

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA Y TEXTIL**



**“ESTUDIO DE LA IMPORTANCIA DE LOS COMPONENTES
DEL PISCO CON FINES DE DIFERENCIACIÓN DE LOS
TIPOS PUROS NO AROMÁTICO Y AROMÁTICO”**

INFORME DE SUFICIENCIA

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO QUÍMICO

POR LA MODALIDAD DE ACTUALIZACION DE CONOCIMIENTOS

PRESENTADO POR:

CHRISTIAN MARTÍN RAPHAEL URIBE ROSAS

**LIMA – PERU
2007**

RESUMEN

Se analizó la correlación de los datos obtenidos por análisis cromatográfico de muestras de Pisco proveniente de uvas no aromáticas y uvas aromáticas. El objetivo fue reconocer diferencias entre estos dos tipos de Pisco para tener un criterio de clasificación que permita identificar una muestra de procedencia desconocida. Para el análisis se utilizaron cromatogramas de 100 muestras de Pisco, 64 no aromáticas y 36 aromáticas. Estos cromatogramas corresponden a análisis realizados en el Servicio Nacional de Metrología de INDECOPI durante los años 2004, 2005 y 2006. Los datos fueron procesados con Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) con ayuda de un software de cálculo numérico. Para el procesamiento, inicialmente se consideraron 52 variables (componentes del Pisco), incluyendo a los 12 mencionados en la Norma Técnica Peruana de Requisitos del Pisco. Se obtuvo un modelo que separa adecuadamente a ambos tipos, con excepción de 3 muestras. Se redujo el número de variables a 5, obteniéndose total separación de ambos tipos. La combinación de Alfa-Terpineol y una mayor presencia de Linalol y Terpinen-4-ol caracterizan al tipo aromático. Por otro lado, una mayor presencia de 3-metil-1-butanol/2-metil-1-butanol y 2-feniletanol caracterizan al tipo no aromático.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	3
II. DESARROLLO DE CONCEPTOS Y TÉCNICAS	4
2.1. Definiciones relacionadas al pisco	
2.1.1. Definición de Pisco y variedades de uva	
2.1.2. Requisitos para la denominación de origen	
2.2. Herramientas usadas para el análisis estadístico	
2.2.1. Definiciones relacionadas	
2.2.2. Herramientas computacionales	
III. MÉTODO DE ENSAYO	9
IV. PROCEDIMIENTO DE CÁLCULO Y ANÁLISIS	11
4.1. Nomenclatura	
4.2. Obtención de los modelos estadísticos	
4.3. Aplicación de los modelos estadísticos obtenidos	
V. CONCLUSIONES	31
VI. RECOMENDACIONES	32
VII. BIBLIOGRAFÍA	33
VIII. APÉNDICE: DATOS CROMATOGRÁFICOS.....	34

I. INTRODUCCIÓN

La comercialización de Pisco está sujeta a los requisitos establecidos por la Norma Técnica Peruana NTP 211.001:2006 (solo mencionada como la Norma Técnica Peruana de aquí en adelante). Los 2 tipos de Pisco Puro existentes (No aromático y Aromático) deben cumplir diferentes requisitos organolépticos. En lo que respecta a la presencia de Componentes Volátiles y Congéneres, los requisitos son los mismos para ambos tipos, con excepción del límite máximo de Alcohol metílico presente.

Al estudiar las variedades de una bebida alcohólica, se debe indagar acerca de las sustancias que definen el aroma varietal, es decir, aquellas sustancias características de una cierta variedad de uva. Aún cuando una variedad particular se procese en zonas geográficamente diferentes y con técnicas distintas, el producto final producido poseerá ciertas cualidades inherentes a la personalidad de la variedad. El estudio del aporte otorgado por las sustancias que definen el aroma varietal a una bebida alcohólica como el Pisco es motivo de estudio por diversos grupos de investigación y se ha visto favorecido por los últimos avances tecnológicos en materia de identificación y cuantificación de sustancias presentes a nivel de trazas.

Uno de los grupos de sustancias que aportan significativamente al aroma varietal del Pisco es el de los terpenos. Entre ellos tenemos sustancias como: linalol, geraniol, nerol, α -terpineol, hotrienol, entre otros (1). Algunas de estas sustancias se caracterizan por su bajo umbral de percepción, es decir, que se solo requiere una concentración pequeña para empezar a percibir su aroma.

El presente estudio realizó un análisis comparativo entre los 2 tipos de Pisco Puro existentes: Pisco Puro de uvas no aromáticas y Pisco Puro de uvas aromáticas. Se buscó una o más sustancias que permitan diferenciar a ambos tipos, por procesamiento estadístico de resultados obtenidos en los últimos 3 años para un grupo de 100 muestras de Pisco.

II. DESARROLLO DE CONCEPTOS Y TÉCNICAS

2.1. DEFINICIONES RELACIONADAS AL PISCO

2.1.1 Definición de Pisco y variedades de uva

De acuerdo a la Norma Técnica Peruana NTP 211.001:2006 “BEBIDAS ALCOHOLICAS. Pisco. Requisitos” (2), se tiene la siguiente definición:

Pisco: Es el aguardiente obtenido exclusivamente por destilación de mostos frescos de “Uvas Pisqueras” recientemente fermentados, utilizando métodos que mantengan el principio tradicional de calidad establecido en las zonas de producción reconocidas.

La Norma Técnica Peruana menciona también la clasificación del Pisco de acuerdo a los siguientes tipos:

Pisco puro

Pisco mosto verde

Pisco acholado

La definición para Pisco puro es la siguiente:

Pisco puro: Es el Pisco obtenido exclusivamente de una sola variedad de uva pisquera.

De acuerdo a la norma, para la elaboración del Pisco solo son aceptadas variedades de uva de la especie *Vitis Vinífera L*, denominadas “Uvas Pisqueras” y cultivadas en las zonas de producción reconocidas. Estas variedades son:

Uvas no aromáticas: Se tienen 4 variedades, a saber: Quebranta, Negra Criolla, Mollar y Uvina.

Uvas aromáticas: Se tienen 4 variedades, a saber: Italia, Moscatel, Albilla y Torontel.

2.1.2 Requisitos para la denominación de origen

La Norma Técnica Peruana establece 2 tipos de requisitos, a saber:

Requisitos organolépticos.

Requisitos fisicoquímicos.

La evaluación organoléptica se realiza por un catador especializado y de acuerdo a parámetros fijados en la Norma Técnica Peruana para cada tipo de Pisco.

La evaluación fisicoquímica comprende las siguientes pruebas:

Evaluación del grado alcohólico volumétrico a 20/20 °C (%)

Evaluación del extracto seco a 100 °C (g/l)

Evaluación de los componentes volátiles y congéneres (mg/100 ml de alcohol anhidro)

Esta última evaluación se realiza considerando los límites permisibles que se muestran en la Tabla N° 1 de la página siguiente.

En esta tabla se observa que los límites mínimos y máximos establecidos en la Norma Técnica Peruana para estos componentes son los mismos para todos los tipos de Pisco, solo estableciéndose diferencias para el límite máximo de alcohol metílico.

TABLA N° 1. LÍMITES PERMISIBLES

COMPONENTES VOLÁTILES Y CONGÉNERES	LÍMITES PERMISIBLES	
	Límite mínimo (mg/100 ml A.A.)	Límite máximo (mg/100 ml A.A.)
Esteres, como acetato de etilo	10,0	330,0
- Formiato de etilo ⁽¹⁾	-	-
- Acetato de etilo	10,0	280,0
- Acetato de Iso-Amilo ⁽¹⁾	-	-
Furfural	-	5,0
Aldehídos, como acetaldehído	3,0	60,0
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales	60,0	350,0
- Iso-Propanol ⁽²⁾	-	-
- Propanol ⁽³⁾	-	-
- Butanol ⁽³⁾	-	-
- Iso-Butanol ⁽³⁾	-	-
- 3-metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol ⁽³⁾	-	-
Acidez volátil (como ácido acético)	-	200
Alcohol metílico		
- 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
TOTAL COMPONENTES VOLÁTILES Y CONGÉNERES	150,0	750,0

⁽¹⁾ Es posible que no estén presentes, pero de estarlos la suma con el acetato de etilo no debe sobrepasar 330 mg/100 ml A.A.

⁽²⁾ Es posible que no esté presente

⁽³⁾ Deben estar presentes sin precisar exigencias de máximos y mínimos

2.2 HERRAMIENTAS USADAS PARA EL ANALISIS ESTADISTICO

2.2.1 Definiciones relacionadas

Quimiometría: La quimiometría se puede definir como la disciplina química que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para extraer la máxima información relevante de los análisis químicos. Con el rápido desarrollo de las técnicas instrumentales en el campo de la química, se ha pasado en pocos años de utilizar técnicas en las cuales la concentración de un solo analito se encuentra asociada a una sola señal (por ejemplo, colorimetría), a utilizar cada vez más técnicas en las cuales se analizan simultáneamente las concentraciones de diversos analitos asociadas a múltiples señales (por ejemplo, espectroscopia infrarroja). Cada vez se tienen mayor cantidad de datos registrados (útiles o no), y esta información debe ser condensada de tal manera que se retenga la información esencial. Para el manejo de un gran número de variables, la quimiometría es una herramienta muy efectiva usada para compresión de datos y extracción de información.

Análisis de Componentes Principales: (PCA por sus siglas en inglés). Esta técnica analiza la covariación existente entre las variables de un experimento dado y extrae la información relevante. El análisis de componentes principales encuentra combinaciones de variables o *factores*, que describen las principales tendencias en los datos.

El análisis PCA busca la dirección de mayor variabilidad del sistema en estudio. Si existe alguna variable que caracteriza a un grupo dado de muestras (presencia de dicha variable, mayor concentración de dicha variable o ausencia total de ella), dicho grupo se separará del resto.

Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales: (PLSDA por sus siglas en inglés). Es semejante al PCA, aunque en este caso se considera la pertenencia de

una muestra a un grupo dado (pertenencia a una clase). En PLSDA se busca la dirección de mayor separación de dos o más clases. Obtenida la separación, se puede observar si existen variables que caractericen a cada una de las diferentes clases.

2.2.2. Herramientas computacionales

Se utilizó el paquete utilitario PLS_Toolbox Versión 3.5 (3) el cual comprende una colección de rutinas para exploración y análisis de datos, las cuales son usadas principalmente en quimiometría. Este paquete se usó dentro del entorno del programa MATLAB R2006a.

