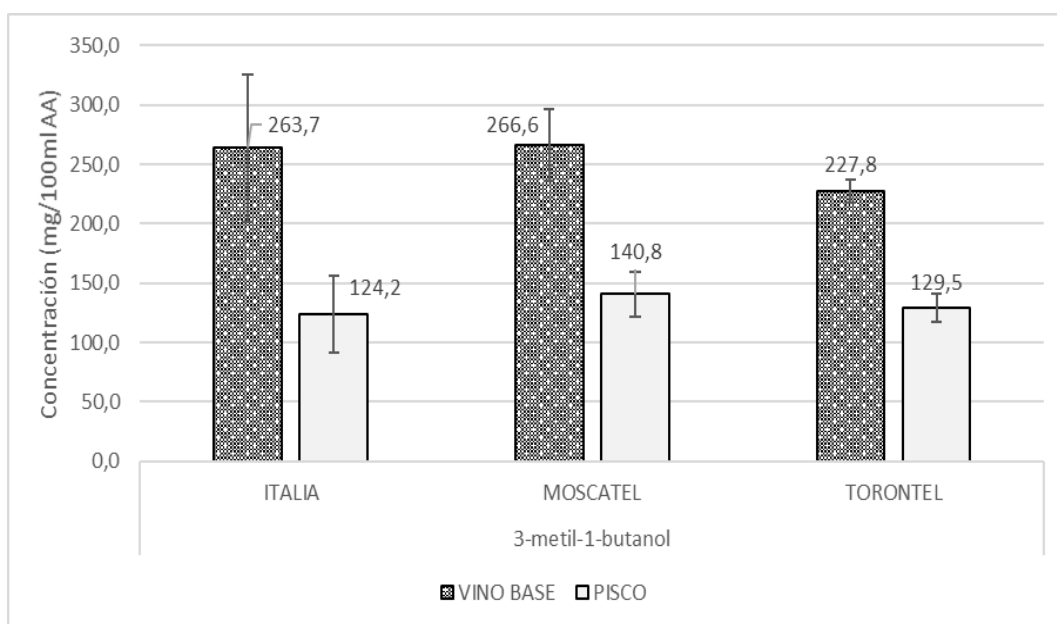
**Figura 15: Comparación entre vino base y pisco para el isobutanol determinados mediante GC-FID**



- **3-METIL-1-BUTANOL**

En la Figura 16 se muestran las variaciones de este compuesto entre el vino base y el pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel. Dicha representación muestra una disminución marcada entre el vino base y el destilado respectivo en todas las variedades analizadas, variaciones que se evidenciaron en el análisis estadístico, el cual mostró diferencias significativas entre vino y pisco.

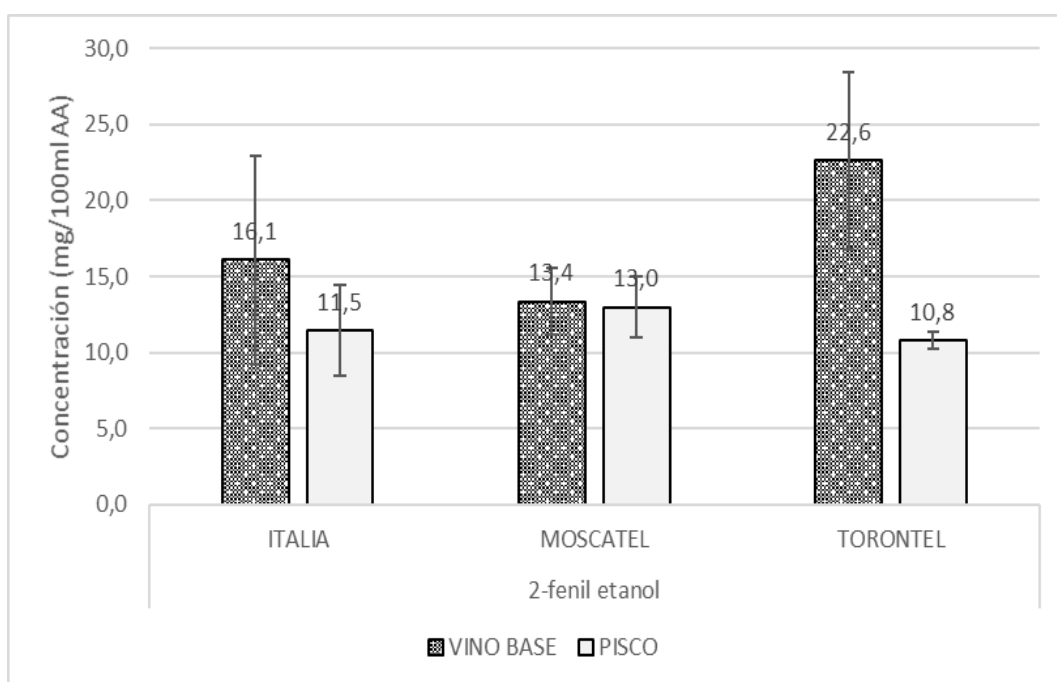
El 3-metil-1-butanol (alcohol isoamílico) es un compuesto insoluble en agua y soluble en solventes orgánicos (Pasto y Johnson, 2003), con P.E. de 131°C (NIST, 2016), es decir, a pesar de tener un P.E. mayor a los 100°C, la afinidad por el etanol determinaría su preferente destilación en la fracción de la cabeza. Lafon *et al.* (1973) citado por Hatta (2004), menciona que los alcoholes amílicos destilan primeramente en la cabeza y posteriormente disminuyen conforme decrece el grado alcohólico del destilado; es decir las disminuciones de este compuesto serían atribuibles al corte de cabeza en la destilación.



**Figura 16: Comparación entre vino base y pisco para el 3-metil-1-butanol determinados mediante GC-FID**

- **2-FENILETANOL**

En la Figura 17 se muestran las variaciones de este compuesto entre el vino base y el pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel, de acuerdo al análisis estadístico no existen diferencias significativas entre vino y pisco. Según indica López-Vázquez *et al.* (2010a), el contenido de 2-feniletanol en el destilado puede ser afectado por el tipo de levadura dominante en la fermentación, pero mayoritariamente por la intensidad del corte de cola en la destilación. Al poseer un P.E. de 218°C (NIST, 2016) y ser muy poco soluble en agua (Felton, 2012), este alcohol destila muy poco en la cabeza, aumentando en el cuerpo y mayoritariamente en la cola (Domenech, 2006). En la Figura 17 se observa una disminución entre vino base y pisco, debido al corte de cola mencionado anteriormente, aunque dicha variación no es significativa.

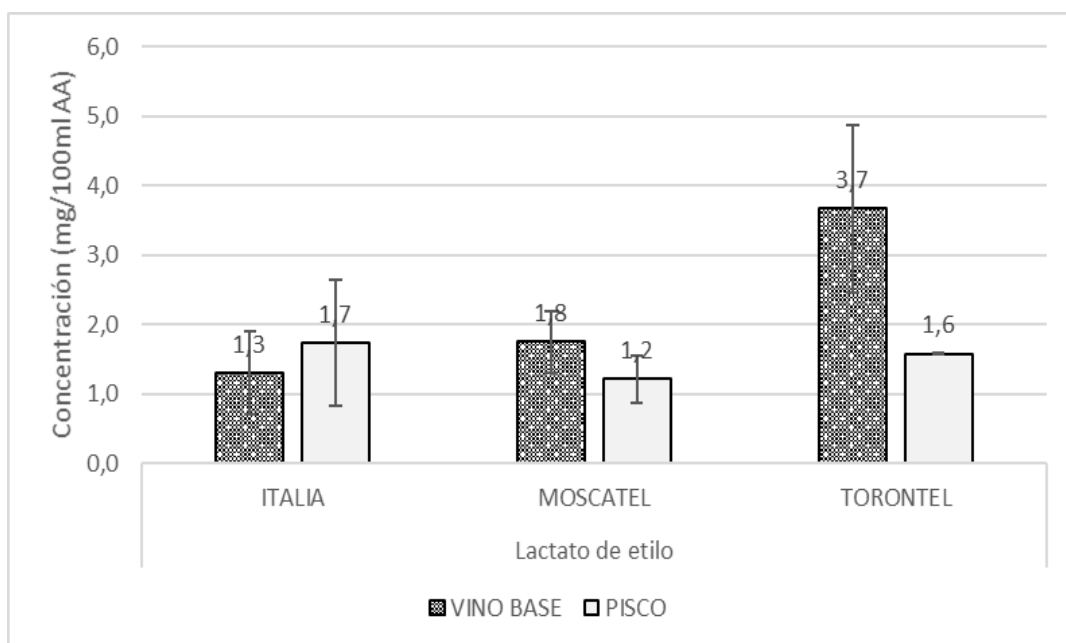


**Figura 17: Comparación entre vino base y pisco para el 2-fenil etanol determinados mediante GC-FID**

- **LACTATO DE ETILO**

En la Figura 18 se muestran las variaciones de este compuesto entre el vino base y el pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel, de acuerdo al análisis estadístico no existen diferencias significativas entre vino y pisco.

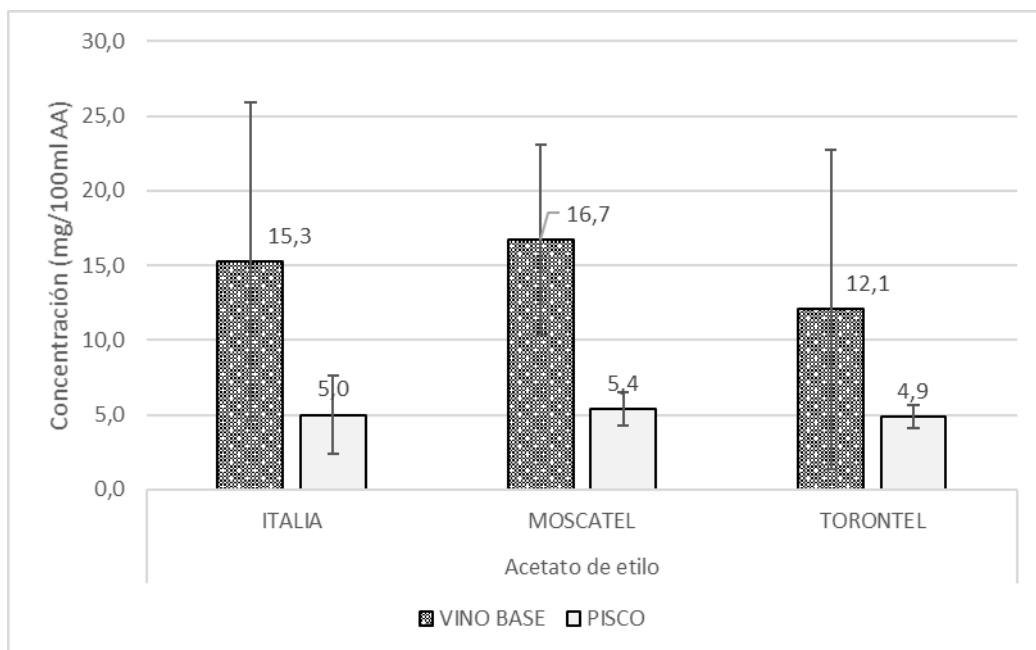
El lactato de etilo un éster con P.E. de 154°C y soluble en agua (NCBI, 2016), por lo cual destila poco en la cabeza incrementándose en el cuerpo y cola (Domenech, 2006). La variación entre el vino y el pisco se atribuiría al corte de cola mencionado, aunque dicha variación no es significativa.



**Figura 18: Comparación entre vino base y pisco para el lactato de etilo determinados mediante GC-FID**

- **ACETATO DE ETILO**

En la Figura 19 se muestran las variaciones de acetato de etilo entre el vino base y el pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel, de acuerdo al análisis estadístico existen diferencias significativas entre vino y pisco. Como se puede observar, existe una disminución marcada entre el vino base y el destilado respectivo en todas las variedades analizadas, tal como se esperaría al ser un compuesto que sale en mayor proporción en la cabeza, puesto que posee un P.E. de 77°C, es pobremente soluble en agua y miscible en etanol (NCBI, 2016). Según Hatta (2004) este compuesto destila en mayor cantidad en las fracciones de mayor grado alcohólico (cabeza y primeras fracciones del cuerpo), además, destila prácticamente en su totalidad durante el proceso y su formación en la destilación es mínima (Alonso, 1985 citado por Domenech, 2004).

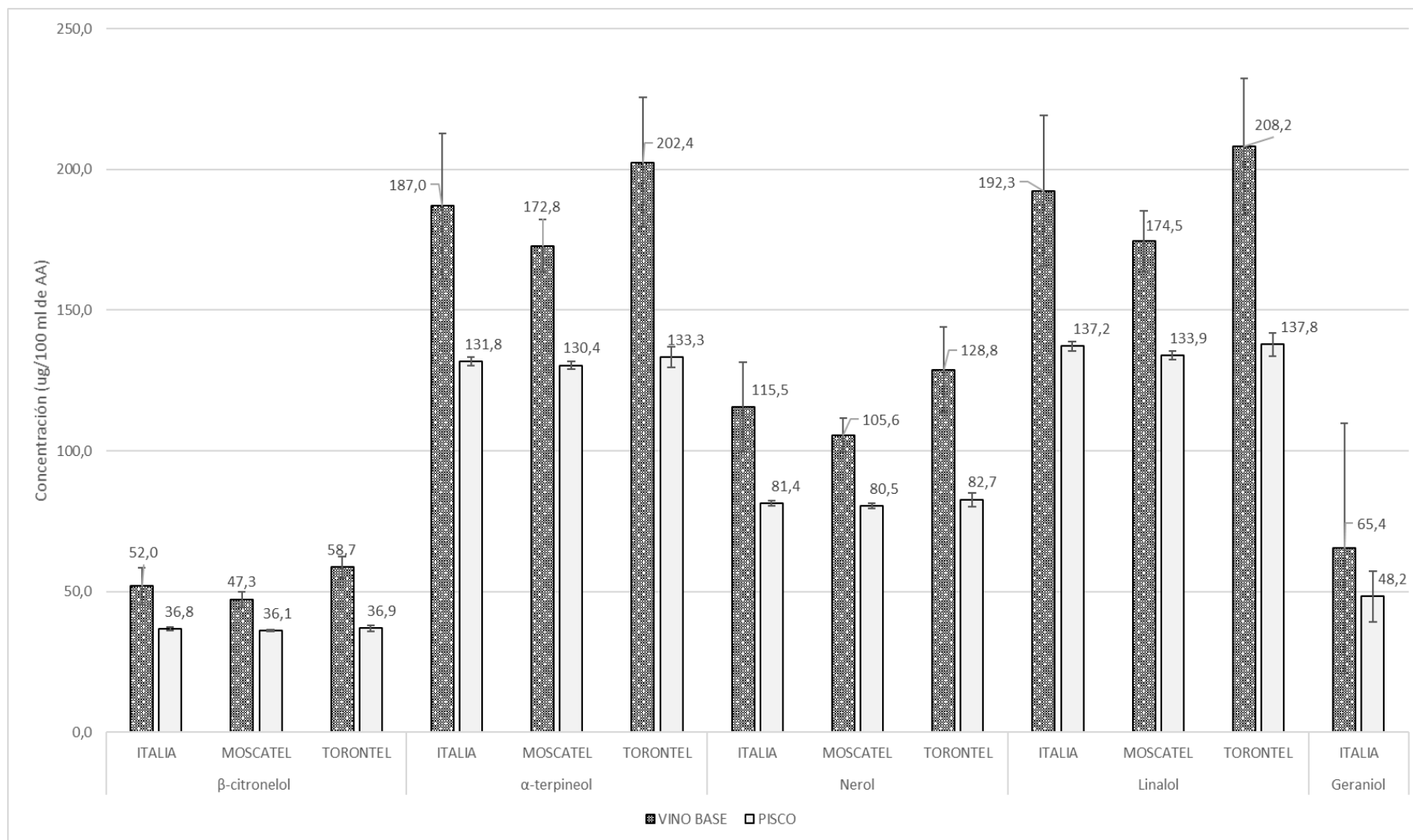


**Figura 19: Comparación entre vino base y pisco para el acetato de etilo determinados mediante GC-FID**

- **TERPENOS**

En la Figura 20 se muestran las variaciones de terpenos entre el vino base y el pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel, de acuerdo al análisis estadístico existen diferencias significativas entre vino y pisco para los terpenos: citronelol, terpineol, nerol y linalol.

La destilación, según Valenzuela (2002) citado por Domenech (2006), tiene un efecto significativo sobre el contenido de terpenos, puesto que, el calor aportado y la acidez del medio van a provocar la hidrólisis de terpenos ligados, asimismo, Lukic (2010) menciona que las altas temperaturas de destilación, especialmente en condiciones ácidas, catalizan diferentes conversiones intramoleculares e inducen a la hidrólisis de glicósidos y polioles. Si bien es cierto, además comprobado, existen precursores de terpenos que son liberados en la fermentación y destilación; sin embargo, el corte de cabeza regula la concentración de terpenos en el pisco. Terpenos como el  $\alpha$ -terpineol, linalol y nerol salen en mayor concentración en la fracción de la cabeza (Migone, 1986 citado por Domenech, 2006), debido a que son compuestos prácticamente insolubles en agua y muy solubles en etanol, a pesar de tener P.E. elevado (sobre los 200°C) (NCBI, 2016) destilan preferentemente en la fracción de la cabeza. Por tal razón, es de esperarse la disminución de dichos compuestos entre el vino base y el pisco respectivo.



**Figura 20: Comparación entre el vino base y el pisco respectivo para compuestos terpénicos determinados mediante SPE/GC-MS**

- **ÉSTERES ETÍLICOS DE ÁCIDOS GRASOS**

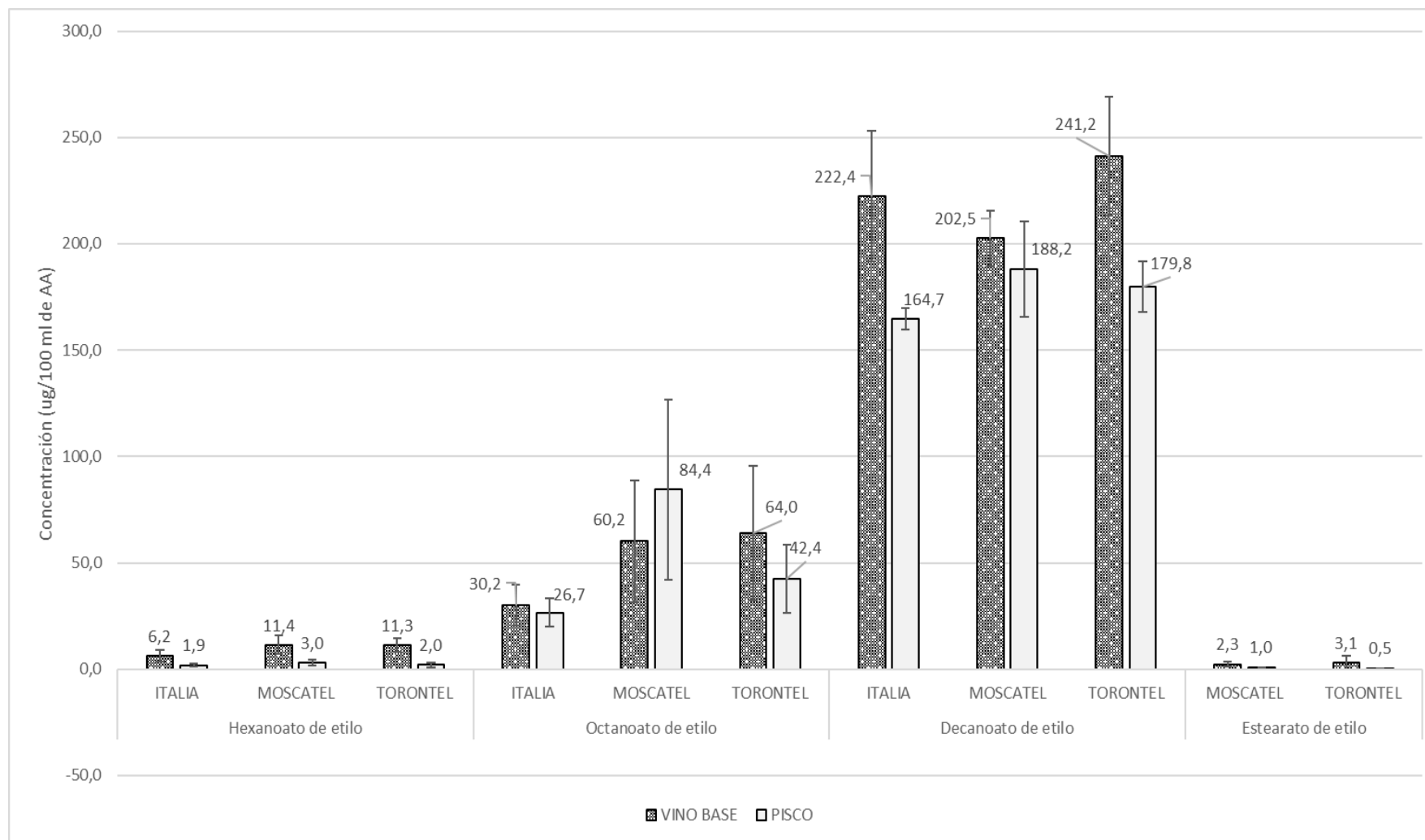
En la Figura 21 se muestran las variaciones de los ésteres etílicos de ácidos grasos entre el vino base y el pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel, de acuerdo al análisis estadístico existen diferencias significativas entre vino y pisco para el hexanoato de etilo y el decanoato de etilo, mientras que en el caso particular de la variedad Moscatel la concentración de octanoato de etilo incrementa (aunque no de forma significativa).

Dicha disminución se explicaría debido a que según Migone (1986), citado por Domenech (2006), los ésteres: hexanoato, octanoato y decanoato de etilo destilan en mayor proporción en la fracción de cabeza, tal como también lo sostiene Alonso (1985), citado por Hatta (2004), quien indica que los ésteres en general se consideran productos de cabeza. A pesar de que los P.E. de los ésteres hexanoato, octanoato, decanoato y estearato de etilo son elevados (167°C, 207°C, 245°C y 356°C respectivamente; según NIST, 2016), por ser compuestos solubles en alcohol e insolubles en agua (Panda, 2010), su destilación en la cabeza sería mayoritaria.

En el caso particular del aumento de octanoato de etilo en el pisco Moscatel, esto puede ser explicado por la esterificación que se da en la destilación (Alonso, 1985; citado por Domenech, 2006), reacción que es catalizada por el cobre del alambique (Hatta, 2004). Asimismo, Flanzky (2000) menciona que, durante el calentamiento de los vinos, las células de las levaduras sufren una autólisis que libera los componentes intracelulares, especialmente los ácidos grasos volátiles, estos ácidos y los ésteres formados a partir de ellos en la misma paila de destilación, participan en el aroma del aguardiente.

