



Análisis de las características específicas del Licor de Pitaya

Trabajo de Fin de Máster

Autora: Andrea Domínguez De Barros
Tutor: José Elías Conde González
Co-tutor: Luis Antonio González Mendoza
Titulación: Máster en Seguridad y Calidad de los Alimentos

Sección de Química. Facultad de Ciencias.
Universidad de La Laguna
Septiembre de 2017

Agradecimientos

En primer lugar quisiera dar las gracias a mis tutores, por creer en mí y hacer que este proyecto fuera posible. En especial a José Elías, por su colaboración, y por orientarme y alentarme.

En general, a los departamentos de Química Analítica y de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, por aportar los medios para llevarlo a cabo y por hacerme sentir como en casa. También agradecer a Delia y a Eladia su ayuda en esas pequeñas cosas que son muy necesarias.

Y por último, aunque no por ello menos importante, dar las gracias a mi familia, en especial a mi hermana por su ayuda desinteresada y su apoyo incondicional.

Contenido

Abstract	3
1. Introducción	4
1.1 Licores de Pitaya	4
1.2 Normativa aplicable	4
2. Hipótesis	5
3. Objetivos	6
4. Materiales y método	7
4.1 Determinación de los compuestos volátiles	8
4.2 Determinación del grado alcohólico	10
4.3 Tratamiento de datos y análisis estadístico	10
5. Resultados	11
5.1 Determinación de los compuestos volátiles	12
5.2 Determinación del grado alcohólico	14
6. Discusión	15
6.1 Discusión relativa a la determinación de compuestos volátiles	15
6.2 Discusión relativa a la determinación del grado alcohólico	17
6.3 Análisis estadístico de los resultados obtenidos	18
7. Conclusiones	21
8. Bibliografía	22
9. Anexos	23

Abstract

This Masters' Thesis Defense is an experimental study for the determination of volatile compounds in Pitaya liquors, and serves as a continuation of a previous experimental study, in which the liquors' elaboration methodology was determined using the different Pitaya varieties. The samples of the liquors obtained in that study will be analyzed in the present study.

The Legislation applicable to liquors has been studied and there are no specific requirements regarding the volatile compounds content. It is expected that the results obtained in the liquors will be similar to cane distillate used in its elaboration. However, it is estimated that formation of these compounds may occur during the liquors' maturation period, due to alterations and side reactions which have resulted in the liquors' oxidation.

The main goal is to determine the volatile compounds in the available liquors' samples, as well as the analysis of the obtained results and the comparison with those obtained in the cane distillate used in the maceration. Volatile compounds were determined by gas chromatography. The alcohol content/alcoholic grade/degree of the liquors was also determined using the same technique. Finally, a statistical analysis of the results was carried out in order to study the behavior of the variables and their relation with the characteristics of liquors' elaboration method.

1. Introducción

1.1 Licores de Pitaya

El presente Trabajo de Fin de Máster tiene su origen en un estudio experimental previo, que consistió en la optimización del método experimental para la elaboración de licor de Pitaya ^[1]. Las muestras de los licores obtenidos en dicho estudio se emplearán en el presente trabajo para su análisis. Además, se analizarán tres licores experimentales, posteriores a dicho estudio, elaborados según las condiciones óptimas indicadas en las conclusiones del mismo e introduciendo algunas mejoras.

Los primeros licores fueron elaborados con tres variedades de Pitaya roja, tanto de forma individual como con una mezcla de éstas. Se emplearon tres concentraciones de fruta en alcohol y se estudió el efecto de la adición de ácido ascórbico como antioxidante durante la maceración (sin posterior adición tras la filtración), y de cáscaras de lima como un elemento saborizante.

Se empleó aguardiente o destilado de caña comercial de 40° y se realizó una maceración en frío de la fruta fresca y sin tratamiento previo, con una duración entre tres y cuatro semanas. Una vez finalizada, se procedió a la filtración a vacío de la mezcla resultante de la maceración, y a la finalización de los licores, con un reajuste del grado alcohólico en algunos casos y por último, con la adición de almíbar.

Los tres nuevos licores se elaboraron con una mezcla definida de las variedades de pulpa de color, con el mismo destilado de caña de 40°, también con etanol de 96° y con éste diluido con agua destilada hasta los 40°. El procedimiento de elaboración fue similar al de los licores experimentales del estudio anterior, exceptuando la adición de cáscaras de lima, y que se añadió 1 g/L de ácido ascórbico como antioxidante, tanto durante la maceración, como tras la filtración.

En total, se dispone de 38 muestras de licores. Todos ellos han sufrido un proceso de maduración, puesto que desde su elaboración hasta el momento del análisis han transcurrido entre 17 y 20 meses, en el caso de los licores del estudio previo, y tres meses para los tres últimos licores experimentales. En este tiempo se han oxidado en mayor y menor medida, y sus cualidades organolépticas se han transformado, difiriendo de las originales.

1.2 Normativa aplicable

A continuación, se indican los aspectos legales fundamentales en los que se basa el presente Trabajo de Fin de Máster. No se tendrá en cuenta la Legislación transversal, ni aquella relativa a las denominaciones de origen ni geográficas, etiquetado e información al consumidor, al no ser relevante para el objetivo de este trabajo.

En términos de Legislación, los licores se consideran bebidas espirituosas, y a tal efecto, las disposiciones aplicables, tanto a nivel comunitario como a nivel estatal, son las siguientes:

- Reglamento (CE) 110/2008, de 15 de enero de 2008 (DOUE L 039, de 13.02.2008), relativo a la definición, designación, presentación, etiquetado y protección de la indicación geográfica de bebidas espirituosas y por el que se deroga el Reglamento (CEE) n° 1576/89 del Consejo.

- Real Decreto 164/2014, de 14 de marzo (BOE del 26), por el que se establecen normas complementarias para la producción, designación, presentación y etiquetado de determinadas bebidas espirituosas.

Por otra parte, de acuerdo al artículo 9 del citado Real Decreto, serán de aplicación los métodos de análisis contemplados en el Reglamento (CE) n° 2870/2000 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2000, que establece métodos comunitarios de referencia para el análisis de las bebidas espirituosas.

2. Hipótesis

Los licores experimentales se elaboraron realizando una maceración en frío, durante la cual sólo ocurrirá la extracción de las características organolépticas de la fruta por parte del etanol, sin que exista formación de compuestos volátiles. Por tanto, a priori se espera que los licores se aproximen a las características del destilado de caña con el que se elaboran, teniendo en cuenta, además, que el mismo se diluye durante el proceso a una menor graduación alcohólica que la inicial.

Por otra parte, a diferencia de otras categorías de bebidas espirituosas, en el caso de los licores no se especifica nada en cuanto a la cantidad de estos compuestos que pueden o no, o deben estar presentes en la bebida. Sin embargo, ante la ausencia de antecedentes en la elaboración de licor de esta fruta, y el desconocimiento de la causa y/o mecanismo de la oxidación que experimentan durante la maceración, y principalmente durante el periodo de maduración, en el que se estima que pueden ocurrir reacciones, tanto de tipo químico como enzimático, que puedan descomponer algunos de los compuestos existentes en el licor y generar productos secundarios, se considera necesario un estudio de las características los mismos en cuanto a la determinación de los compuestos volátiles, para comprobar la hipótesis planteada y conocer el estado y la composición actual de las muestras de licores disponibles

3. Objetivos

El objetivo del presente Trabajo de Fin de Máster es analizar las características del licor de Pitaya, en cuanto a determinar los compuestos volátiles en los diferentes licores experimentales, elaborados en diferentes momentos y de forma diferente; y así comprobar que se cumple la hipótesis planteada, en cuanto a que son similares a las encontradas en el destilado de caña, o que en su defecto, efectivamente existe producción de algunos de estos compuestos como consecuencia de procesos ocurridos durante la oxidación.

Para ello, se analizarán tanto las muestras de licores experimentales disponibles, como el destilado de caña comercial y el alcohol etílico empleados en su elaboración, mediante cromatografía de gases.

Otro objetivo es estudiar si los resultados obtenidos dependen de algún parámetro relacionado con la elaboración de los licores, y no sólo del tiempo de maduración. Para ello, se realizará un breve análisis estadístico de los resultados obtenidos.

Finalmente, se pretende completar el estudio experimental previo a este Trabajo, en cuanto a la determinación del grado alcohólico final de las muestras de los licores experimentales, para comprobar que cumplen con la especificación de un grado alcohólico mínimo del 15% en volumen. Para ello, se determinará el grado alcohólico de las muestras también mediante cromatografía de gases.

