

AUTORES
AUTHORS

✉ **Msc. Blanco Idania**¹
Redondo Delfa¹
Ribas Mauricio¹
Dr. Queris Oscar²

¹ Instituto Cubano de Investigaciones de los
Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).

Vía Blanca 804, esq. Carretera Central,

POBox: 4026, San Miguel del Padrón, Ciudad de La Habana, Cuba,
e-mail: idania.blanco@icidca.edu.cu

² Instituto de Investigaciones de la Industria Alimenticia (IIIA)

RESUMEN

El sistema de quemado, tradicionalmente empleado en tonelería, favorece ciertas reacciones de pirólisis en su superficie. Tras este tratamiento la madera sufre un proceso de termodegradación y da lugar a la formación de diferentes compuestos. Algunos de estos compuestos, van a influir sobre las características organolépticas y aromáticas de las bebidas envejecidas en madera de roble.

El objetivo de este trabajo es establecer las mejores condiciones para el tratamiento térmico de las virutas de roble y así lograr las mayores concentraciones de fenoles (vainillina y siringaldehído) en los extractos de aguardientes con la consiguiente disminución del tiempo de envejecimiento de los rones, utilizando la cromatografía HPLC para la determinación de los mismos.

Un procedimiento que incluye el tratamiento térmico (quemado directo) de las virutas de roble para la obtención de extractos de aguardientes fue utilizado. Los datos experimentales fueron analizados mediante un diseño de experimento compuesto central.

Del diseño estudiado se concluye que las mejores condiciones para el tratamiento térmico de las virutas, para lograr las mayores concentraciones de fenoles en los extractos de aguardientes son las siguientes: tiempo de quemado de la viruta: 10 minutos, tiempo de reflujo: 4 horas y a un grado alcohólico de 53.30°GL.

SUMMARY

The system of burning traditionally followed in coverage favours certain pyrolysis reactions on its surface. After this treatment, the wood suffers a thermodegradation process that leads to the formation of a variety of compounds. Some of them will influence in the organoleptic properties and aroma of the oak-aged beverage.

The aim of this paper is the establishment of the best conditions for the thermal treatment of oak chips for the obtainment of the highest phenol concentration (e.g. vainillin and syringaldehyde) by HPLC in further oak wood extracts with the concomitant time decrease of aging time for rums.

A procedure including oak chips direct burning for the preparation of oak wood extracts was applied. The experimental data was analyzed by means of a central composite experimental design.

From design results it can be concluded that the best conditions for burning treatment of chips aiming to maximize phenols in extract are: chips burning time 10 minutes; reflux time: 4 hours; ethanol degree: 53.30 °GL.

PALABRAS CLAVE
KEY WORDS

Compuestos fenólicos, extractos,
tratamiento térmico, cromatografía HPLC. /
phenolic compounds, heat treatment, HPLC

1. INTRODUCCION

Los compuestos polifenólicos agrupan un conjunto de sustancias que durante mucho tiempo se denominaron taninos, ya que no se conocía con suficiente precisión la naturaleza de las sustancias consideradas.

Las sustancias polifenólicas se encuentran muy difundidas en la naturaleza, tanto en el reino vegetal como animal. Dichos compuestos juegan un papel importante en los caracteres organolépticos o sensoriales de los alimentos, intervienen en el color, sabor (particularmente el sabor amargo), así como en la astringencia y el "cuerpo" de las bebidas.

Los polifenoles de las bebidas varían desde compuestos relativamente simples, hasta sustancias sumamente complejas, formadas durante el envejecimiento, así como otras sustancias extraídas por las bebidas de los barriles donde estas son almacenadas (MONEDERO, L. A.; 1995). Los fenoles pueden formarse durante varios estadios de la producción de bebidas alcohólicas (JOUNELA-ERIKSON Y COL., 1981)

En el sistema de quemado, tradicionalmente empleado en tonelería, se quema la masa interna de la madera y esto produce reacciones de pirólisis en su superficie. Tras este tratamiento la madera sufre un proceso de termo degradación y da lugar a la formación de distintas familias de compuestos. Así por un lado se va a producir una degradación térmica de los polioxidos con formación de aldehídos furánicos; por otro, y debido a la degradación térmica de la lignina van a aparecer distintos compuestos como son los fenoles volátiles, aldehídos, ácidos fenólicos y fenilcetonas. (MARTÍNEZ, J.C., 2001).