- **ÉSTERES ACÉTICOS**

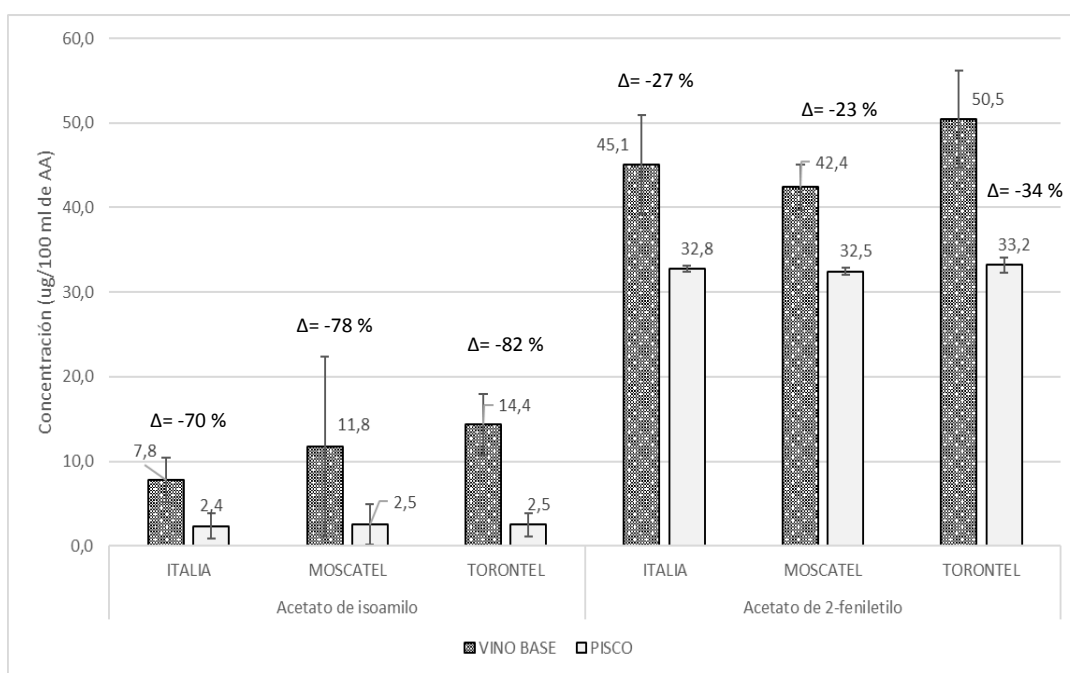
En la Figura 22 se muestran las variaciones de los ésteres acéticos, se observó que el acetato de isoamilo disminuyó en el paso de vino base a pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel (-70, -78 y -82 por ciento, respectivamente), el análisis estadístico mostró diferencias significativas en las variaciones. Puesto que, este compuesto es prácticamente insoluble en agua y miscible en etanol (NCBI, 2016), a pesar de presentar P.E. de 142°C (mayor a los 100°C), es un compuesto que destila preferentemente en la cabeza (Hatta, 2004), debido a su alta solubilidad en etanol.



**Figura 21: Comparación entre vino base y pisco para ésteres etílicos de ácidos grasos determinados mediante SPE/GC-MS**

Por otro lado, el acetato de 2-feniletilo disminuye en el paso del vino base al pisco para las variedades Italia, Moscatel y Torontel (-27, -23 y -34 por ciento, respectivamente), el análisis estadístico mostró diferencias significativas en las variaciones. Puesto que, este compuesto presenta P.E. de 236°C (NIST, 2016) y es claramente soluble en alcohol (Panda, 2010); sale tanto en la cabeza como en el cuerpo y en menor cantidad en la cola durante la destilación (Migone, 1986; citado por Domenech, 2006). La disminución observada se debe al corte de cabeza ya mencionado, sin embargo, no se debe descartar la formación de este compuesto en la destilación

En la Figura 22 se puede observar que la concentración de acetato de 2-feniletilo disminuye, pero en menor proporción que la del acetato de isoamilo, esto daría indicios de la formación del éster acetato de 2-feniletilo, puesto que, Cacho *et al.* (2012b) mencionan que, durante la destilación, el 2-feniletanol producido por la *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación, se asocia con el ácido acético produciendo su acetato correspondiente.



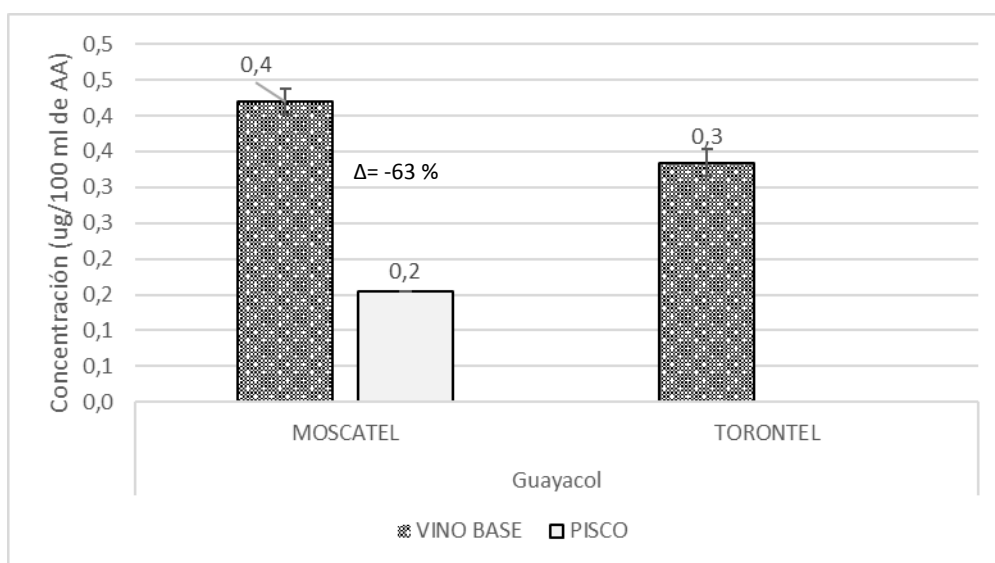
#: por ciento

**Figura 22: Comparación entre vino base y pisco para ésteres acéticos determinados mediante SPE/GC-MS**



- **GUAYACOL**

En la Figura 23 se muestran las variaciones de guayacol entre el vino base y el pisco. Se aprecia una disminución de este compuesto en el paso de vino base a pisco en la variedad moscatel, esto daría indicios de ser un compuesto que destila en las primeras fracciones del proceso, al ser un compuesto con punto de ebullición de 205°C (NIST, 2016), solubilidad muy pobre en agua y miscible en el etanol (NCBI, 2016), es decir habría una pérdida del compuesto debido al corte de cabeza.



**Figura 23: Comparación entre vino base y pisco para guayacol determinados mediante SPE/GC-MS**

#### 4.5 DIFERENCIAS VARIETALES ENTRE PISCOS

De acuerdo al análisis estadístico, las diferencias varietales no son muy marcadas, puesto que, se encontró que sólo 4 de los compuestos (citronelol, linalol, octanoato de etilo y decanoato de etilo) mostraron diferencias significativas (Anexo 11).

Se debe remarcar las diferencias que corresponden a compuestos aromáticos terpénicos, como el citronelol y el linalol, puesto que, los terpenoles constituyen un buen ejemplo de sustancias de origen varietal que son susceptibles a tipificar un vino y es seguro que intervienen fuertemente en la tipicidad de los moscateles (Flanzy, 2000). Además, la composición de terpenos es ampliamente usada para caracterización varietal (Ebeler y Thorngate, 2009).

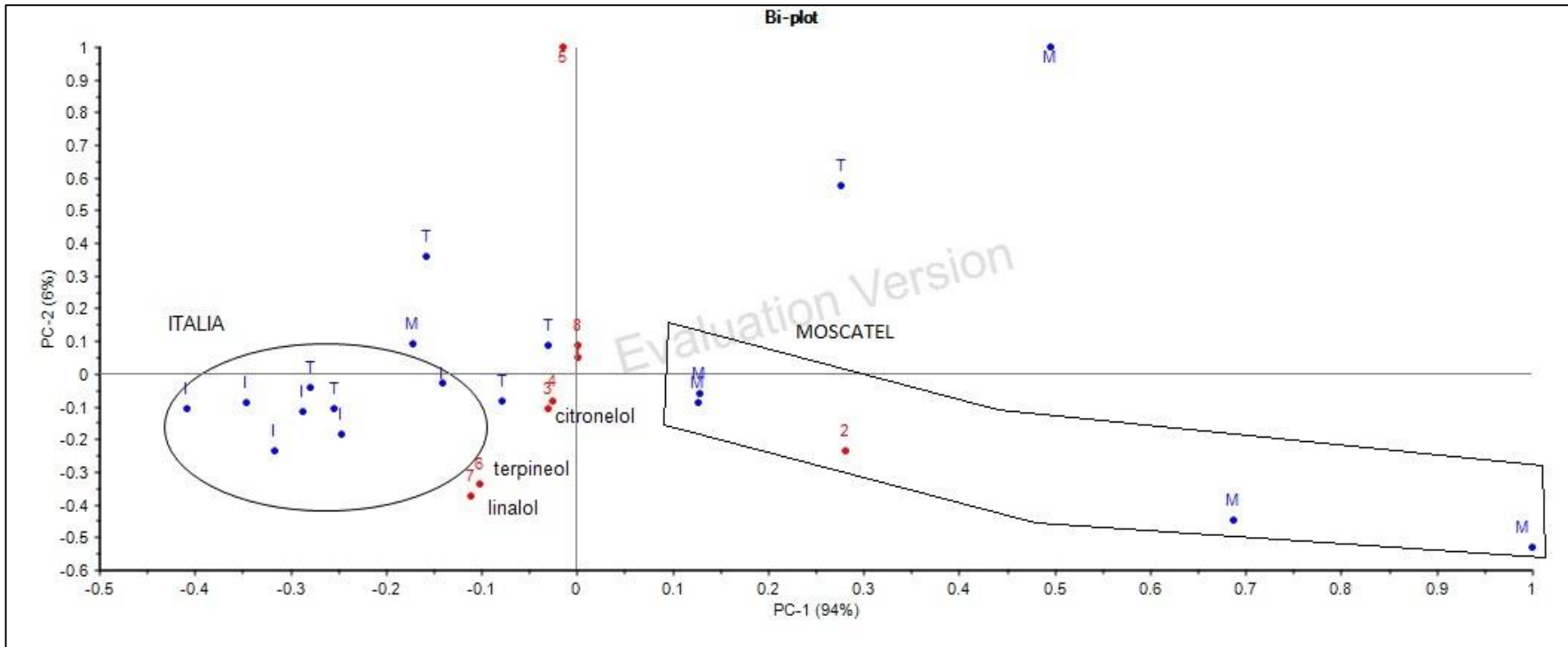
El Análisis de Compuestos Principales (PCA) (Figura 24) es un análisis multivariante que se empleó para determinar agrupamiento de muestras, según la presencia de determinados compuestos volátiles y para evaluar la relación entre dichos compuestos y las muestras de pisco. Este análisis ha sido ampliamente usado para clasificar muestras de acuerdo a su variedad u origen por investigadores como: Cacho *et al.* (2012a, 2012b, 2013a y 2013b), López-Vázquez *et al.* (2010b), Sádecká *et al.* (2009) y Pontes *et al.* (2006), además de ser usado para discriminar muestras con diferentes tratamientos por Peña y Lillo *et al.* (2005), Kostadinovic *et al.* (2013), Prado-Jaramillo *et al.* (2015), Fragasso *et al.* (2010), Pérez-Coello *et al.* (1999), Cozzolino *et al.* (2003) y Riovanto *et al.* (2011).

Como se aprecia en la Figura 24, los componentes principales representan el 100 por ciento del total de la varianza, empleando dos componentes: el componente principal 1 (PC1) y el componente principal 2 (PCA2), los cuales representan el 94 y 6 por ciento respectivamente.

Se observa que las muestras de pisco Italia (I) y Torontel (T) presentaron un perfil similar, puesto que, las distribuciones de las muestras correspondientes a estos dos piscos, se encontraron agrupadas en el cuadrante inferior izquierdo, incluso superponiéndose entre ellas.

Cabe mencionar que, las muestras de pisco Torontel presentaron una distribución heterogénea y no se logró observar un claro agrupamiento de datos, ni afinidad por un determinado compuesto aromático.

Por otra parte, las muestras de pisco Italia (I) y pisco Moscatel (M) fueron claramente discriminadas, las distribuciones de las muestras correspondientes a cada variedad de pisco, se encontraron en diferentes zonas del gráfico. Las de pisco Moscatel se representaron en el cuadrante inferior derecho y estuvieron asociadas al octanoato de etilo, mientras que, las muestras de pisco Italia presentaron una distribución homogénea en el cuadrante inferior izquierdo y estuvieron relacionadas a compuestos como: terpineol y nerol.



**Figura 24: Gráfico de puntuación del análisis de componentes principales (PCA)**

I=Italia, M=Moscatel, T=Torontel, 1=hexanoato de etilo, 2=octanoato de etilo, 3=citronelol, 4=acetato de 2-feniletilo, 5=decanoato de etilo, 6= $\alpha$ -terpineol, 7=linalol, 8=acetato de isopentilo.

## V. CONCLUSIONES

1. Los compuestos volátiles determinados mediante microextracción en fase líquida y GC-FID en los vinos base de Italia, Moscatel y Torontel fueron en mayor cantidad metabolitos de la fermentación alcohólica como: 3-metil-1-butanol (202,3-409,6 mg/l), isobutanol (18,1-42,7 mg/l), 2-feniletanol (12,2-27,4 mg/l) y acetato de etilo (3,6-28,9 mg/l). En cuanto a los compuestos analizados mediante extracción SPE y GC-MS, los analitos en mayor cantidad fueron: compuesto de la familia terpénica, linalol (211,6-213,3  $\mu\text{g/l}$ ),  $\alpha$ -terpineol (206,5-206,7  $\mu\text{g/l}$ ), nerol (127,5-127,7  $\mu\text{g/l}$ ) y  $\beta$ -citronelol (56,7-58,5  $\mu\text{g/l}$ ), además de compuestos como decanoato de etilo (242,8-250,5  $\mu\text{g/l}$ ), octanoato de etilo (22,0-145,2  $\mu\text{g/l}$ ) y el acetato de 2-feniletilo (51,4-51,7  $\mu\text{g/l}$ ).
2. Los compuestos volátiles determinados mediante GC-FID en los piscos Italia, Moscatel y Torontel fueron en mayor cantidad metabolitos de la fermentación alcohólica como: 3-metil-1-butanol (351,4-643,1 mg/l), isobutanol (83,4-103,8 mg/l), acetaldehído (42,1-97,8 mg/l), 2-feniletanol (33,9-59,8 mg/l), ácido acético (17,3-46,0 mg/l) y acetato de etilo (9,3-29,8 mg/l). En cuanto a los compuestos analizados mediante extracción SPE y GC-MS, los analitos encontrados en mayor cantidad fueron: compuestos de la familia terpénica, linalol (529,0-541,3  $\mu\text{g/l}$ ),  $\alpha$ -terpineol (515,8-518,15  $\mu\text{g/l}$ ), nerol (318,4-320,3  $\mu\text{g/l}$ ) y  $\beta$ -citronelol (142,2-147,7  $\mu\text{g/l}$ ), además de compuestos como el decanoato de etilo (631,4-899,7  $\mu\text{g/l}$ ), octanoato de etilo (71,7-586,3  $\mu\text{g/l}$ ) y el acetato de 2-feniletilo (128,2-129,0  $\mu\text{g/l}$ ).
3. Los compuestos volátiles que mostraron diferencias significativas en el paso de vino base a pisco en las variedades Italia, Moscatel y Torontel fueron: 3-metil-1-butanol, terpenos ( $\beta$ -citronelol,  $\alpha$ -terpineol, nerol y linalol), ésteres de ácidos grasos (hexanoato y decanoato de etilo) y ésteres acéticos (acetato de etilo, de isoamilo y de 2-feniletilo), variaciones atribuibles al corte de cabeza en el proceso de destilación.

4. De acuerdo al PCA aplicado, los piscos Italia y Torontel muestran perfiles aromáticos similares, a diferencia de los piscos Italia y Moscatel, los cuales fueron discriminados claramente, puesto que, los piscos Italia se asociaron al linalol y al terpineol, mientras que, los piscos Moscatel se asociaron al octanoato de etilo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda confirmar los compuestos determinados mediante GC-FID con detectores de espectrometría de masas.
2. Estudiar la esterificación en la destilación de octanoato de etilo en uvas moscatel, controlando las cantidades de levaduras que ingresan al alambique.
3. Estudiar la esterificación del acetato de 2-feniletilo en el proceso de destilación.
4. Se recomienda considerar el análisis del compuesto lactato de etilo en el Reglamento del Consejo Regulador del Pisco, por ser indicador del control de la fermentación.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AOAC INTERNACIONAL. 2005. Official Methods of Analysis. 18 ed. Washington, Estados Unidos.
2. AOAC INTERNACIONAL. 2007. Official Methods of Analysis. 18 ed. Washington, Estados Unidos.
3. Arévalo, M. 2006. Estudio de la actividad  $\beta$ -Glucosidásica en Levaduras Vínicas y su aplicación en Enología. Tesis Dr. Cuenca, España, Universidad de Castilla-La Mancha. 158 p.
4. Belancic, A; Agosin, E. 2002. Aromas Varietales: Influencia de ciertas prácticas vitivinícolas y enológicas. Santiago de Chile, Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile. 21 p.
5. Botelho, G. 2008. Characterisation of the Aroma Components of Clonal Grapes and Wines from Aragonez and Trincadeira Vitis vinifera L. cultivars. Tesis Ph.D. in Food Science. Vila Real, Portugal, Universidade De Trás-Os-Montes E Alto Douro. 169 p.
6. Cacho, J. 2003. El Vino, su Composición y Nuestros Sentidos. Zaragoza, España, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza. 48 p.
7. Cacho, J; Culleré, L; Moncayo, L; Palma, JC; Ferreira, V. 2012a. Characterization of the aromatic profile of the Quebranta variety of Peruvian pisco by gas chromatography-olfactometry and chemical analysis. Flavour and Fragrance Journal (27):322-333.
8. Cacho, J; Moncayo, L; Palma, JC; Ferreira, V; Culleré, L. 2012b. Characterization of the aromatic profile of the Italia variety of Peruvian pisco by gas chromatography-

- olfactometry and gas chromatography coupled with flame ionization and mass spectrometry detection systems. *Food Research International* (49):117-125.
9. Cacho, J; Moncayo, L; Palma, JC; Ferreira, V; Culleré. L. 2013a. Comparison of the aromatic profile of three aromatic varieties of Peruvian pisco (Albilla, Muscat and Torontel) by chemical analysis and gas chromatography-olfactometry. *Flavor and Fragrance Journal* (28):340-352.
  10. Cacho, J; Moncayo, L; Palma, JC; Ferreira, V; Culleré. L. 2013b. The impact of grape variety on the aromatic chemical composition of non-aromatic Peruvian pisco. *Food Research International* (54):373-381.
  11. Campo, E; Cacho, J; Ferreira, V. 2007. Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters: Assessment of their occurrence and importance in wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A* (1140):180-188.
  12. Campo, E; Ferreira, V; Escudero, A; Marqués, JC; Cacho, J. 2005. Quantitative gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines. *Analytica Chimica Acta* 563:180-187.
  13. Cedrón, T. 2004. Estudio Analítico de Compuestos Volátiles en Vino: Caracterización Quimiométrica de Distintas Denominaciones de Origen. Tesis Dr. La Rioja, España, Universidad de La Rioja. 470 p.
  14. Consejo Regulador Del Pisco. 2015. Reglamento de la Denominación de Origen Pisco (en línea). Lima, Perú. 29 p. Consultado: 17 ene. 2015. Disponible en: [http://consejoreguladordelpisco.pe/reglamento\\_pisco.pdf](http://consejoreguladordelpisco.pe/reglamento_pisco.pdf)
  15. Cozzolino, D; Smyth, HE; Gishen, M. 2003. Feasibility Study on the Use of Visible and Near-Infrared Spectroscopy Together and Chemometrics to Discriminate between Commercial White Wines of Different Varietal Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (5):7703-7708.
  16. De León-Rodríguez, A; Escalante-Minakata, P; Jimenez-García, M; Ordoñez-Acevedo, L; Flores, JL; Barba, A. 2008. Characterization of Volatile Compounds from Ethnic



- Agave Alcoholic Beverages by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Technol. Biotechnol.* 46(4):448-455.
17. Domenech, A. 2006. Influencia de la maceración de orujos y corte de cabeza en el contenido de terpenos en piscos de la variedad Italia (*Vitis vinífera* L. var. Italia). Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 190 p.
  18. Ebeler, SE; Thorngate, JH. 2009. Wine Chemistry and Flavor: Looking into the Crystal Glass. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (57):8098-8108.
  19. Etiévant, PX. 1991. Wine (en línea). In Maarse, H (ed.). *Volatile Compunds in Foods and Beverages*. Nueva York, Estados Unidos, Marcel Dekker. p. 483-546. Consultado 10 dic. 2015. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=\\_OvXjhLUz-oC&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=_OvXjhLUz-oC&hl=es&source=gbs_navlinks_s)
  20. Felton, L (ed.). 2012. *Remington: Essentials of Pharmaceutics* (en línea). Londres, Reino Unido, Editorial Pharmaceutical Press. 784 p. Consultado 15 jun. 2016. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=Yj4BAmRr2o0C&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=Yj4BAmRr2o0C&source=gbs_navlinks_s)
  21. Ferreira, V; Hernández-Orte, P; Escudero, A; López, R; Cacho, J. 1999. Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A* (864):77-88.
  22. Ferreira, V; Jarauta, I; Ortega L; Cacho, J. 2004. Simple strategy for the optimization of solid-phase extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients. Application to the determination of aliphatic lactones in wine. *Journal of Chromatography A* (1025):147-156.
  23. Flanzky, C. 2000. *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. Madrid, España, Mundi-Prensa. 783 p.