III. MÉTODO DE ENSAYO

El análisis de muestras de Pisco se realizó por el método cromatográfico con un cromatógrafo de gases marca Shimadzu, modelo GC-17A y con una columna capilar Simplicity-Wax de 30 metros de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μm de espesor de film. Se utilizó como referencia el manual de operación (4) y se realizaron los análisis de acuerdo a la Norma Técnica Peruana NTP 211.035:2003 “BEBIDAS ALCOHÓLICAS. Método de ensayo. Determinación de metanol y de congéneres en bebidas alcohólicas y en alcohol etílico empleado en su elaboración, mediante cromatografía de gases” (5)

Se inyectaron muestras de 1 μl . El flujo de gas Helio (carrier) fue de 388 ml/min ingresando a una temperatura de 220 °C y una presión de 132 kPa. Se utilizó una relación de split de 1:200. El programa de temperatura para la columna consistió en lo siguiente: 12 minutos a 45 °C, una rampa de 15 °C/min hasta 200 °C y finalmente 6 minutos a 200 °C. Se utilizó un detector FID a una temperatura de 220 °C

Ya se contaba previamente con la mayor parte de los cromatogramas que se utilizaron para realizar este estudio. Esta información se encontraba en la base de datos del Laboratorio de Cromatografía del Servicio Nacional de Metrología de INDECOPI. De cada cromatograma solo se habían utilizado los picos correspondientes a los 12 componentes volátiles y congéneres que se mencionan en la NTP 211.001:2006. Para la cuantificación de estos 12 componentes se contaba con reactivos de alta pureza y certificados. Además de esto, se contaba con algunos aromas adicionales con pureza desconocida, los cuales no se creyeron aptos para cuantificación pero si para identificación.

Se utilizaron las áreas de todos los picos observados en 100 cromatogramas correspondientes a 64 Piscos no aromáticos y 36 Piscos aromáticos. Estas muestras fueron analizadas en los años 2004, 2005 y 2006. A continuación se muestra un resumen del número de muestras por variedad de uva y región de procedencia.

TABLA N° 2. DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS NO AROMÁTICAS

Tipo de Pisco	Variedad de uva	Nro. de muestras
NO AROMATICO	Quebranta (Ica)	28
	Quebranta (Lima)	24
	Quebranta (Tacna)	2
	Quebranta (Arequipa)	1
	Uvina (Lima)	9
	Negra (Tacna)	1
	Mollar (Lima)	1
Total de muestras no aromáticas		66

TABLA N° 3. DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS AROMÁTICAS

Tipo de Pisco	Variedad de uva	Nro. de muestras
AROMATICO	Italia (Ica)	3
	Italia (Lima)	19
	Italia (Tacna)	4
	Italia (Arequipa)	2
	Italia (Moquegua)	1
	Torontel (Ica)	3
	Torontel (Lima)	1
	Moscatel (Lima)	1
Total de muestras aromáticas		34

IV. PROCEDIMIENTO DE CÁLCULO Y ANALISIS

4.1. NOMENCLATURA

Para el análisis se utilizaron las áreas de hasta 52 picos encontrados en cada cromatograma (ver en el Apéndice los datos cromatográficos mas relevantes con fines de este estudio), correspondientes a los 12 componentes mencionados en la norma y a 40 componentes sin identificar. Cada componente corresponde a una variable. Se asignó un código a los 40 componentes adicionales no identificados. Este consta de la letra “C” y un número correlativo, es decir, desde el C01 hasta C40.

Para facilitar el tratamiento de datos se asignó a cada muestra un código de 4 caracteres. El primero de los caracteres indica la variedad, el segundo la región y los dos últimos un número correlativo. En esta codificación de 4 caracteres no se incluyó información acerca del tipo de Pisco, ya que este dato se deduce directamente de la variedad de uva. Aunque la clasificación se realizó por tipo de Pisco Puro (no aromático y aromático), se prefirió identificar a las muestras por su variedad. De esta manera, si la variedad de alguna muestra o algún grupo de muestras está afectando el resultado de la clasificación, este efecto se detectará rápidamente.

En las Tablas N° 4 y N° 5 de las páginas siguientes se muestra el listado de códigos de identificación de las 100 muestras utilizadas.

4.2. OBTENCION DE LOS MODELOS ESTADÍSTICOS

El objetivo del análisis estadístico fue definir un modelo con el cual se pueda asignar un tipo (no aromático ó aromático) a una muestra de Pisco de origen desconocido. Se tomó como referencia el uso de este tipo de análisis para diferenciación de tipos de Whisky (6). En el caso del Whisky existen 4 alcoholes superiores que caracterizan al Whisky irlandés diferenciándolo de otros tipos de Whisky.

TABLA N° 4. CÓDIGOS DE IDENTIFICACIÓN - PISCOS NO AROMÁTICOS

Quebranta (Ica)	Quebranta (Lima)	Quebranta (Tacna)	Quebranta (Arequipa)	Uvina (Lima)	Negra (Tacna)	Mollar (Lima)
QI01	QL01	QT01	QA01	UL01	NT01	ML01
QI02	QL02	QT02		UL02		
QI03	QL03			UL03		
QI04	QL04			UL04		
QI05	QL05			UL05		
QI06	QL06			UL06		
QI07	QL07			UL07		
QI08	QL08			UL08		
QI09	QL09			UL09		
QI10	QL10					
QI11	QL11					
QI12	QL12					
QI13	QL13					
QI14	QL14					
QI15	QL15					
QI16	QL16					
QI17	QL17					
QI18	QL18					
QI19	QL19					
QI20	QL20					
QI21	QL21					
QI22	QL22					
QI23	QL23					
QI24	QL24					
QI25						
QI26						
QI27						
QI28						

TABLA N° 5. CÓDIGOS DE IDENTIFICACIÓN - PISCOS AROMÁTICOS

Italia (Ica)	Italia (Lima)	Italia (Tacna)	Italia (Arequipa)	Italia (Moquegua)	Torontel (Ica)	Torontel (Lima)	Moscatel (Lima)
II01	IL01	IT01	IA01	IM01	TI01	TL01	SL01
II02	IL02	IT02	IA02		TI02		
II03	IL03	IT03			TI03		
	IL04	IT04					
	IL05						
	IL06						
	IL07						
	IL08						
	IL09						
	IL10						
	IL11						
	IL12						
	IL13						
	IL14						
	IL15						
	IL16						
	IL17						
	IL18						
	IL19						

El modelo estadístico consiste en una gráfica en la cual se encuentran ubicadas las muestras en 2 grupos, el tipo no aromático y el tipo aromático. También se identificaron los componentes con mayor influencia en la resolución de ambos tipos. Para los cálculos se utilizaron las áreas de los cromatogramas correspondientes a 100 muestras de Pisco. Se consideraron un total de 52 componentes además del estándar interno (3-pentanol). Las áreas fueron normalizadas considerando el área del estándar interno. No se calcularon concentraciones por no contarse con todos los reactivos puros. Sin embargo se debe mencionar que para este tipo de análisis la relación de áreas entre las muestras para un mismo componente es semejante a la relación de concentraciones.

Se realizó primero un Análisis de Componentes Principales (identificado con sus siglas inglesas PCA de aquí en adelante) con 52 variables (componentes) para un total de 100 muestras, 66 no aromáticas y 34 aromáticas. Este análisis no toma en cuenta la pertenencia de una muestra a un tipo dado. El resultado se muestra a continuación en 2 dimensiones en la Figura N° 1.

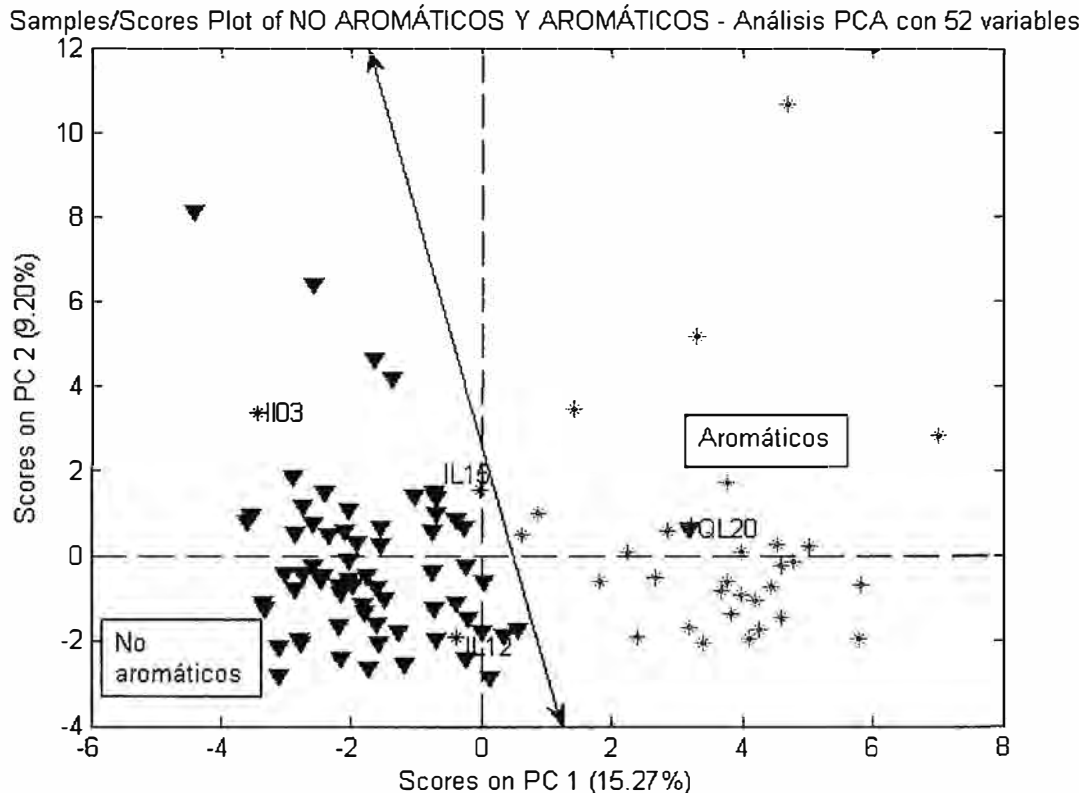


FIGURA N° 1. ANÁLISIS PCA CON 52 VARIABLES (100 muestras)

Se han graficado los dos primeros componentes del análisis PCA, esto es, PC1 (Componente principal 1) y PC2 (Componente principal 2). En un análisis PCA los primeros componentes recogen la mayor variabilidad del sistema en estudio. PC1 alberga la mayor variabilidad del sistema, el resto lo tiene PC2, luego PC3 y así sucesivamente. Se ha identificado los Piscos no aromáticos con triángulos y los

Piscos aromáticos con estrellas. Se observa claramente la formación de 2 grupos (tipos) los cuales pueden ser separados por una línea divisoria (línea con extremos en punta de flecha) como se muestra en la Figura N° 1. Más adelante se indica quienes son los componentes con mayor responsabilidad en esta separación de tipos.