4. Materiales y método

Se emplearon dos métodos diferentes con distintos objetivos en la determinación: los compuestos volátiles y el grado alcohólico de las muestras de licores. A continuación se describen cada uno de ellos así como la metodología experimental empleada.

Técnica: Cromatografía de gases

Equipo: Cromatógrafo de gases Varian 3800 equipado muestreador automático Varian CP-8410 y columna capilar DB-WAXETR 60 m x 0,25 mm x 0,5 µm.

Materiales: buretas, matraces aforados, micropipetas, viales de análisis herméticos, vasos de precipitado, agua destilada, campana de extracción, y los siguientes compuestos puros:

- Etanol absoluto, 99,9% (CAS 64-17-5).
- Metanol, 99,9% (CAS 67-56-1).
- Propan-1-ol, 99,5% (CAS 71-23-8).
- 2-metilpropan-1-ol (isobutanol), 99,5% (CAS 78-33-1).
- Patrones internos aceptables: pentan-3-ol, 99,5% (CAS 584-02-1), pentan-1-ol, 99,8% (CAS 71-41-0)
- 2-metilbutan-1-ol, 99% (CAS 137-32-6).
- 3-metilbutan-1-ol, 99% (CAS 123-51-3).
- Acetato de etilo, 99,5% (CAS 141-78-6).
- Butan-1-ol, 99,5% (CAS 71-36-3).
- Butan-2-ol, 99,5% (CAS 78-92-2).
- Acetaldehído, 99% (CAS 75-07-0).
- Acetal, 99% (CAS 105-57-7).
- Furan-2-Metanal (Furfural), 99% (CAS 98-01-1)
- Solución de etanol al 40 % v/v. preparada experimentalmente

Para la identificación y cuantificación de los compuestos se utilizaron estándares de Sigma-Aldrich® y Fluka®.

Se determinó el grado alcohólico de las muestras como complemento al trabajo experimental previo y por ser un dato necesario si se desea realizar la conversión de unidades y expresar los resultados obtenidos de los compuestos volátiles en g/hL de alcohol absoluto, según se expresa en la Legislación. También se determinó la densidad de los licores y del destilado de caña comercial empleando un densímetro electrónico, datos también necesarios para realizar la conversión de unidades.

Por otra parte, el presente Trabajo de Fin de Máster no comprende la determinación de la acidez volátil de las muestras.

4.1 Determinación de los compuestos volátiles

Los compuestos volátiles se determinaron por cromatografía de gases según el método comunitario de referencia, establecido en el anexo III del Reglamento (CE) n° 2870/2000. Sin embargo, no se siguió éste de forma exhaustiva para evitar mayor complejidad experimental del método. El procedimiento llevado a cabo es el siguiente:

- Preparación de una solución de 100 mg/L de cada uno de los compuestos individuales para determinar los tiempos de retención e identificar cada uno de los compuestos en el cromatograma. En el Anexo I de este trabajo se muestra un cromatograma con todos los compuestos volátiles determinados.

- Ajuste del método de análisis: respecto al tomado como referencia, puesto que fue necesaria una mejor separación de los componentes, y se intentó la separación del acetato de etilo y del acetal, aunque esto no fue posible finalmente. También se seleccionó el pentan-1-ol como patrón interno del método. Los parámetros del método empleado se resumen a continuación:

- Temperatura del detector: 300 °C

- Temperatura del inyector: 260 °C

- Flujo: 2 mL/min, Helio como gas portador

- Temperatura de columna: comienza con una isoterma inicial de 60 °C durante 10 minutos. A continuación, se eleva la temperatura con una rampa de 10 °C/min hasta 190 °C, donde se eluyen todos los compuestos de interés. Inmediatamente, se realiza una segunda rampa de limpieza rápida, con aumento de 20 °C/min hasta 220 °C, que se mantiene durante 6 minutos.

- Preparación de la solución patrón A: de concentración teórica de 750 mg/L de todos los compuestos, de forma similar a la propuesta en el método de referencia.

- Preparación de la solución de patrón interno: se preparó una solución concentrada añadiendo 200 µL de pentan-1-ol en un matraz aforado de 100 mL y enrasando con etanol al 40%, de esta forma se obtuvo una concentración de 1590 mg/L.

- Preparación de las soluciones de calibrado: se prepararon diluyendo adecuadamente la solución patrón A con etanol del 40% para obtener las concentraciones propuestas en el método de referencia. Las concentraciones reales de los compuestos individuales en el calibrado se indican en la Tabla 1. En este estudio experimental se empleó el método del patrón interno, por lo que a cada una de las soluciones de calibrado se le añadió 100 µL de la solución del patrón interno.

- Determinación de la reproducibilidad del método: se estimó el error del método seleccionado mediante el análisis en repetidas ocasiones del punto intermedio del calibrado.

- Realización del calibrado y el análisis de regresión para cada uno de los compuestos individuales: se determinaron los límites de detección y cuantificación a partir de la relación señal-ruido obtenida del equipo. Los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla 2, así como el error del método.

Tabla 1. Concentraciones de compuestos individuales en la solución patrón A y la correspondiente recta de calibrado obtenida por dilución.							
Compuesto	Cantidad pesada (g)	Concentración en Sol. Patrón A (mg/L)	Recta de calibrado recalculada (mg/L)				
			C1	C2	C3	C4	C5
Acetaldehído	0,068	680	34	68	136	272	544
Acetato de etilo*	0,073	730	36,5	73	146	292	584
Metanol	0,077	770	38,5	77	154	308	616
Propan-1-ol	0,076	760	38	76	152	304	608
Butan-1-ol	0,074	740	37	74	148	296	592
Butan-2-ol	0,073	730	36,5	73	146	292	584
2-metilpropan-1-ol (Isobutanol)	0,074	740	37	74	148	296	592
2-metilbutan-1-ol	0,073	730	36,5	73	146	292	584
3-metilbutan-1-ol	0,075	750	37,5	75	150	300	600
Furfural	0,081	810	40,5	81	162	324	648

*La recta de calibrado se realizó empleando únicamente el acetato de etilo, y los resultados se expresan como combinación de acetato de etilo y acetal, puesto que estos compuestos no se lograron separar con el método de análisis empleado.

Tabla 2. Parámetros de regresión para la determinación de los compuestos volátiles y error del método expresado mediante la desviación estándar relativa (DER).							
Compuesto	Pendiente	Ord. Origen	R ²	Máximo (mg/L)	LD (mg/L)	LC (mg/L)	DER (%)
Acetaldehído	0,0017	0,0124	0,9999	544	1,99	6,62	1,17
Acetato etilo-Acetal	0,0032	0,0163	0,9996	584	2,62	8,73	1,84
Metanol	0,0028	0,0132	0,9998	616	2,92	9,73	2,07
Propan-1-ol	0,0052	0,0072	0,9997	608	4,03	13,43	1,12
Butan-1-ol	0,0057	0,0248	0,9998	592	1,71	5,69	1,21
Butan-2-ol	0,0052	-0,0288	0,9998	584	4,38	14,60	3,28
2-metilpropan-1-ol (Isobutanol)	0,0061	0,0267	0,9997	592	2,47	8,24	1,44
2-metilbutan-1-ol	0,0044	-0,0190	0,9999	584	2,07	6,89	2,16
3-metilbutan-1-ol	0,0080	0,0209	0,9999	600	1,71	5,69	0,56
Furfural	0,0040	0,0020	1,0000	648	3,06	10,20	1,34

- Preparación de las muestras de licor: se realizó una filtración previa de las muestras empleando un filtro de jeringa con una membrana de 0,45 µm. En el caso de los alcoholes comerciales no fue necesario realizar la filtración. En los viales de análisis se añadió 1 mL de la muestra a analizar y 100 µL de la solución de patrón interno (pentan-1-ol).

- Análisis y resultados: se realizó la medición por duplicado. A partir del calibrado realizado se obtuvo directamente la concentración de los compuestos en las muestras en mg/L, a partir de la relación de las áreas de los compuestos obtenidas en el cromatograma y del patrón interno.