24. Fragasso, M; Antonacci, D; Pati, S; Tufariello, M; Caputo, A; La Notte, E. 2010. Volatile Profile of Primitivo Grape and Wine as Affected by Training System. Proceedings. World Congress of Vine and Wine (33, 2010, Tbilisi, Giorgia). Tbilisi, Georgia, OIV. 5 p.
25. Gonzales, A. 1999. Determinación estructural y cuantificación de componentes volátiles en muestras monovarietales de txakoli. Formula (5):83-108.
26. Gutiérrez, MC; Droguet, M. 2002. La Cromatografía de Gases y la Espectrometría de Masas: Identificación de Compuestos causantes de mal olor. Boletín Intexter. (UPC) (122):35-41.
27. Hatta, B. 2004. Influencia de la fermentación con orujos en los componentes volátiles del pisco de uva Italia (Vitis vinífera L. var. Italia). Tesis Mag. Sc. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 140 p.
28. Hatta, B. 2010. Manual Técnico: Elaboración de Vinos y Piscos. Lima, Perú, Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. 97 p.
29. Herraíz, M; Reglero, G; Herraíz, T; Loyola, E. 1990. Analysis of Wine Distillates Made from Muscat Grapes (Pisco) by Multidimensional Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry (38):1540-1543.
30. Hidalgo, J. 2011. Tratado de Enología. 2 ed. Madrid, España, Mundi-Prensa. 2 v.
31. INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual). 2011. Bebidas Alcohólicas Vitivinícolas: Vinos. NTP 212.014.2011. 3 ed. Lima, Perú.
32. Jackson, R. 2008. Wine Science: Principles and Applications (en línea). 3 ed. Canadá, Editorial Academic Press. 776 p. Consultado 20 jun. 2016. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=IU4HO2FeWoEC&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=IU4HO2FeWoEC&source=gbs_navlinks_s)

33. Jiménez, YP. 2014. Determinación de Terpenos, Alcoholes Superiores y Ésteres de Piscos Italia y Quebranta del Valle de Cañete por Cromatografía de Gases. Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 192 p.
34. Kang, W; Xu, Y; Qin, L; Wang, Y. 2010. Effects of Different  $\beta$ -D-Glycosidases on Bound Aroma Compounds in Muscat Grape Determined by HS-SPME and GC-MS. *Journal of The Institute of Brewing* 116(1):70-77.
35. Kostadinovic, S; Tolle, S; Goek, R; Milanov, G; Winterhalter, P. 2013. Effect of Enzyme Treatment on Volatile Profile of White and Red Wines from Macedonia using HS-SPME-GC/MS. In Ho, C; Mussinan, C; Shahidi, F; Tratras E (eds.). *Nutrition, Functional and Sensory Properties of Foods*. Cambridge, Reino Unido, RSC Publishing. p. 40-56.
36. Lambrechts; MG; Pretorius, IS. 2000. Yeast and its Importance to Wine Aroma-A Review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 21: 97-129.
37. Lanças, F; De Moraes, M. 2005. Alcoholic Beverages: Analysis by GC (en línea). In Cazes, J (ed.). *Encyclopedia of Chromatography*. 2 ed. Florida, Estados Unidos, Taylor and Francis Group. p. 43-45. Consultado 30 nov. 2015. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=dOvTx01elfsC&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=dOvTx01elfsC&source=gbs_navlinks_s)
38. Lea, A; Piggott, J (eds.). 2003. *Fermented Beverage Production* (en línea). 2 ed. Estados Unidos, Editorial Springer Science & Business Media. 423 p. Consultado 20 jun. 2016. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=mLntKU3H-14C&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=mLntKU3H-14C&source=gbs_navlinks_s)
39. López, R; Aznar, M; Cacho, J; Ferreira, V. 2002. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* (966):167-177.
40. López-Vásquez, C; Bollaín, M; Berstch, K; Orriols, I. 2010a. Fast determination of principal volatile compounds in distilled spirits. *Food Control* (21):1436-1441.

41. López-Vásquez, C; Bollaín, MH; Moser, K; Orriols, I. 2010b Characterization and Differentiation of Monovarietal Grape Pomace Distillate from Native varieties of Galicia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (58):9657-9665.
42. Lukic, I; Banovic, M; Persuric, D; Radeka, S; Sladonja, B. 2006. Determination of Volatile Compounds in Grape Distillates by Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A* (1101):238-244.
43. Lukic, I; Milicevic, B; Banovic, M; Tomas, S; Radeka, S; Persuric, D. 2010. Characterization and Differentiation of Monovarietal Grape Marc Distillates on the Basis of Varietal Aroma Compound Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (58):7351-7360.
44. Madrid, J; Madrid, A; Moreno, G. 2003. *Análisis de Vinos, Mostos y Alcoholes*. Madrid, España, Mundi-Prensa. 321 p.
45. Marais, J. 1983. Terpens in the Aroma of Grapes and Wines: A Review. *South African Journal for Enology and Viticulture* 4(2):49-60.
46. Mateo, JJ; Jiménez, M. 2000. Review: Monoterpens in Grape Juice and Wines. *Journal of Chromatography A* (881):557-567.
47. Mesías, JL; Maynar, JI; Mareca I. 1998. Estudio del Aroma de los Vinos de Tierra de Barros mediante Separación en Fases por Adición de Sales y Cromatografía Gas-Líquido de la Fase Orgánica. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos* (40):103-115.
48. Moncayo, L. 2013. *Caracterización de los Piscos del Perú a través de su Composición Aromática*. Tesis Dr. Zaragoza, España, Universidad Zaragoza. 317 p.
49. Moreno, J; Peinado, R. 2010. *Química Enológica*. Madrid, España, Mundi-Prensa. 511 p.

50. Muñoz-Robredo, P; Robledo, P; Manríquez, D; Molina, R; Defilippi, B. 2011. Characterization of Sugars and Organic Acids in Commercial Varieties of Table Grapes. *Chilean Journal Agricultural Research* 71(3):452-458.
51. Nascimento, E; Cardoso, D; Franco, DW. 2008. Quantitative Ester Analysis in cachaça by Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (56):5488-5493.
52. NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2016. PubChem Compound Database (en línea). Estados Unidos. Consultado 26 mar. 2016. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>
53. NIST (National Institute of Standards and Technology). 2016. NIST Chemistry WebBook (en línea). Estados Unidos. Consultado 26 mar. 2016. Disponible en <http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html>
54. Noguerol-Pato, R; González-Álvarez, M; González-Barreiro; Cacho-Grande, B; Simal-Gándara, J. 2012. Aroma Profile of Garnacha Tintorera-based Sweet Wines by Chromatographic and Sensorial Analyses. *Food Chemistry* (134):2313-2325.
55. Nykänen, L; Nykänen, I; Suomalainen, H. 1997. Distribution of Esters produced during Sugar Fermentation between the Yeast Cell and the Medium. *Journal of the Institute of Brewing* 83:32-34
56. Nykänen, L; Nykänen, I. 1991. Distilled Beverages (en línea). In Maarse, H (ed.). *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Nueva York, Estados Unidos, Marcel Dekker. p. 547-580. Consultado 21 mar. 2016. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=\\_OvXjhLUz-oC&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=_OvXjhLUz-oC&source=gbs_navlinks_s)
57. OIV (Organización Internacional de la Viña y el Vino). 2016a. Código Internacional de Prácticas Enológicas: Vinos (en línea). Consultado 21 mar. 2016. Disponible en <http://www.oiv.int/public/medias/3753/f-code-i-32es.pdf>

58. OIV (Organización Internacional de la Viña y el Vino). 2016b. Código Internacional de Prácticas Enológicas: Destilados, Aguardientes, Alcoholes y Bebidas Espirituosas de Origen Vitivinícola (en línea). Consultado 21 mar. 2016. Disponible en <http://www.oiv.int/public/medias/3778/f-code-i-75es.pdf>
59. Ortega, C; López, R; Cacho, J; Ferreira, V. 2001. Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatography-flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A* (923):205-214.
60. Panda, H. 2010. *Perfumes and Flavours Technology Handbook* (en línea). Delhi, India, Editorial Asia Pacific Business Press Inc. 704 p. Consultado 20 jun. 2016. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=YUILAQAAQBAJ&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=YUILAQAAQBAJ&source=gbs_navlinks_s)
61. Pasto, D; Johnson, C. 2003. *Determinación de estructuras orgánicas* (en línea). Sevilla, España, Reverté. 570 p. Consultado 20 jun. 2016. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=uHNdHS8JXFIC&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=uHNdHS8JXFIC&source=gbs_navlinks_s)
62. Peña y Lillo, M; Agosin, E; Belancic, A; Latrille, E. 2005. Chemical Markers for Tracking the Sensory Contribution of Production Stages in Muscat Wine Distillates. *Journal of Food Science* 70(7):432-441.
63. Pérez-Coello, MS; Briones, I; Ubeda, JF; Alvarez, PJ. 1999. Characteristics of Wines fermented with *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from the La Mancha Region. *Food Microbiology* (16):563-573.
64. Pontes, M; Santos, S; Araújo, M; Almeida, L; Lima, R; Gaião, E; Souto, U. 2006. Classification of Distilled Alcoholic Beverages and Verification of Adulteration by Neat Infrared Spectrometry. *Food Research International* (39):182-189.
65. Prado-Jaramillo, N; Estarrón-Espinoza, M; Escalona-Buendía, H; Cosío-Ramírez, R; Marín-Del-Campo, S. 2015. Volatile compounds generation during different stages

- of the Tequila production process: A preliminary study. *Food Science and Technology* (61):471-483.
66. Rankine, B. 1989. *Manual Práctico de Enología*. Zaragoza, España, Editorial Acribia. 394 p.
67. Ribereau-Gayon, J; Peynaud, E; Sudraud, P; Ribereau-Gayon, P. 1980. *Ciencias y Técnicas del Vino*. Tomo I. Buenos Aires, Argentina, Editorial Hemisferio Sur.
68. Ribereau-Gayon, P; Boidron, JN; Terrier, A. 1975. Aroma of Muscat Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23(6):1042-1047.
69. Ribereau-Gayon, P; Glories, Y; Maujean, A; Dubourdieu, D. 2002. *Tratado de Enología 2: Química del Vino Estabilización y Tratamientos*. Buenos Aires, Argentina, Mundi-Prensa. 1210 p.
70. Riovanto, R; Cynkar, WU; Berzahi, P; Cozzolino, D. 2011. Discrimination between Shiraz Wines from Different Australian Regions: The Role of Spectroscopy and Chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (59):10356-10360.
71. Rizzon, L; Sganzerla, V. 2007. Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves-RS. *Ciência Rural* 37(3): 911-914
72. Roca, P; Oliver, J; Rodriguez, AM. 2003. *Bioquímica: Técnicas y Métodos* (en línea). Madrid, España, Editorial Hélice. 348 p. Consultado 19 jun. 2015. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=hrd7v5YNo1UC&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=hrd7v5YNo1UC&source=gbs_navlinks_s).
73. Rodriguez, R; Suarez, B. 2015. *Manual de Elaboración de Aguardiente de Sidra*. Asturias, España, SERIDA. 104 p.
74. Sádecká, J; Tóthová, J; Májek, P. 2009. Classification of brandies and Wine Distillates using Front Face Fluorescence Spectroscopy. *Food Chemistry* (117):491-498.

75. Sáenz-Barrio; Cedrón-Fernández. 2000. Microextraction of Volatile Compounds from Wine Samples and their Determination by GC-FID. The Effects of Salts and Extraction Solvents Used. *Chromatographia* 51(3):221-225.
76. Singh, D; Chong, H; Pitt, K; Cleary, M; Dokoozlian, N; Downey M. 2011. Guaiacol and 4-Methylguaiacol accumulate in Wines made from Smoke-Affected Fruit because of Hydrolysis of their Conjugates. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17:13-21
77. Tesevic, V; Nikicevic, N; Milosavljevic, S; Bajik, D; Vajs, V; Vuckovic, I; Vujisic, L; Dordevic, I; Stankovic, M; Velickovic, M. 2009. Characterization of Volatile Compounds of “Drenja”, an Alcoholic Beverage obtained from the Fruits of Cornelian Cherry. *Journal of The Serbian Chemical Society* 74(2):117-128.
78. Toledo, VHJ. 2012. Evolución de los Componentes Vólatiles del Pisco Puro Quebranta (*Vitis vinífera* L. var. Quebranta) obtenido de la Destilación en Falca y Alambique a Diferentes Condiciones de Aireación durante la Etapa de Reposo. Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 265p.
79. Usseglio-Tomasset, L. 1998. *Química Enológica*. Madrid, España, Mundi-Prensa. 400 p.
80. Venturini, W. 2010. *Bebidas alcohólicas: Ciência e Tecnologia*. Sao Paulo, Brasil, Editorial Blucher. 492 p.
81. Yalkowsky, S; He, Y; Jain, P. 2010. *Handbook of Aqueous Solubility Data* (en línea). 2 ed. Estados Unidos, Editorial CRC Press. 1620 p. Consultado 20 jun. 2016. Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=cfFzJFthLCIC&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.pe/books?id=cfFzJFthLCIC&source=gbs_navlinks_s)



## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1: Datos de la calibración de los compuestos analizados mediante GC-FID en vinos base

Compuesto	Tiempo de Retención	Pendiente (m)	Intercepto (b)	r <sup>2</sup>
Acetaldehído*	6,439	1,10E-02	-5,96E-02	0,9487
Acetato de etilo*	9,853	1,35E+04	7,98E+04	0,9994
Isobutanol*	14,771	3,35E+04	-1,90E+05	0,9959
3-Metil-1-Butanol*	17,115	3,58E+04	-2,06E+05	0,9959
Lactato de etilo*	19,685	2,95E+04	1,84E+05	0,9983
Ácido acético*	21,277	1,63E+04	-3,60E+05	0,9957
2-feniletanol*	28,594	3,20E-02	-1,10E-01	0,9413

\*Estandar Interno: 4-methyl-2-pentanol

### ANEXO 2: Datos de la calibración de los compuestos analizados mediante GC-FID en piscos

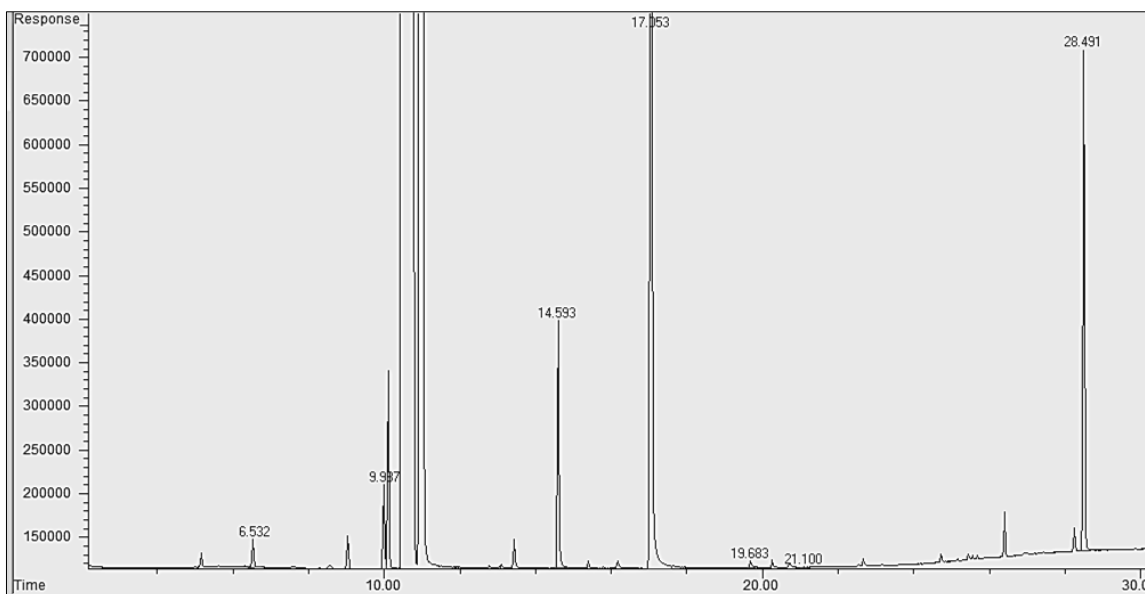
Compuesto	Tiempo de Retención	Pendiente (m)	Intercepto (b)	r <sup>2</sup>
Acetaldehído*	6,152	1,65E-06	1,66E-07	0,9980
Acetato de etilo*	9,818	2,75E-06	2,20E-05	0,9990
Isobutanol*	14,78	6,80E-06	-2,96E-05	1,0000
3-Metil-1-Butanol*	17,115	7,25E-06	-3,22E-05	1,0000
Lactato de etilo*	19,696	5,07E-06	-1,00E-05	1,0000
Ácido acético*	21,318	3,30E-06	-5,79E-05	0,9990
2,3-butanodiol*	23,176	4,81E-04	-7,31E-04	0,9980
2-feniletanol*	28,504	4,86E-06	9,74E-06	0,9990

\*Estandar Interno: 4-nonanol

**ANEXO 3: Datos de la calibración de los compuestos analizados mediante SPE-GCMS (vinos base y piscos)**

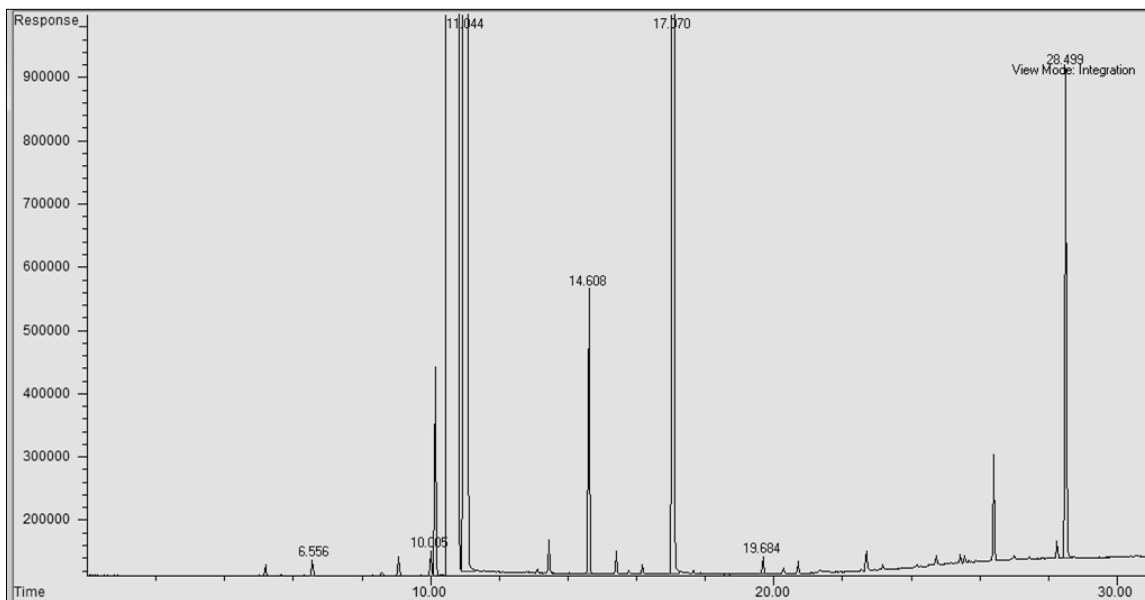
Compuesto	m/z	Tiempo de Retención	Estándar Interno	Pendiente	Intercepto (b)	r <sup>2</sup>
				(m)		
Acetato de isoamilo	70	8,642	2-octanol	9,44E-04	4,08E-03	0,9962
Hexanoato de etilo	88	10,17	2-octanol	1,02E-03	3,62E-02	0,9995
Terpinoleno	93	11,594	2-octanol	7,32E-04	1,58E-02	0,9999
Octanoato de etilo	88	13,855	2-octanol	1,47E-03	5,78E-03	0,9942
(-)-linalol	71	16,109	2-octanol	2,02E-03	-1,00E+01	0,9995
$\alpha$ -Terpineol	59	18,301	2-octanol	6,58E-03	-3,19E+01	0,9978
Decanoato de etilo	88	18,301	4-hidroxi-4-metil- 2-pentanone	1,09E-02	-6,22E+01	0,9975
Acetato de geraniol	69	19,508	2-octanol	8,66E-04	1,01E-01	0,997
$\beta$ -Citronelol	69, 123	21,081	2-octanol	9,51E-04	-1,26E+00	0,9943
Nerol	69	21,945	4-hidroxi-4-metil- 2-pentanone	7,13E-03	-2,14E+01	0,9934
Acetato de 2-feniletilo	104	22,552	2-octanol	1,69E-02	-2,04E+01	0,9988
Geraniol	69, 84	22,924	2-octanol	1,67E-05	-3,74E-03	0,9994
Guayacol	109	23,41	4-hidroxi-4-metil- 2-pentanone	1,10E-03	-5,60E-03	0,999
4-etil guayacol	137	27,089	4-hidroxi-4-metil- 2-pentanone	1,26E-03	4,37E-03	0,999
Estearato de etilo	88	35,358	4-hidroxi-4metil- 2-pentanone	1,09E-03	1,88E-02	0,9919

## ANEXO 4: Cromatogramas obtenidos del análisis a los vinos y piscos Italia, Moscatel y Torontel



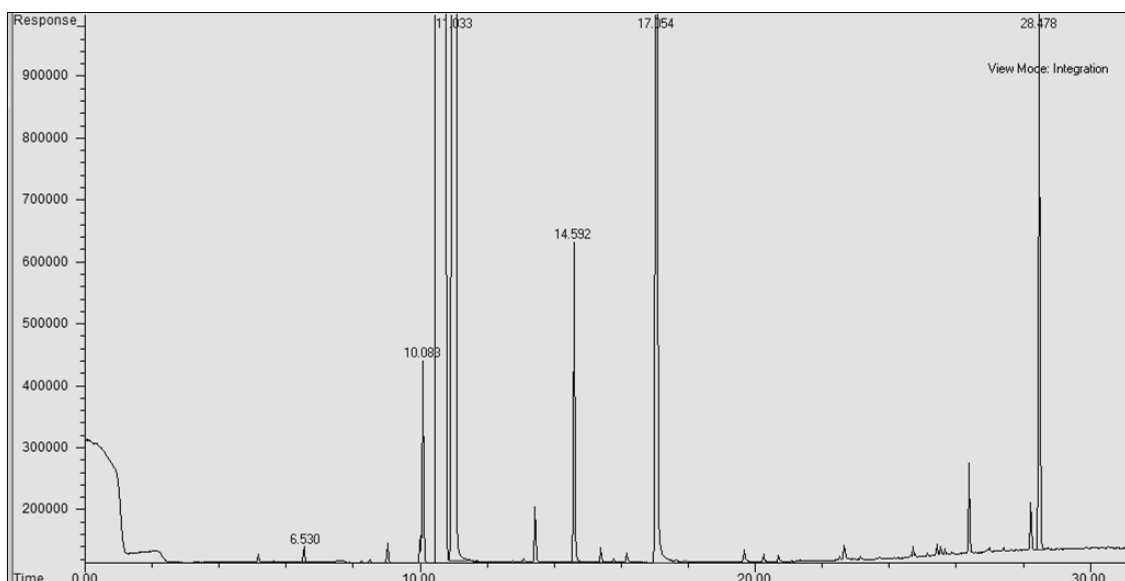
### Vino Italia Hoja Redonda (I1), método: microextracción en fase líquida y GC-FID

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,532, Acetato de etilo: 9,987, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,044, Isobutanol: 14,593, 3-metil-1-butanol: 17,053, Lactato de etilo: 19,684, Ácido acético: 21,100, 2-feniletanol: 28,491



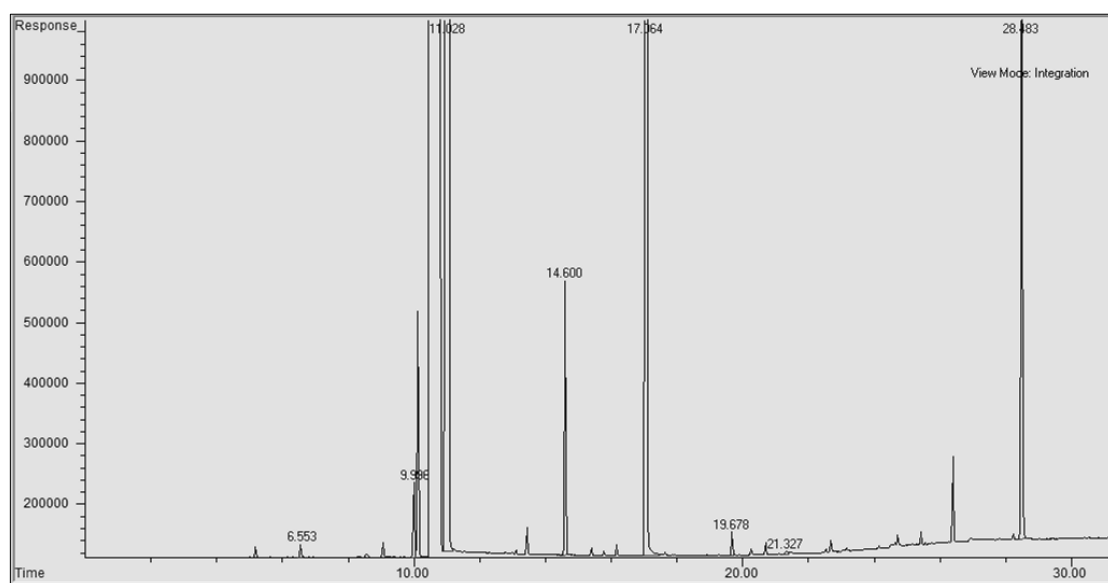
### Vino Italia Viejo Tonel (I2), método: microextracción en fase líquida y GC-FID

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,556, Acetato de etilo: 10,005, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,044, Isobutanol: 14,608, 3-metil-1-butanol: 17,070, Lactato de etilo: 19,684, Ácido acético: 21,331, 2-feniletanol: 28,499.