No se ha colocado los códigos de identificación de todas las muestras para evitar recargar la Figura N° 1. En este análisis se observan 4 muestras ubicadas fuera de su tipo. Estas se muestran en la Figura N° 1 con su código de identificación. Se trata de 1 Pisco no aromático y 3 Piscos aromáticos. Por ahora se excluyen a estas 4 muestras, pero más adelante se explica su ubicación en el gráfico anterior. El análisis PCA de las 96 muestras restantes se muestra en la Figura N° 2.

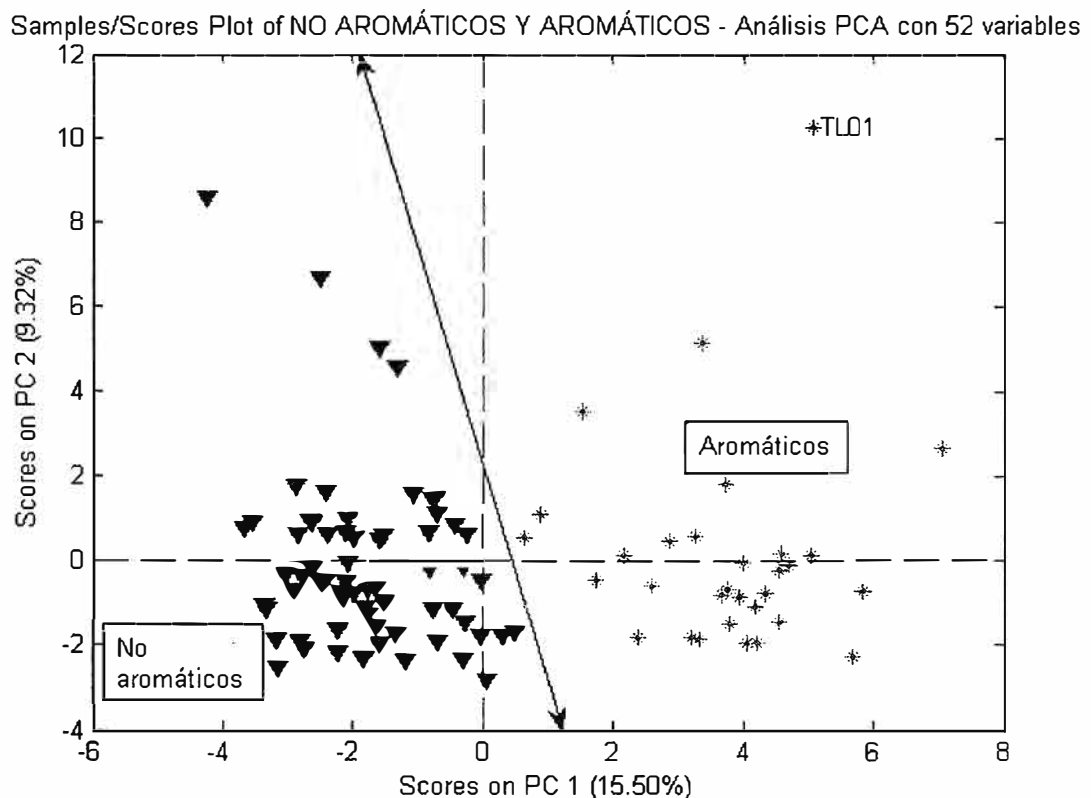
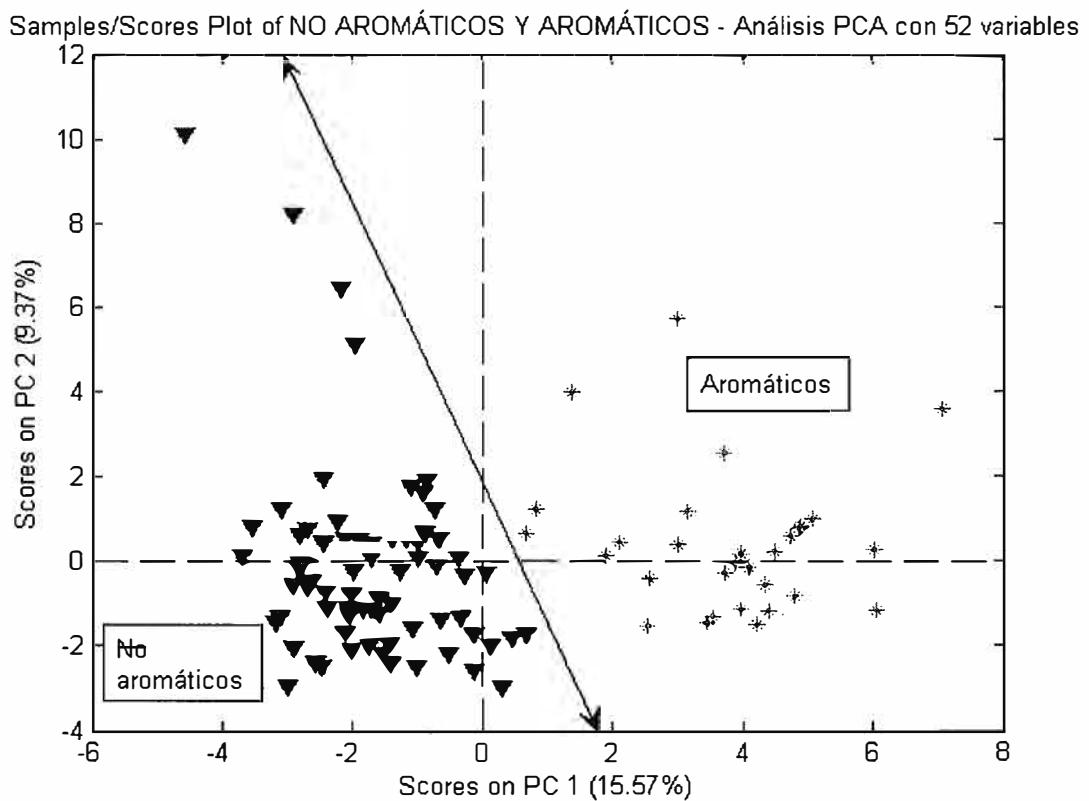


FIGURA N° 2. ANÁLISIS PCA CON 52 VARIABLES (96 muestras)

Debemos observar también la presencia de una muestra en la parte superior derecha del gráfico. Su código de identificación es TL01 y está muy separada de las demás. Al revisar la base de datos se encontró que esta muestra no cumplió con las especificaciones de la norma técnica en varios componentes. Esta muestra se excluye de aquí en adelante. Finalmente el análisis PCA de las 95 muestras restantes se muestra en la Figura N° 3 (a este resultado se le denomina como MODELO 1)



**FIGURA N° 3. MODELO 1
ANÁLISIS PCA CON 52 VARIABLES (95 muestras)**

Hasta ahora se han mostrado gráficas en 2 dimensiones mostrando aproximadamente un 25% (16% en PC1 y 9% en PC2) de la variabilidad del sistema en estudio. Al considerar una tercera dimensión, esta otorga solo un 7% de variabilidad adicional

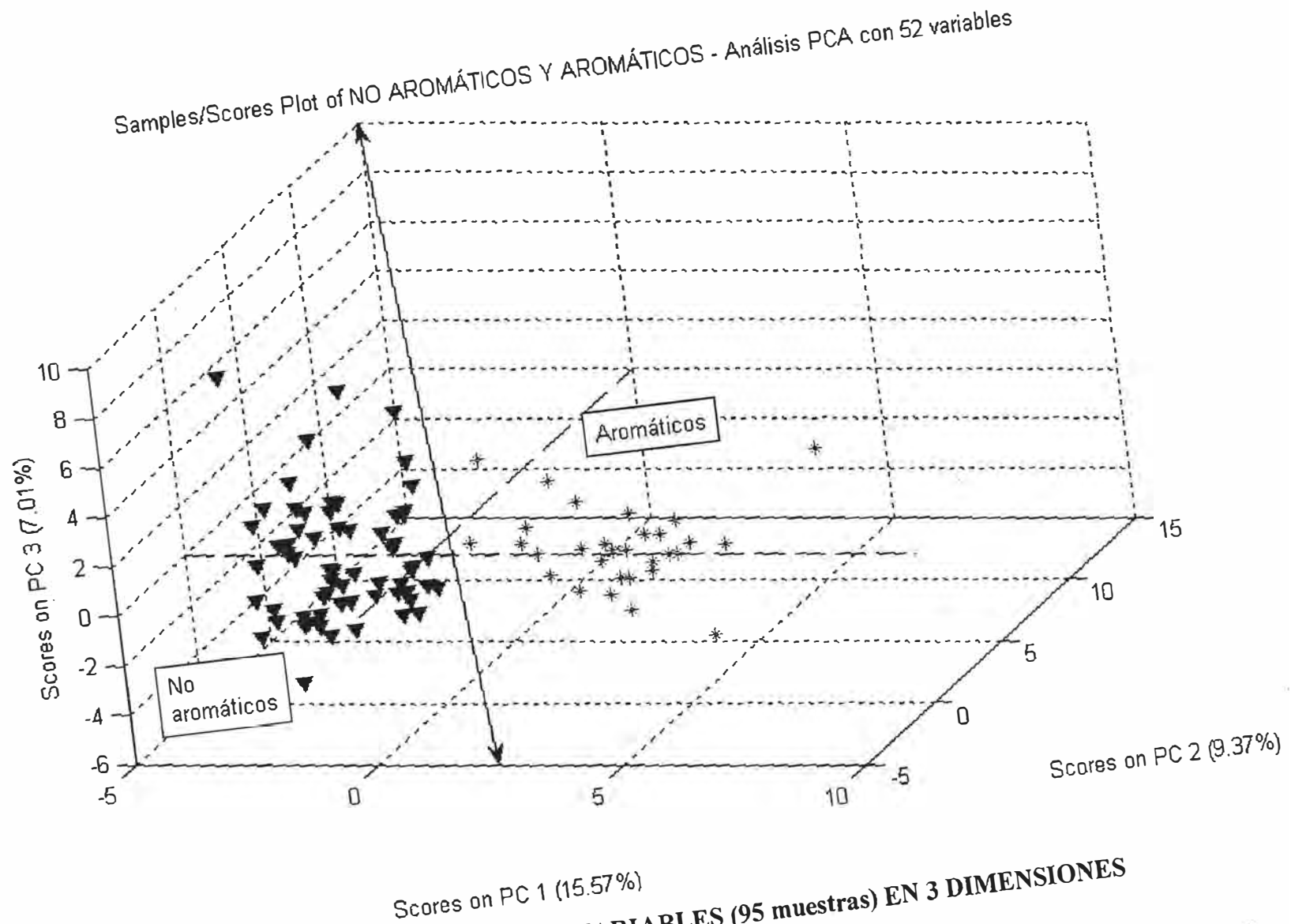


FIGURA N° 4. ANÁLISIS PCA CON 52 VARIABLES (95 muestras) EN 3 DIMENSIONES

según se muestra en la Figura N° 4 en una gráfica tridimensional.