4.2 Determinación del grado alcohólico

Se trata de un método experimental propio que consiste en determinar el grado alcohólico de las muestras de licores disponibles mediante la cantidad de etanol presente en las mismas, realizando para ello un calibrado con disoluciones de etanol-agua de grado alcohólico conocido. El procedimiento llevado a cabo es el siguiente:

- Preparación de las disoluciones de calibrado: se emplearon disoluciones de concentración creciente de 5, 10, 15, 20, 30 y 40% en volumen de etanol-agua. Se añadió 200 μ L de propan-1-ol puro como patrón interno.
- Ajuste del método de análisis: se seleccionaron los parámetros más adecuados del método, tomando como referencia el empleado para la determinación de los compuestos volátiles, hasta la elución de los dos compuestos de interés: el etanol y el propan-1-ol como patrón interno. Los parámetros del método empleado se indican a continuación:
 - Temperatura del detector: 300 °C
 - Temperatura del inyector: 260 °C
 - Flujo: 1 mL/min, Helio como gas portador
 - Temperatura de columna: 120 °C durante 6 minutos.

En el Anexo II de este trabajo se muestra el cromatograma obtenido para el método de la determinación del grado alcohólico.

- Determinación de la reproducibilidad del método, realización del calibrado y el análisis de regresión, de la misma forma que en el método anterior. Los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla 3.

Pendiente	Ord. Origen	R ²	Máximo (% v/v)	LD (% v/v)	LC (% v/v)	DER (%)
0,0747	0,0536	0,9997	41,68	0,761	2,535	3,62

- La preparación de las muestras se realizó de la misma forma que en el método anterior. En los viales de análisis se añadió 1 mL de la muestra a analizar y 200 μ L de propan-1-ol.
- Análisis: se realizó la medición por duplicado. También se determinó el grado alcohólico de los alcoholes comerciales empleados en la elaboración de los licores para comprobar el correcto funcionamiento del método. Para ello, ambos se diluyeron al 50%.
- Obtención de los resultados: se obtuvo directamente el grado alcohólico de las muestras, en % en volumen, a partir de la relación de las áreas obtenidas en el cromatograma para el etanol y el patrón interno.

4.3 Tratamiento de datos y análisis estadístico

Se realizó un análisis exploratorio de datos. Para ello, se empleó un paquete de software estadístico comercial adquirido por la Universidad de La Laguna: IBM SPSS Software v.19, IBM SPSS statistics (US).

5. Resultados

Antes de la presentación de los resultados obtenidos, en la Tabla 4 se muestran las características de la elaboración de los licores experimentales disponibles y la correspondencia con cada número de muestra, así como su nomenclatura, también para los alcoholes comerciales empleados en la elaboración de los mismos.

Tabla 4. Resumen de las características de las muestras experimentales, numeración y nomenclatura.					
nº muestra	Nomenclatura	Variedad Pitaya	Concentración de fruta (g/mL)	Cáscaras de Lima	Ácido ascórbico (mg/mL)
1	D75S	Dragón	0,3	No	0,3
2	D125S	Dragón	0,5	No	0,3
3	D150S	Dragón	0,6	No	0,3
4	D75C	Dragón	0,3	Sí	0,3
5	D125C	Dragón	0,5	Sí	0,3
6	D150C	Dragón	0,6	Sí	0,3
7	D75SB	Dragón	0,3	No	0,0
8	D150SB	Dragón	0,6	No	0,0
9	D75S2	Dragón	0,3	No	0,6
10	D125S2	Dragón	0,5	No	0,6
11	D150S2	Dragón	0,6	No	0,6
12	D75C2	Dragón	0,3	Sí	0,6
13	D125C2	Dragón	0,5	Sí	0,6
14	V75S	Volcán	0,3	No	0,3
15	V125S	Volcán	0,5	No	0,3
16	V150S	Volcán	0,6	No	0,3
17	V75C	Volcán	0,3	Sí	0,3
18	V125C	Volcán	0,5	Sí	0,3
19	V150C	Volcán	0,6	Sí	0,3
20	R75SB	Reina	0,3	No	0,0
21	R150SB	Reina	0,6	No	0,0
22	R75S	Reina	0,3	No	0,3
23	R125S	Reina	0,5	No	0,3
24	R150S	Reina	0,6	No	0,3
25	R75C	Reina	0,3	Sí	0,3
26	R125C	Reina	0,5	Sí	0,3
27	R150C	Reina	0,6	Sí	0,3
28	M75SB	Mezcla	0,3	No	0,0
29	M150SB	Mezcla	0,6	No	0,0
30	M75S	Mezcla	0,3	No	0,3
31	M125S	Mezcla	0,5	No	0,3
32	M150S	Mezcla	0,6	No	0,3
33	M75C	Mezcla	0,3	Sí	0,3
34	M125C	Mezcla	0,5	Sí	0,3
35	M150C	Mezcla	0,6	Sí	0,3
36	LDOC40	Mezcla	0,5	No	1*
37	LDNE96	Mezcla	0,5	No	1*
38	LAFE40	Mezcla	0,5	No	1*
39	RDC40	Destilado de caña de 40°			
40	ETV96	Alcohol etílico origen vínico de 96°			

*Añadido durante la maceración y tras su finalización, a diferencia del resto de licores experimentales.

5.1 Determinación de los compuestos volátiles

Para el método y el calibrado aplicado, los resultados obtenidos para los compuestos volátiles se muestran en la Tabla 5.

Se han obtenido resultados no concluyentes en dos muestras, correspondientes a los números 5 y 6, por lo que se obtienen finalmente datos de 36 muestras de licores y de los dos alcoholes empleados como base para la maceración.

Tabla 5. Resultados obtenidos en la determinación de compuestos volátiles mediante cromatografía de gases.																
n° muestra	Nomencl.	Acetaldehído (mg/L)			Metanol (mg/L)		2-metilbutan-1-ol (mg/L)	3-metilbutan-1-ol (mg/L)		Furfural (mg/L)						
1	D75S	27,13	±	1,48	n.c		n.d	8,10	±	0,20	666,90	±	162,43			
2	D125S	13,57	±	0,52	n.c		n.c	8,43	±	0,28	452,65	±	5,90			
3	D150S	28,79	±	2,54	n.c		n.d	n.d		54,44	±	51,48				
4	D75C	16,05	±	1,17	n.c		n.c	8,03	±	0,48	515,95	±	43,78			
7	D75SB	15,12	±	2,72	21,10	±	0,80	n.c	n.c		484,36	±	67,71			
8	D150SB	23,79	±	3,04	21,65	±	0,30	n.c	n.c		1161,56	±	35,35			
9	D75S2	46,71	±	1,33	15,04	±	1,58	n.c	6,05	±	2,08	525,09	±	65,26		
10	D125S2	31,68	±	3,63	n.c		n.c	n.c		1512,75	±	225,05				
11	D150S2	45,01	±	15,52	25,38	±	2,25	7,09	±	1,43	n.c	2054,49	±	610,14		
12	D75C2	38,21	±	0,30	22,97	±	1,06	n.d	7,31	±	0,10	679,72	±	44,13		
13	D125C2	14,49	±	4,32	11,76	±	0,02	n.c	n.c		1035,16	±	196,81			
14	V75S	51,36	±	3,83	n.c		n.c	8,62	±	0,47	633,47	±	280,15			
15	V125S	48,25	±	1,97	14,82	±	1,47	n.c	n.c		997,01	±	3,14			
16	V150S	47,75	±	0,08	13,19	±	0,06	n.c	n.c		1819,11	±	336,17			
17	V75C	14,41	±	1,09	n.c		n.d	8,76	±	0,37	476,61	±	71,81			
18	V125C	38,50	±	3,19	11,84	±	0,58	n.c	n.c		1403,72	±	235,09			
19	V150C	41,96	±	2,73	14,50	±	0,10	n.d	n.c		1105,58	±	197,32			
20	R75SB	28,42	±	0,92	22,87	±	0,02	n.c	7,10	±	1,21	522,78	±	30,84		
21	R150SB	36,41	±	1,60	15,03	±	0,70	n.c	n.c		1616,28	±	6,61			
22	R75S	75,67	±	0,48	26,57	±	0,84	n.c	n.c		618,98	±	57,75			
23	R125S	51,62	±	2,70	22,11	±	1,38	n.c	n.c		1265,19	±	101,06			
24	R150S	41,04	±	-	16,94	±	-	n.d	n.d		2447,09	±	1435,99			
25	R75C	46,42	±	5,41	24,50	±	0,84	n.d	6,01	±	1,45	637,97	±	10,80		
26	R125C	24,60	±	13,91	12,65	±	0,12	22,14	±	-	6,75	±	1,46	1163,81	±	442,36
27	R150C	46,76	±	3,43	23,19	±	0,29	n.c	n.d		1620,33	±	252,70			
28	M75SB	16,77	±	9,82	16,56	±	0,46	n.c	6,44	±	0,12	512,54	±	220,98		
29	M150SB	36,42	±	0,21	14,06	±	0,39	n.c	n.c		1087,02	±	72,42			
30	M75S	34,48	±	0,09	15,48	±	0,53	n.c	7,56	±	0,27	297,99	±	397,61		
31	M125S	19,74	±	0,89	n.c		n.c	n.c		1505,50	±	297,45				
32	M150S	11,61	±	1,26	14,13	±	0,44	n.d	n.c		1590,64	±	511,52			
33	M75C	29,98	±	2,37	22,74	±	0,61	n.d	n.c		849,67	±	66,88			
34	M125C	33,55	±	7,51	15,15	±	0,87	n.c	n.c		2129,09	±	316,37			
35	M150C	27,22	±	16,44	20,88	±	1,18	7,03	±	0,59	n.c	851,48	±	240,61		
36	LD0C40	23,08	±	12,32	23,62	±	0,83	n.d	6,91	±	3,73	79,31	±	97,16		
37	LDNE96	25,21	±	10,23	29,47	±	-	n.d	n.d		1541,15	±	16,97			
38	LAFE40	20,30	±	3,07	16,52	±	-	n.d	n.d		1283,18	±	315,08			
39	RDC40	50,09	±	2,78	30,56	±	2,04	n.c	n.c		32,78	±	32,64			
40	ETV96	n.d			n.d		n.c	n.c		n.d						

n.d. No detectable; n.c. No cuantificable.