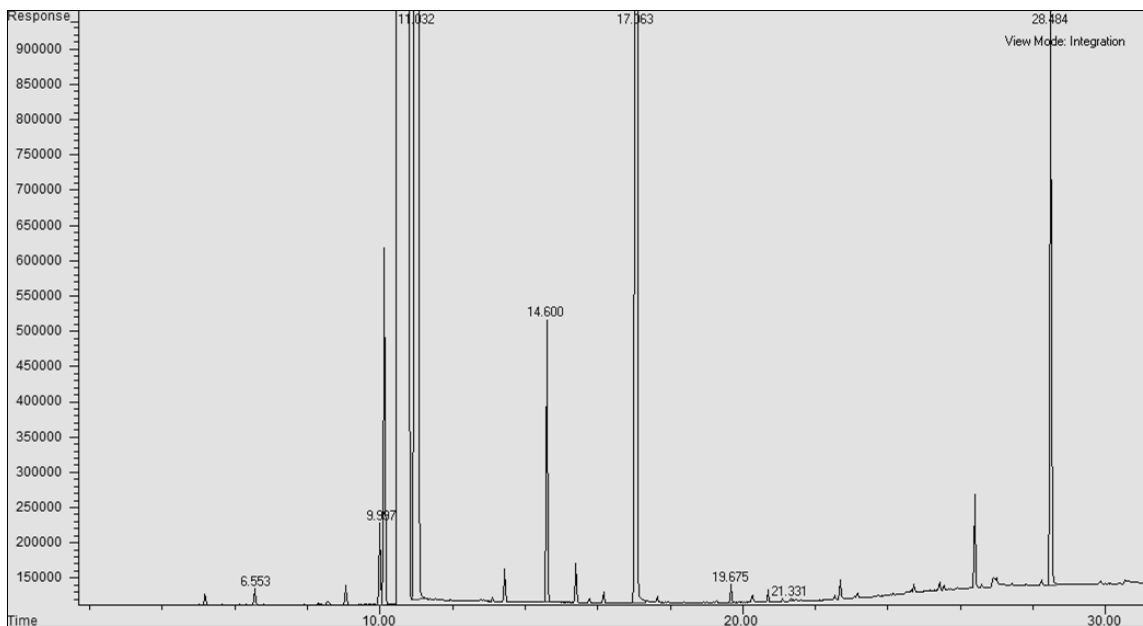
**Vino Italia Citevid (I3), método: microextracción en fase líquida y GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,530, Acetato de etilo: 10,088, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,033, Isobutanol: 14,592, 3-metil-1-butanol: 17,054, Lactato de etilo: 19,684, Ácido acético: 21,331, 2-feniletanol: 28,479.

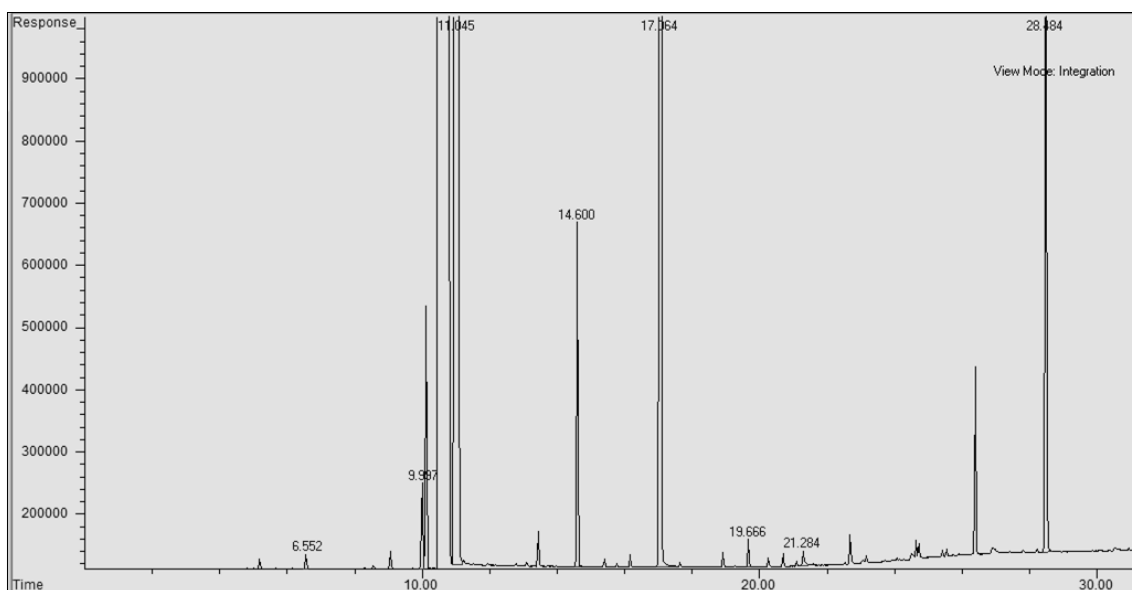


**Vino Moscatel Y. Tinoco (M1), método: microextracción en fase líquida y GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,553, Acetato de etilo: 9,996, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,028, Isobutanol: 14,600, 3-metil-1-butanol: 17,064, Lactato de etilo: 19,678, Ácido acético: 21,327, 2-feniletanol: 28,483.

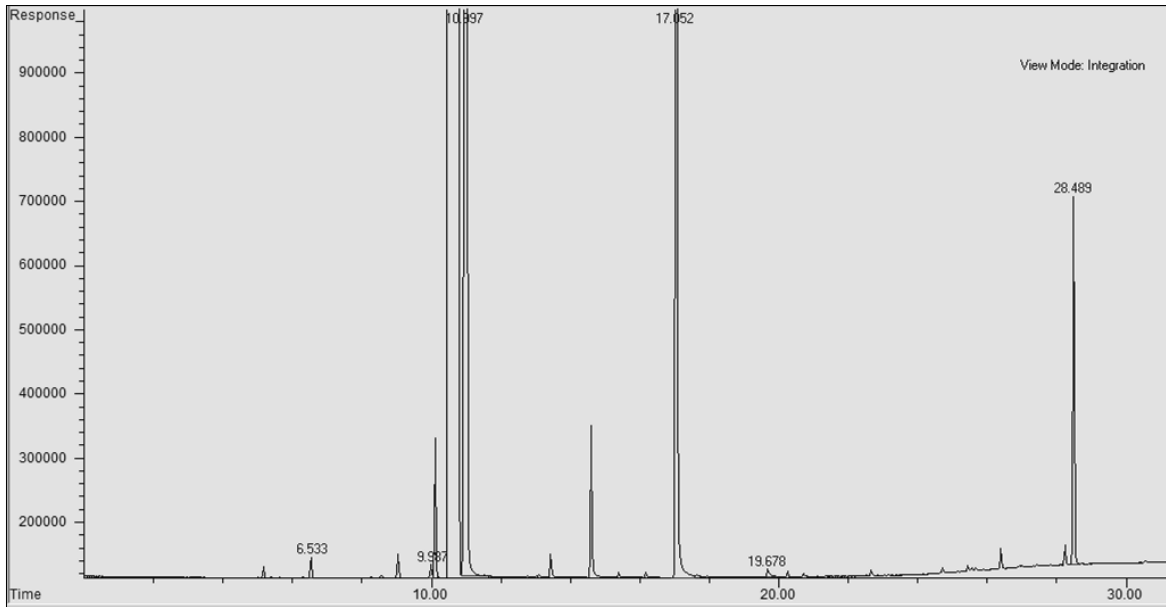


**Vino Moscatel Viejo Tonel (M2), método: microextracción en fase líquida y GC-FID** Identificación de picos: Acetaldehído: 6,553, Acetato de etilo: 9,997, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,032, Isobutanol: 14,600, 3-metil-1-butanol: 17,063, Lactato de etilo: 19,675, Ácido acético: 21,331, 2-feniletanol: 28,484.



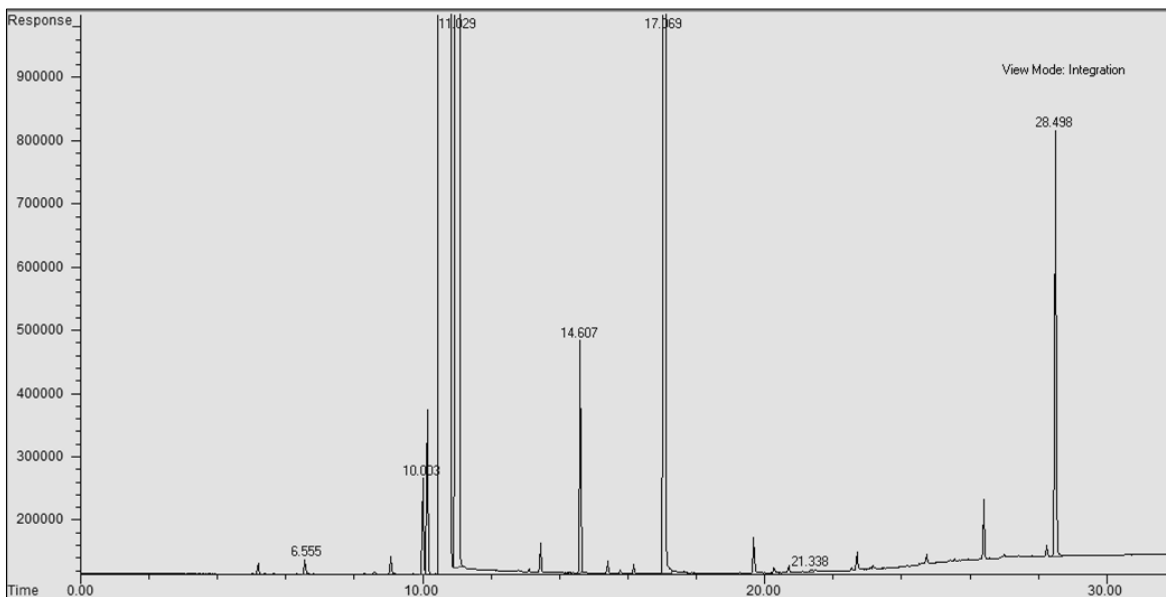
**Vino Moscatel Santa Lucía (M3), método: microextracción en fase líquida y GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,553, Acetato de etilo: 9,997, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,045, Isobutanol: 14,600, 3-metil-1-butanol: 17,063, Lactato de etilo: 19,666, Ácido acético: 21,284, 2-feniletanol: 28,484.



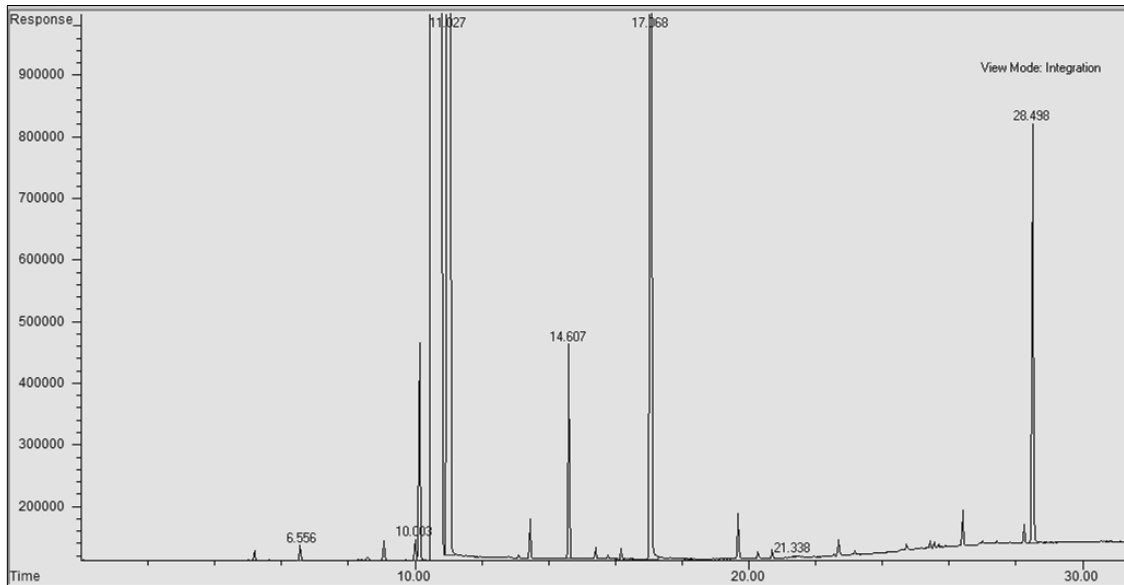
**Vino Torontel Hoja Redonda (T1), método: microextracción en fase líquida y GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,553, Acetato de etilo: 9,997, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 10,997, Isobutanol: 14,600, 3-metil-1-butanol: 17,063, Lactato de etilo: 19,675, Ácido acético: 21,331, 2-feniletanol: 28,484.



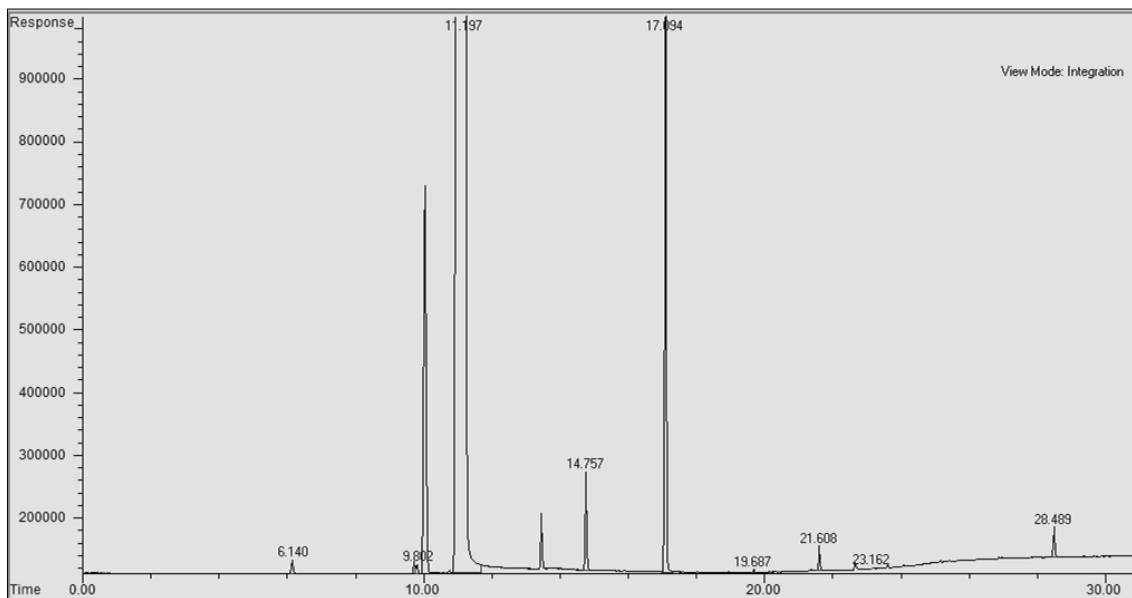
**Vino Torontel Santa Lucía (T2), método: microextracción en fase líquida y GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,553, Acetato de etilo: 10,003, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,032, Isobutanol: 14,600, 3-metil-1-butanol: 17,063, Lactato de etilo: 19,675, Ácido acético: 21,331, 2-feniletanol: 28,484.



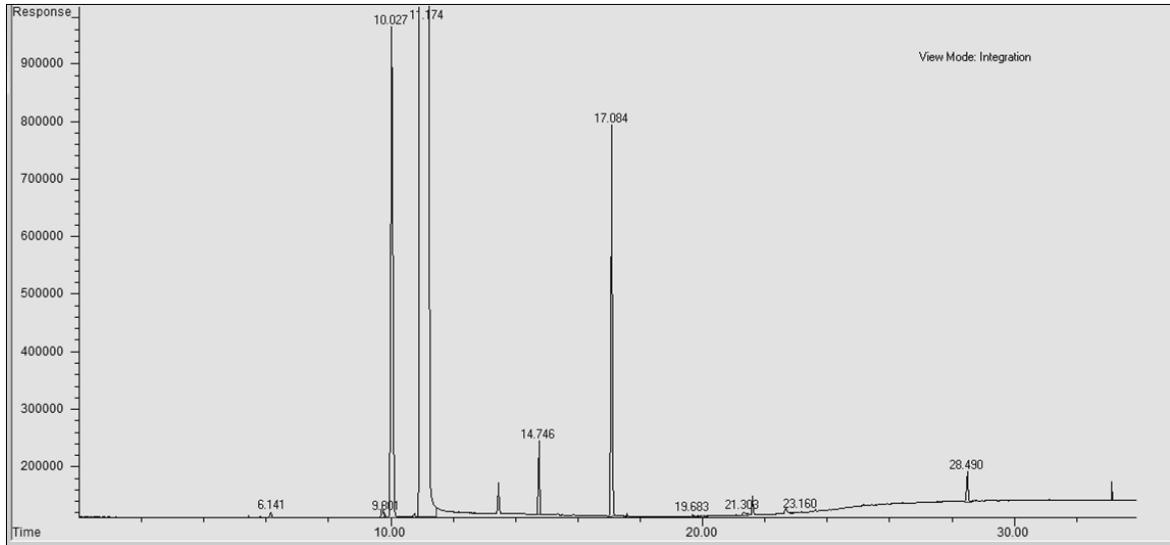
**Vino Torontel Viejo Tonel (T3), método: microextracción en fase líquida y GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,553, Acetato de etilo: 10,003, 4-metil-2-pentanol (estándar interno): 11,032, Isobutanol: 14,600, 3-metil-1-butanol: 17,063, Lactato de etilo: 19,675, Ácido acético: 21,331, 2-feniletanol: 28,484.



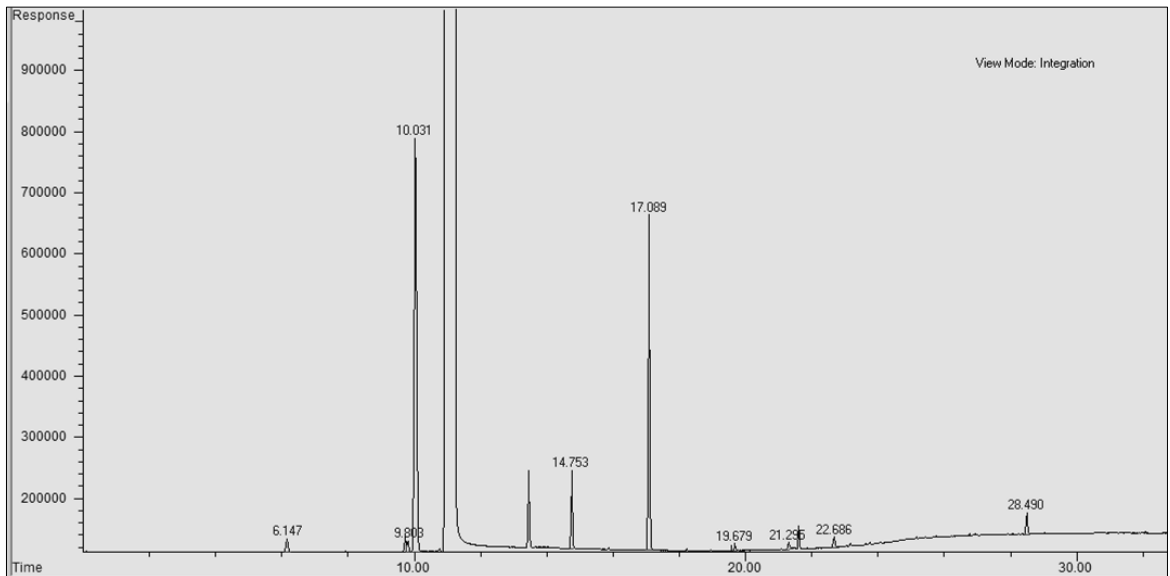
**Pisco Italia Hoja Redonda (I1) obtenido mediante GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.