Si comparamos las Figuras N° 3 y N° 4, se observa que la contribución de PC3 a la resolución de los tipos es pequeña. Por lo tanto, se usan solamente gráficas bidimensionales de aquí en adelante.

Se debe recordar que el análisis PCA busca la dirección de mayor variabilidad del sistema. Sin embargo esta dirección no coincide necesariamente con aquella dirección que proporciona la mayor resolución de los tipos analizados. Para buscar esta dirección de mayor resolución de tipos se procederá a realizar otro tipo de análisis.

A continuación, con los mismos datos del caso anterior se realizó un Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (identificado por sus siglas inglesas PLSDA de aquí en adelante). En este caso el software también utiliza la información sobre la pertenencia de una muestra a un tipo dado. A las muestras no aromáticas se les asignó la clase 1 y a las muestras aromáticas la clase 2. De esta manera la posición de cada muestra en la gráfica se ve influenciada por la clase asignada. De manera práctica, si partimos de la gráfica del análisis PCA, entonces las muestras no aromáticas se moverán hacia la izquierda y las muestras aromáticas hacia la derecha, teniendo como resultado una mayor separación de ambos tipos. En el análisis PLSDA todas las muestras tienen una clase asignada previamente y por lo tanto este tipo de análisis no puede ser utilizado para asignar el tipo a una muestra de origen desconocido. Su uso principal es identificar a los componentes responsables de la separación de tipos.

El resultado del análisis PLSDA de las 100 muestras se muestra en la Figura N° 5 en 2 dimensiones.

Se han graficado LV1 (variable latente 1) y LV2 (variable latente 2). LV1 alberga la mayor variabilidad del sistema, el resto lo tiene LV2, luego LV3 y así sucesivamente.

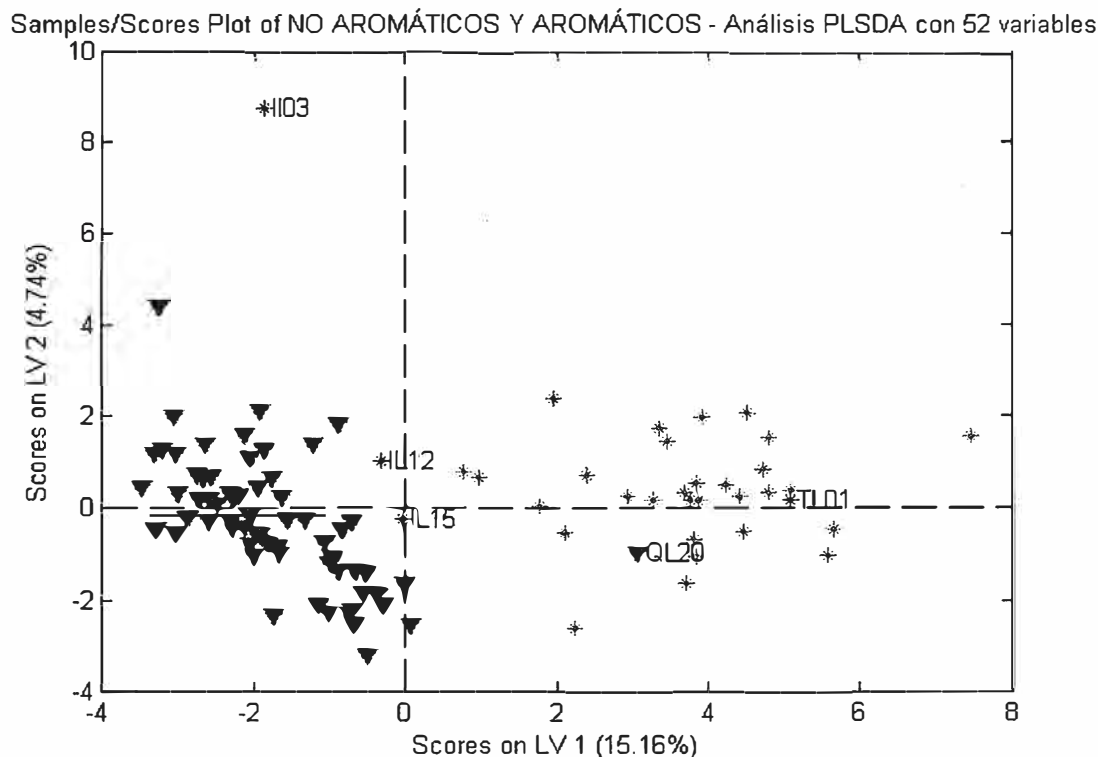


FIGURA N° 5. ANÁLISIS PLSDA CON 52 VARIABLES (100 muestras)

Se han colocado códigos de identificación a las mismas 5 muestras sobre las que se hicieron comentarios en el análisis PCA. Se debe recordar que 4 no cumplieron la clasificación y 1 se encontraba muy lejos del resto de muestras (TL01).

De las 4 muestras que no cumplieron la clasificación, se ha presentado solo 1 muestra ubicada claramente fuera de su tipo. Se trata de 1 Pisco no aromático con código QL20. La asignación de la clase 1 a esta muestra no logró ubicarla en el tipo no aromático.

Debido a que ambos análisis (PCA y PLSDA) coinciden se procedió a verificar la clasificación de esta muestra de Pisco con ayuda de 2 catadores. Habiéndoles presentando a los catadores la muestra como de tipo desconocido, ambos coincidieron en que pertenecía al tipo aromático. Es decir, una muestra que había sido declarada

por el productor como de tipo no aromático (Quebranta), tiene las características del tipo aromático.

Luego se revisaron las 3 muestras restantes. La asignación de la clase 2 a estas 3 muestras de tipo aromático (II03, IL12 e IL15) las movió hacia el tipo aromático pero no las ubicó claramente dentro de este tipo. Se debe considerar la posibilidad que algunas de las muestras analizadas no sean estrictamente de un tipo u otro, es decir, que en realidad sean una combinación de ambos tipos (lo cual indicaría que la muestra es de tipo acholado, el cual no ha sido abordado en este estudio). Se observa que el conjunto de muestras no aromáticas se presenta muy compacto, sin embargo el conjunto de muestras aromáticas se presenta disperso. Es difícil ubicar con claridad una línea divisoria entre ambos tipos. Así como se concluyó que QL20 en realidad es de tipo aromático, alguna de estas 3 muestras podría ser en realidad del tipo no aromático. Se explora esta posibilidad más adelante.

Recordemos la muestra que se descartó en el análisis PCA por ubicarse en la gráfica lejos de las otras muestras. Ésta es TL01. En la Figura N° 5 se le observa dentro del tipo aromático. El análisis PLSDA la forzó a ubicarse cerca de este tipo. A pesar de esto, seguiremos excluyéndola en análisis posteriores por lo explicado en el análisis PCA.

Finalmente, de las 100 muestras en estudio se tiene que:

- QL20 (muestra no aromática) se agrupa junto con las muestras de tipo aromático, lo cual fue confirmado por 2 catadores, confirmándose la validez del modelo para este caso.
- II03, IL12 e IL15 no se clasifican claramente dentro de uno de los tipos. Queda pendiente la búsqueda de una respuesta válida para explicar la ubicación de estas 3 muestras, lo cual se verá más adelante.
- TL01 se sigue excluyendo por no haber cumplido los requisitos de la norma en varios componentes (según lo visto anteriormente en el análisis PCA)

El análisis PLSDA de las 95 muestras restantes se muestra a continuación en la Figura N° 6.