Como puede observarse en la Tabla 5, el **acetaldehído** resulta cuantificable en las 36 muestras y en el destilado de caña de 40° comercial, pero no en el alcohol etílico de 96°, en el que resulta no detectable. Respecto a las muestras, se obtienen valores variados, con un valor promedio de $32,56 \pm 14,18$ mg/L y siendo necesario un análisis para estudiar una posible tendencia en los resultados respecto a las características que presentan las muestras de licores según su elaboración.

De acuerdo a los límites de detección y cuantificación del método, indicados en la Tabla 2, el **metanol** resulta no detectable en el alcohol etílico de 96°, y cuantificable en el destilado de caña de 40°. En las muestras de licores se obtiene que es detectable pero no cuantificable en 8 de ellas (22,22%), y sí en las restantes (77,78%). En todas las muestras se obtienen valores inferiores al resultado obtenido en el destilado de caña.

En las muestras de licores se obtiene que el **2-metilbutan-1-ol** es no detectable en 12 muestras (33,33%), no cuantificable en 21 muestras (58,33%) y se logra cuantificar en tres muestras (8,33%). En una de ellas, no fue posible realizar una réplica de la medida, y el resultado es de 22,14 mg/L. En las otras dos muestras cuantificables se obtienen aproximadamente 7 mg/L. Por otra parte, se obtiene que el **3-metilbutan-1-ol** no es detectable en 5 muestras (13,89%), es no cuantificable en 18 muestras (50%), y se cuantifica en las restantes 13 muestras de licores (36,11%). En éstas últimas se obtienen valores entre 6 y 9 mg/L, aproximadamente. Los compuestos anteriores no son cuantificables en los dos alcoholes empleados como base en la maceración, según los parámetros de regresión del método (Tabla 2).

Se obtiene que el **furfural** no es detectable en el alcohol etílico de 96°. En el destilado de caña de 40° se obtiene una concentración de $32,78 \pm 32,64$ mg/L, lo cual no es un resultado muy preciso. En la mayoría de las muestras la concentración de furfural supera el 10% de la máxima empleada en el calibrado del compuesto, para la que aún se asume la linealidad del método (los valores se indican en cursiva). Se observa que esto ocurre en las muestras de licores de las concentraciones de fruta superiores, independientemente de la variedad empleada, salvo excepciones en las muestras de la 1 a la 4, la número 33, y la muestra número 36, el único de los tres últimos licores experimentales elaborado con destilado de caña de 40°.

En cuanto a los compuestos **isobutanol, butan-1-ol, butan-2-ol, propan-1-ol, y el acetato de etilo junto al acetal**, resultan no detectables en los alcoholes base y en la mayoría de las muestras. La mezcla de acetato de etilo y acetal resulta no cuantificable en dos muestras (5,55%) y el propan-1-ol resulta no cuantificable en una muestra de licor (2,78%).

Finalmente, para expresar los resultados en g/hL de alcohol absoluto, es necesaria una conversión de unidades previa de mg/L a $\mu\text{g/g}$, y luego se emplea la ecuación indicada en el punto 9.2 del anexo III del Reglamento (CE) n° 2870/2000. En el Anexo III del presente trabajo se encuentran los datos de densidad de las muestras de los licores así como del destilado de caña de 40°, necesarios para los cálculos.

5.2 Determinación del grado alcohólico

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6. Se observa, que a excepción de las muestras 5 y 6, todos los licores experimentales cumplen los requisitos establecidos para su categoría de un grado alcohólico mínimo del 15 % vol.

También se observa, que por lo general, los licores de menor concentración de fruta tienen un grado alcohólico superior.

n° muestra	Nomencl.	Grado alcohólico (% vol)			n° muestra	Nomencl.	Grado alcohólico (% vol)		
			±					±	
1	D75S	23,03	±	0,02	21	R150SB	16,40	±	0,06
2	D125S	26,26	±	0,03	22	R75S	30,29	±	0,01
3	D150S	27,28	±	0,10	23	R125S	15,98	±	0,05
4	D75C	26,65	±	0,07	24	R150S	16,36	±	0,03
5	D125C	14,62	±	0,00	25	R75C	28,59	±	0,02
6	D150C	14,80	±	0,02	26	R125C	16,20	±	0,03
7	D75SB	29,61	±	0,09	27	R150C	16,19	±	0,01
8	D150SB	16,32	±	0,07	28	M75SB	29,65	±	0,07
9	D75S2	28,39	±	0,03	29	M150SB	17,61	±	0,08
10	D125S2	16,29	±	-	30	M75S	30,19	±	0,00
11	D150S2	16,10	±	0,05	31	M125S	16,95	±	0,01
12	D75C2	30,21	±	0,10	32	M150S	17,00	±	0,10
13	D125C2	15,94	±	0,02	33	M75C	28,86	±	0,02
14	V75S	27,16	±	0,02	34	M125C	16,62	±	0,04
15	V125S	16,02	±	0,04	35	M150C	16,93	±	0,03
16	V150S	15,67	±	0,02	36	LDOC40	28,56	±	0,04
17	V75C	26,63	±	0,07	37	LDNE96	17,91	±	0,03
18	V125C	15,08	±	0,03	38	LAFE40	23,98	±	0,05
19	V150C	16,26	±	0,00	39	RDC40	42,25	±	0,00
20	R75SB	29,52	±	0,11	40	ETV96	97,94	±	0,10

6. Discusión

6.1 Discusión relativa a la determinación de compuestos volátiles

Metanol

El metanol es tóxico a altas concentraciones, y por eso está regulado en varias categorías de bebidas alcohólicas ^[4]. En el caso de los licores no se establece ninguna especificación al respecto; sin embargo, no existe riesgo de toxicidad pues en ningún caso se alcanzan los 100 mg/L.

Se observa que los licores con mayor periodo de maduración presentan niveles de metanol no cuantificables mientras que el resto presenta concentraciones variables de metanol, distinguiéndose de forma cuantitativa dos rangos en los valores obtenidos: los que tienen 11-16 mg/L, y los que presentan más de 20 mg/L, pudiendo superar los 29 mg/L. Sin embargo, todas las muestras presentan resultados inferiores al obtenido en el destilado de caña. Esto parece indicar que realmente ocurre una dilución de su contenido, por lo que se considera que no ocurre la producción de metanol.

Por otra parte, los licores elaborados empleando el alcohol etílico de 96° contienen metanol. Sin embargo, este resultado se pone en duda ya que el contenido de metanol sólo se detectó en una medida de las muestras, resultando no detectable en la segunda medida.

Alcoholes superiores

En cuanto a los compuestos isobutanol, butan-1-ol, butan-2-ol y propan-1-ol, no son detectables en los alcoholes base y en la mayoría de las muestras. En tres muestras existe cierto contenido de estos compuestos, pero no de forma cuantificable. Esto parece indicar que no existe la producción de estos compuestos durante la maceración ni durante el periodo de maduración de los licores. Es decir, no ocurre alteración microbiana de ningún tipo en los licores ni reacciones que puedan generar los alcoholes superiores mencionados ^{[2][3]}.