Algunos de estos compuestos van a influir sobre las características organolépticas y aromáticas de las bebidas envejecidas en madera de roble, como son los atributos de ahumado, picante o vainilla.

La existencia de aldehídos benzoicos como la vainillina y el siringaldehído, así como de aldehídos cinámicos como el coniferaldehído, en la madera de roble en su estado natural es conocida desde hace mucho tiempo (BLACK, R.A., 1953). Las concentraciones de estos aldehídos en madera de roble no quemadas son muy pequeñas.

Tras el tratamiento térmico de la madera, se comprobó que dicho proceso da lugar a la aparición de concentraciones apreciables de los aldehídos anteriormente mencionados.

El papel que desempeñan estos compuestos en las características organolépticas de las bebidas alcohólicas es muy conocido. Los intervalos de percepción olfativa determinados por BOIDRON Y COL. (1988) confirman las modificaciones que sufren las bebidas alcohólicas envejecidas en toneles de roble.

El resto de los aldehídos fenólicos presentan un carácter menos aromático por lo que van a influir en menor proporción en las cualidades organolépticas de estas bebidas alcohólicas. De todas formas, PUECH (1988) afirmó que se podía producir una transformación del siringaldehído en vainillina en el caso de los aguardientes por lo que la presencia del siringaldehído tendría más importancia de la que a priori se esperaba.

BOIDRON Y COL. (1988) detectaron en bebidas

alcohólicas criadas en toneles nuevos, un importante aporte de aldehídos aromáticos, fundamentalmente vainillina y siringaldehído. Con toneles usados las concentraciones cedidas desde la madera son más pequeñas.

Hasta el momento no se conocen bien los mecanismos de formación de estos productos. Estos podrían ser a la vez de origen bioquímico (biodegradación de la lignina por la acción de enzimas de origen fúngico y eventualmente microbianas), químico (hidroalcoholisis y acidólisis) y físico (hidrotermólisis durante el cintrado de las duelas y pirólisis directa durante su quemado), por lo que resulta muy importante el tratamiento previo al que haya sido sometido la madera y el modo de construcción de los toneles, ya que esto condicionará el mayor o menor contenido en compuestos extraíbles que puede tener dicha madera (CHEN, C.LY COL. 1985).

En el proceso de envejecimiento de las bebidas alcohólicas destiladas almacenadas en barriles de madera de roble, se produce una difusión a partir de la madera de los compuestos extraíbles, como son los taninos, aldehídos furánicos y fenólicos, etc., los cuales por procesos oxidativos y de descarboxilación dan lugar a ácidos y otros polifenoles. (VÁZQUEZ, M.A.; 2003).

Como ya se comentó anteriormente el tratamiento térmico al que está sometida la madera a la hora de construir el tonel, influirá notablemente en el contenido de aldehídos aromáticos del vino a envejecer. Esto es demostrado por CHATONNET Y COL. (1993), Blanco I. (2004) tras el estudio de la incidencia del quemado sobre la formación de aldehídos fenólicos.

Por esta razón el objetivo de este trabajo es establecer las condiciones para el tratamiento térmico controlado de las virutas de roble y lograr las mayores concentraciones de fenoles (vainillina y siringaldehído) en los extractos de aguardientes con la consiguiente disminución del tiempo de envejecimiento y el mejoramiento de la calidad de los rones.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación de los extractos de roble

Para la preparación de los extractos de roble fue utilizada viruta de roble americano (*Quercus alba*). La viruta fue tamizada para garantizar regularidad en su tamaño.

La viruta seleccionada fue sometida a un proceso de quemado directo, previamente rociada con alcohol, a tres tiempos de quemado diferentes (5, 10 y 15 minutos), lo cual fue relacionado a un quemado ligero, medio y fuerte.

El extracto se logró por ebullición con reflujo total y en relación en peso 1:10 (viruta:aguardiente de caña). Para los distintos extractos se utilizaron aguardientes a tres grados alcohólicos (55; 57,5; 60°GL). Al final la muestra se filtró para separar la viruta.

2.2 Método analítico

Las sustancias patrones que se utilizaron fueron el siringaldehído de la firma SERVA y la vainillina de la firma

ANALAR, se disolvieron en la mezcla terciaria ácido sulfúrico/metanol/propanol (180/30/5 v/v).