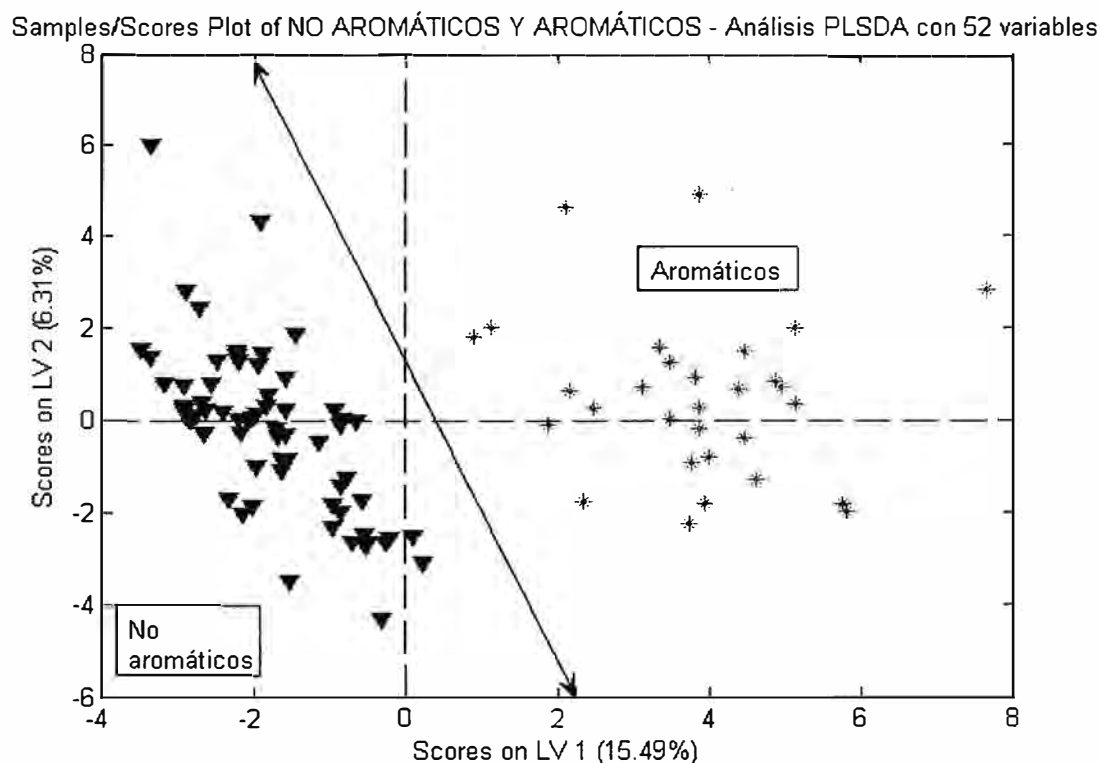
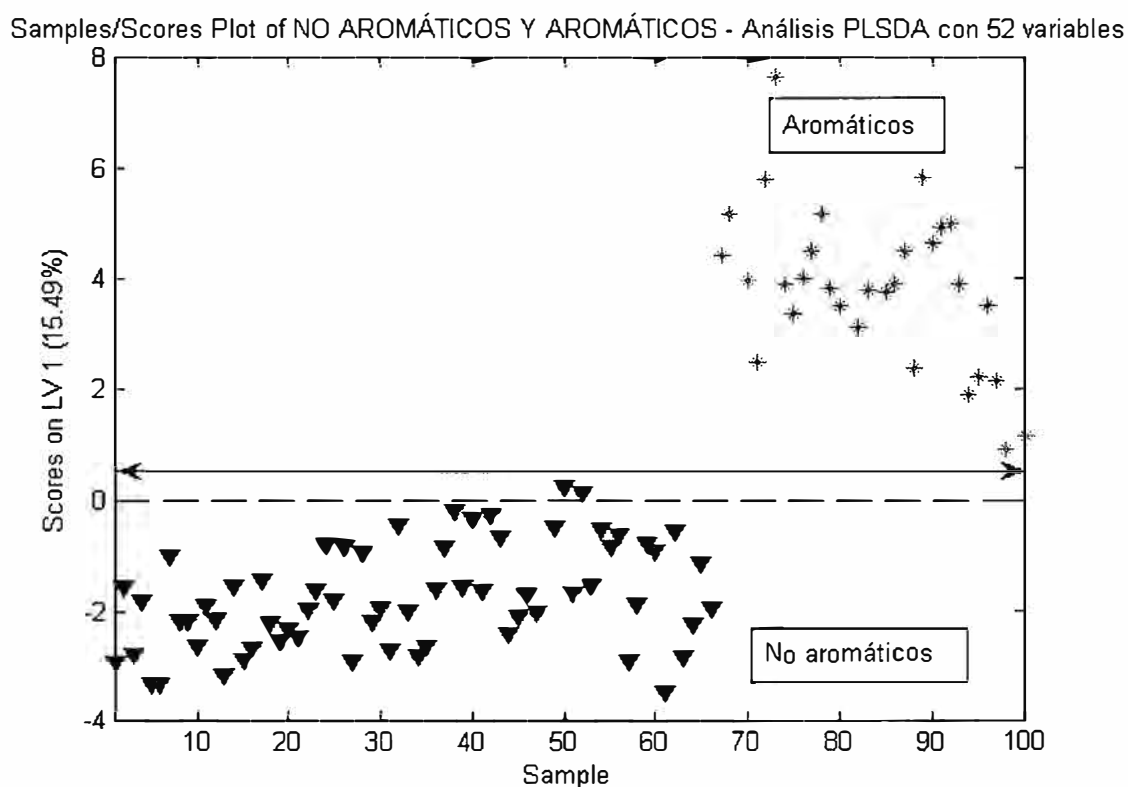


FIGURA N° 6. ANÁLISIS PLSDA CON 52 VARIABLES (95 muestras)

Al observar una clara separación de ambos tipos en esta última gráfica, podemos confiar en que las 95 muestras utilizadas servirán adecuadamente para identificar los componentes con mayor influencia en la separación de los tipos y con esto reducir el número de variables utilizadas (hasta el momento se utilizaron las 52 encontradas)

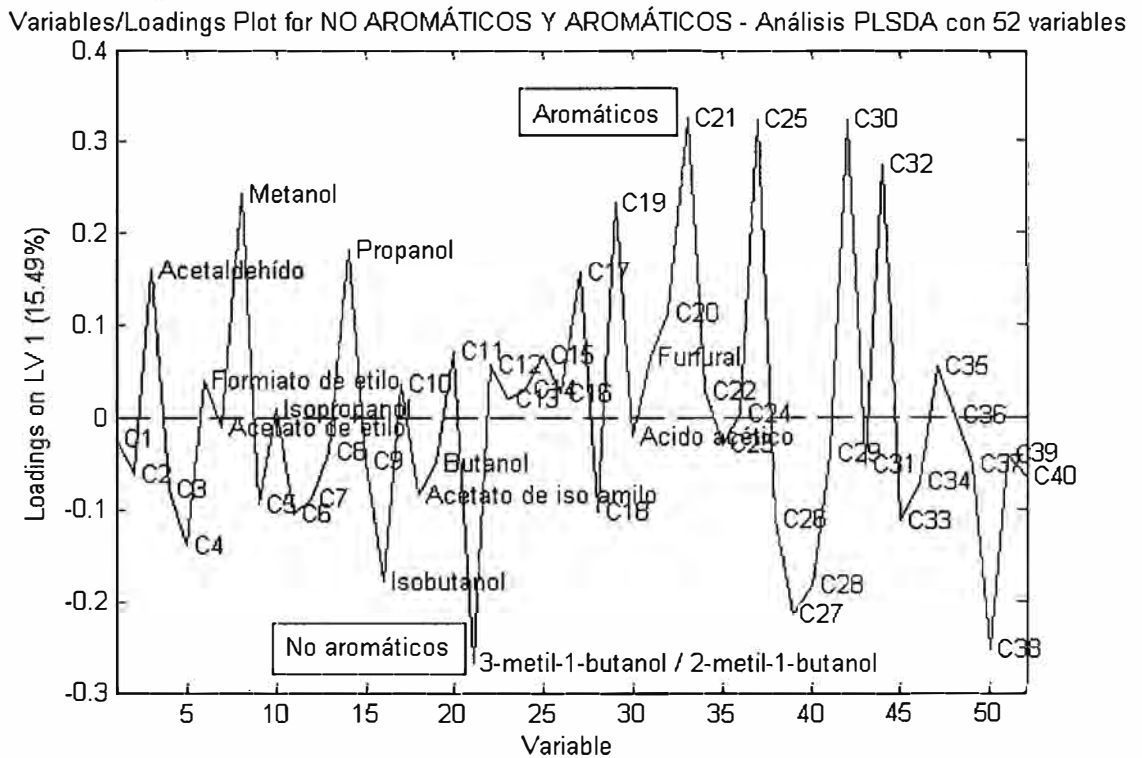
Una de las razones para reducir el número de variables utilizadas se explica a continuación. Al considerar todos los picos observados en los cromatogramas (52 componentes encontrados), se corre el riesgo de considerar a algunos componentes que hayan aparecido fortuitamente en alguna o algunas muestras (contaminantes o componentes que hayan sido agregados intencionalmente por los productores, lo cual

no está permitido por la Norma Técnica Peruana). Se observó que existen varios componentes que se encuentran en tan solo 2, 3, 4 ó 5 muestras de las 100 mostradas. Considerando que se usaron 64 muestras no aromáticas y 36 muestras aromáticas, se piensa que estos componentes con presencia en un número limitado de muestras no aportan significativamente a la separación de tipos y por el contrario pueden distorsionar el modelo encontrado. Otra de las razones a contemplar para reducir el número de variables utilizadas es permitir un uso práctico de los resultados encontrados de este estudio. No siempre se tendrá a la mano un paquete utilitario de análisis estadístico que permita graficar un modelo como el presentado y por lo tanto es deseable reducir al máximo el número de variables utilizadas.



**FIGURA N° 7. ANÁLISIS PLSDA CON 52 VARIABLES (95 muestras)
LV1 versus NÚMERO DE MUESTRA**

A continuación se busca reducir el número de variables necesarias para definir el modelo. La Figura N° 6 nos da clara resolución de los 2 tipos en estudio. Pero como se indicó anteriormente, la mayor variabilidad se obtiene con la primera variable LV1. A continuación se grafica solo esta variable colocando al Número de muestra en el eje X y colocando a LV1 en el eje Y. Se usan las mismas 95 muestras de la Figura N° 6. La gráfica resultante se muestra en la Figura N° 7 de la página anterior. Se observa que tan solo LV1 (y sin utilizar LV2) es capaz de separar a ambos tipos. Para LV1 se obtiene también la Figura N° 8 en la que se observa la contribución que da cada variable (Weight) para la resolución de los tipos del modelo.



**FIGURA N° 8. ANÁLISIS PLSDA CON 52 VARIABLES (95 muestras)
CONTRIBUCIÓN DE LAS VARIABLES AL MODELO**

Se conocía previamente que de los 12 componentes de la norma, el metanol presenta una mayor concentración en el tipo aromático. Este es el único componente para el que se presentan varios límites máximos (de acuerdo al tipo de Pisco) en la Norma Técnica Peruana NTP 211.001:2006. En la Figura N° 8 se observa esta característica del metanol. Se observa que los picos que apuntan hacia abajo caracterizan al tipo no aromático y los que apuntan hacia arriba caracterizan al tipo aromático. Se observan claramente 3 componentes característicos del tipo aromático. Estos son C21, C25, y C30. En la zona inferior de la gráfica se observa 2 picos característicos del tipo no aromático. Estos son la mezcla 3-metil-1-butanol/2-metil-1-butanol y C38. Estos 2 últimos no resaltan tan claramente como los 3 mencionados para el tipo aromático. En total se tienen 5 componentes que contribuyen principalmente a la separación de los tipos en estudio. Estos son:

- C21, el cual se ha identificado como linalol, con mayor presencia en el tipo aromático.
- C25, el cual se ha identificado como terpinen-4-ol, con mayor presencia en el tipo aromático.
- C30, el cual se ha identificado como Alfa-terpineol, presente solo en el tipo aromático, lo cual lo hace característico de este tipo sin excepción en los datos presentados en el presente trabajo (esto incluye a las 5 muestras que se excluyeron anteriormente).
- La mezcla de 3-metil-1-butanol y 2-metil-1-butanol, con mayor presencia en el tipo no aromático.
- C38, el cual se ha identificado como 2-feniletanol, con mayor presencia en el tipo no aromático.

