

EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL DESTILADO ALCOHÓLICO DE ANÍS VERDE (*Pimpinella anisum* L.) OBTENIDO POR DESTILACIÓN SIMPLE

Clesez Tunqui Quispe^a, Alexia Pardo Figueroa Dianderas^b, Gustavo Tejada Flores^b,
Ivette del Rosario Cjuro Farfán^c

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación fueron evaluadas las propiedades cualitativas, físicas y químicas del destilado alcohólico de anís (*Pimpinella anisum* L.) obtenido por destilación simple. Por análisis fisicoquímico se obtuvo un grado alcohólico de 60 a 61,9 °G.L., densidad de 0,907 a 0,911 g/mL, índice de refracción de 1,3622, punto de congelación menor a -10 °C, punto de ebullición de 85 a 87 °C, acidez de 5,138 mg/100 mL y 27,05 % de contenido de ésteres. En las pruebas espectroscópicas se determinó que el destilado tiene 1,371 mg/L de *trans*-anetol y 4,397 mg/L de *p*-anisaldehído. Según los análisis de cromatografía en capa fina, en donde se usó como fase móvil tolueno:acetato de etilo (93:7) y como fase estacionaria cromatoplasmas de Silicagel 60 F₂₅₄, se reportó una Rf. para las fases móviles de 0,86 y 0,48, lo que indica la presencia elevada de *trans*-anetol; no se detectó la presencia de *p*-anisaldehído. En las pruebas de HPLC se comprobó la presencia de *trans*-anetol en un 0,1104% y la ausencia de *p*-anisaldehído. Finalmente, se detectó la presencia de cuatro componentes a través de las pruebas de GC-MS: *trans*-anetol como compuesto mayoritario (92,7 %), 1,4-metanocicloocta[d]piridacina (3,2 %), estragol (2,08 %) y ácido ftálico, di-(1-hexen-5-il) éster (2,02 %). Estos datos permitirán, en un futuro, analizar las propiedades del destilado de anís para mejorar la calidad de las bebidas alcohólicas que se producen a base de él en la industria licorera donde se realizó el trabajo.

Palabras clave: anís verde (*P. anisum* L.), destilado alcohólico, destilación simple, *trans*-anetol.

ABSTRACT

The article reports the assessment of qualitative, physical and chemical properties of the alcohol distillate of anise (*Pimpinella anisum* L.) obtained by simple distillation. By physical-chemical analysis an alcoholic grade of 60 to 61.9 ° G.L was obtained, density from 0.907 to 0.911 g/mL, refractive index of 1.3622, freezing point lower than -10°C, boiling point of 85 at 87 °C, acidity of 5,138 mg/100 mL and 27.05 % ester content. In the spectroscopic

^a Facultad de Química, Universidad Nacional de San Agustín, Calle Santa Catalina N° 117, Arequipa, Perú, cleseztq1402@gmail.com

^b Facultad de Ingeniería y Computación, Universidad Católica San Pablo, Quinta Vivanco S/N Urb. Campiña Paisajista, Arequipa, Perú.

^c Facultad de Ingeniería de Procesos, Nacional de San Agustín, Calle Santa Catalina N° 117, Arequipa, Perú.

tests it was determined that the distillate has 1,371 mg/L of trans-anethole and 4,397 mg/L of p-anisaldehyde. According to thin layer chromatography analysis, where toluene:ethyl acetate (93: 7) was used as a mobile phase and silica gel 60 F₂₅₄ chromate plates as a stationary phase, an Rf of 0.86 and 0.48 was reported for the mobile phases, which indicates the high presence of trans-anethole; the p-anisaldehyde was not detected. In the HPLC tests the presence of trans-anethole in 0.1104 % and the absence of p-anisaldehyde were checked. Finally, the presence of four (04) components was detected through the GC-MS tests: *trans*-anethole as the major compound (92.7 %), 1,4-methanocycloocta [d] pyridazine (3.2 %), estragole (2.08 %) and phthalic acid, di- (1-hexen-5-yl) ester (2.02 %). These data will allow, in the future, to analyze the anise distillate properties to improve the quality of the alcoholic beverages which are produced base on it in the liquor industry where this work was carried out.