Para la determinación de fenoles por HPLC se utilizó un cromatógrafo líquido KNAUER con una columna Hypersil 5 ODS (250 mm; 4,6 mm d.i., 5m) la determinación se realizó de forma isocrática con una fase móvil de ácido sulfúrico/metanol/propanol (180/30/5) a un flujo de 1 mL/min., utilizando un lazo de 20 L y se realizó la detección a una longitud de onda de 280 nm.

Los cromatogramas fueron procesados en el software BioCrom.

Las muestras se filtraron por una membrana de 0,45m de tamaño del poro y se inyectaron al cromatógrafo.

Las soluciones estándar de calibración utilizadas para la cuantificación consistieron en una mezcla de vainillina, siringaldehído en un rango de concentraciones de 0.1145-0.01145, 0.2391-0.02391 mg/mL respectivamente disuelta en la fase móvil.

2.3 Diseño de experimento

Para el análisis del comportamiento de los fenoles en los extractos de aguardiente estudiado se procesaron los datos

experimentales mediante un análisis de regresión múltiple por el sistema computacional STATISTICA versión 5.

Primeramente se trabajo con un diseño factorial 23 con tres variables independientes a dos niveles cada una. A este diseño se le adicionó las réplicas en el punto central para obtener una estimación del error.

Para cada una de las condiciones experimentales se tomaron dos observaciones provenientes de una misma muestra. Se observo la necesidad de incorporar puntos experimentales axiales para obtener un diseño compuesto central que nos permitiera estudiar a profundidad la curvatura de la región experimental.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis de los compuestos estudiados por cromatografía líquida se obtuvo una resolución de línea base para cada compuesto como puede observarse en la figura I. Estos compuestos fueron eluidos a un tiempo de 40 min. La figura II muestra un cromatograma típico de un extracto de roble.

Tabla 1 Resultados experimentales del diseño para la vainillina y el siringaldehído

M	TIEMPO QUEMADO (min.)	TIEMPO REFLUJO (h)	GRADO INICIAL (°GL)	VAINILLINA *10 ³ (mg/L)	SIRINGALDE HÍDO *10 ³ (mg/L)
1	10.00	4.00	57.50	0.0054	0.0241
2	10.00	4.00	57.50	0.0054	0.0241
3	10.00	0.64	57.50	0.0056	0.0261
4	15.00	6.00	60.00	0.0011	0.0155
5	5.00	2.00	60.00	0.0045	0.025
6	5.00	6.00	55.00	0.0032	0.0245
7	1.59	4.00	57.50	0.002	0.0185
8	10.00	4.00	57.50	0.0055	0.0239
9	5.00	6.00	60.00	0.0012	0.0234
10	15.00	2.00	60.00	0.0026	0.0168
11	15.00	6.00	55.00	0.003	0.0175
12	10.00	4.00	57.50	0.0054	0.0236
13	10.00	4.00	57.50	0.0054	0.0241
14	15.00	2.00	55.00	0.0034	0.018
15	18.41	4.00	57.50	0.0005	0.007
16	10.00	4.00	53.30	0.0058	0.0264
17	10.00	7.36	57.50	0.0027	0.0239
18	5.00	2.00	55.00	0.0054	0.026
19	10.00	4.00	61.70	0.0032	0.0244
20	10.00	4.00	57.50	0.0054	0.0243

Figura I Cromatograma de la mezcla patrón de los compuestos fenólicos. Determinación por HPLC.

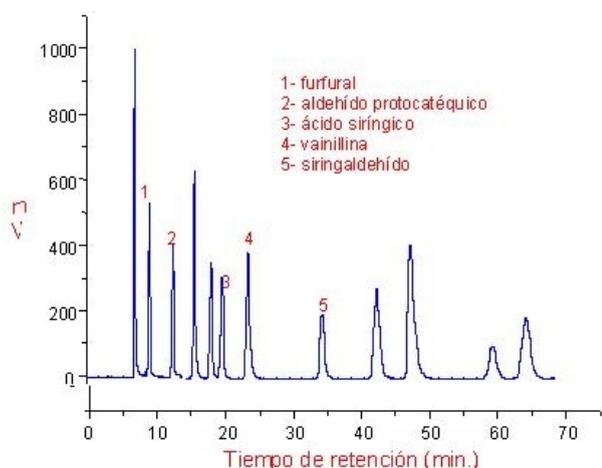
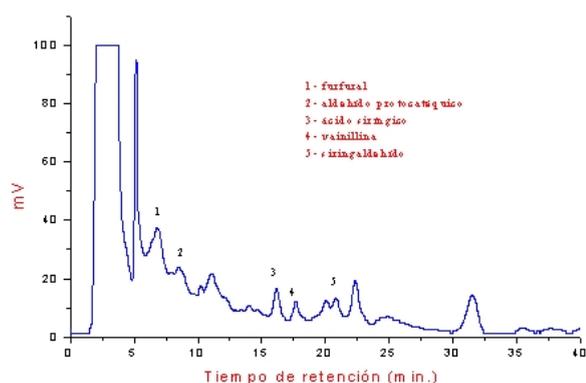