Si realizamos un análisis PCA considerando estos 5 componentes y utilizando las 100 muestras iniciales obtenemos la gráfica siguiente:

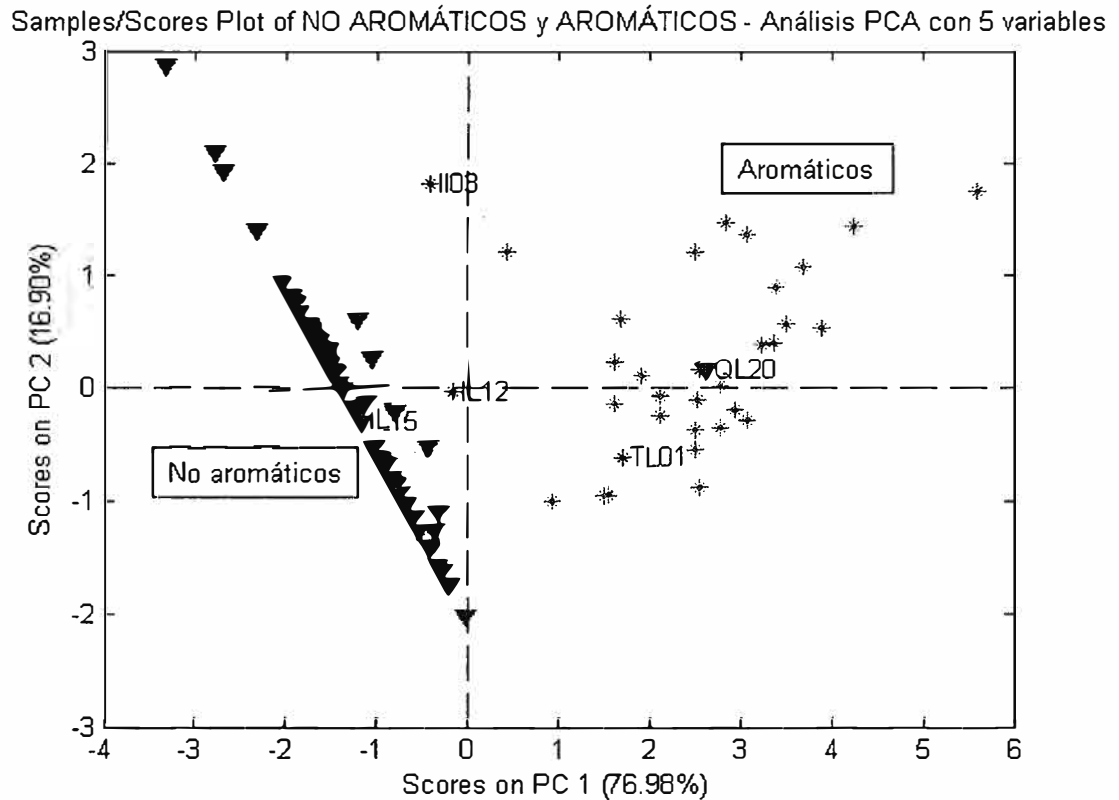


FIGURA N° 9. ANÁLISIS PCA CON 5 VARIABLES (100 muestras)

Se ha colocado códigos de identificación a las 5 muestras excluidas anteriormente. A continuación se revisa el caso de las 3 muestras pendientes (II03, IL12 e IL15):

- En la gráfica se observa cómo IL15 se ubica claramente dentro del tipo no aromático. Con esta evidencia se sometió esta muestra de Pisco a la evaluación por 2 catadores. El resultado fue el esperado. Los catadores clasificaron a la muestra como no aromática.
- En la gráfica se observa cómo II03 e IL12 se ubican en el tipo aromático como corresponde. Sin embargo, estas 2 muestras se seguirán excluyendo con fines de obtener un modelo más consistente para la separación de los tipos.

Se observa cómo este modelo de 5 variables ha posicionado adecuadamente al total de las muestras en estudio (100 muestras).

De la Figura N° 8 observamos que existen otros componentes adicionales que contribuyen (aunque con un menor aporte) a la separación de los tipos. Entre estos tenemos por ejemplo: Metanol, Isobutanol, C19, C27 y C28. Si realizamos un análisis PCA considerando estas 5 variables adicionales (en total 10 variables) y utilizando las 100 muestras iniciales obtenemos lo mostrado en la Figura N° 10.

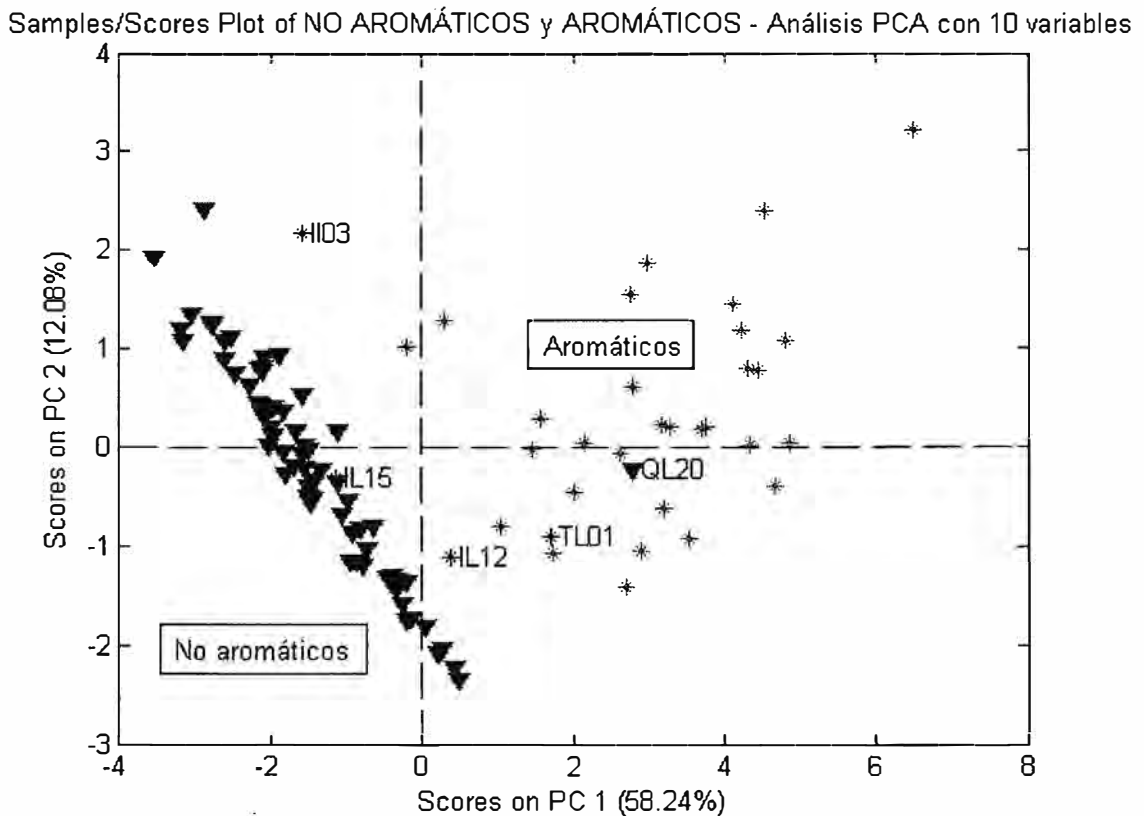


FIGURA N° 10. ANÁLISIS PCA CON 10 VARIABLES (100 muestras)

Se ha colocado códigos de identificación a las 5 muestras excluidas anteriormente. El análisis de esta gráfica nos lleva a las mismas conclusiones del caso anterior.

Se observa cómo este modelo de 10 variables ha posicionado adecuadamente al total de las muestras en estudio (100 muestras).

Al no observar diferencias significativas en los modelos de 5 y 10 variables, se prefiere el modelo de 5 variables de aquí en adelante.

Por lo tanto, el análisis PCA con 5 variables y con las mismas 95 muestras utilizadas para el MODELO 1 de la Figura N° 3 es el siguiente (a este resultado se le denomina como MODELO 2)

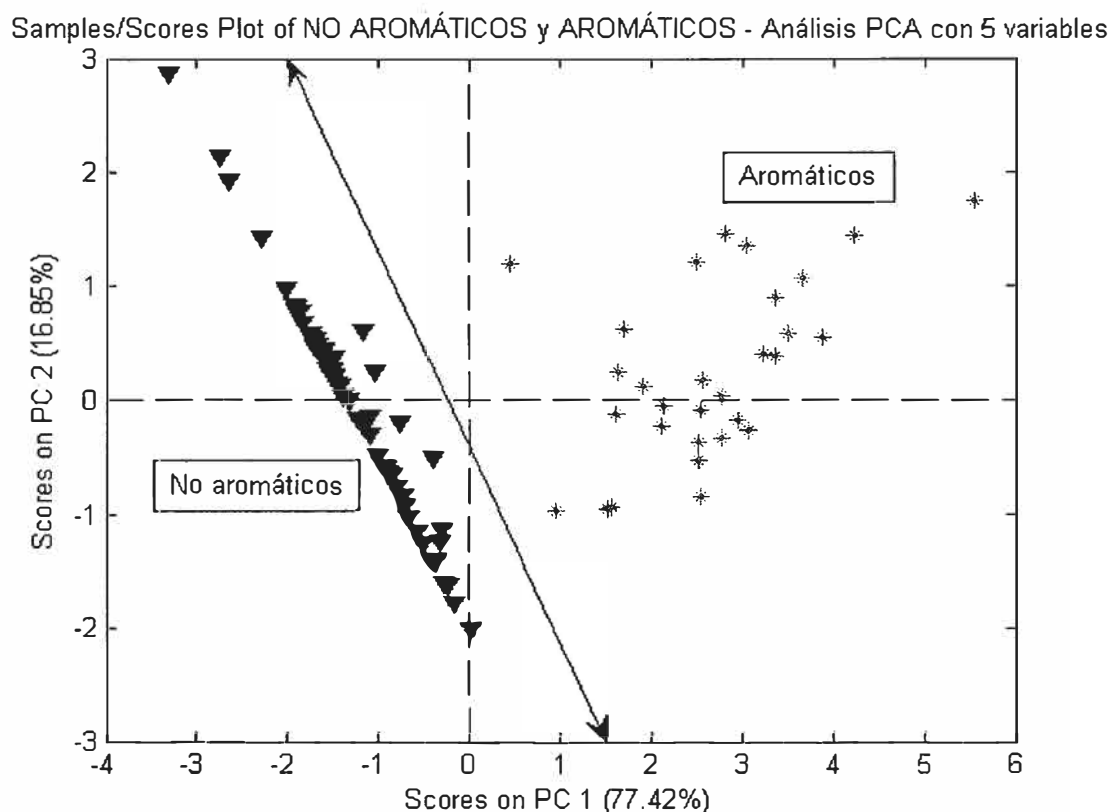


FIGURA N° 11. MODELO 2
ANÁLISIS PCA CON 5 VARIABLES (95 muestras)

Este es el modelo que utilizará para asignación de un tipo (no aromático o aromático) a una muestra de Pisco Puro de origen desconocido.