**Pisco Italia Viejo Tonel (I2) obtenido mediante GC-FID**

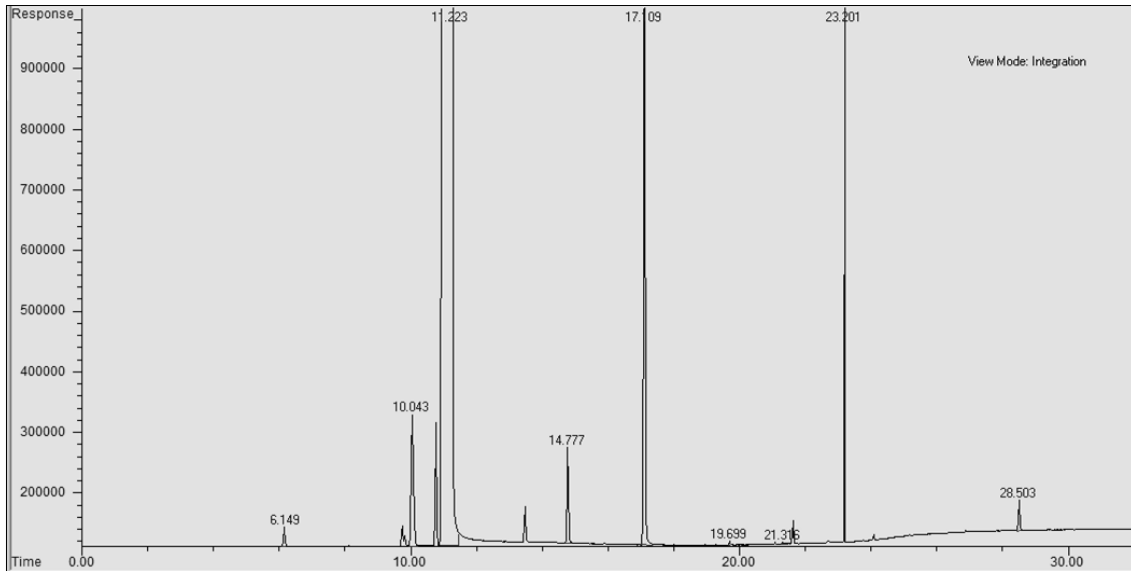
Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,174, Isobutanol: 14,746, 3-metil-1-butanol: 17,084, Lactato de etilo: 19,683, Ácido acético: 21,308, 2,3-butanodiol: 23,160, 2-feniletanol: 28,490.



**Pisco Italia Citevid (I3) obtenido mediante GC-FID**

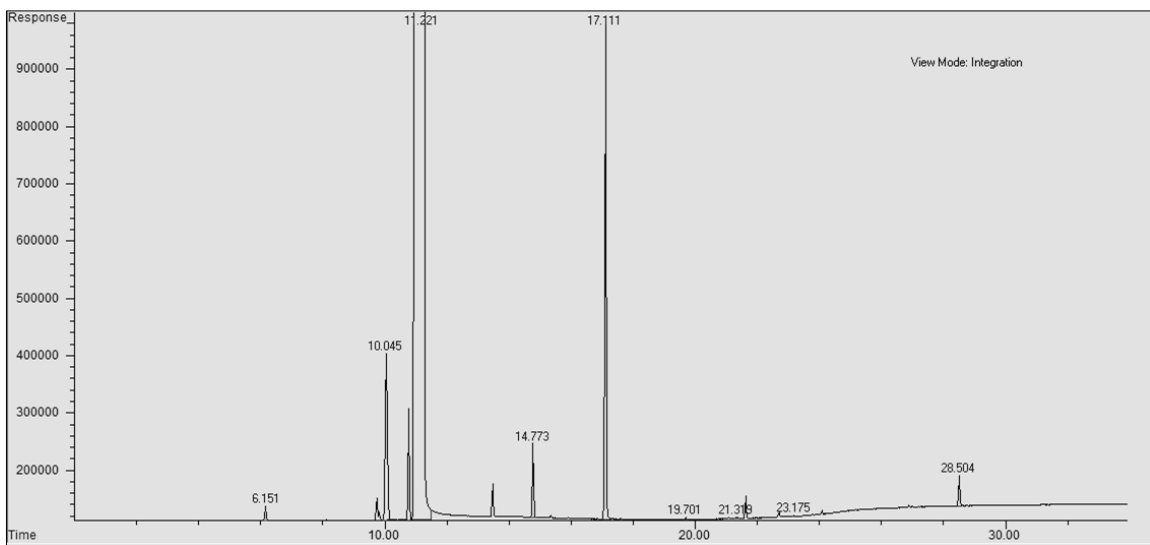
Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.





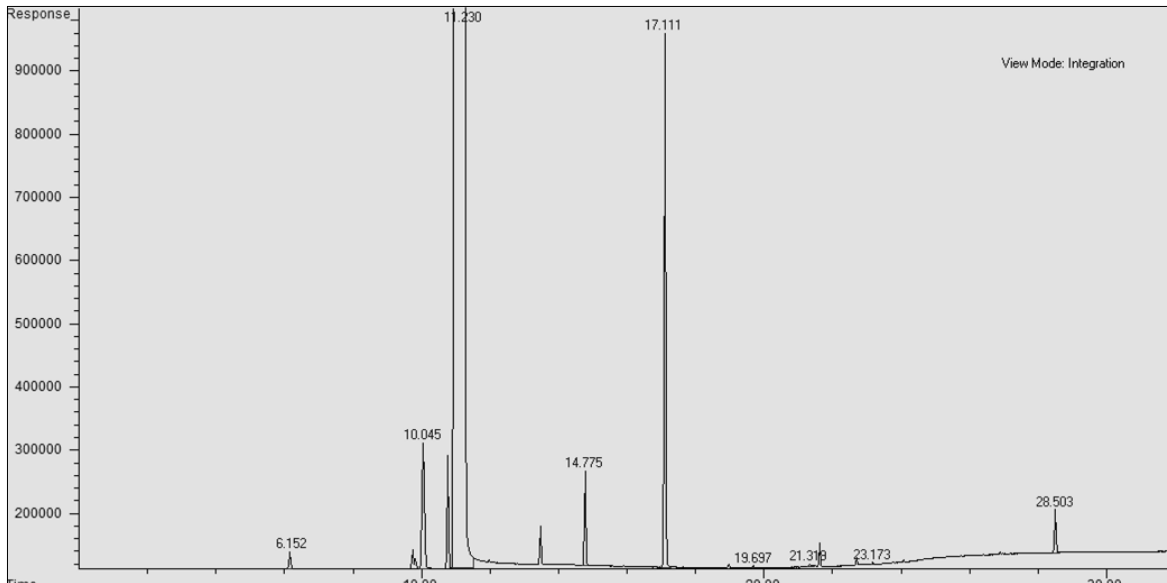
### Pisco Moscatel Y, Tinoco (M1) obtenido mediante GC-FID

Identificación de picos por Tiempo de Retención: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.



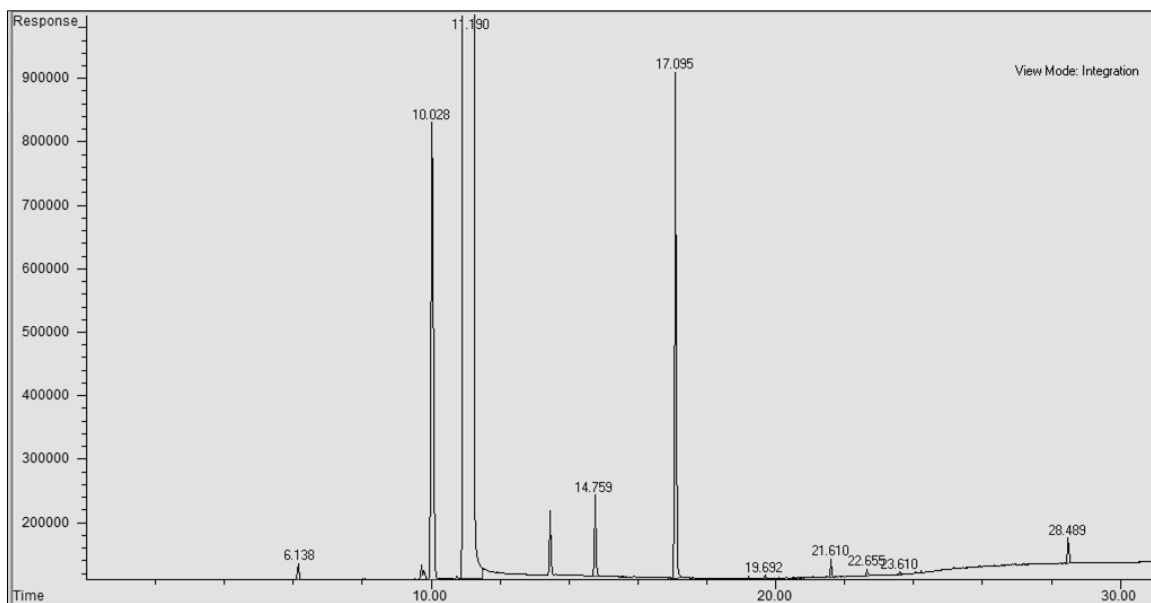
### Pisco Moscatel Viejo Tonel (M2) obtenido mediante GC-FID

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.



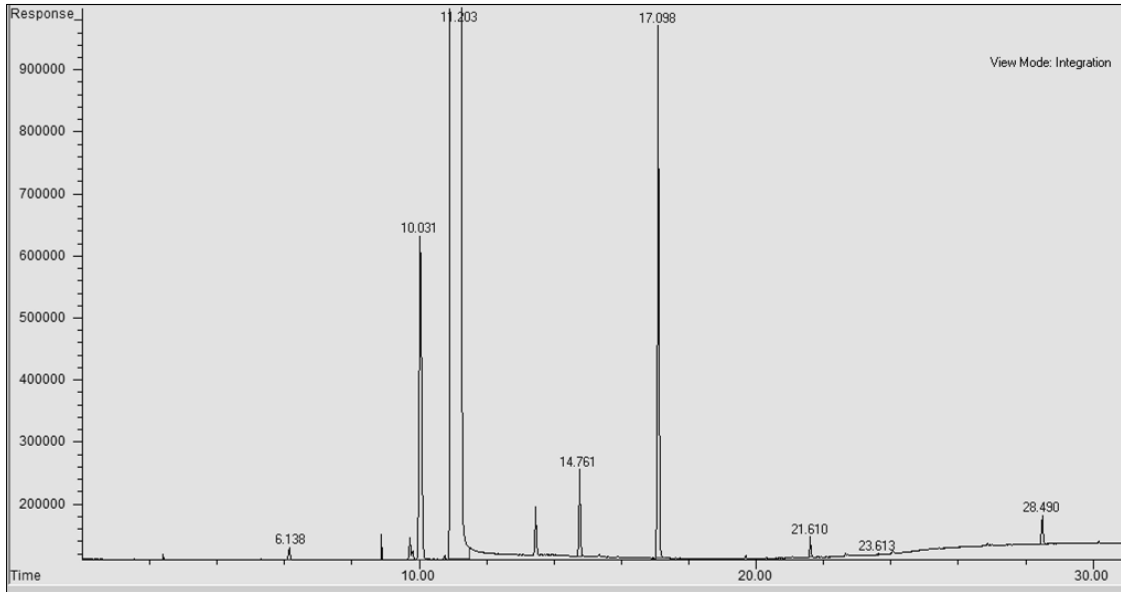
**Pisco Moscatel Santa Lucía (M3) obtenido mediante GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.



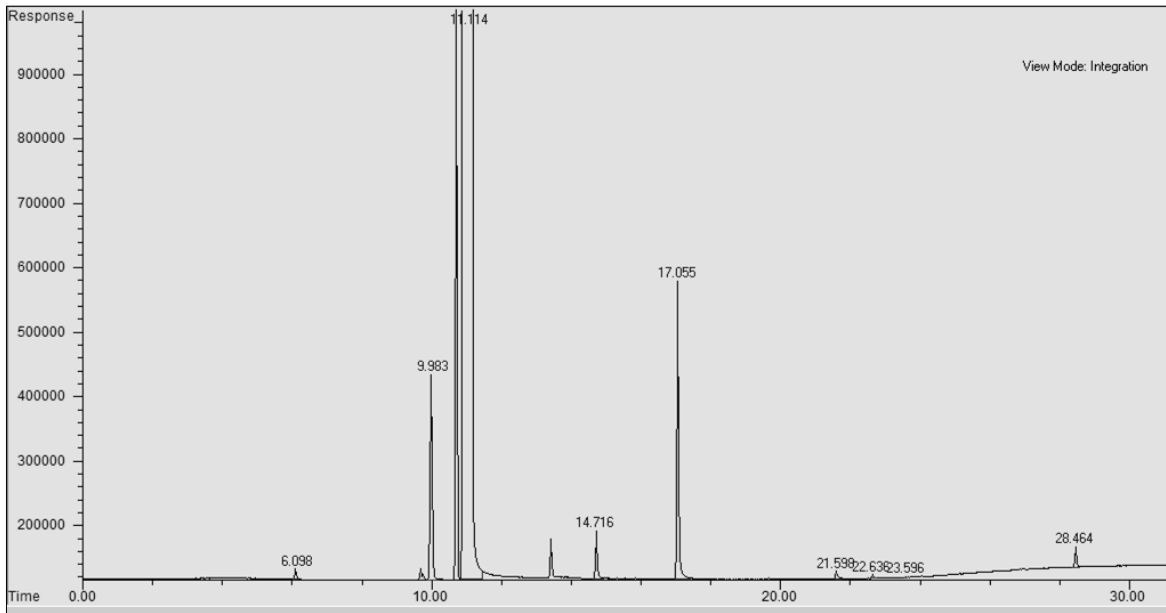
**Pisco Torontel Hoja Redonda (T1) obtenido mediante GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 10,028, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.



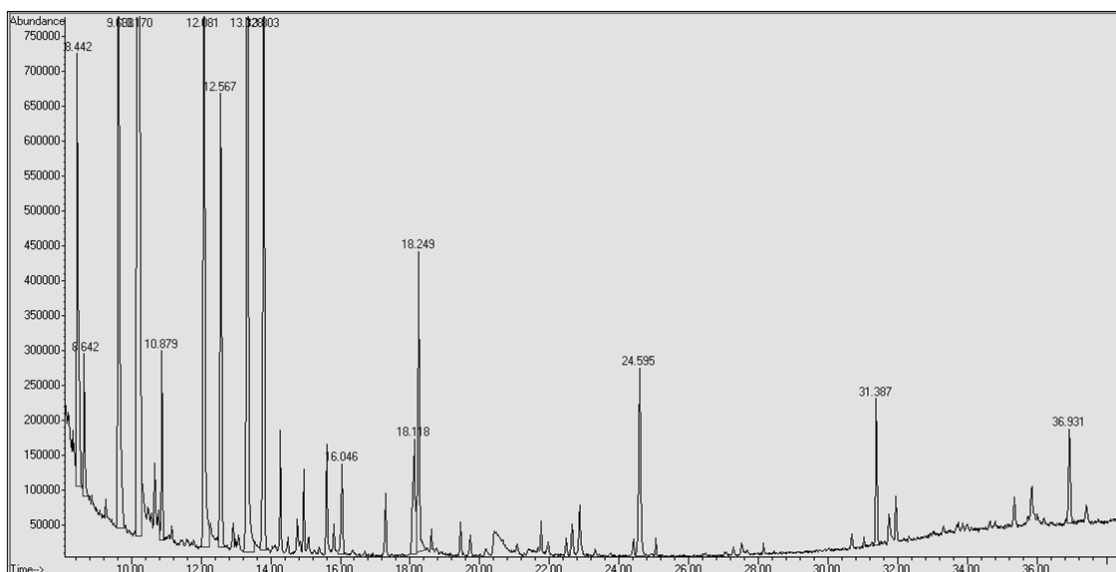
**Pisco Torontel Santa Lucía (T2) obtenido mediante GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.



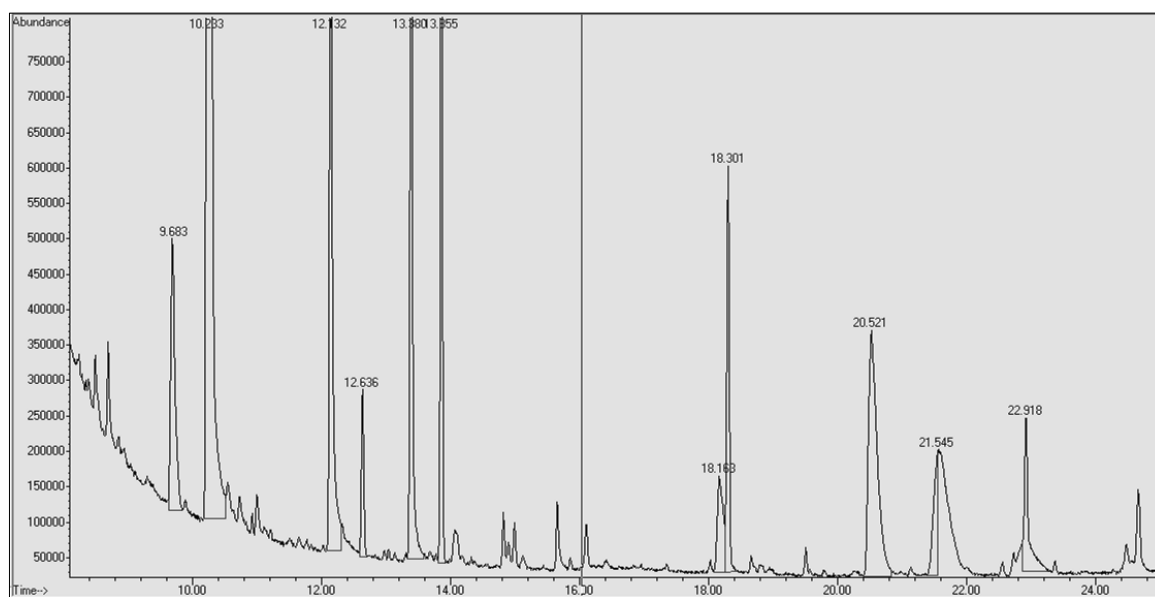
**Pisco Torontel Viejo Tonel (T3) obtenido mediante GC-FID**

Identificación de picos: Acetaldehído: 6,140, Acetato de etilo: 9,802, 4-nonanol (estándar interno): 11,197, Isobutanol: 14,757, 3-metil-1-butanol: 17,094, Lactato de etilo: 19,687, Ácido acético: 21,608, 2,3-butanodiol: 23,162, 2-feniletanol: 28,489.



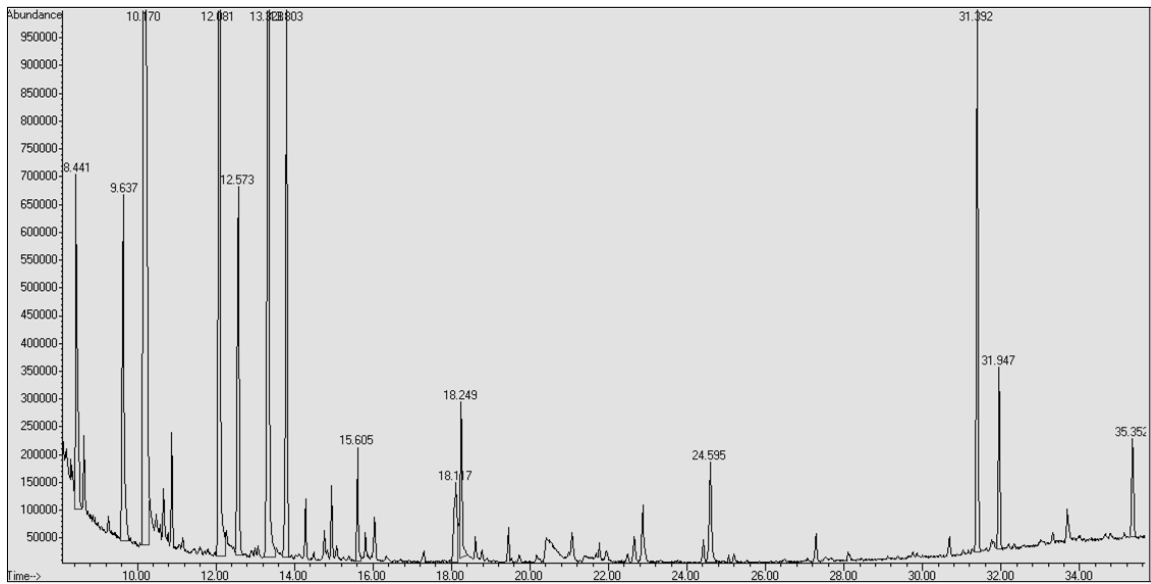
### Vino Italia Hoja Redonda (I1) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletilacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



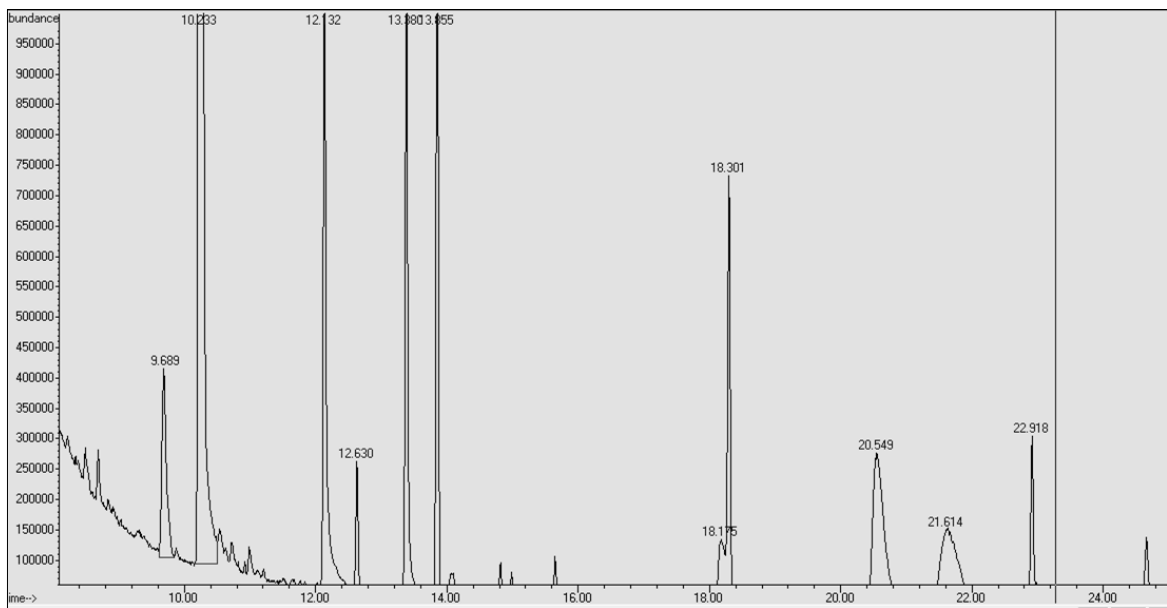
### Vino Italia Viejo Tonel (I2) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletilacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