En cuanto a los amílicos, 2-metilbutan-1-ol y 3-metilbutan-1-ol, existen muestras de licores en los que se pueden cuantificar. Se observa que en las que se pudo cuantificar el 2-metilbutan-1-ol, se obtiene una concentración similar a las obtenidas para el 3-metilbutan-1-ol. Sin embargo, la presencia de un compuesto en una muestra determinada no parece tener relación con la presencia del otro. A excepción de la muestra 26, que parece contener ambos. Dado que estos compuestos se pueden expresar como suma, se puede concluir que en general, ocurre la producción de amílicos en los licores, aunque en pequeñas cantidades.

En cuanto a los ésteres (acetato de etilo y acetal), los resultados obtenidos indican que, como en el caso de los alcoholes superiores, en los licores no ocurre fermentación ni reacciones secundarias no deseadas que den como resultado ésteres.

Acetaldehído

Por lo general, la concentración de acetaldehído en las muestras es menor que la obtenida en el destilado de caña. Sin embargo, podemos encontrar muestras con una concentración de acetaldehído baja, lo que podría indicar que procede del destilado de caña y se ha diluido en el proceso; mientras que, por el contrario, en otras muestras la concentración es similar e incluso superior a la obtenida para el destilado de caña, lo que parece indicar que puntualmente ha ocurrido la producción de acetaldehído, sin que se observe razón aparente o relación entre las muestras que explique estos resultados.

Se observa también que los últimos licores experimentales elaborados con alcohol etílico de 96° contienen cierta cantidad de acetaldehído, el cual resulta no detectable en la muestra de este alcohol pero sin embargo sí aparece en la de los licores, lo que indica que efectivamente existe producción de acetaldehído en el proceso.

En estudios en vinos se indica que la oxidación de los alcoholes durante el almacenamiento y ciertos procesos bioquímicos pueden aumentar la cantidad de aldehídos ^[2]. Otro posible origen del acetaldehído es el acoplamiento de la autooxidación de los o-difenoles y el etanol^[3]. Por tanto, se podría atribuir a dichos procesos la producción de este compuesto, y concluir que parecen ser importantes en los licores elaborados con alcohol etílico.

Furfural

Dadas las elevadas concentraciones obtenidas en todas las muestras, se puede concluir que existe producción de furfural en todos los licores tras su elaboración, y que ocurre en función de las características de elaboración de los mismos. Se descarta que sea por la adición de alcohol etílico de 96° ya que en éste resulta no detectable.

Se sabe que el furfural está relacionado con la oxidación de los azúcares en vinos. Particularmente, el furfural se ha considerado como indicador del tiempo de almacenamiento, ya que su contenido aumenta el tiempo en botella ^[3].

Por otra parte, los resultados obtenidos de furfural no son muy precisos, es decir, los valores obtenidos en las medidas por duplicado difieren bastante. Esto puede deberse a que aparece al final del cromatograma, donde puede solaparse con picos de otros compuestos sin determinar, teniendo también muy próxima la rampa de limpieza del método, lo cual resulta en que la integración de las áreas de los picos realizada por el equipo no sea muy exacta.

Finalmente, los resultados obtenidos en la muestra del alcohol etílico de 96°, en el que ninguno de los compuestos a determinar es detectable, indican que su adición durante el ajuste del grado alcohólico de los licores no contribuye a aumentar la cantidad de los compuestos volátiles.

Por otra parte, su utilización como base para la maceración no parece ser contraproducente, ya que los resultados de los licores elaborados con alcohol etílico de 96°, en cuanto al contenido de los compuestos cuantificados, no son peores que los presentados por el resto de licores. Sin embargo, cabe pensar que la adición extra de etanol durante el ajuste puede afectar a largo plazo a las bebidas y contribuir a que ocurra una mayor oxidación.

6.2 Discusión relativa a la determinación del grado alcohólico

Como se comenta en el apartado 5.2, se observa, que por lo general, los licores de menor concentración de fruta tienen un grado alcohólico superior. Esto se debe a la metodología empleada en su finalización durante el estudio experimental previo.

En dicho estudio se concluía que el grado alcohólico obtenido tras la maceración depende en mayor medida de la variedad y la concentración de fruta empleada en la elaboración del licor, de forma que los de menor concentración presentan mayores valores del grado alcohólico inicial que las otras dos concentraciones de fruta restantes. Esto determina la metodología empleada en la finalización de los mismos, la cual agrupa a los licores en dos clases con un grado alcohólico final determinado: los licores de menor concentración se incluyen en el grupo de alta graduación alcohólica, que se ajusta a 20° tras la adición de alcohol (por lo general) y de almíbar; y el resto de licores se incluyen en el grupo de baja graduación alcohólica, que se ajusta a 5° directamente con la adición de almíbar, y en algunos casos se realizó un ajuste del grado alcohólico previamente añadiendo alcohol etílico de 96°. Este último grupo no cumpliría los requisitos especificados en la Legislación, pero se consideró contraproducente realizar el ajuste hasta los 20° dado que el grado alcohólico inicial obtenido no superó, en el mejor de los casos, los 11° y requería la adición de un volumen considerable de alcohol etílico, que afectaría al color y sabor de los licores.

En todos los casos, el ajuste del grado alcohólico, tanto con la adición de alcohol etílico como con almíbar, se calculó de forma teórica ^[1] mediante ecuaciones resultantes de un balance de materia, teniendo en cuenta la conservación del volumen de alcohol durante el ajuste y suponiendo que el volumen es aditivo, por tratarse todos los componentes de disoluciones de etanol y agua. Sin embargo, no fue posible la comprobación del grado alcohólico final de las muestras empleando el densímetro.

A la vista de los resultados obtenidos en el presente trabajo, se observa que el grado alcohólico real de los licores está lejos de ser el que se pretendía durante el ajuste realizado. En todos los casos, se observa una diferencia respecto al valor teórico supuesto tras el ajuste de aproximadamente unos 10°.

Esto podría deberse a que la determinación del grado alcohólico tras la maceración empleando el densímetro es incorrecta, pero la suposición y los cálculos realizados durante el ajuste son correctos, trasladándose así el error, y resultando en valores mayores de los supuestos teóricamente.

El estudio experimental previo comprende la realización de un método para determinar el grado alcohólico de las muestras mediante la densidad de las mismas, realizando un calibrado con disoluciones de grado alcohólico conocido. Sin embargo, es posible que el método no fuera del todo correcto, pues la densidad de las muestras de licores, incluso antes de la adición de almíbar, podría no representar adecuadamente el contenido de etanol en la disolución.

También podría deberse a que el método experimental empleado en el presente Trabajo es incorrecto y sobreestima el grado alcohólico de las muestras. Por tanto, sería necesario determinar el grado alcohólico de las muestras mediante el método comunitario de referencia, realizando una destilación, y comparar los resultados obtenidos mediante el método experimental empleando la cromatografía de gases.

6.3 Análisis estadístico de los resultados obtenidos

En el análisis estadístico se empleó un conglomerado jerárquico, utilizando el método de Ward, y un análisis discriminante, y se tuvo en cuenta, de forma conjunta, los resultados obtenidos para el acetaldehído, metanol, 3-metilbutan-1-ol, el furfural y el grado alcohólico de las muestras.

El resultado de la vinculación de Ward, en forma de Dendograma, se presenta en la Figura 1. La línea roja representa la distancia de similaridad, e indica que en función de los parámetros analizados, las muestras se clasifican fundamentalmente en dos grupos, que en la Figura 1 se han enumerado como 1 y 2. También se observa que las muestras 5 y 6 se diferencian completamente del resto (valores atípicos) debido a que en ellas se obtuvieron resultados no concluyentes, y de esta forma se respalda la decisión de no incluirlas en la discusión de resultados.

En el grupo 1, salvo excepciones, se observa que la principal característica en común de las muestras es que pertenecen a los licores elaborados con la menor concentración de fruta. A su vez, se clasifican en dos subgrupos. En el grupo 1A se encuentran los licores elaborados hace más tiempo, al inicio del estudio experimental previo, y uno de los últimos licores elaborados, en el que se empleó alcohol etílico diluido a 40° con agua destilada y la concentración de fruta intermedia. En este subgrupo se incluyen dos licores de las mayores concentraciones de fruta, correspondientes a las muestras 2 y 3. En el grupo 1B se incluyen el resto de licores de la menor concentración de fruta y de los últimos licores experimentales, el elaborado con destilado de caña de 40°, y con la concentración de fruta intermedia.

En el grupo 2 se incluyen todos los restantes licores de las concentraciones de fruta superiores, y el último licor experimental, elaborado con alcohol etílico de 96°.