Se debe hacer un comentario sobre la ubicación de TL01 en las Figuras N° 2, N° 9 y N° 10. En la Figura N° 2 (análisis PCA con 52 variables) se ubicaba muy lejos del resto de las muestras, lo cual tiene sentido por ser un Pisco que falló en varios componentes a los requisitos de la Norma Técnica Peruana. En las Figuras N° 9 y N° 10 (análisis PCA con 5 y 10 variables) TL01 se ubica claramente dentro del tipo aromático. Por lo tanto el MODELO 1 de 52 variables es más adecuado que el MODELO 2 de 5 variables para excluir muestras como TL01. En cambio, el MODELO 2 de 5 variables es adecuado para identificar el tipo de una muestra de origen desconocido, aunque ésta presente defectos. Se debe tener en cuenta que no ha sido objetivo del presente trabajo obtener un modelo que separe a las muestras que no cumplan las especificaciones de la Norma Técnica Peruana y no se ha verificado que el MODELO 1 cumpla este fin en todos los casos.

4.3. APLICACIÓN DE LOS MODELOS ESTADÍSTICOS OBTENIDOS

A continuación se aplican los modelos desarrollados anteriormente a 12 muestras de Pisco adicionales. Estas muestras corresponden a Piscos evaluados en los meses de Setiembre y Octubre de 2006 en el Servicio Nacional de Metrología de INDECOPI. Primero se utiliza el modelo obtenido en la Figura N° 11 (MODELO 2) en base a 95 muestras y 5 variables. Las 12 muestras a evaluar no se agregan al modelo, sino que son evaluadas por éste. Esto significa que la posición de las 95 muestras de la Figura N° 11 se mantiene invariable. En base a estas 95 muestras se da una posición a las 12 muestras adicionales.

A continuación los códigos de identificación dados a las 12 muestras:

Piscos no aromáticos: QI29, QI30, NT02, NT03, QI31, QI32, QI33, QA02, NA01

Piscos aromáticos: II04, II05, IA03

Las 12 muestras se muestran con su código de identificación y se simbolizan por cuadrados (Piscos no aromáticos) y por círculos (Piscos aromáticos).

La gráfica obtenida se presenta a continuación:

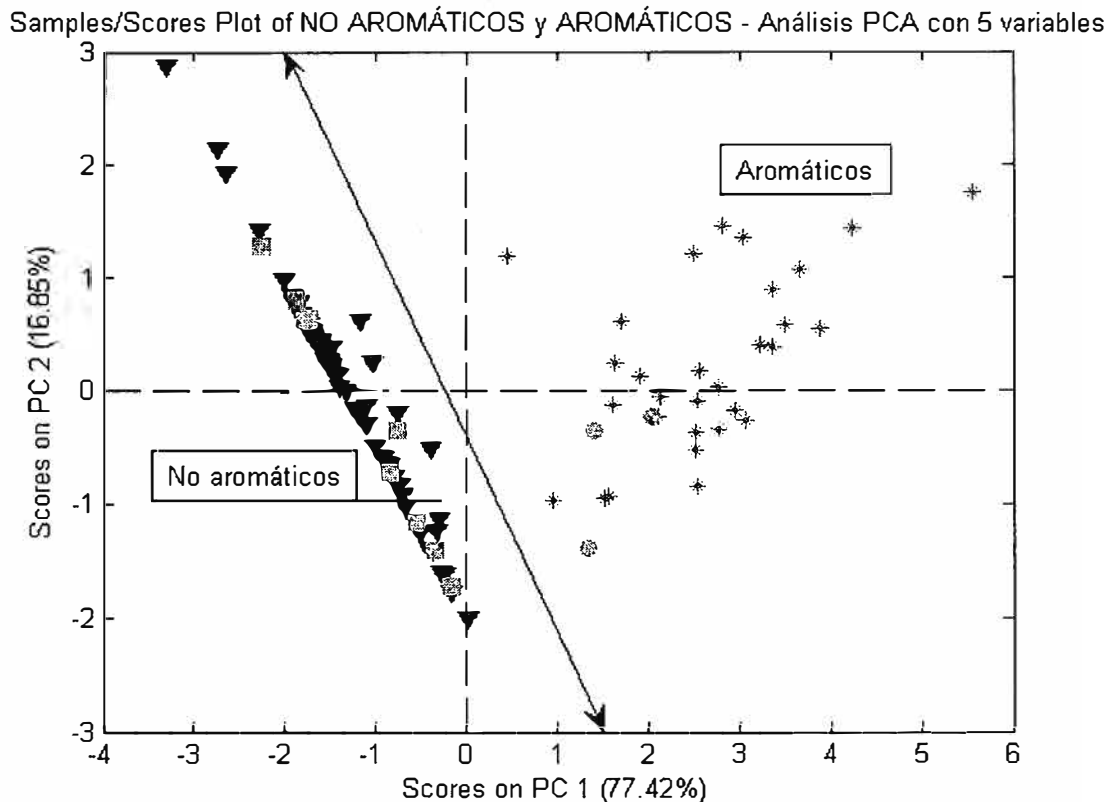


FIGURA N° 12. APLICACIÓN DEL MODELO 2

Se observa que las 12 muestras se ubican adecuadamente en el MODELO 2. Si su origen fuera desconocido, el modelo les hubiera asignado el tipo correcto.

Deliberadamente se incluyó entre las 12 muestras a evaluar una muestra que no cumplió los requisitos de la Norma Técnica Peruana en varios componentes. Ésta es II05. Se debe recordar que el modelo obtenido inicialmente con 52 variables separó adecuadamente a otra muestra que no cumplía los requisitos de la Norma Técnica Peruana en varios componentes (TL01). Aunque no ha sido uno de los objetivos del

presente trabajo, a continuación se observa cómo el MODELO 1 de 52 variables (obtenido en la Figura N° 3) separa adecuadamente a II05 de las demás muestras. La gráfica obtenida es la siguiente:

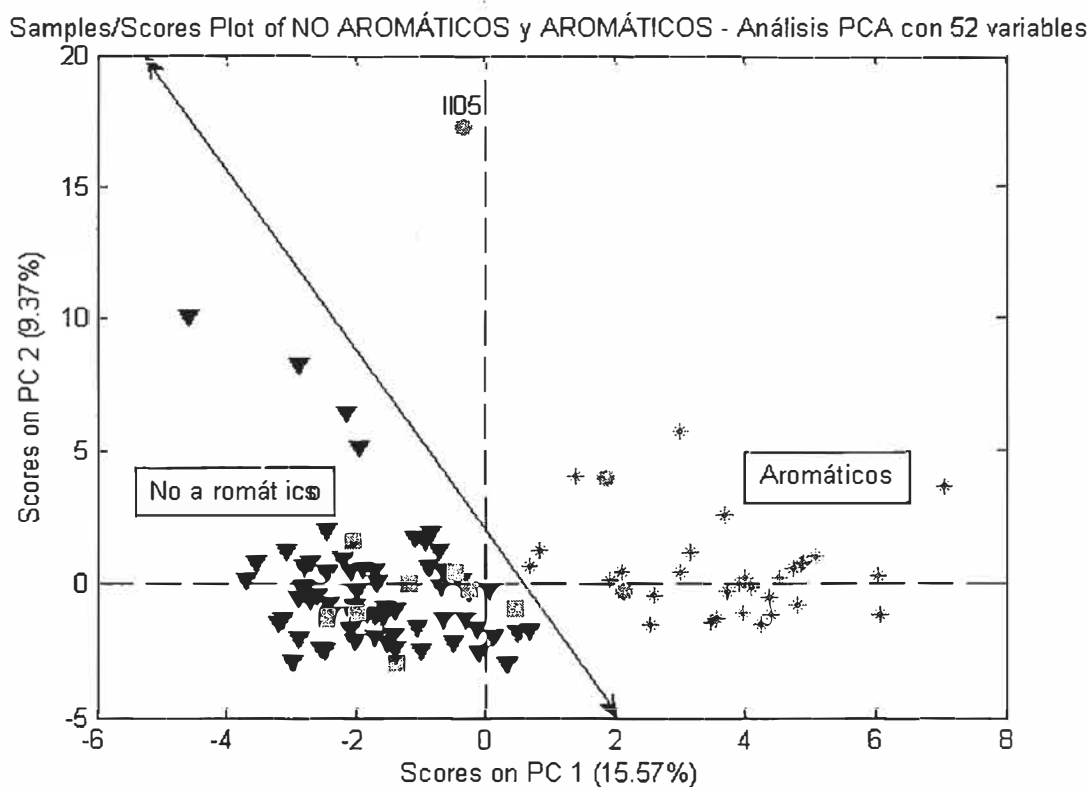


FIGURA N° 13. APLICACIÓN DEL MODELO 1

Finalmente, en esta última gráfica se han ubicado adecuadamente las 12 muestras evaluadas con respecto a su tipo y además se ha separado adecuadamente a II05 por no cumplir con los requisitos de la Norma Técnica Peruana.

V. CONCLUSIONES

5.1.- De los 52 componentes utilizados, se tienen 5 componentes que contribuyen principalmente a la separación de los tipos en estudio. Estos son:

Linalol, con mayor presencia en el tipo aromático.

Terpinen-4-ol, con mayor presencia en el tipo aromático.

Alfa-terpineol, presente solo en el tipo aromático, lo cual la hace característico de este tipo sin excepción en los datos presentados en el presente trabajo.

La mezcla de 3-metil-1-butanol y 2-metil-1-butanol, con mayor presencia en el tipo no aromático.

2-feniletanol, con mayor presencia en el tipo no aromático.

5.2.- El modelo PCA de 52 variables encontrado permitió separar a los tipos en estudio con excepción de 3 muestras aromáticas (II03, IL12 e IL15). Este modelo también permitió excluir a las muestras TL01 e II05, las cuales no cumplieron con los requisitos de la Norma Técnica Peruana en varios componentes.

5.3.- El modelo PCA de 5 variables encontrado permitió separar totalmente a los tipos en estudio (64 Piscos no aromáticos y 36 Pisco aromáticos) sin ninguna excepción. La aplicación de este modelo a 12 muestras adicionales confirmó la validez del modelo para ser usado con el fin de identificar el tipo de una muestra de Pisco Puro de origen desconocido. Este modelo no toma en cuenta los defectos presentes en la muestra evaluada.