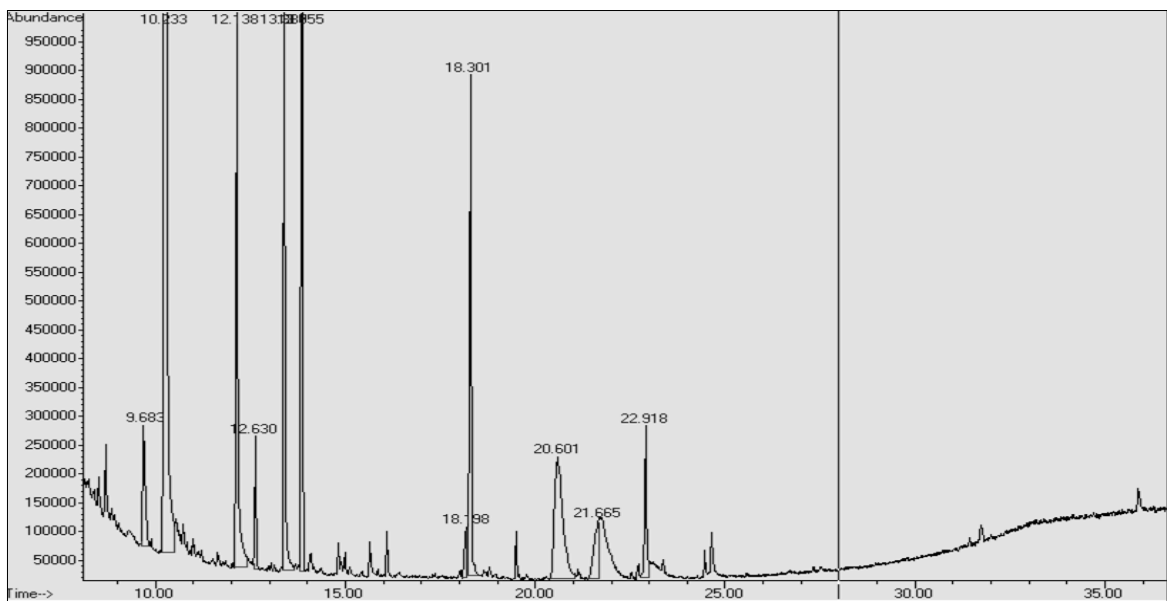
**Vino Italia Citevid (I3) obtenido mediante SPE-GCMS**

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



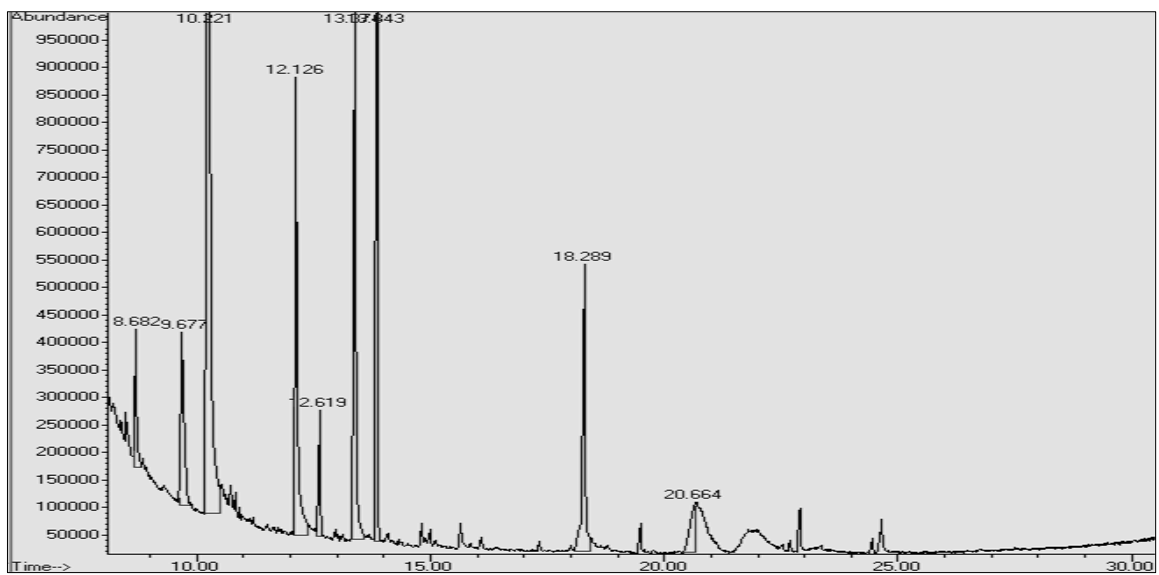
**Vino Moscatel Y. Tinoco (M1) obtenido mediante SPE-GCMS**

Identificación de picos por Tiempo de Retención: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



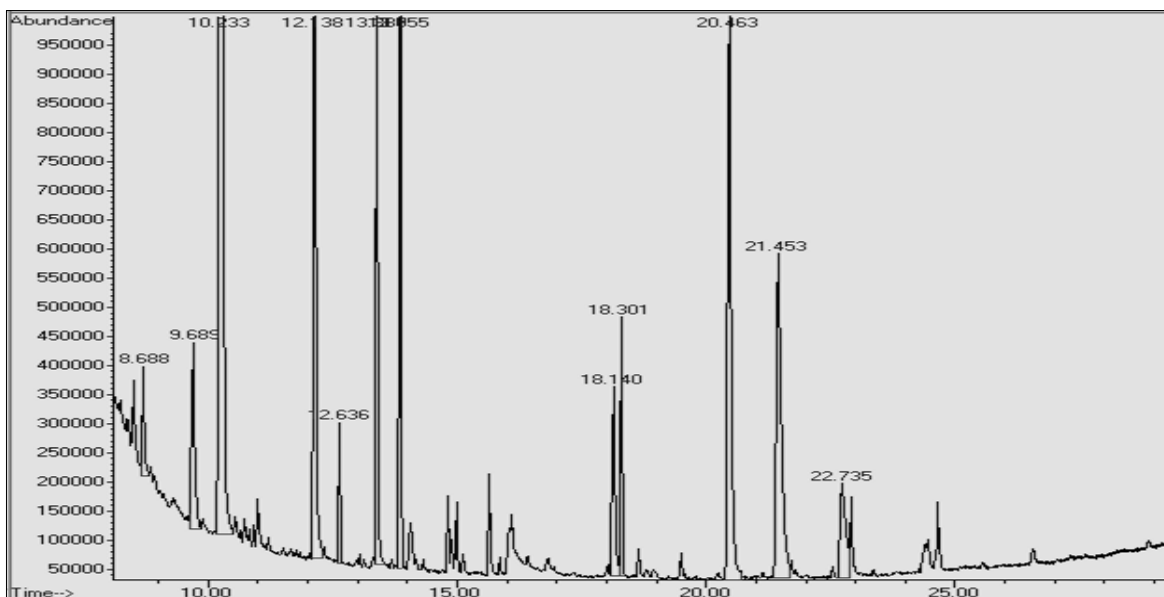
**Vino Torontel Hoja Redonda (T1) obtenido mediante SPE-GCMS**

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



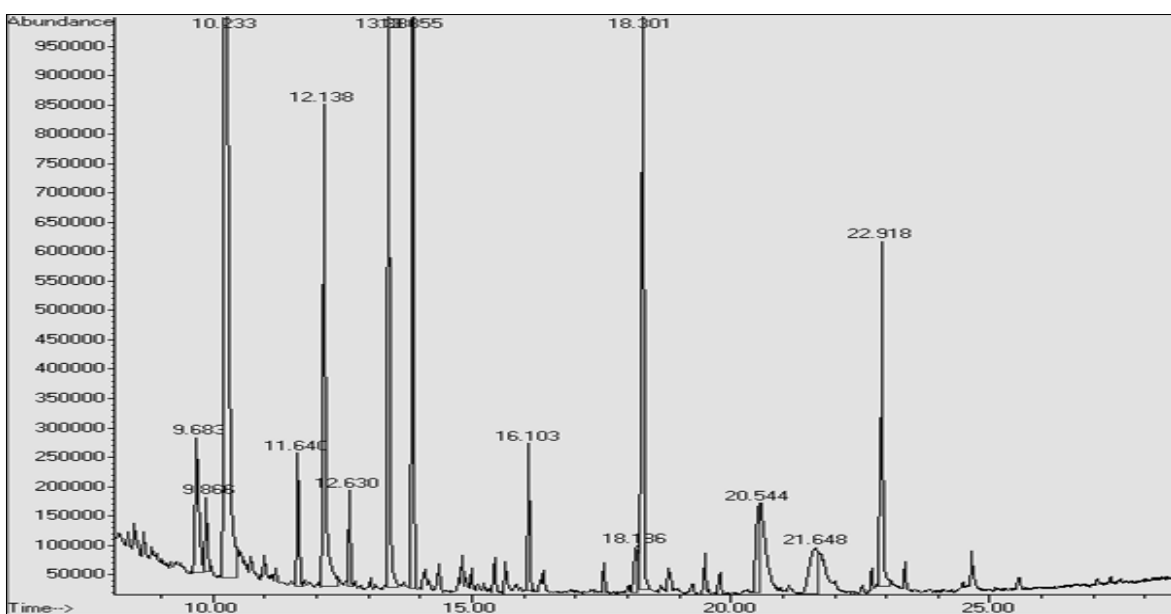
**Vino Torontel Santa Lucía (T2) obtenido mediante SPE-GCMS**

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



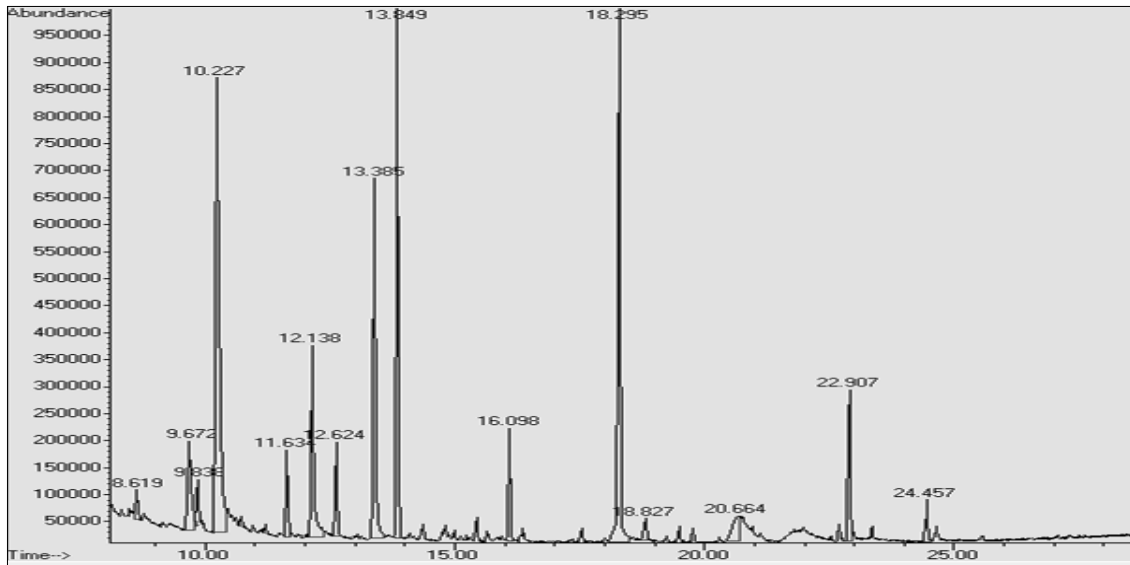
### Vino Torontel Viejo Tonel (T3) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



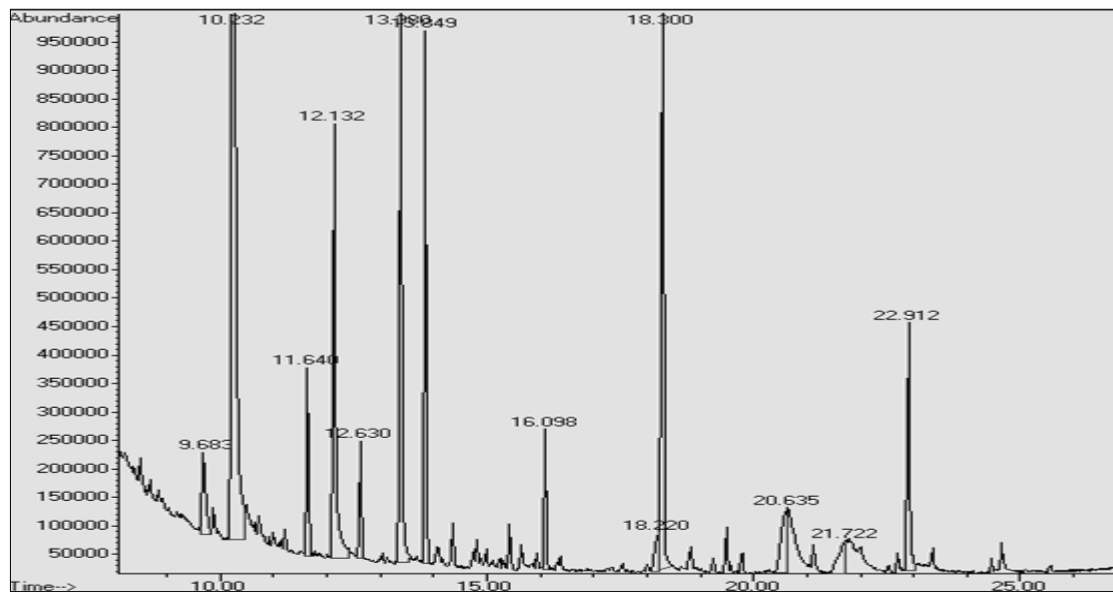
### Pisco Italia Hoja Redonda (I1) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



### Pisco Italia Viejo Tonel (I2) obtenido mediante SPE-GCMS

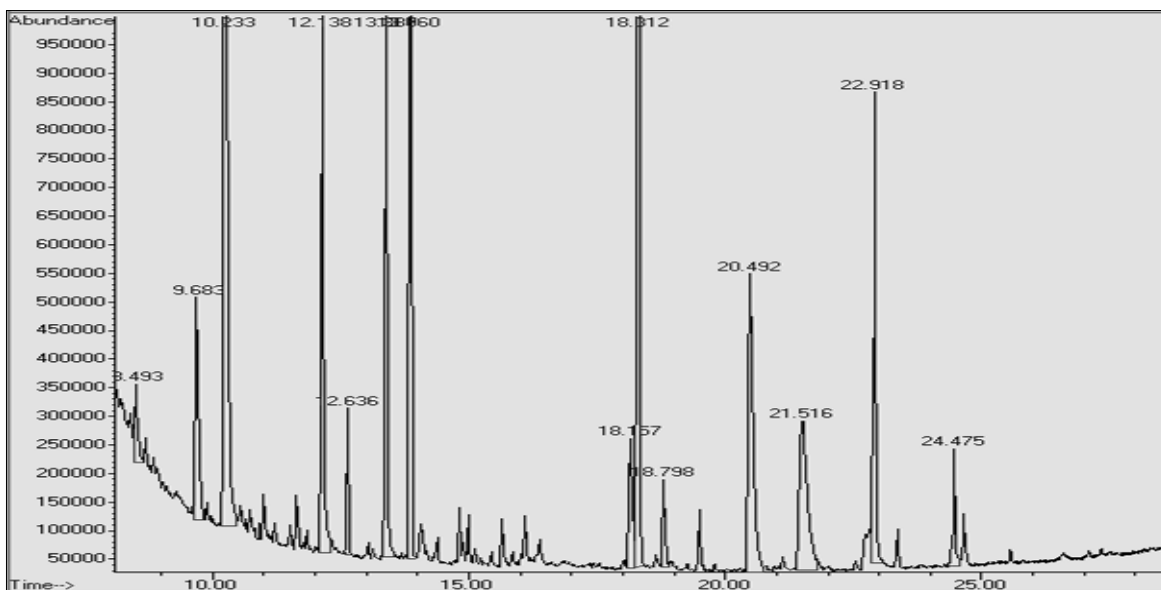
Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



### Pisco Italia Citevid (I3) obtenido mediante SPE-GCMS

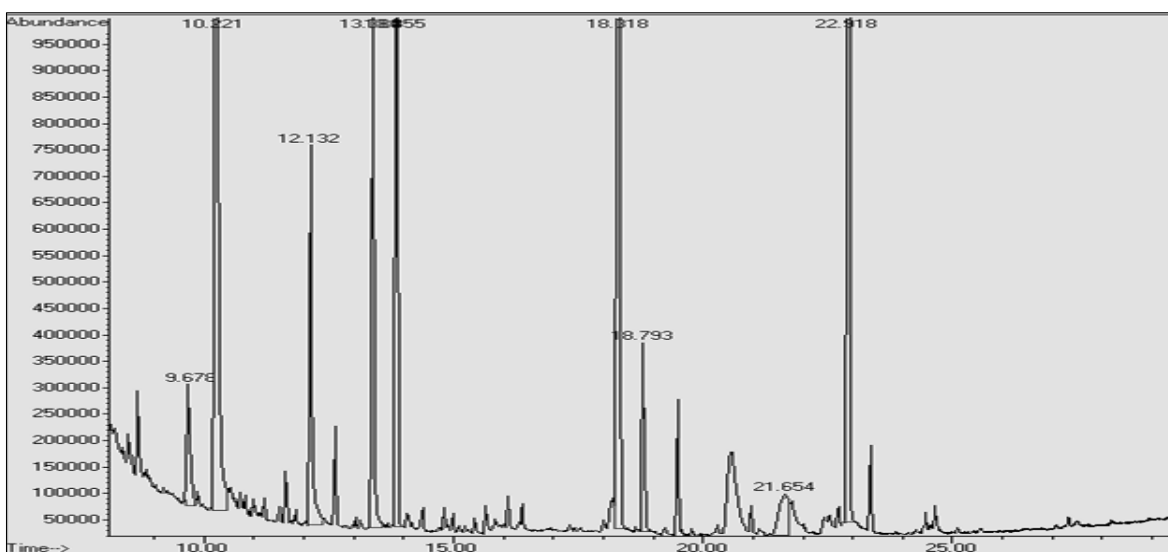
Identificación de picos por Tiempo de Retención: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.





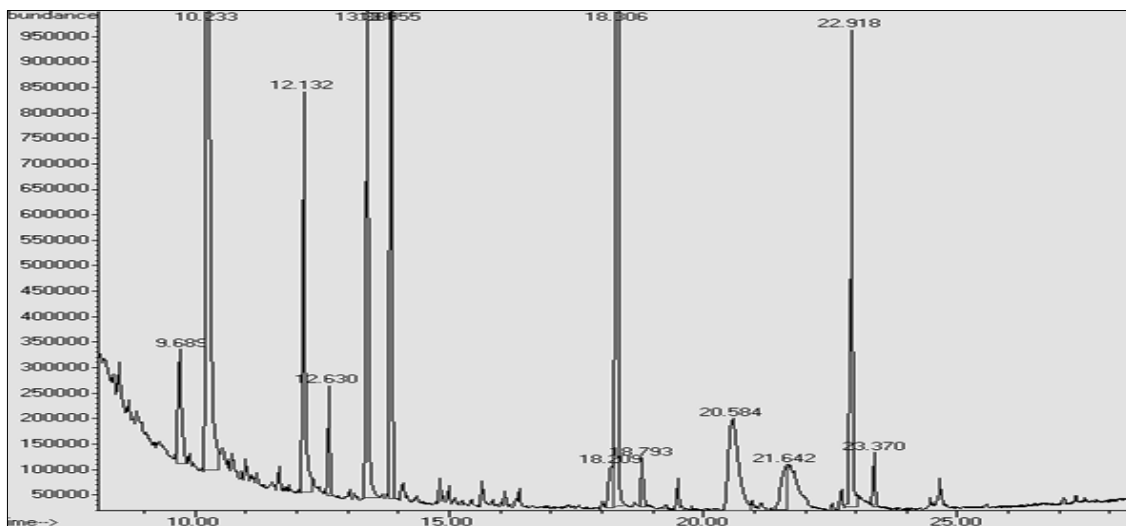
### Pisco Moscatel Y, Tinoco (M1) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletilacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



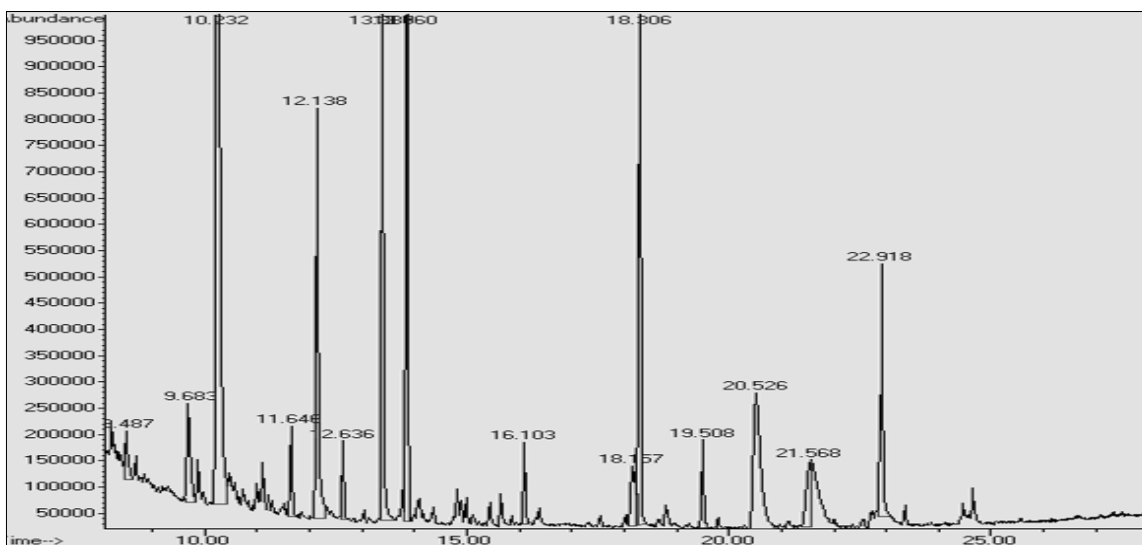
### Pisco Moscatel Viejo Tonel (M2) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletilacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