Por otra parte, en la realización del análisis discriminante se agruparon las variables dependientes, es decir, los resultados experimentales obtenidos, en función de variables independientes como la concentración de ascórbico, la variedad de Pitaya y la concentración de fruta empleados en la elaboración de los licores, obteniéndose el mejor resultado para la última de las opciones, tal como se muestra en la Figura 2.

En ella también se observa que se han clasificado correctamente el 71,1 % de los casos originales, de los cuales, el 92,3% de las muestras que se identifican con la menor concentración de fruta (75 g/250 mL de alcohol o 0,3 g/mL) se asocian posteriormente de forma estadística a este grupo, un resultado que es consistente con el indicado con el método de Ward en la Figura 1. La clasificación en las muestras de licores pertenecientes a la mayor concentración de fruta (150 g/250 mL o 0,6 g/mL) es del 91,7%, es decir, que es similar al caso anterior. Sin embargo, vemos que la concentración de fruta intermedia no está tan correctamente clasificada, en cuanto a las muestras correspondan a un grupo independiente según los resultados obtenidos en las mismas, sino que estadísticamente se reparten entre los grupos de las otras dos concentraciones, asignándose un mayor número de muestras al grupo de la mayor concentración (53,8%).

En los recuadros superiores de la Figura 2 se observa que no existe ninguna muestra de licor de la menor concentración clasificada en el grupo con las de mayor concentración, es decir, en el grupo 2 de la Figura 1. Sin embargo, en el grupo 1 existen tres muestras de las otras dos concentraciones.

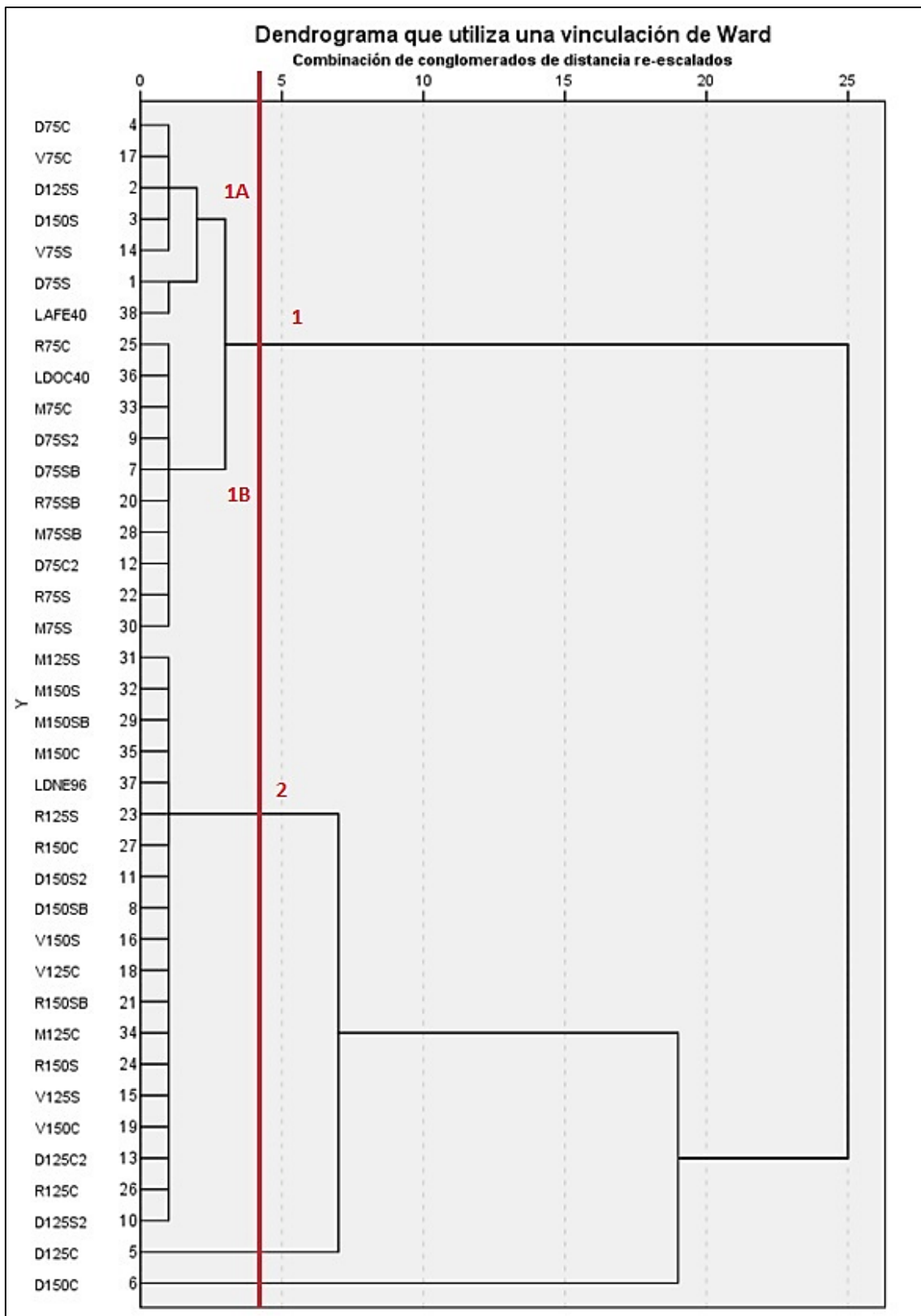


Figura 1. Dendrograma resultante del análisis estadístico por el método de Ward.

			Grupo de pertenencia pronosticado			Total
			75	125	150	
Original	Recuento	75	12	1	0	13
		125	2	4	7	13
		150	1	0	11	12
	%	75	92,3	7,7	,0	100,0
		125	15,4	30,8	53,8	100,0
		150	8,3	,0	91,7	100,0

a. Clasificados correctamente el 71,1% de los casos agrupados originales.

Figura 2. Resultado de la clasificación del análisis discriminante.

Lo comentario anteriormente se puede observar de forma gráfica en la Figura 3, en la que se observa que las muestras de licores de la menor concentración (en azul) se agrupan, en su mayoría, en las proximidades del centroide correspondiente a la concentración de 75g/250mL o 0,3 mg/L. Ocurre lo mismo con las muestras de la concentración de fruta 150 g/250 mL o 0,6 g/mL (en rojo). Pero en el caso de las muestras de la concentración intermedia, 125g/250 mL o 0,5 g/mL (en verde), se encuentran más dispersas. También se observan dos puntos, uno rojo y otro verde, que se alejan de mucho de los centroides, y que corresponden a las muestras 5 y 6, confirmándose una vez más que se tratan de “outliers” o valores atípicos en el grupo de datos.

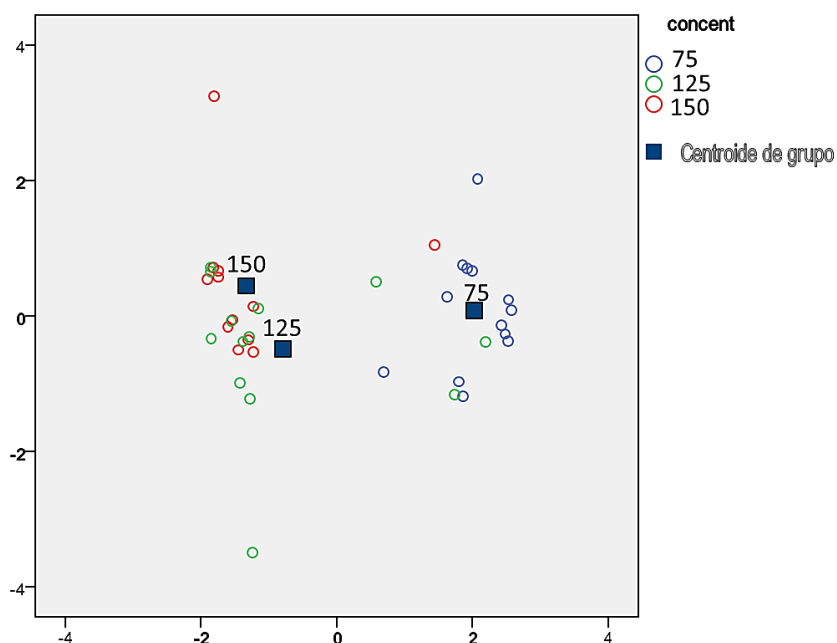


Figura 3. Gráfico resultante del análisis discriminante. Funciones discriminantes canónicas.

En el Anexo IV se muestran los valores numéricos empleados en el análisis estadístico realizado con el SPSS. Cabe explicar que en las muestras en las que se obtuvo que un compuesto es detectable pero no cuantificable (<LC), se optó por poner el resultado experimental obtenido, y en caso de ser un resultado de no detectable (<LD), se sustituyó por el valor del límite de detección del compuesto dividido por raíz de dos como aproximación ^[5].