VI. RECOMENDACIONES

- 6.1.- Se deben establecer rangos de concentración para los diferentes componentes vistos en el presente estudio. Estos rangos deben diferenciar a Piscos provenientes de cada una de las 8 variedades de uva mencionadas en la Norma Técnica Peruana.
- 6.2.- Se deben buscar más componentes característicos para cada una de las variedades de uva. Para esto se deben utilizar métodos de ensayo que detecten un mayor número componentes y con una mejor resolución. La cromatografía de gases con detector FID utilizada en el presente trabajo permitió obtener gráficas donde se resuelven los tipos aromático y no aromático. Para resolver muestras tomando en cuenta las diferentes variedades de uva dentro de cada tipo de Pisco se deben utilizar otras técnicas como cromatografía de gases acoplada a un detector de masas (GC-MS)
- 6.3.- El presente estudio se basó completamente en las áreas de los cromatogramas para el análisis estadístico. Se espera obtener resultados semejantes con el cálculo de concentraciones. Para esto se deben utilizar los reactivos puros para todos los componentes identificados hasta el momento.
- 6.4.- Las investigaciones que se realicen en torno a este tema deberán aprovecharse por los productores para mejorar su proceso productivo y mejorar aún más la calidad de nuestro producto de bandera, el Pisco.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- (1) DOMENECH A. “Vinicultura y Elaboración de Pisco”. 1ª Edición. Perú. Pág. 19
- (2) COMISIÓN DE REGLAMENTOS TÉCNICOS Y COMERCIALES - INDECOPI NTP 211.001:2006 “BEBIDAS ALCOHOLICAS. Pisco. Requisitos”. 7ª Edición. Perú (2006) Pág. 3
- (3) WISE B.; GALLAGHER N.; BRO R.; SHAVER J.; WINDIG W.; KOCH. “PLS_Toolbox 3.5 for use with MATLAB” (2005) Pág. 53
- (4) SHIMADZU CORPORATION. GC Workstation “GCsolution Operation Manual” (2000) Pág. 3
- (5) COMISIÓN DE REGLAMENTOS TÉCNICOS Y COMERCIALES - INDECOPI NTP 211.035:2003 “BEBIDAS ALCOHÓLICAS. Método de ensayo. Determinación de metanol y de congéneres en bebidas alcohólicas y en alcohol etílico empleado en su elaboración, mediante cromatografía de gases” 1ª Edición. Perú (2003) Pág. 2
- (6) GONZÁLES-Arjona D.; GONZÁLES-Gallero V.; PABLOS F.; GONZÁLES A. “Authentication and differentiation of irish whiskeys by higher-alcohol congener analysis”. Analytica Chimica Acta (1999) 381, 257-264

VIII. APÉNDICE: DATOS CROMATOGRÁFICOS

A continuación se presentan las áreas obtenidas de los cromatogramas para las 112 muestras utilizadas. Solo se muestran áreas correspondientes a los 10 componentes con mayor incidencia en la separación de tipos. Las unidad para el área es $\mu\text{V}\cdot\text{s}$

	Metanol	Isobutanol	mezcla (*)	C21	C25	C27	C28	C30	C32	C38
QI01	3724	12592	58630	0	0	138	535	0	0	3928
QI02	2179	9930	32999	0	0	69	79	0	0	2140
QI03	3322	12853	44181	0	0	158	272	0	0	2630
QI04	7057	9774	37726	19	0	143	383	0	0	1998
QI05	6957	13009	46704	221	0	328	660	0	0	3023
QI06	4009	15066	44794	0	0	143	493	0	0	2351
QI07	10187	7348	31702	0	0	63	412	0	0	1224
QI08	4024	6749	39402	0	0	34	428	0	0	1512
QI09	8163	11984	47553	0	0	129	404	0	0	3083
QI10	4814	17316	63473	0	0	57	63	0	0	2670
QI11	6635	10405	37151	168	0	203	635	0	0	2461
QI12	8974	11434	57559	0	0	57	176	0	38	3088
QI13	1925	14729	72371	0	0	48	518	0	0	3878
QI14	5131	15393	55248	0	0	73	239	0	0	2272
QI15	4268	19502	58003	0	0	193	163	0	0	5067
QI16	2827	14133	48786	0	0	181	315	0	0	2774
QI17	3396	11496	34137	227	0	181	457	0	0	2059
QI18	5013	13196	58994	0	0	175	640	0	0	2458
QI19	3200	17681	54770	0	0	130	492	0	0	2235
QI20	4732	14863	47705	0	0	43	82	0	0	2622
QI21	4169	13297	47460	0	0	231	421	0	0	3114
QI22	3359	11640	42568	0	0	150	88	0	0	3423
QI23	3070	14213	42145	0	0	87	53	0	0	2464
QI24	5980	7955	36512	0	0	132	306	0	0	1702
QI25	6840	17455	27631	60	0	113	163	0	0	1629
QI26	6505	11306	41095	0	0	46	53	0	0	2057
QI27	2552	10991	57377	0	0	44	340	0	0	2257

	Metanol	Isobutanol	mezcla (*)	C21	C25	C27	C28	C30	C32	C38
QI28	10669	9913	26857	0	0	51	63	0	0	1546
QL01	11104	20454	55457	0	0	201	191	0	0	2005
QL02	11888	17266	48992	0	0	259	143	0	0	2547
QL03	7016	20664	52759	66	0	132	405	0	0	1784
QL04	11909	10746	36511	0	0	0	227	0	0	393
QL05	15084	13624	51582	0	0	78	105	0	0	3090
QL06	10266	12800	47153	0	0	132	283	0	0	2917
QL07	4256	16956	83931	0	0	53	50	0	0	4633
QL08	4088	10793	43060	29	0	44	366	0	0	3221
QL09	8174	11496	49171	105	42	32	47	0	0	2364
QL10	7249	10694	35744	0	0	42	60	0	0	1011
QL11	4732	9868	37167	0	0	141	264	0	0	2596
QL12	11869	10262	36683	0	0	0	0	0	0	654
QL13	7989	13477	50790	0	0	54	26	0	0	3430
QL14	9913	16103	35495	0	0	43	0	0	0	1243
QL15	9332	9349	38056	0	0	49	102	0	0	1445
QL16	7566	14665	60928	0	0	100	246	0	0	3111
QL17	4893	16691	48538	0	0	157	141	0	0	2708
QL18	11089	15029	50429	0	0	97	250	0	0	2645
QL19	5126	12493	49538	0	0	110	342	0	0	3131
QL20	15264	9594	29330	522	238	0	198	228	0	887
QL21	9378	12195	40451	0	0	76	40	0	0	1288
QL22	11205	12588	23913	0	0	29	0	0	0	787
QL23	9645	15609	55145	0	0	78	0	0	0	2709
QL24	10155	12479	27294	0	0	0	58	0	0	1172
QT01	9155	8305	37915	0	0	63	303	0	0	2024
QT02	11413	9375	33414	0	0	35	293	0	0	2007
QA01	9366	9031	30528	0	0	79	394	0	0	2184
UL01	7824	12461	37387	0	0	72	162	0	0	2124
UL02	9106	19432	58471	0	0	164	370	0	0	2623
UL03	7353	14326	43347	0	0	104	316	0	0	2314
UL04	7967	9963	26174	0	0	72	0	0	0	1593
UL05	6318	6759	39457	0	0	144	841	0	0	2019
UL06	7637	17475	57090	0	0	143	394	0	0	3150
UL07	13424	11238	34523	0	0	71	165	0	0	1472

	Metanol	Isobutanol	mezcla (*)	C21	C25	C27	C28	C30	C32	C38
UL08	11782	19019	59139	0	0	170	191	0	0	2541
UL09	6318	15880	62640	0	0	134	0	0	0	2559
NT01	4083	28135	42917	121	0	33	237	0	0	786
ML01	6315	12283	52309	0	0	43	145	0	0	2738
II01	13544	12401	19531	634	372	0	0	311	50	976
II02	13156	11002	25849	771	477	46	209	324	81	1275
II03	5222	18445	71651	267	150	147	337	112	0	2162
IL01	15220	8055	20235	564	306	0	0	186	77	665
IL02	15535	10664	28241	407	166	55	149	147	33	1370
IL03	17737	12475	28701	690	423	0	0	168	75	601
IL04	21681	6503	20913	925	592	90	285	411	114	955
IL05	13268	10502	26642	473	238	19	0	135	83	986
IL06	5711	11378	35658	623	355	48	0	193	70	1671
IL07	18044	8011	17327	530	195	0	0	172	27	984
IL08	13319	10144	23403	544	245	0	0	223	65	1003
IL09	15680	7077	19682	705	339	37	0	256	97	1275
IL10	11101	10077	29004	703	423	0	0	212	82	1116
IL11	10756	11420	44201	667	287	0	0	303	0	1192
IL12	9497	9617	43670	227	56	0	57	50	0	1777
IL13	15466	9600	29730	495	217	38	168	246	0	912
IL14	11912	6822	21414	522	257	0	0	148	0	885
IL15	11468	10948	38942	0	0	150	206	0	0	2523
IL16	20469	9611	21421	368	122	39	0	106	73	969
IL17	11656	11430	35451	464	222	56	112	171	0	1650
IL18	8608	19510	40593	862	325	0	0	226	57	1148
IL19	15104	17109	24273	412	66	0	0	124	0	835
IT01	21779	5620	15465	475	371	0	0	162	65	1128
IT02	18845	4704	19577	531	222	14	0	208	111	850
IT03	7562	7813	26761	779	407	37	0	254	75	1246
IT04	10369	7747	22781	663	298	0	0	243	43	1116
IA01	11540	5167	19176	540	306	60	126	134	54	1299
IA02	5561	7855	27670	475	235	49	196	139	0	1443
IM01	7649	7937	23607	506	213	51	0	159	0	1358
TI01	7185	4923	15052	504	165	0	0	175	0	757
TI02	5741	12988	26879	468	174	144	410	155	0	1855

	Metanol	Isobutanol	mezcla (*)	C21	C25	C27	C28	C30	C32	C38
TI03	5598	14108	50607	341	219	68	260	98	0	2213
TL01	8909	6569	21200	330	190	0	288	126	0	1227
SL01	14417	7397	22878	95	106	78	360	124	0	1264
QI29	4285	9979	32602	123	0	162	444	0	0	2572
QI30	3202	10591	49145	0	0	95	143	0	0	3304
NT02	9573	10972	33733	0	0	92	166	0	0	1480
NT03	8152	13560	75637	0	0	0	62	0	0	2709
QI31	4570	5885	25043	0	0	0	0	0	0	1627
QI32	2242	5137	40975	0	0	0	0	0	0	1729
QI33	3266	5804	26833	0	0	0	0	0	0	1049
QA02	4069	12180	52673	0	0	126	567	0	0	3342
NA01	2861	22214	60606	0	0	64	256	0	0	2601
II04	3750	4238	27283	291	209	0	0	212	0	996
II05	18651	9508	19952	193	0	0	175	178	0	761
IA03	8942	10819	27742	316	165	39	123	130	77	1301

(*) Mezcla de 3-metil-1-butanol y 2-metil-1-butanol