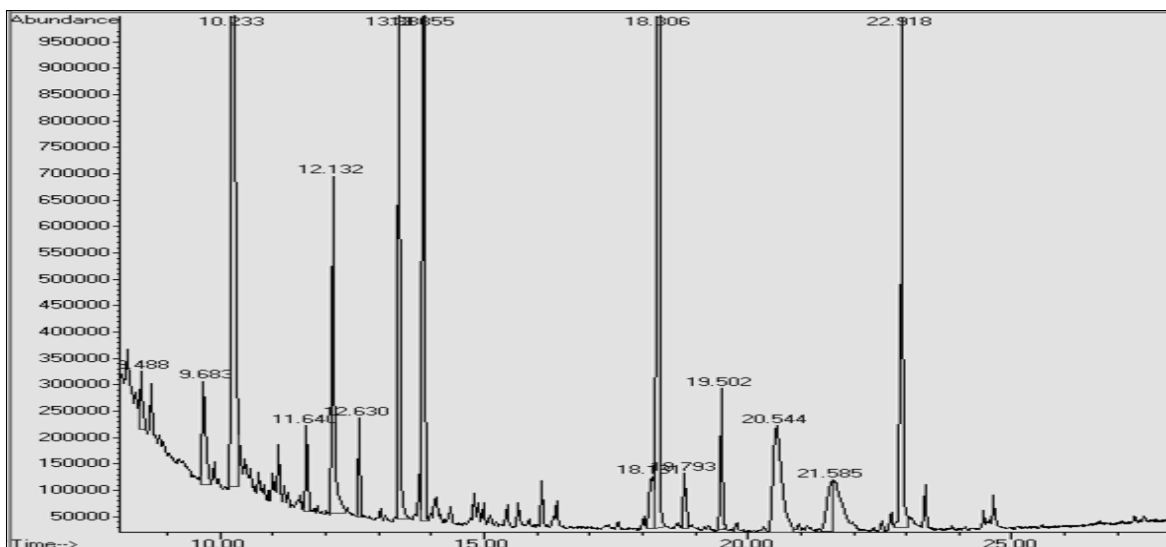
**Pisco Moscatel Santa Lucía (M3) obtenido mediante SPE-GCMS**

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



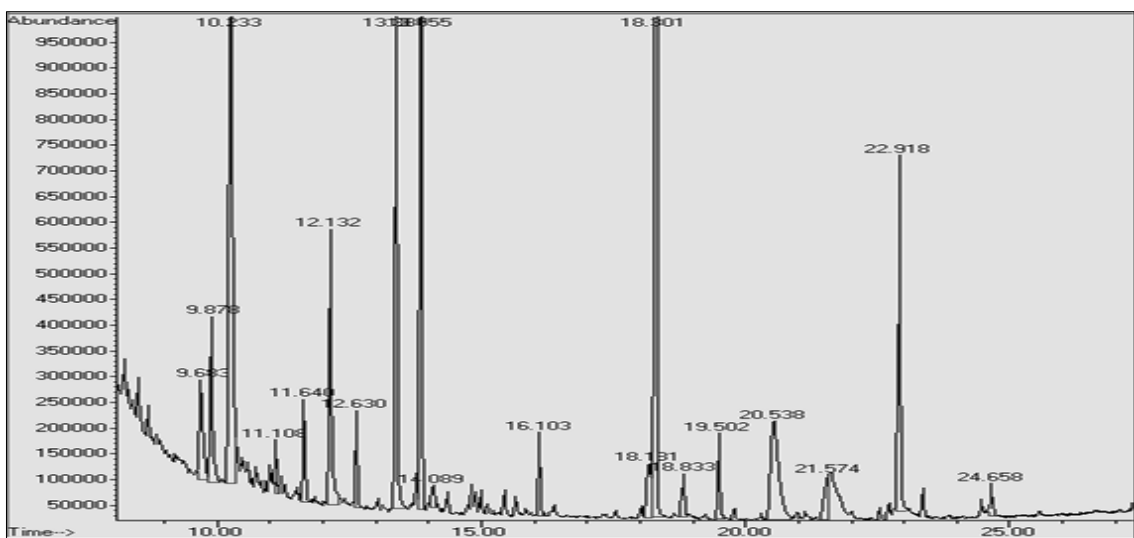
**Pisco Torontel Hoja Redonda (T1) obtenido mediante SPE-GCMS**

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



### Pisco Torontel Santa Lucía (T2) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletilacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.



### Pisco Torontel Viejo Tonel (T3) obtenido mediante SPE-GCMS

Identificación de picos: Acetato de isoamilo: 8,642, Hexanoato de etilo: 10,170, Terpinolene: 11,594, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (estándar interno): 12,567, 2-octanol (estándar interno): 13,334, Octanoato de etilo: 13,855, Linalol: 16,109, Terpeneol: 18,301, Decanoato de etilo: 18,301, Acetato de geraniol: 19,508, Citronelol: 21,081, Nerol: 21,945, 2-feniletilacetato: 22,552, Geraniol: 22,924, Guayacol: 23,410, 4-etilguayacol: 27,089, Estearato de etilo: 35,358.

**ANEXO 5: Concentración de los compuestos volátiles analizados MEDIANTE GC-FID en vinos base**

Compuesto (mg/100ml AA)	Italia (I1)		Italia (I2)		Italia (I3)		Moscatel (M1)		Moscatel (M2)		Moscatel (M3)		Torontel (T1)		Torontel (T2)		Torontel (T3)	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
2-feniletanol	25,6	24,2	11,9	11,7	12,2	11,0	14,9	14,8	14,5	14,6	9,9	11,3	30,1	29,2	17,1	16,4	21,7	21,3
3-metil- 1-butanol	222,4	251,8	216,9	214,1	310,1	367,1	290,2	289,0	273,3	273,7	264,4	208,8	223,8	222,3	224,1	239,9	239,6	217,3
Acetaldehído	0,7	0,7	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,8	0,8	0,6	0,6	0,7	0,7
Ácido acético	nd	2,3	2,3	2,5	2,4	2,7	2,8	3,0	2,6	2,5	5,9	4,9	2,5	2,9	3,1	3,1	3,2	2,3
Acetato de etilo	19,3	30,3	5,3	6,0	7,1	23,7	19,3	4,8	18,9	22,7	19,7	15,0	4,0	27,5	24,1	5,1	5,8	6,0
Lactato de etilo	0,5	1,3	1,2	1,2	1,4	2,3	2,0	2,1	1,2	1,3	2,3	1,7	1,7	3,5	3,6	4,1	5,4	3,8
Isobutanol	22,1	24,6	22,9	23,1	32,3	38,3	25,0	25,0	23,2	23,0	27,6	23,4	19,9	21,6	20,5	21,1	22,8	21,9

nd: no detectado, AA: alcohol anhidro

**ANEXO 6: Concentración de los compuestos volátiles analizados mediante GC-MS en vinos**

Compuesto (ug/100ml AA)	Italia (I1)		Italia (I2)		Italia (I3)		Moscatel (M1)		Moscatel (M2)		Moscatel (M3)		Torontel (T1)		Torontel (T2)		Torontel (T3)	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
Linalol	223,1 46	223,1 26	190,2 06	190,4 62	163,3 27	163,7 92	177,7 60	177,6 18	184,7 80	184,6 74	161,1 36	161,0 33	233,7 68	234,3 74	180,0 92	180,1 49	210,7 49	210,3 48
Acetato de 2-feniletilo	53,93 1	nd	46,05 7	46,07 5	39,71 8	39,65 8	43,17 1	43,08 6	44,87 8	45,00 5	39,10 7	39,12 7	56,50 5	56,50 9	43,71 8	43,88 1	50,98 2	51,14 7
4-etil guayacol	0,012	nd	0,015	nd	0,022	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	107,7 76	nd	2,912	nd	25,86 4
$\alpha$ -Terpineol	216,6 21	216,6 53	185,1 03	185,1 67	159,1 33	159,1 93	173,3 21	173,2 71	180,2 53	180,2 19	nd	157,1 72	227,0 35	227,0 58	175,6 48	175,6 55	204,6 07	204,5 46
$\beta$ -Citronelol	59,71 6	nd	52,42 6	52,24 3	43,71 6	nd	48,08 5	48,06 3	nd	49,57 1	nd	43,36 8	nd	63,04 5	nd	nd	56,51 3	56,52 1
Decanoato de etilo	254,9 49	259,6 40	217,5 81	224,4 51	187,7 64	190,2 89	208,5 97	203,9 59	215,9 94	213,5 17	187,0 68	186,1 36	274,1 82	268,2 58	209,5 25	209,0 43	243,4 39	242,5 83
Hexanoato de etilo	7,676	10,48 6	2,516	4,251	5,816	6,322	10,92 8	8,342	16,86 4	16,80 1	8,919	6,751	12,42 6	10,74 7	12,39 9	15,90 2	9,422	6,908
Octanoato de etilo	28,20 2	48,85 9	19,73 1	28,15 9	28,44 9	27,53 1	39,00 5	41,98 7	79,51 0	108,9 36	36,38 7	55,42 5	64,02 8	65,12 1	55,78 5	123,4 64	36,32 0	39,36 6
Estearato de etilo	0,847	nd	4,310	nd	1,484	nd	nd	1,792	nd	1,649	4,091	1,676	nd	6,712	nd	0,777	nd	24,07 8
Geraniol	78,59 1	nd	101,6 03	nd	15,90 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Guayacol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,439	nd	0,418	nd	0,403	nd	0,319	nd	0,404	nd	0,279
Acetato de isoamilo	7,367	10,00 7	4,235	5,301	10,58 3	9,320	6,652	3,876	29,72 4	19,54 0	7,497	3,260	11,58 2	9,079	16,84 5	18,87 5	15,88 2	14,25 1
Nerol	133,7 11	133,7 48	114,3 55	114,4 21	98,27 3	98,29 4	107,0 53	107,0 12	nd	111,2 92	nd	97,06 5	140,2 34	140,2 32	nd	108,4 79	nd	126,3 20

nd: no detectado, AA: alcohol anhidro

**ANEXO 7: Concentración de los compuestos volátiles analizados mediante GC-FID en piscos**

<b>Compuesto (mg/100mlAA)</b>	<b>Italia (I1)</b>	<b>Italia (I2)</b>	<b>Italia (I3)</b>	<b>Moscatel (M1)</b>	<b>Moscatel (M2)</b>	<b>Moscatel (M3)</b>	<b>Torontel (T1)</b>	<b>Torontel (T2)</b>	<b>Torontel (T3)</b>
2,3-butanodiol	0,38	0,37	0,37	0,53	0,37	0,37	0,39	0,37	0,37
2-feniletanol	11,32	14,49	8,60	11,10	12,74	15,09	10,36	10,56	11,46
3-metil-1-butanol	153,15	130,25	89,15	160,62	138,20	123,46	140,37	131,67	116,48
Acetaldehído	18,52	10,64	24,82	22,70	17,86	19,21	21,18	14,71	18,47
Ácido acético	6,50	9,76	11,66	5,82	6,31	7,08	5,30	4,37	4,89
Acetato de etilo	5,11	2,34	7,57	6,54	4,27	5,35	5,73	4,21	4,67
Lactato de etilo	1,22	1,21	2,79	1,59	1,11	0,94	1,53	1,57	1,59
Isobutanol	26,75	24,38	22,36	25,91	21,96	23,85	24,66	23,34	21,22

nd: no detectado, AA: alcohol anhidro

**ANEXO 8: Concentración de los compuestos volátiles analizados mediante GC-MS en piscos**

Compuesto (ug/100ml AA)	Italia (I1)		Italia (I2)		Italia (I3)		Moscatel (M1)		Moscatel (M2)		Moscatel (M3)		Torontel (T1)		Torontel (T2)		Torontel (T3)	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
(-)-linalol	138,6 65	139,8 06	135,3 25	136,4 13	135,9 59	136,8 78	132,4 78	132,4 54	135,7 79	135,6 80	133,6 34	133,5 75	142,8 72	143,3 24	134,2 83	134,0 19	136,1 89	136,0 24
Acetato de 2-feniletilo	33,25 1	33,24 7	32,57 5	32,48 3	32,58 2	32,60 7	32,06 4	32,02 0	32,89 8	32,93 0	32,43 4	32,42 7	34,35 9	34,40 9	32,46 9	32,46 4	32,75 8	32,75 9
α-Terpineol	133,5 50	133,6 48	130,5 69	130,6 67	131,0 52	131,1 29	128,8 33	128,8 23	132,1 13	132,0 86	130,2 95	130,2 85	138,1 55	138,2 10	130,3 72	130,3 11	131,4 84	131,4 51
β-Citronelol	36,95 5	37,01 8	36,09 2	36,24 2	37,48 5	37,17 7	35,70 4	35,93 8	36,40 5	36,45 8	35,96 2	35,98 4	38,59 5	38,24 2	35,90 6	35,96 7	36,38 3	36,56 4
Decanoato de etilo	173,8 01	166,8 51	162,3 48	159,6 89	164,1 64	161,5 39	174,3 73	182,0 71	230,0 92	196,6 60	170,9 27	175,1 44	179,8 94	174,0 11	175,6 26	201,6 66	166,4 49	181,3 49
Hexanoato de etilo	1,944	1,683	2,825	2,465	0,996	1,626	3,466	1,685	5,534	2,654	3,083	1,639	0,468	3,005	3,763	1,571	2,508	0,827
Octanoato de etilo	38,19 3	22,84 4	29,35 1	24,42 2	26,93 4	18,19 5	58,00 3	111,0 28	94,21 3	149,9 41	34,21 9	58,83 0	45,03 0	30,47 9	44,94 5	71,48 9	26,84 1	35,44 7
Estearato de etilo	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,979	nd	nd	nd	nd	nd	0,508
Geraniol	nd	38,59 2	nd	50,04 3	nd	56,09 2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Acetato de gereaniol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,416	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Guayacol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,154	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Acetato de isoamilo	1,511	2,430	3,616	4,523	0,733	1,327	1,944	1,033	6,998	3,238	1,321	0,711	0,797	2,258	4,855	2,684	2,922	1,721
Nerol	82,43 4	82,51 8	80,63 9	80,68 3	80,96 9	81,01 7	nd	79,52 8	nd	81,55 6	nd	80,44 7	85,31 3	85,43 7	nd	80,46 5	81,24 9	81,23 4
Terpinoleno	nd	nd	nd	nd	0,455	0,161	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,027	2,075	1,199	2,831	1,720

nd: no detectado, AA: alcohol anhidro

**ANEXO 9: Análisis estadístico de las características fisicoquímicas de los mostos, vinos y piscos**

**FACTOR (VARIEDAD DE UVA)**

1: ITALIA (I)

2: MOSCATEL (M)

3: TORONTEL (T)

**MOSTOS**

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>				
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Densidad	,242	2	6	,792
Azúcar	,241	2	6	,793
GAP	1,233	2	6	,356
Acidez	1,718	2	6	,257
pH	1,772	2	6	,248

Varianzas homogéneas

<b>ANOVA</b>						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Densidad	Entre grupos	,000	2	,000	,430	,669
	Dentro de grupos	,001	6	,000		
	Total	,001	8			
Azúcar	Entre grupos	527,687	2	263,843	,432	,668
	Dentro de grupos	3666,193	6	611,032		
	Total	4193,880	8			
GAP	Entre grupos	1,136	2	,568	,284	,762
	Dentro de grupos	11,980	6	1,997		
	Total	13,116	8			
Acidez	Entre grupos	5,194	2	2,597	11,444	,009
	Dentro de grupos	1,362	6	,227		
	Total	6,556	8			
pH	Entre grupos	,307	2	,153	2,366	,175
	Dentro de grupos	,389	6	,065		
	Total	,695	8			

Acidez: Existen diferencias significativas



## Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Homogéneas

Comparaciones múltiples								
Variable dependiente		(I) variedad	(J) variedad	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
Acidez	HSD Tukey	1,00	2,00	1,76000*	,38896	,010	,5666	2,9534
			3,00	1,40333*	,38896	,026	,2099	2,5968
		2,00	1,00	-1,76000*	,38896	,010	-2,9534	-,5666
			3,00	-,35667	,38896	,650	-1,5501	,8368
		3,00	1,00	-1,40333*	,38896	,026	-2,5968	-,2099
			2,00	,35667	,38896	,650	-,8368	1,5501

#: por ciento, \*: la diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05 entre 1y2 (Italia y Moscatel), 1y3 (Italia y Torontel)

## VINOS

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Densidad	1,520	2	6	,292
Azúcar residual	4,736	2	6	,058
Acidez volátil	1,793	2	6	,245
Acidez Total	1,938	2	6	,224
Grado alcohol	,428	2	6	,670

Varianzas homogéneas

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Densidad	Entre grupos	,000	2	,000	,342	,723
	Dentro de grupos	,000	6	,000		
	Total	,000	8			
Azúcar residual	Entre grupos	1,494	2	,747	2,551	,158
	Dentro de grupos	1,757	6	,293		
	Total	3,251	8			
Acidez volátil	Entre grupos	,320	2	,160	19,165	,002
	Dentro de grupos	,050	6	,008		
	Total	,370	8			
Acidez Total	Entre grupos	8,606	2	4,303	8,014	,020
	Dentro de grupos	3,222	6	,537		
	Total	11,828	8			
Grado alcohólico	Entre grupos	5,153	2	2,577	1,400	,317
	Dentro de grupos	11,041	6	1,840		
	Total	16,194	8			

Acidez volátil y acidez total: diferencias significativas entre variedades

## Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Homogéneas

Comparaciones múltiples								
Variable dependiente		(I) variedad	(J) variedad	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
Acidez volátil	HSD Tukey	1,00	2,00	,40667*	,07463	,004	,1777	,6357
			3,00	,01333	,07463	,983	-,2157	,2423
		2,00	1,00	-,40667*	,07463	,004	-,6357	-,1777
			3,00	-,39333*	,07463	,005	-,6223	-,1643
		3,00	1,00	-,01333	,07463	,983	-,2423	,2157
			2,00	,39333*	,07463	,005	,1643	,6223
Acidez Total	HSD Tukey	1,00	2,00	,235000*	,59831	,018	,5142	4,1858
			3,00	1,57667	,59831	,086	-,2591	3,4125
		2,00	1,00	-,235000*	,59831	,018	-4,1858	-,5142
			3,00	-,77333	,59831	,449	-2,6091	1,0625
		3,00	1,00	-1,57667	,59831	,086	-3,4125	,2591
			2,00	,77333	,59831	,449	-1,0625	2,6091
			2,00	,77333	,40508	,313	-1,2894	2,8360
			2,00	,77333	,40508	,313	-1,2894	2,8360

#: por ciento, \*La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

\*Acidez volátil (I,M) (M,T), \*Acidez total (I,M)

## PISCOS

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Grado alcohólico Pisco			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,719	2	6	,257

Varianzas homogéneas

ANOVA					
Grado alcohólico Pisco					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,549	2	,274	,737	,517
Dentro de grupos	2,233	6	,372		
Total	2,782	8			

No existen diferencias significativas

## ANEXO 10: Análisis estadístico de los compuestos volátiles de los vinos base

### FACTOR (VARIEDAD DE UVA)

1: ITALIA

2: MOSCATEL

3: TORONTEL

### Compuestos analizados mediante GC-FID:

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Isobutanol	11,349	2	15	,001
3-metil-1-butanol	6,378	2	15	,010
2-feniletanol	5,423	2	15	,017
Lactato de etilo	,922	2	15	,419
Acetato de etilo	3,036	2	15	,078

Varianzas diferentes: isobutanol, 3-metil-1-butanol y 2-feniletanol

Varianzas homogéneas: lactato de etilo y acetato de etilo

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Lactato de etilo	Entre grupos	18,946	2	9,473	14,218	,000
	Dentro de grupos	9,994	15	,666		
	Total	28,939	17			
Acetato de etilo	Entre grupos	68,063	2	34,032	,381	,689
	Dentro de grupos	1338,469	15	89,231		
	Total	1406,532	17			

Existen diferencias significativas: lactato de etilo

No existen diferencias significativas: acetato de etilo

**Pruebas post hoc:**

Comparaciones múltiples								
Variable dependiente		VARIEDAD		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
		(I)	(J)				Límite inferior	Límite superior
Isobutanol	Games-Howell	1	2	2,6662	2,7770	,627	-5,976	11,308
			3	5,9136	2,7147	,164	-2,772	14,599
		2	1	-2,6662	2,7770	,627	-11,308	5,976
			3	3,2473*	,8368	,011	,8606	5,634
		3	1	-5,9136	2,7147	,164	-14,599	2,772
			2	-3,2473*	,8368	,011	-5,634	-,860
3-metil-1-butanol	Games-Howell	1	2	-2,8495	28,1886	,994	-85,281	79,582
			3	35,9065	25,6848	,407	-46,336	118,149
		2	1	2,8495	28,1886	,994	-79,582	85,281
			3	38,7561	12,8605	,053	-,693	78,205
		3	1	-35,9065	25,6848	,407	-118,149	46,336
			2	-38,7561	12,8605	,053	-78,205	,693
2-feniletanol	Games-Howell	1	2	2,7457	2,9414	,641	-6,274	11,765
			3	-6,5072	3,6843	,231	-16,647	3,633
		2	1	-2,7457	2,9414	,641	-11,765	6,274
			3	-9,2529*	2,5548	,023	-16,959	-1,546
		3	1	6,5072	3,6843	,231	-3,633	16,647
			2	9,2529*	2,5548	,023	1,546	16,959
Lactato de etilo	HSD Tukey	1	2	-,4515	,4712	,613	-1,675	,772
			3	-2,3667*	,4712	,000	-3,590	-1,142
		2	1	,4515	,4712	,613	-,772	1,675
			3	-1,9151*	,4712	,003	-3,139	-,691
		3	1	2,3667*	,4712	,000	1,142	3,590
			2	1,9151*	,4712	,003	,691	3,139

#: por ciento, \* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

\*Isobutanol: diferencia entre 2 (Moscatel) y 3 (Torontel)

\*2-feniletanol: diferencia entre 2 (Moscatel) y 3 (Torontel)

\*Lactato de etilo: diferencia entre 1 (Italia) y 3 (Torontel) y entre 2 (Moscatel) y 3 (Torontel)

## Compuestos analizados mediante GC-MS:

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Citronelol	,565	2	8	,590
Terpineol	2,119	2	14	,157
Nerol	1,617	2	11	,242
Linalol	1,787	2	15	,201
Hexanoato de etilo	1,366	2	15	,285
Octanoato de etilo	1,856	2	15	,190
Decanoato de etilo	1,708	2	15	,215
Estearato de etilo	3,032	2	7	,113
Acetato de isoamilo	7,838	2	15	,005
Acetato de 2-feniletilo	1,365	2	14	,287