Key words: green anise (*P. anisum* L.), alcoholic distillate, simple distillation, *trans*-anethole.

INTRODUCCIÓN

Las plantas hacen posible la vida del organismo animal y condicionan su estado de salud mediante la producción de dos clases de componentes químicos complejos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Los metabolitos primarios como los prótidos, glúcidos y lípidos, son sustancias que no ejercen una actividad farmacológica directa sobre las funciones fisiológicas del organismo animal, pero les son imprescindibles para mantener su vida. Los metabolitos secundarios como los terpenoides, compuestos fenólicos, taninos y alcaloides, son sustancias que no participan en el desarrollo del individuo, sino que se activan como defensa ante estímulos externos. Una de las plantas con un principio activo medicinal y aromatizante es el anís (*P. anisum* L.), perteneciente a la familia de los Apiaceae (umbelíferas), originaria del mediterráneo oriental (específicamente de la zona de Oriente Medio: Turquía, Siria, Egipto y Grecia), donde crece de manera silvestre. En la edad media fue empleado como aromatizante y fue también un ingrediente importante en la preparación de digestivos¹.

El aceite esencial de anís (*Pimpinella anisum* L.) de Cochabamba (Bolivia), extraído por arrastre de vapor de agua, presentó un rendimiento de 2,76 mL/kg, densidad 0,98 g mL⁻¹, índice de refracción 1,5534, soluble en hexano, diclorometano y etanol. Por HPLC se separó el anetol, soluble en acetato de etilo, acetona, alcohol etílico con punto de fusión de 21,5, densidad 0,986 g mL⁻¹; índice de refracción 1,5633, identificando al *trans*-anetol. Por cromatografía en capa fina los valores de Rf. fueron: 0,83; 0,76 y 0,66, coincidiendo con el valor del anetol separado por HPLC². Se ha evidenciado que no existen trabajos de investigación, libros o artículos que hayan estudiado específicamente las características del destilado alcohólico de anís obtenido por destilación simple. La industria donde se realizó el trabajo de investigación actualmente produce anisados y licores a base de destilado alcohólico de anís verde (*P. anisum* L.). Sin embargo, no ha realizado estudios sobre las principales características y componentes de este destilado, por lo que presenta estabilidad variable, repercutiendo esto en el tiempo y costo de producción del producto final. El objetivo

de la investigación fue evaluar las propiedades del destilado alcohólico de anís (*P. anisum* L.) obtenido por destilación simple para que, a partir de estos resultados, la industria licorera pueda en un futuro mejorar la calidad de sus bebidas alcohólicas.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Clasificación taxonómica del anís verde

En la tabla 1 se muestra la clasificación científica del anís verde (*P. anisum* L.). La muestra fue recolectada en agosto de 2017 en el valle de Curahuasi, Apurímac.

Tabla 1. Taxonomía del anís verde.

Clasificación científica	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Subfamilia	Apiodeae
Género	Pimpinella
Especie	<i>Pimpinella anisum</i> L.

Fuente: Herbarium Arequipense (HUSA) Universidad Nacional de San Agustín, Constanca N° 22-2017-HUSA.

2. Preparación de la muestra

El anís verde fue macerado por 15 días en aguardiente a 52 °G.L. (mezcla de alcohol extraneutro a 96 °G.L. y agua desionizada) y luego fue destilado. Fueron realizadas cinco corridas de producción, obteniéndose cinco muestras que fueron analizadas tres veces cada una. En cada corrida fueron colectados 500 mL de destilado una vez que se homogenizó todo el producto obtenido, utilizando como referencia para el muestreo el método estandarizado en la NTP 319.079.1974, Extracción de muestras³.

3. Pruebas cualitativas

3.1 Análisis sensorial

La valoración sensorial es una prueba subjetiva que involucra los sentidos (gusto, olfato y vista), la cual es utilizada exclusivamente en muestras de alimentos y bebidas. Se evaluó el destilado de anís en función de su color, sabor, olor y estado físico. Para este análisis se utilizó como referencia el método estandarizado en la Guía Técnica Colombiana 191⁴.