7. Conclusiones

Se cumple la hipótesis planteada en cuanto a que se observa que los resultados de la determinación de compuestos volátiles en los licores son similares a los obtenidos en el destilado de caña.

Los compuestos encontrados en los licores y en el destilado de caña de 40° son: acetaldehído, metanol, 2-metilbutan-1-ol, 3-metilbutan-1-ol, y furfural. No existe producción de metanol, sino que durante el proceso de elaboración de los licores ocurre una dilución del contenido de dicho compuesto procedente del destilado de caña.

Se observa que en los licores ocurre la formación puntual y de forma irregular, de pequeñas cantidades de acetaldehído y de los alcoholes superiores amfílicos (2-metilbutan-1-ol y 3-metilbutan-1-ol), que puede deberse a la oxidación de los alcoholes y ciertos procesos bioquímicos, como alteraciones microbianas o reacciones secundarias de aminoácidos procedentes de la Pitaya.

Se obtienen concentraciones muy elevadas de furfural, de forma que ocurre la producción del mismo en los licores, además de forma proporcional a la cantidad de fruta empleada en su elaboración. Este compuesto es un indicador del tiempo de maduración, y su producción está relacionada con la oxidación de los azúcares.

En cuanto al resto de compuestos, durante la maceración y el periodo de maduración de los licores no ocurre fermentación ni reacciones secundarias que den como resultado la producción de los restantes alcoholes superiores y ésteres.

Todos los compuestos volátiles analizados se encuentran por debajo del límite de detección en el alcohol etílico comercial de 96°. Como cabría esperar, éste no contribuye a aumentar la cantidad de los compuestos volátiles en los licores. Sin embargo, se sospecha que a largo plazo su adición en el ajuste del grado alcohólico pueda perjudicar a los licores, contribuyendo a la oxidación.

De forma general, los licores cumplen la especificación legal de un grado alcohólico mínimo del 15 % vol., establecida en el Reglamento (CE) nº 110/2008. Por otra parte, se sospecha que en el estudio experimental previo se determinó de forma incorrecta del grado alcohólico de las muestras, mediante una correlación entre éste y la densidad de la mezcla resultante de la maceración.

Analizando estadísticamente el conjunto de los resultados, se observa que existe una tendencia y que los licores se clasifican en función de la concentración de fruta empleada en la elaboración de los mismos.

En general, no se observa que el tiempo de maduración del licor influya significativamente en los resultados obtenidos.

8. Bibliografía

Reglamento (CE) nº 110/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de enero de 2008. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 13 de febrero de 2008, núm. 39, p. 16 a 54 (39 págs.)

España. Real Decreto 164/2014, de 14 de marzo. *Boletín Oficial del Estado*, 26 de marzo de 2014, núm. 74, p. 26570 a 26577 (8 págs.)

Reglamento (CE) nº 2870/2000 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2000. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 29 de diciembre de 2000, núm. 333, p. 20 a 46 (27 págs.).

[1] DOMÍNGUEZ DE BARROS, Andrea. *Estudio experimental para la elaboración de licor de Pitaya*. Tutora: Dra. Andrea Brito Alayón. Trabajo de fin de Grado. Universidad de La Laguna. Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Escuela Superior de Ingeniería y Tecnología, septiembre de 2016.

[2] RODRÍGUEZ BENCOMO, Juan José. *Estudio del potencial aromático de diferentes variedades autóctonas de uva blanca de las Islas Canarias*. Universidad de La Laguna. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, 2008.

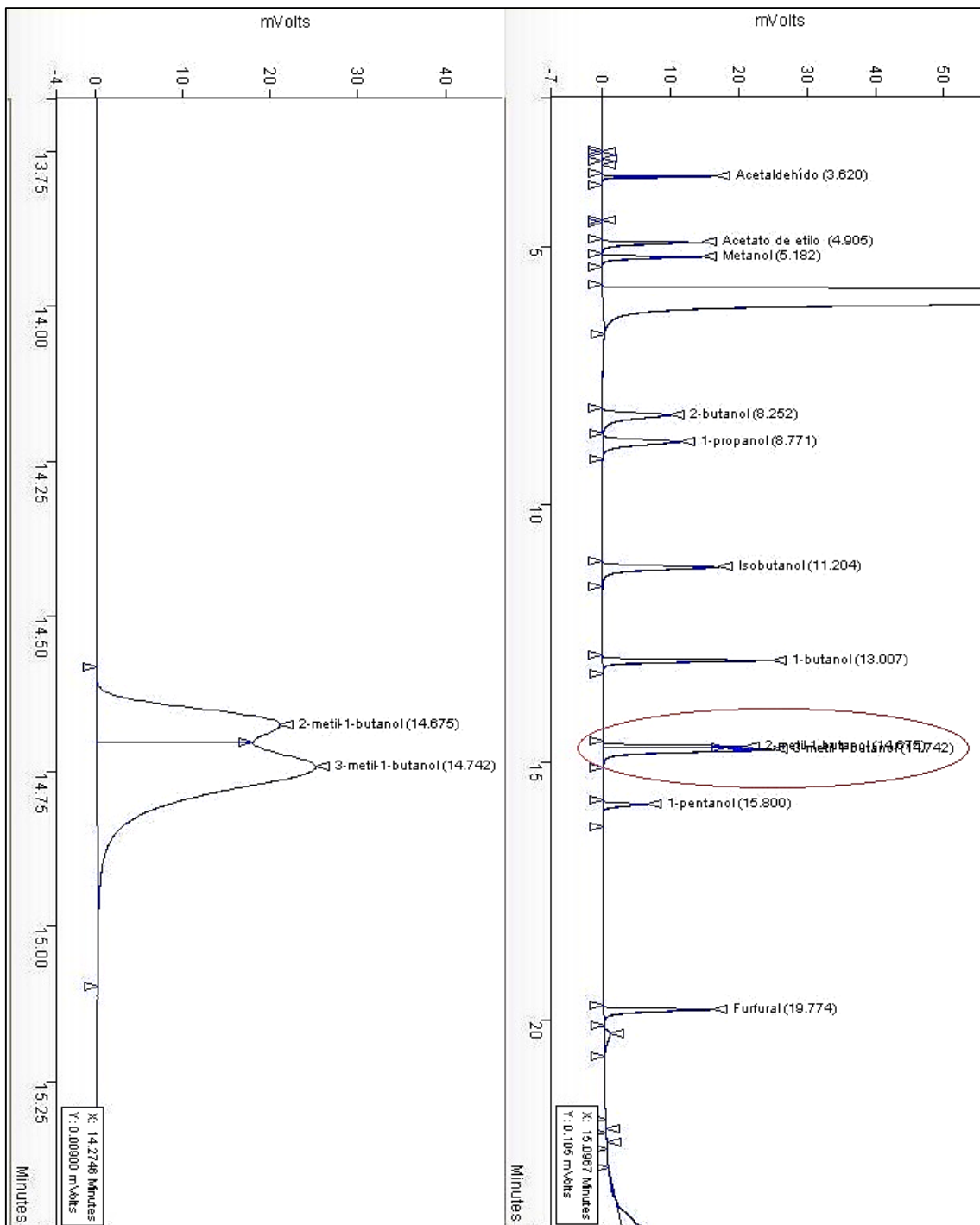
[3] PÉREZ OLIVERO, Sergio. *Avances en el uso de la microextracción en fase sólida acoplada a la cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas para el estudio de volátiles minoritarios en vinos blancos de las Islas Canarias*. Memoria de Licenciatura. Universidad de La Laguna. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, 2003.