Varianzas diferentes: acetato de isoamilo

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Citronelol	Entre grupos	,000	2	,000	5,008	,039
	Dentro de grupos	,000	8	,000		
	Total	,000	10			
Terpineol	Entre grupos	,002	2	,001	2,658	,105
	Dentro de grupos	,006	14	,000		
	Total	,009	16			
Nerol	Entre grupos	,001	2	,001	2,919	,096
	Dentro de grupos	,002	11	,000		
	Total	,003	13			
Linalol	Entre grupos	,003	2	,002	3,624	,052
	Dentro de grupos	,007	15	,000		
	Total	,010	17			
Hexanoato de etilo	Entre grupos	,000	2	,000	4,460	,030
	Dentro de grupos	,000	15	,000		
	Total	,000	17			
Octanoato de etilo	Entre grupos	,004	2	,002	3,234	,068
	Dentro de grupos	,010	15	,001		
	Total	,014	17			
Decanoato de etilo	Entre grupos	,004	2	,002	3,566	,054
	Dentro de grupos	,009	15	,001		
	Total	,014	17			
Estearato de etilo	Entre grupos	,000	2	,000	,156	,858
	Dentro de grupos	,000	7	,000		
	Total	,000	9			
Acetato de 2-feniletilo	Entre grupos	,000	2	,000	4,186	,038
	Dentro de grupos	,000	14	,000		
	Total	,001	16			

Existen diferencias significativas: citronelol, hexanoato de etilo y acetato de 2-feniletilo

## Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples								
Variable dependiente		(I) Variedad	(J) Variedad	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
Citronelol	HSD Tukey	1	2	,004753	,003341	,375	-,00479	,01430
			3	-,006667	,003609	,216	-,01698	,00364
		2	1	-,004753	,003341	,375	-,01430	,00479
			3	-,011421*	,003609	,032	-,02173	-,00110
		3	1	,006667	,003609	,216	-,00364	,01698
			2	,011421*	,003609	,032	,00110	,02173
Hexanoato de etilo	HSD Tukey	1	2	-,005256*	,002006	,048	-,01046	-,00004
			3	-,005122	,002006	,054	-,01033	,00008
		2	1	,005256*	,002006	,048	,00004	,01046
			3	,000133	,002006	,998	-,00507	,00534
		3	1	,005122	,002006	,054	-,00008	,01033
			2	-,000133	,002006	,998	-,00534	,00507
Acetato de isoamilo	Games-Howell	1	2	-,003955	,004457	,668	-,01791	,01000
			3	-,006616*	,001812	,013	-,01166	-,00156
		2	1	,003955	,004457	,668	-,01000	,01791
			3	-,002660	,004569	,834	-,01659	,01127
		3	1	,006616*	,001812	,013	,00156	,01166
			2	,002660	,004569	,834	-,01127	,01659
Acetato de 2-feniletilo	HSD Tukey	1	2	,002692	,002969	,645	-,00507	,01046
			3	-,005369	,002969	,203	-,01313	,00240
		2	1	-,002692	,002969	,645	-,01046	,00507
			3	-,008061*	,002830	,032	-,01547	-,00065
		3	1	,005369	,002969	,203	-,00240	,01313
			2	,008061*	,002830	,032	,00065	,01547

%, por ciento, \*La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05

\*Citronelol: diferencia entre 2 (Moscatel) y 3 (Torontel)

\*Hexanoato de etilo: diferencia entre 1 (Italia) y 2 (Moscatel)

\*Acetato de isoamilo: diferencia entre 1 (Italia) y 3 (Torontel)

\*Acetato de 2-feniletilo: diferencia entre 2 (Moscatel) y 3 (Torontel)

## ANEXO 11: Análisis estadístico de los compuestos volátiles de los piscos

### FACTOR (VARIEDAD DE UVA)

1: ITALIA

2: MOSCATEL

3: TORONTEL

### ÁCIDO ACÉTICO

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Acetic acid			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,871	2	6	,083

Varianzas homogéneas

ANOVA					
Acetic acid					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	30,625	2	15,313	6,170	,055
Dentro de grupos	14,891	6	2,482		
Total	45,516	8			

No existen diferencias

### ACETALDEHIDO

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Acetaldehyde			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,343	2	6	,330

Varianzas homogéneas

ANOVA					
Acetaldehyde					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6,967	2	3,483	,155	,860
Dentro de grupos	134,621	6	22,437		
Total	141,588	8			

No existen diferencias

## 2,3-BUTANEDIOL

Prueba de homogeneidad de varianzas			
2,3-butanediol			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
13,344	2	6	,006

Varianzas diferentes

### Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes

Comparaciones múltiples					
Variable dependiente: 2,3-butanediol					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games-Howell	1	2	-,04983267	,052409366	,668
		3	-,00034813	,007046769	,999
	2	1	,04983267	,052409366	,668
		3	,04948453	,052832291	,673
	3	1	,00034813	,007046769	,999
		2	-,04948453	,052832291	,673

No existen diferencias

## ISOBUTANOL

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Isobutanol			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
,049	2	6	,953

Varianzas homogéneas

ANOVA					
Isobutanol					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3,076	2	1,538	,393	,691
Dentro de grupos	23,478	6	3,913		
Total	26,554	8			

No existen diferencias



### 3-METIL-1-BUTANOL

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
3-metil 1-butanol			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,434	2	6	,310

Varianzas homogéneas

<b>ANOVA</b>					
3-metil 1-butanol					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	429,691	2	214,846	,416	,677
Dentro de grupos	3095,851	6	515,975		
Total	3525,542	8			

No existen diferencias

### 2-FENILETANOL

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
2-phenyl ethanol			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,519	2	6	,293

Varianzas homogéneas

<b>ANOVA</b>					
2-phenyl ethanol					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,490	2	3,745	,860	,470
Dentro de grupos	26,136	6	4,356		
Total	33,626	8			

No existen diferencias

### LACTATO DE ETILO

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
ethyl lactate			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
9,676	2	6	,013

Varianzas diferentes

## Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes

<b>Comparaciones múltiples</b>					
Variable dependiente: ethyl lactate					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games- Howell	1	2	,526882646 055772	,559960226 925738	,662
		3	,176681688 402925	,525741295 544453	,941
	2	1	- ,526882646 055772	,559960226 925738	,662
		3	- ,350200957 652847	,194218976 178952	,357
	3	1	- ,176681688 402925	,525741295 544453	,941
		2	,350200957 652847	,194218976 178952	,357

No existen diferencias

## ACETATO DE ETILO

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
Ethyl acetate			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,435	2	6	,310

Varianzas homogéneas

<b>ANOVA</b>					
Ethyl acetate					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,430	2	,215	,074	,930
Dentro de grupos	17,464	6	2,911		
Total	17,893	8			

No existen diferencias

## $\beta$ -CITRONELOL

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Citronellol			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
8,844	2	15	,003

Varianzas diferentes

### Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes

Comparaciones múltiples					
Variable dependiente: Citronellol					
	(I) VARIEDA D	(J) VARIEDA D	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games-Howell	1	2	,000752962 3129*	,000253185 7865	,044
		3	- ,000114654 6175	,000528868 5988	,975
	2	1	- ,000752962 3129*	,000253185 7865	,044
		3	- ,000867616 9303	,000494400 6898	,266
	3	1	,000114654 6175	,000528868 5988	,975
		2	,000867616 9303	,000494400 6898	,266

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05. (Entre Variedad 1: Italia y Variedad 2: Moscatel)

## $\alpha$ -TERPINEOL

Prueba de homogeneidad de varianzas			
$\alpha$ -Terpineol			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
9,402	2	15	,002

Varianzas diferentes

**Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes**

<b>Comparaciones múltiples</b>					
Variable dependiente: $\alpha$ -Terpineol					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games- Howell	1	2	,00136334	,000837090	,279
		3	-,00156157	,001655053	,634
	2	1	-,00136334	,000837090	,279
		3	-,00292491	,001659750	,255
	3	1	,00156157	,001655053	,634
		2	,00292491	,001659750	,255

No existen diferencias

**NEROL**

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
Nerol			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
13,841	2	11	,001

Varianzas diferentes

**Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes**

<b>Comparaciones múltiples</b>					
Variable dependiente: Nerol					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games- Howell	1	2	,000866533 5704	,000684463 9874	,490
		3	- ,001363110 0084	,001141438 9801	,507
	2	1	- ,000866533 5704	,000684463 9874	,490
		3	- ,002229643 5788	,001233635 5531	,249
	3	1	,001363110 0084	,001141438 9801	,507
		2	,002229643 5788	,001233635 5531	,249

No existen diferencias

## LINALOL

Prueba de homogeneidad de varianzas			
(-)-linalool			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
8,015	2	15	,004

Varianzas diferentes

### Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes

Comparaciones múltiples					
Variable dependiente: (-)-linalool					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games-Howell	1	2	,00324089*	,000925394	,015
		3	-,00061075	,001856277	,943
	2	1	-,00324089*	,000925394	,015
		3	-,00385164	,001822448	,165
	3	1	,00061075	,001856277	,943
		2	,00385164	,001822448	,165

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05. (Entre Variedad 1: Italia y Variedad 2: Moscatel)

## TERPINOLENE

### Prueba T (Entre Variedad 1: Italia y Variedad 3: Torontel)

Prueba de muestras independientes					
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias	
		F	Sig.	t	gl
Terpinolene	Se asumen varianzas iguales	1,885	,228	-1,603	5
	No se asumen varianzas iguales			-2,572	4,645

Varianzas homogéneas

<b>Prueba de muestras independientes</b>				
		prueba t para la igualdad de medias		
		Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar
Terpinolene	Se asumen varianzas iguales	,170	-,001262298	,000787498
	No se asumen varianzas iguales	,054	-,001262298	,000490786

No existen diferencias

### HEXANOATO DE ETILO

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
Ethyl hexanoate			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,486	2	15	,258

Varianzas homogéneas

<b>ANOVA</b>					
Ethyl hexanoate					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	2	,000	1,566	,241
Dentro de grupos	,000	15	,000		
Total	,000	17			

No existen diferencias

### OCTANOATO DE ETILO

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
Ethyl octanoate			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
8,039	2	15	,004

Varianzas diferentes

### Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes

<b>Comparaciones múltiples</b>					
Variable dependiente: Ethyl octanoate					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games- Howell	1	2	- ,057715569 2273*	,017513147 6252	,045
		3	- ,015715277 4307	,007126555 2362	,141
	2	1	,057715569 2273*	,017513147 6252	,045
		3	,042000291 7966	,018494922 2621	,132
	3	1	,015715277 4307	,007126555 2362	,141
		2	- ,042000291 7966	,018494922 2621	,132

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05. (Entre Variedad 1: Italia y Variedad 2: Moscatel)

### DECANOATO DE ETILO

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
Ethyl decanoate			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,275	2	15	,066

Varianzas homogéneas

<b>ANOVA</b>					
Ethyl decanoate					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,002	2	,001	3,790	,047
Dentro de grupos	,003	15	,000		
Total	,005	17			

Existen diferencias

**Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Homogéneas**

<b>Comparaciones múltiples</b>					
Variable dependiente: Ethyl decanoate					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
HSD Tukey	1	2	- ,023479324 2341*	,008643795 8714	,040
		3	- ,015100484 9241	,008643795 8714	,221
	2	1	,023479324 2341*	,008643795 8714	,040
		3	,008378839 3100	,008643795 8714	,607
	3	1	,015100484 9241	,008643795 8714	,221
		2	- ,008378839 3100	,008643795 8714	,607

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05. (Entre Variedad 1: Italia y Variedad 2: Moscatel)

**ACETATO DE ISOAMILO**

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
Isopentyl acetate			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
,857	2	15	,444

Varianzas homogéneas

<b>ANOVA</b>					
Isopentyl acetate					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	2	,000	,021	,979
Dentro de grupos	,000	15	,000		
Total	,000	17			

No existen diferencias



## ACETATO DE 2-FENILETILO

Prueba de homogeneidad de varianzas			
2-phenylethyl acetate			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
8,266	2	15	,004

Varianzas diferentes

### Pruebas post hoc: Asumiendo Varianzas Diferentes

Comparaciones múltiples					
Variable dependiente: 2-phenylethyl acetate					
	(I) VARIEDAD	(J) VARIEDAD	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Games-Howell	1	2	,000328651 8354	,000216225 0577	,323
		3	- ,000412179 8466	,000404566 4101	,591
	2	1	- ,000328651 8354	,000216225 0577	,323
		3	- ,000740831 6820	,000409728 5743	,238
	3	1	,000412179 8466	,000404566 4101	,591
		2	,000740831 6820	,000409728 5743	,238

No existen diferencias

**ANEXO 12: Análisis estadístico de la evaluación de diferencias entre el pisco y vino de cada compuesto aromático**

**1. ISOBUTANOL**

**Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia Pisco&Vino (Isobutanol)	,299	9	,020	,762	9	,007

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es diferente a la normal

**Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo**

**Rangos**

		N	Rango promedio	Suma de rangos
Vino-Pisco (Isobutanol)	Rangos negativos	5 <sup>a</sup>	5,20	26,00
	Rangos positivos	4 <sup>b</sup>	4,75	19,00
	Empates	0 <sup>c</sup>		
	Total	9		

a. Vino < Pisco

b. Vino > Pisco

c. Vino = Pisco

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	Vino - Pisco
Z	-,415 <sup>b</sup>
Sig. asintótica (bilateral)	,678

a. Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo

b. Se basa en rangos positivos.

**Conclusión:** No existen diferencias significativas entre las concentraciones de isobutanol en vino y pisco.

## 2. 3-METIL-1-BUTANOL

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia Pisco&Vino (3-metil-1-butanol)	,282	9	,038	,725	9	,003

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es diferente a la normal

### Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo

#### Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
Vino – Pisco (3-metil-1-butanol)	Rangos negativos	0 <sup>a</sup>	,00	,00
	Rangos positivos	9 <sup>b</sup>	5,00	45,00
	Empates	0 <sup>c</sup>		
	Total	9		

a. Vino < Pisco

b. Vino > Pisco

c. Vino = Pisco

### Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

	Vino - Pisco
Z	-2,666 <sup>b</sup>
Sig. asintótica (bilateral)	,008

a. Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo

b. Se basa en rangos negativos.

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de 3-metil-1-butanol en vino y pisco.

### 3. 2-FENILETANOL

#### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia Pisco&Vino (2-feniletanol)	,149	9	,200*	,965	9	,848

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

#### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	Pisco	11,74574057756	9	2,050176172847	,683392057616
	Vino	17,35245620344	9	6,608951649037	2,202983883012

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	Pisco & Vino	9	-,383	,309

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas				
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Par 1	Pisco - Vino	-5,6067156258	7,633020584	2,544340194	-11,4739746	,2605433849

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		t	gl	Sig. (bilateral)
Par 1	Pisco-Vino (2-feniletanol)	-2,204	8	,059

**Conclusión:** No existen diferencias significativas entre las concentraciones de 2-feniletanol en vino y pisco.

#### 4. LACTATO DE ETILO

##### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia Pisco&Vino (Lactato de etilo)	,181	9	,200*	,945	9	,631

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

##### Prueba T

##### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	Pisco	1,506163628	9	,5378781903	,1792927301
	Vino	2,242369477	9	1,2506666691	,4168888971

##### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	Pisco & Vino	9	,196	,613

##### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas				
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Par 1	Pisco - Vino	-,736205849	1,260802098	,4202673663	-1,70534413	,2329324351

#: por ciento

##### Prueba de muestras emparejadas

		t	gl	Sig. (bilateral)
Par 1	Pisco-Vino (Lactato de etilo)	-1,752	8	,118

**Conclusión:** No existen diferencias significativas entre las concentraciones de lactato de etilo en vino y pisco.

## 5. ACETATO DE ETILO

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia Pisco&Vino (Acetato de etilo)	,122	9	,200*	,974	9	,927

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	Pisco	5,087851859	9	1,495554689	,4985182297
	Vino	14,68960848	9	6,264979934	2,088326644

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	Pisco & Vino	9	,309	,418

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas				
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Par 1	Pisco - Vino	-9,60175662	5,974337713	1,99144 5904	-14,1940391	-5,00947413

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		t	gl	Sig. (bilateral)
Par 1	Pisco-Vino (Acetato de etilo)	-4,822	8	,001

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de acetato de etilo en vino y pisco.

## 6. $\beta$ -CITRONELOL

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino ( $\beta$ -citronelol)	,131	11	,200*	,955	11	,713

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	36,65600894	11	,7343602470	,2214179455
	CC en vino	52,11529477	11	6,342646014	1,912379727

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	11	,295	,379

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-15,4592858	6,166196645	1,8591782	Inferior -19,6017931

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas		t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia				
		Superior				
Par 1	CC en pisco - CC en vino ( $\beta$ -citronelol)	-11,316778555		-8,315	10	,000

#: por ciento

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de  $\beta$ -citronelol en vino y pisco.

## 7. $\alpha$ -TERPINEOL

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino ( $\alpha$ -terpineol)	,182	17	,137	,901	17	,070

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	131,8731930	17	2,699322243	,6546818075
	CC en vino	188,2739157	17	23,35266500	5,663853203

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	17	,803	,000

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
					Inferior
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-56,4007227	21,24509107	5,152691443	-67,3239406

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas		t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia				
		Superior				
Par 1	CC en pisco - CC en vino ( $\alpha$ -terpineol)	-45,477504860		-10,946	16	,000

#: por ciento

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de  $\alpha$ -terpineol en vino y pisco.



## 8. NEROL

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Nerol)	,169	13	,200*	,890	13	,098

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	81,71128905	13	1,812825763	,5027874033
	CC en vino	117,1889009	13	15,92147161	4,415821715

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	13	,815	,001

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-35,47761	14,48186355	4,016546278	Inferior -44,2289144

?: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas		t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia				
		Superior				
Par 1	CC en pisco - CC en vino (Nerol)	-26,72630931		-8,833	12	,000

?: por ciento

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de nerol en vino y pisco.

## 9. LINALOL

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Linalol)	,176	18	,146	,893	18	,043

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es diferente a la normal

### Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo

#### Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
CC en vino - CC en pisco (Linalol)	Rangos negativos	0 <sup>a</sup>	,00	,00
	Rangos positivos	18 <sup>b</sup>	9,50	171,00
	Empates	0 <sup>c</sup>		
	Total	18		

a. CC en vino < CC en pisco

b. CC en vino > CC en pisco

c. CC en vino = CC en pisco

#### Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

	CC en vino - CC en pisco
Z	-3,724 <sup>b</sup>
Sig. asintótica (bilateral)	,000

a. Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo

b. Se basa en rangos negativos.

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de linalol en vino y pisco.

## 10. GERANIOL (Sólo encontrado en la Variedad Italia)

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Geraniol)	,343	3	.	,843	3	,221

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	48,24212186	3	8,887784314	5,1313646
	CC en vino	65,36563091	3	44,35413304	25,607870

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	3	-,572	,613

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-17,123509055	49,969234430	28,849750	Inferior -141,25396873009

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas	t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia			
		Superior			
Par 1	CC en pisco - CC en vino (Geraniol)	107,006950620009	-,594	2	,613

#: por ciento

**Conclusión:** No existen diferencias significativas entre las concentraciones de geraniol en vino y pisco.

## 11. HEXANOATO DE ETILO

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Hexanoato de etilo)	,136	18	,200*	,958	18	,567

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	2,319002903	18	1,214410014	,2862391853
	CC en vino	9,637636163	18	4,123183478	,9718436658

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	18	,370	,131

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia Inferior
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-7,31863326	3,843822918	,9059977504	-9,23012142

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas		t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia				
		Superior				
Par 1	CC en pisco - CC en vino (Hexanoato de etilo)	-5,407145092606		-8,078	17	,000

#: por ciento

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de Hexanoato de etilo en vino y pisco.

## 12. OCTANOATO DE ETILO

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Octanoato de etilo)	,130	18	,200*	,948	18	,399

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	51,13360034	18	35,29503127	8,3191186
	CC en vino	51,45926922	18	28,38893243	6,6913355

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	18	,657	,003

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-,3256688801	27,11318910	6,3906399	Inferior -13,8087406

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas		t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia				
		Superior				
Par 1	CC en pisco - CC en vino (Octanoato de etilo)	13,157402854973		-,051	17	,960

#: por ciento

**Conclusión:** No existen diferencias significativas entre las concentraciones de Octanoato de etilo en vino y pisco.

### 13. DECANOATO DE ETILO

#### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Decanoato de etilo)	,175	18	,152	,931	18	,201

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

#### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	177,5918406	18	17,25449785	4,066924146
	CC en vino	222,0541760	18	28,58911858	6,738519873

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	18	-,027	,916

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
					Inferior
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-44,4623353	33,78745271	7,963778979	-61,2644403

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas	t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia			
		Superior			
Par 1	CC en pisco - CC en vino (Decanoato de etilo)	-27,660230450981	-5,583	17	,000

#: por ciento

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de Decanoato de etilo en vino y pisco.

## 14. ACETATO DE ISOAMILO

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Acetato de isoamilo)	,113	18	,200*	,959	18	,590

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	2,479062336	18	1,679648283	,3958968971
	CC en vino	11,32648699	18	6,831844351	1,610281156

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	18	,630	,005

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
					Inferior
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-8,84742465	5,91821644	1,39493699	-11,7904844

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas				
		95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
		Superior	Inferior			
Par 1	CC en pisco - CC en vino (Acetato de isoamilo)	-5,904364852853	-6,343	17	,000	

#: por ciento

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de Acetato de isoamilo en vino y pisco.

## 15. ACETATO DE 2-FENILETILO

### Pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diferencia PiscoVino (Acetato de 2-feniletilo)	,179	17	,149	,895	17	,057

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Conclusión:** La distribución es normal

### Prueba T

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	CC en pisco	32,79329244	17	,6676482784	,1619284925
	CC en vino	46,03246747	17	5,797915897	1,406201156

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	CC en pisco & CC en vino	17	,802	,000

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia
Par 1	CC en pisco - CC en vino	-13,2391750	5,27770397	1,280031231	Inferior -15,9527200

#: por ciento

#### Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas	t	gl	Sig. (bilateral)
		95% de intervalo de confianza de la diferencia			
		Superior			
Par 1	CC en pisco - CC en vino (Acetato de 2-feniletilo)	-10,525630046	-10,343	16	,000

#: por ciento

**Conclusión:** Existen diferencias significativas entre las concentraciones de Acetato de 2-feniletilo en vino y pisco.