3.2 Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una muestra. Se realizaron las siguientes pruebas: insaturaciones y carbonilos, con permanganato de potasio (KMnO₄) y 2,4-dinitrofenilhidracina; fenoles, prueba de FeCl₃;

esteroles y terpenos, prueba de Lieberman Burchard y Salkowski; lactonas, prueba de cumarinas; sesquiterpenlactonas, prueba de Wagner. Para estas pruebas se utilizó como referencia la tesis de Y. Quiñones sobre especies mexicanas de anís⁵.

4. Pruebas físicas

4.1 Grado alcohólico

La graduación alcohólica se expresa en grados y lo que mide es el contenido de alcohol absoluto en 100 mL (porcentaje de alcohol). El método consistió en colocar la muestra en una probeta a 45°C, para evitar la formación de burbujas. Una vez estabilizada la temperatura de la muestra, se determinó el grado alcohólico con la ayuda de un alcoholímetro calibrado a 20°C, realizando la corrección por la temperatura (mediante la tabla correspondiente) y expresándolo en porcentaje. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTE 340⁶.

4.2 Densidad

Es la relación entre la densidad del aceite esencial a 20°C y la del agua destilada a la misma temperatura. El método consistió en colocar la muestra en un picnómetro cuyo peso haya sido determinado previamente. Se limpió el picnómetro con una solución sulfocrómica y luego fue sumergido en un baño de agua a 20°C durante 30 min. Finalmente, se extrajo del baño, se limpió y se secó para determinar su masa. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.081⁷.

4.3 Índice de refracción

Es la relación del seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa del aire al destilado alcohólico a una temperatura constante. El método consistió en la medición del ángulo de refracción del destilado manteniendo condiciones de transparencia e isotropismo, siendo la temperatura de 20°C y la longitud de onda de la luz de 589,3 nm (que corresponde a la línea D del sodio). Manteniendo una temperatura ambiente, se circuló una corriente de agua en el refractómetro y para obtener la lectura se colocó en el prisma la muestra. El resultado se obtuvo mediante lectura directa de un refractómetro (aparato que mide el índice de refracción) y fue expresado con un número de cuatro decimales. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP-ISO 280⁸.

4.4 Punto de congelación

Es una medida de la temperatura de solidificación a medida que se va disminuyendo la temperatura. Puede ser reflejo de la calidad del destilado alcohólico, cuyo punto de congelación depende del contenido de *trans*-anetol, su componente mayoritario y el responsable de su aroma y sabor. El método consistió en tomar 150 mL de muestra en un matraz y se colocó en un baño de hielo. Manteniendo la muestra en constante agitación, y con la ayuda de un termómetro, se mantuvo la temperatura constante. Luego se retiró el matraz y se sometió a una corriente de aire; una vez que se encontró en reposo, se registró la temperatura. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.082⁹.

4.5 Punto de ebullición

La temperatura de ebullición es aquella a la cual la presión de líquido es igual a la temperatura externa. La temperatura se mantiene constante hasta que el líquido se evapora. Hay algunos factores que influyen en la determinación, como son la presión, la estructura, la polaridad y la presencia de impurezas. El método consistió en colocar la muestra dentro de unos capilares sellados para introducirlos dentro de un tubo y calentarlo hasta observar que todas las burbujas se hayan desprendido. Finalmente, se tomó la temperatura a la cual ocurrió lo mencionado. Se utilizó como referencia el método estandarizado en el libro de Experimentos de Química¹⁰.

5. Pruebas químicas

5.1 Acidez

El pH es un valor numérico que representa la acidez o alcalinidad de una solución acuosa. Se define como el logaritmo del valor recíproco de la concentración de ion hidrógeno en una solución. El método consistió en tomar 25 mL de muestra en un matraz, se le agregaron 2 mL de fenolftaleína y se tituló con NaOH 0,1N para determinar la acidez por fórmula, considerando el consumo de este último. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.085¹¹.

5.2 Índice de ésteres

Es el número de mg de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos liberados por hidrólisis de los ésteres contenidos en un 1g de destilado. El método consistió en introducir en un matraz resistente a álcalis 1,5 g de esencia, luego se añadieron 5mL de etanol neutro y 3 gotas de fenolftaleína al 1 %. Los ácidos libres se neutralizaron con una solución 0,5 N de KOH. También se añadió 10 mL de una solución etanólica 0,5 N de KOH. Finalmente, el matraz con la solución fue conectado a un condensador de reflujo, y calentado a ebullición; el exceso de álcali se tituló con HCl 0,5 N. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.088¹².