[4] BOLET ASTOVIZA, Miriam; SOCARRÁS SUÁREZ, María Matilde. Hospital Universitario General Calixto García. *Trabajo de revisión: el alcoholismo, consecuencias y prevención*. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas v.22 n.1, ene.-mar. 2003. [En línea: versión On-line ISSN 1561-3011] http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002003000100004&script=sci_arttext&tlng=pt [Fecha de consulta: agosto de 2017]

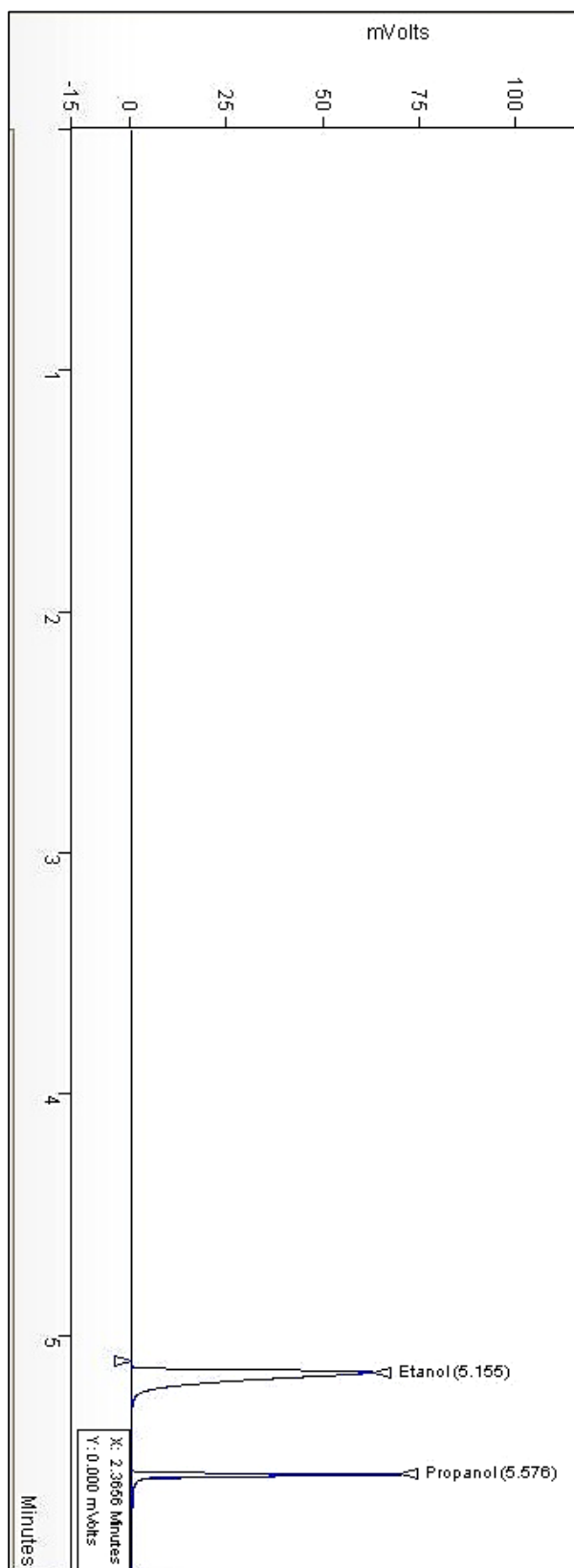
[5] HORNUNG, Richard W., REED, Laurence D. National Institute for Occupational Safety and Health. *Estimation of Average Concentration in the Presence of Nondetectable Values*. *App. Occup. Environ. Hyg.* 5:46-51; 1990.

9. Anexos

Anexo I. Cromatograma de los compuestos volátiles resultante del método empleado y los tiempos de retención entre paréntesis.



Anexo II. Cromatograma del método para la determinación del grado alcohólico mediante la determinación de etanol, y los tiempos de retención entre paréntesis.



Anexo III. Resultados obtenidos en la determinación de la densidad de los licores y del destilado de caña de 40°.

n° muestra	Nomenclatura	Densidad promedio (Kg/m ³)	n° muestra	Nomenclatura	Densidad promedio (Kg/m ³)
1	D75S	1034,3	21	R150SB	1098,7
2	D125S	1034,5	22	R75S	1029,9
3	D150S	1036,3	23	R125S	1098,6
4	D75C	1033,4	24	R150S	1101,5
5	D125C	1101,4	25	R75C	1033,9
6	D150C	1101,9	26	R125C	1097,7
7	D75SB	1028,3	27	R150C	1102,5
8	D150SB	1092,0	28	M75SB	1029,3
9	D75S2	1027,9	29	M150SB	1094,6
10	D125S2	1092,0	30	M75S	1028,6
11	D150S2	1093,0	31	M125S	1095,2
12	D75C2	1028,2	32	M150S	1095,2
13	D125C2	1092,9	33	M75C	1030,2
14	V75S	1032,8	34	M125C	1094,7
15	V125S	1102,5	35	M150C	1095,8
16	V150S	1102,3	36	LDOC40	1027,7
17	V75C	1032,9	37	LDNE96	1088,1
18	V125C	1101,7	38	LAFE40	1088,7
19	V150C	1084,7	39	RDC40	952,6
20	R75SB	1030,5			

Anexo IV. Datos empleados para el análisis estadístico con SPSS.

n° muestra	Licor	Variedad Pitaya	Concentración (g/mL)	Lima	Ácido ascórbico (mg/mL)	Metanol (mg/L)	Acetaldehído (mg/L)	3-metilbutan-1-ol (mg/L)	Furfural (mg/L)	Grado alcohólico (% vol)
1	D75S	1	75	0	0,30	27,13	5,07	8,10	666,90	23,03
2	D125S	1	125	0	0,30	13,57	5,58	8,43	452,65	26,26
3	D150S	1	150	0	0,30	28,79	7,11	<i>1,63</i>	54,44	27,28
4	D75C	1	75	1	0,30	16,05	9,70	8,03	515,95	26,65
5	D125C	1	125	1	0,30	449,13	280,79	78,27	25327,40	14,62
6	D150C	1	150	1	0,30	2790,19	392,19	429,89	90383,12	14,80
7	D75SB	1	75	0	0,00	15,12	21,10	5,55	484,36	29,61
8	D150SB	1	150	0	0,00	23,79	21,65	3,29	1161,56	16,32
9	D75S2	1	75	0	0,60	46,71	15,04	6,05	525,09	28,39
10	D125S2	1	125	0	0,60	31,68	7,62	<i>3,12</i>	1512,75	16,29
11	D150S2	1	150	0	0,60	45,01	25,38	<i>5,12</i>	2054,49	16,10
12	D75C2	1	75	1	0,60	38,21	22,97	7,31	679,72	30,21
13	D125C2	1	125	1	0,60	14,49	11,76	<i>4,02</i>	1035,16	15,94
14	V75S	2	75	0	0,30	51,36	6,94	8,62	633,47	27,16
15	V125S	2	125	0	0,30	48,25	14,82	<i>2,07</i>	997,01	16,02
16	V150S	2	150	0	0,30	47,75	13,19	<i>2,71</i>	1819,11	15,67
17	V75C	2	75	1	0,30	14,41	8,01	8,76	476,61	26,63
18	V125C	2	125	1	0,30	38,50	11,84	<i>4,82</i>	1403,72	15,08
19	V150C	2	150	1	0,30	41,96	14,50	<i>1,78</i>	1105,58	16,26
20	R75SB	3	75	0	0,00	28,42	22,87	7,10	522,78	29,52
21	R150SB	3	150	0	0,00	36,41	15,03	<i>3,64</i>	1616,28	16,40
22	R75S	3	75	0	0,30	75,67	26,57	5,65	618,98	30,29
23	R125S	3	125	0	0,30	51,62	22,11	2,72	1265,19	15,98
24	R150S	3	150	0	0,30	41,04	16,94	<i>1,20</i>	2447,09	16,36
25	R75C	3	75	1	0,30	46,42	24,50	6,01	637,97	28,59
26	R125C	3	125	1	0,30	24,60	12,65	6,75	1163,81	16,20
27	R150C	3	150	1	0,30	46,76	23,19	<i>1,70</i>	1620,33	16,19
28	M75SB	4	75	0	0,00	16,77	16,56	6,44	512,54	29,65
29	M150SB	4	150	0	0,00	36,42	14,06	3,22	1087,02	17,61
30	M75S	4	75	0	0,30	34,48	15,48	7,56	297,99	30,19
31	M125S	4	125	0	0,30	19,74	7,72	2,39	1505,50	16,95
32	M150S	4	150	0	0,30	11,61	14,13	<i>1,90</i>	1590,64	17,00
33	M75C	4	75	1	0,30	29,98	22,74	3,62	849,67	28,86
34	M125C	4	125	1	0,30	33,55	15,15	<i>4,64</i>	2129,09	16,62
35	M150C	4	150	1	0,30	27,22	20,88	<i>3,45</i>	851,48	16,93
36	LD0C40	4	125	0	1,00	23,08	23,62	6,91	79,31	28,56
37	LDNE96	4	125	0	1,00	25,21	29,47	1,21	1541,15	17,91
38	LAFE40	4	125	0	1,00	20,30	16,52	1,21	1283,18	23,98

Leyenda: tachados valores de las muestras 5 y 6 descartadas; en cursiva valores experimentales obtenidos <LC; en negrita valores predichos como LD/ $\sqrt{2}$.