6. Pruebas cromatográficas y espectroscópicas

6.1 Espectroscopía UV-Visible

Es una técnica instrumental que describe la interacción entre la radiación electromagnética y la materia. Cuando la radiación Ultravioleta-Visible del espectro incide sobre un compuesto, si esta tiene la energía adecuada, será absorbida por dicho compuesto y se producirá la promoción de un electrón a un nivel de energía superior. Las pruebas se realizaron con un Espectrofotómetro UV-visible. Para la determinación de la longitud de onda de los estándares (*trans*-anetol y *p*-anisaldehído) se realizó un barrido espectral a un rango de 200-400 nm; para lo cual se preparó una solución de 0,1 µL/10 mL de *trans*-anetol y 0,1 µL/10 mL de *p*-anisaldehído. Para esta prueba se utilizó como referencia el libro de los Principios del Análisis Instrumental¹³.

6.2 Cromatografía en capa fina

El sistema de solventes usado para el análisis y la comparación directa de los compuestos fue hexano-diclorometano (15:3). Se expusieron las cromatoplasmas a luz ultravioleta

a 254 nm como método de detección, y se utilizaron mezclas de ácido sulfúrico con vainillina para revelar. Para la separación del destilado alcohólico se utilizó una cámara cromatográfica elaborada por los autores. Como fase estacionaria se utilizaron placas de silicagel, y como fase móvil se utilizaron dos mezclas de eluyentes de diferentes polaridades: hexano:diclorometano (15:3) y tolueno:acetato de etilo (93:7), y a diferentes proporciones. Para esta prueba se utilizó como referencia el artículo sobre la Extracción y caracterización de aceite esencia de *P. anisum* L.².

6.3 Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

La fase móvil fue preparada mezclando metanol y agua en gradiente (50:50; 95:5), luego se filtró en una membrana de fina porosidad y posteriormente se desgasificó. Para las soluciones de trabajo primero se prepararon los estándares en una solución metanol:agua (50:50). Se midió un volumen conocido de solución estándar, fue colocado en un matraz aforado de 10 mL, se adicionó metanol hasta aforo, y finalmente se filtró en una membrana de 0,45 µm. A continuación, se preparó la muestra en una solución metanol:agua (50:50). Se transfirió aproximadamente 1 mL de muestra en una fiola de 10 mL, y se aforó con la solución preparada (metanol:agua) hasta completar el volumen. Finalmente, se filtró en una membrana de 0,45 µm. Para esta prueba se utilizó como referencia el artículo sobre el Aislamiento e identificación de *trans*-anetol en el aceite esencial de *P. anisum* L.¹⁴.

6.4 Cromatografía gaseosa con detección de masas (GC-MS)

El análisis cromatográfico se realizó con un cromatógrafo de marca Perkin Elmer, con detector FID y MS, y con una columna capilar SPD 20. La temperatura de la columna fue de 45°C/3°C, la temperatura de inyección de 250°C y la temperatura de detección de 300°C (en el detector de conductividad térmica FID). Las muestras se prepararon en una solución de hexano, un volumen de 5 µL en 10 mL de solvente, y luego se filtraron. Para esta prueba se utilizaron como referencia los artículos sobre la extracción y caracterización de aceite esencial de *P. anisum* L.² y sobre la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *P. anisum* L.¹⁵.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos que se presentan a continuación son resultado de las pruebas experimentales realizadas por los autores. La discusión se hace en base a la información obtenida y procesada a partir de dichos datos.

1. Pruebas cualitativas

1.1 Análisis sensorial

Según las pruebas realizadas, el destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple es incoloro y líquido cristalino, de sabor ácido ligeramente dulce y con olor ligeramente a anís. En la tabla 3 se muestran los resultados del análisis sensorial del destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple.

Tabla 2. Resultados del análisis sensorial.

Variable	Resultado
Color	Incoloro cristalino
Sabor	Ácido, ligeramente dulce
Olor	Aromático, ligeramente a anís
Estado físico	Líquido cristalino

1.2 Marcha fitoquímica

En la tabla 4 se muestran los resultados de la marcha fitoquímica realizada en el destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple. No se ha evidenciado la presencia de fenoles, esteroides y terpenos, lactonas ni sesquiterpenlactonas.

Tabla 3. Resultados de la marcha fitoquímica.

Variable/Muestra	M1	M2	M3	M4	M5	
Insaturaciones y carbonilos	KMnO ₄	+	+	+	+	+
	2,4-dinitrofenilhidracina	+	+	+	+	+
Fenoles	Prueba de FeCl ₃	-	-	-	-	-
	Lieberman Burchard	-	-	-	-	-
Esteroides y terpenos	Salkowski	++	++	+	++	+++
	Cumarinas	-	-	-	-	-
Lactonas	Wagner	-	-	-	-	-

Leyenda: (-) ausencia, (+) poca presencia, (++) moderada presencia, (+++) elevada presencia.

2. Pruebas físicas

2.1 Grado alcohólico

El grado alcohólico del destilado de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de 60 a 61,9° con una varianza de 0,10 a 1,08%, lo cual indica que está dentro del rango estandarizado por la empresa (60-62°) para ser utilizado como materia prima en la producción de sus tres tipos de anisados; y que por lo tanto, evitará una variación del porcentaje de alcohol del producto final.

2.2 Densidad

La densidad del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de 0,907 a 0,911 g/mL. El rango obtenido es menor a la densidad del aceite esencial y mayor a la del etanol debido a que es un destilado de un macerado de anís verde (aceite esencial) con aguardiente (etanol y agua)⁷.

2.3 Índice de refracción

El índice de refracción del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de 1,3622. Este valor indica que la muestra posee pocos componentes aromáticos, a diferencia de la alta presencia de estos en el aceite esencial de anís verde (*P. anisum* L.)⁸.

2.4 Punto de congelación

El punto de congelación del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue menor a -10°C , debido a que el etanol tiene un punto de congelación inferior a -110°C . Según la solubilidad, el punto de congelación varía; es decir, a menor grado de alcohol mayor punto de congelación. A partir de 17°C empieza a cambiar su color, de incoloro a blanco lechoso. El punto de congelación es importante debido a la inestabilidad del *trans*-anetol a temperaturas inferiores a 15°C , pues a partir de esta temperatura el aceite esencial empieza a solidificarse⁹.

2.5 Punto de ebullición

En la destilación simple la temperatura de ebullición fue de 78 a 91°C según el sensor de temperatura del alambique utilizado. El punto de ebullición del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de 85 a 87°C , rango que permitirá estandarizar la temperatura de operación del equipo para obtener el destilado con las características deseadas.

En la tabla 5 se muestran los resultados de las pruebas físicas realizadas a las muestras de destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple.

Tabla 4. Resultados de la marcha fitoquímica.

Variable	Resultado
Grado alcohólico	60 – 61,9 °G.L.
Densidad	0,907-0,911 g/mL
Índice de refracción	1,362 – 1,363
Punto de congelación	Menor a -10°C
Punto de ebullición	85 - 87°C

3. Pruebas químicas

3.1 Acidez

El destilado alcohólico de anís verde en grano, obtenido por destilación simple, tuvo una acidez de $5,138$ mg/100 mL de alcohol anhidro. Este valor se debe a la oxidación del etanol a acetaldehído, y luego a ácido acético. La acidez del destilado aumenta por la presencia de otros ácidos, como el ácido ftálico (pruebas GC-MS). Por otro lado, el *trans*-anetol se oxida a un aldehído catalizado por oxidantes fuertes, y es posible que esta reacción se dé hasta la obtención de ácido anísico¹¹. La acidez es importante porque influye directamente en el tiempo potencial de almacenamiento del destilado para ser usado como insumo en la elaboración de bebidas alcohólicas, esto se ha comprobado por las determinaciones de acidez que hace periódicamente la industria licorera donde se realizó el trabajo.

3.2 Índice de ésteres

El destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple tiene $27,05\%$ de contenido de ésteres. Este porcentaje representa principalmente ésteres aromáticos,

como acetato de etilo, y otros ésteres que fueron determinados en las pruebas GC-MS. La presencia de ésteres en el destilado se debió a la oxidación de alcoholes a aldehídos, y de estos a ácidos. Para aceites esenciales no existe un parámetro establecido debido a que varía de acuerdo al tipo y especie 16.

4. Pruebas espectroscópicas y cromatográficas

4.1 Espectroscopía UV-Visible

En la tabla 6 se muestra la curva de calibración de los estándares.

Tabla 5. Curva de calibración de estándares.

Estándar	Diluciones		Curva de calibración
	Concentración (mg/L)	Absorbancias	
<i>trans</i> -anetol	0,123	0,080	
	0,246	0,136	
	0,492	0,231	
	0,984	0,436	
	1,230	0,572	
<i>p</i> -anisaldehído	0,615	0,027	
	1,23	0,054	
	2,46	0,127	
	4,92	0,228	
	9,84	0,496	

En la tabla 7 se muestran los resultados de las pruebas de Espectroscopía UV-visible que se realizaron a las muestras, a partir los cuales se pudo afirmar que el destilado presenta mayor concentración de *p*-anisaldehído que de *trans*-anetol.

Tabla 6. Resultados de la absorbancia del destilado simple.

Pruebas	<i>trans</i> -anetol [mg/L]	<i>p</i> -anisaldehído [mg/L]
P1	1,16	3,98
P2	1,24	4,22
P3	1,08	4,16
P4	1,16	4,50
P5	2,21	5,12

4.2 Cromatografía en capa fina

Primero se realizaron pruebas preliminares, en las cuales se obtuvieron las siguientes relaciones de frente (Rf): 0,45 para el estándar de *trans*-anetol (STD1), y 0,12 para el estándar *p*-anisaldehído (STD 2). Se utilizó una proporción de hexano:diclorometano (15:3) y de tolueno:acetato de etilo (93:7). A partir de las Rf preliminares se obtuvieron las Rf de las muestras y los estándares mostrados en la tabla 8.

Tabla 7. Promedio de Rf de las muestras y los estándares.

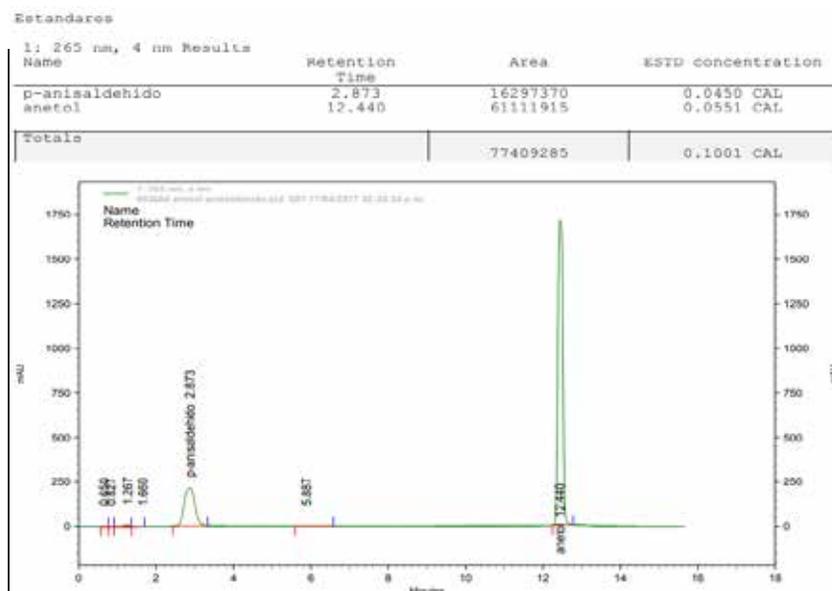
Fase móvil	Estándar		Muestra
Hexano:diclorometano	STD1	0,86	0,86
	STD2	0,50	0,00
Tolueno: Acetato de Etilo	STD1	0,51	0,48
	STD2	0,26	0,00

Las Rf obtenidas indicaron que el destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple presenta *trans*-anetol, y que el *p*-anisaldehído no se percibió en las placas; es decir, existe *p*-anisaldehído pero en trazas, lo cual se comprobó en las pruebas de HPLC y GC-MS descritas líneas abajo.

4.3 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

4.3.1 Corrida de estándares

Los estándares *trans*-anetol y *p*-anisaldehído fueron absorbidos a 265 nm. El *p*-anisaldehído tuvo un tiempo de retención de 2,873 min y el *trans*-anetol de 12,440 min. El pico para el *trans*-anetol es bien definido y de mayor longitud como se puede observar en la figura 1.

Figura 1. Corrida de *trans*-anetol y *p*-anisaldehído por HPLC.

4.3.2 Corrida de muestras

A partir de la corrida de estándares se realizó la corrida de las muestras, como se puede observar en la figura 2, obteniendo como resultado que el destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple posee un 0,1104% de *trans*-anetol. No se detectó la presencia de *p*-anisaldehído.

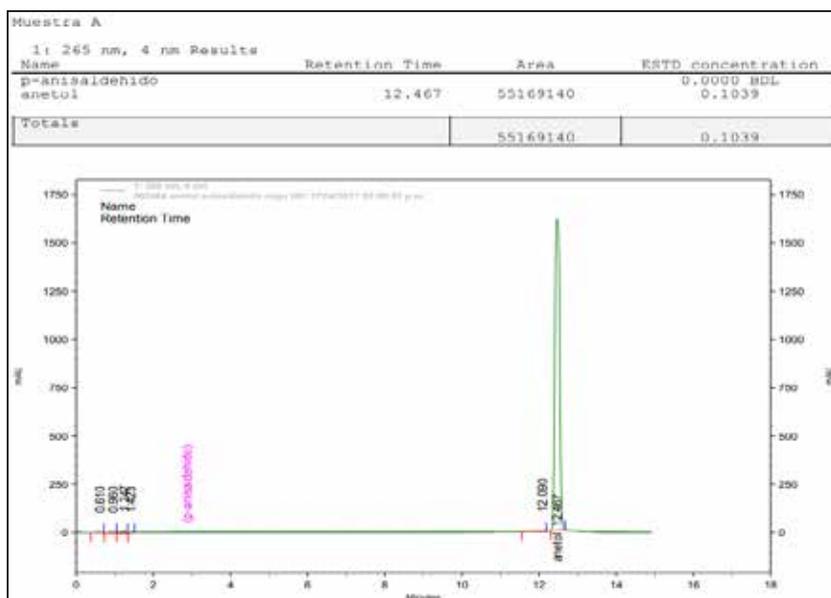


Figura 2. Corrida de muestras por HPLC.

4.4 Cromatografía gaseosa con detección de masas (GC-MS)

En la tabla 9 se muestran los resultados de la prueba de GC-MS, habiendo detectado cuatro (04) componentes (figura 3) en el destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple.

Tabla 8. Resultados de las pruebas de GC-MS.

Fase móvil	Tiempo de retención (min)	Área (%)
Estragol	13,06	2,08
<i>trans</i> -anetol	14,63	92,7
1,4-metanocicloocta[d]piridacina	17,75	3,2
Acido ftálico, di-(1-hexen-5-il) éster	18,99	2,02

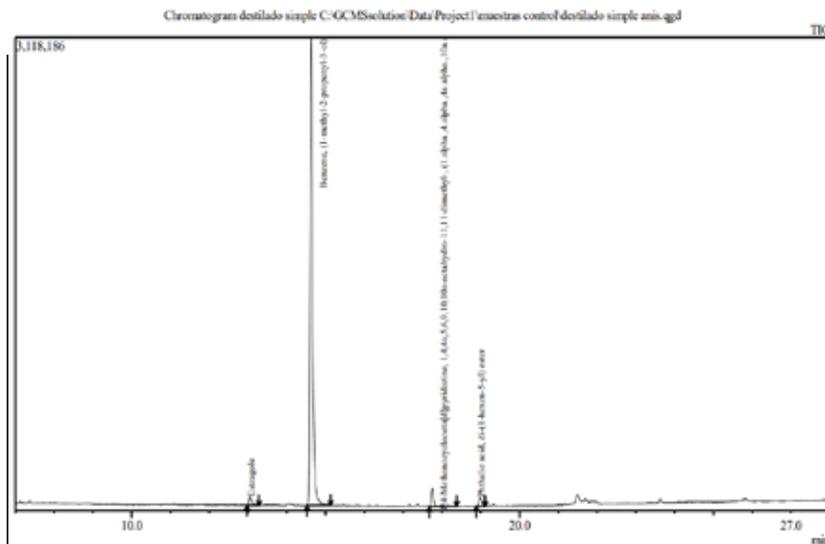


Figura 3. Cromatograma del destilado alcohólico obtenido por destilación simple.

CONCLUSIONES

Según las pruebas realizadas se concluyó que el destilado alcohólico de anís verde, obtenido por destilación simple, tuvo un grado alcohólico elevado adecuado para el tipo de bebida alcohólica que se produce en la empresa, al igual que su densidad. Posee componentes aromáticos ideales y deseados para el producto final, sin embargo, estos pueden concentrarse más si se utiliza otro tipo de destilación, como la fraccionada o por arrastre de vapor. Al ser un destilado poco estable, el tiempo potencial de almacenamiento para ser usado como insumo es corto, lo que incrementa los costos de producción para la industria licorera. En general, las características del destilado son las adecuadas para la formulación de anisados y licores a base de anís, pero pueden mejorarse para reducir tiempos y costos operativos e incrementar la calidad del producto final.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a INNOVATE PERÚ por haber cofinanciado junto con la empresa Manuel Muñoz Najar S.A.C. Industria Licorera el proyecto Contrato N° 031-PITEI-2016, a partir del cual se realizó el presente trabajo. Agradecemos a todos nuestros familiares, amigos y compañeros de trabajo por el apoyo brindado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fondo Perú-Alemania [FPA]. Manual técnico: Cultivando el anís. Curahuasi, Apurímac, Perú: Municipalidad distrital de Curahuasi; 2013.
2. Trigo R, De Groot W, Medrano, Espinoza J. Extracción y caracterización del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L., producido en Bolivia. Agron Colomb. 2016; 34: S1447-S1449.
3. Norma Técnica Peruana 319.079.1974. Aceites Esenciales. Extracción de muestras. 1a. Edición. Extracción de muestras. Lima: INDECOPI; 2016.
4. Guía Técnica Colombiana 191. Metodología para el análisis sensorial descriptivo de bebidas alcohólicas. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación; 2010.
5. Quiñones Y. Análisis de los principios activos de especies mexicanas de anís y evaluación de su actividad biológica sobre microorganismos patógenos. [Tesis Doctoral]. Monterrey, México: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2011.
6. Norma Técnica Ecuatoriana 340. Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normas; 2011.
7. Norma Técnica Peruana NTP 319.081. Determinación de la Densidad Relativa. Lima: INDECOPI; 2016.
8. Norma Técnica Peruana NTP-ISO 280. Determinación de Índice de refracción. Lima: INDECOPI; 2016.
9. Norma Técnica Peruana NTP 319.082. Determinación de Punto de Congelación. Lima: INDECOPI; 2016.
10. Doria S, Mainero R. Experimentos de Química en microescala. México: Universidad Iberoamericana; 2019.
11. Norma Técnica Peruana NTP 319.085. Determinación de Índice de acidez. Lima: INDECOPI; 2016.
12. Norma Técnica Peruana NTP 319.088. Determinación del índice de ésteres. Lima: INDECOPI; 2016.
13. Skoog DA, Holler FA, Crouch SR. Principles of Instrumental Analysis. Boston, USA: Cengage Learning; 2016.
14. Mohammed M. Isolation and identification of anethole from *Pimpinella anisum* L. fruit oil. An antimicrobial study. J Pharm Res. 2009; 2(5): 915-919.
15. Pino O, Sánchez Y, Rojas M, Abreu Y, Correa T. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L. Rev Protección Veg. 2012; 27(3): 181-187.
16. Vásquez Rojas I. Determinación de acetato de etilo en bebidas alcohólicas d Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2013.