Figura II Cromatograma típico de un extracto de roble. Determinación por HPLC



El cromatograma resultante de la mezcla de los patrones en estudio demostró un alta resolución para todos los picos con tiempos de retención perfectamente definidos para cada uno de ellos. Por otra parte los cromatogramas de las muestras de extractos de roble permitieron una evaluación

clara para la vainillina y el siringaldehído.

En la tabla 1 se reportan los resultados experimentales de la concentración de los fenoles encontrados en los extractos de roble, así como el diseño de las variables estudiadas para los diferentes experimentos.

Para analizar el comportamiento de los fenoles en los extractos de aguardientes se realizó un diseño de experimentos compuesto central 23, con 6 puntos axiales y 6 centrales para un total de 20 corridas experimentales. Los resultados se obtuvieron mediante un análisis de regresión múltiple por el sistema computacional STATISTICA 6.0 versión 5. Se utilizó el método de selección paso a paso para elegir los términos que entran en el modelo, cada término que se incorpora al mismo tiene un efecto importante sobre el aumento del coeficiente de determinación R2.

Las variables dependientes que se analizaron fueron las concentraciones de los fenoles (vainillina y siringaldehído) expresadas en mg/L y 3 variables independientes (grado alcohólico inicial, tiempo de quemado de la viruta y temperatura de reflujo).

A continuación aparecen los modelos de regresión múltiple cuadráticos que mejor describieron la relación de las variables dependientes e independientes estudiadas:

Como puede observarse para las dos variables estudiadas al ajustarse los dos modelos cuadráticos se obtuvieron coeficientes de correlación o variación bajos y se pudo explicar alrededor del 95 al 99 % de la varianza total de los datos. Se debe aclarar que en las ecuaciones ajustadas los términos en color rojo representan los factores con efectos significativos y el signo de cada factor nos da una idea de su comportamiento.

Para el análisis del comportamiento de las variables dependientes en estudio se tomo la ecuación de ajuste del modelo para cada caso y se obtuvieron los graficos de las superficies de respuestas.

En el gráfico 1 se presenta la evolución de la vainillina y el siringaldehído observandose las condiciones de trabajo de las variables estudiadas para obtener las mayores o menores concentraciones de los dos compuestos anteriormente mencionados, lo cual se resume en la tabla 2.

Ecuación 1 del modelo ajustado para la vainillina:

Variable: VAINILLINA; R² = 0,95994; Radj = 0,94145; C.V.=4.7%

3 factores, 1 Bloques, 20 Corridas; MS Residual = 0,1796876

$$\text{Vainillina} = -168,18 + 1,1 * X_1 - 0,06 * (X_1)^2 + 0,50 * X_2 - 1,19 * (X_2)^2 + 6,15 * X_3 - 0,056 * (X_3)^2$$

Ecuación 2 del modelo ajustado para el siringaldehído:

Variable: SIRINGALDEHÍDO; R² = 0,99648; Radj = 0,99486; C.V.= 0,6%

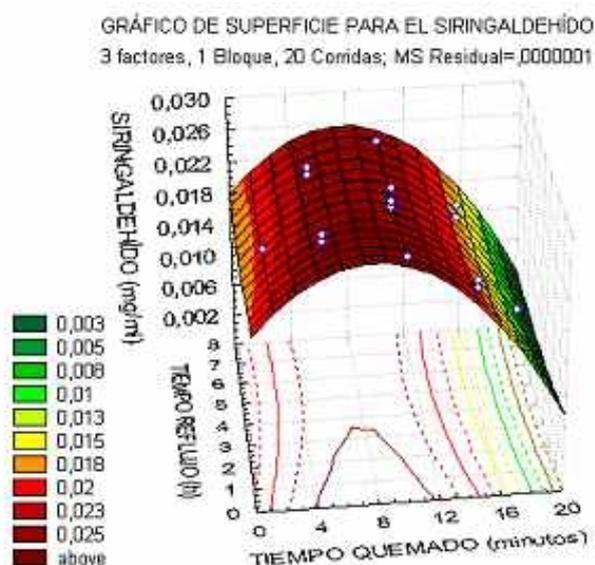
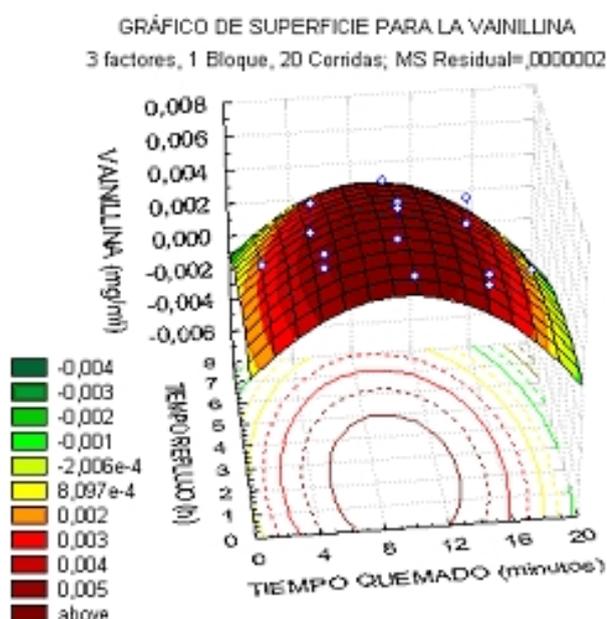
3 factores, 1 Bloques, 20 Corridas; MS Residual = 0,1205408

$$\text{Siringaldehído} = 287,99 + 2,45 * X_1 - 0,16 * (X_1)^2 - 0,997 * X_2 + 0,085 * (X_2)^2 - 9,135 * X_3 + 0,077 * (X_3)^2$$

Tabla 2 Comportamiento de las variables contra los valores máximo y mínimos de concentración de la vainillina y el siringaldehído.

TIEMPO QUEMADO (min.)	TIEMPO REFLUJO (h)	GRADO INICIAL (°GL)	VAINILLINA (mg/L)	SIRINGALDEHÍDO (mg/L)
18.41	4.00	57.50	0.5	7.0
10.00	4.00	53.30	5.8	26.4

Gráfico 1 y 2 Evolución de la Vainillina y el Siringaldehído en función del tiempo de quemado de la madera.



De los resultados de la tabla 2 se observa que las mayores concentraciones corresponden al siringaldehído el cual es resultante de un proceso oxidativo del alcohol siringico proveniente de la lignina de la madera.

Uno de los compuestos fenólicos que más aporta al aroma de las bebidas alcohólicas es la vainillina la cual posee propiedades organolépticas importantes que definen la calidad de las bebidas (BOIDRON Y COL., 1988) por lo que debemos trabajar en función de obtener la mayor concentración de este compuesto, para mejorar la calidad de los rones. En este trabajo se obtuvo la mayor concentración (5.8 mg/L) de la misma al someter a la madera a un quemado medio durante 10 minutos (Tabla 2).

Se aprecia un aumento creciente en la concentración de los aldehídos, al aumentar el tiempo de quemado, alcanzándose los máximos valores con 10 minutos de quemado.

Esta conducta era de esperar, ya que estos aldehídos se forman tras la degradación de la lignina, fenómeno que se produce fundamentalmente por acción del calor. Además, hay un cambio en la estructura de la madera que permitirá la cesión de estos aldehídos desde la madera al aguardiente. Pero si la temperatura de tratamiento es demasiado elevada, la degradación de la madera y por tanto la lignina que la compone será excesiva, dando lugar a la aparición de compuestos químicos mucho menos reactivos, y a la destrucción masiva de los mencionados aldehídos.

Este fenómeno suele ocurrir en el caso donde la viruta se quemó hasta un tiempo excesivo de 18.41 minutos (punto axial) donde se aprecia una disminución considerable reportándose el menor valor encontrado en las muestras analizadas para los dos compuestos fenólicos en estudio.

4. CONCLUSIONES

1. Para las dos variables estudiadas, la vainillina y el siringaldehído se ajustaron los dos modelos cuadráticos con altos valores de coeficientes de correlación R² y bajos coeficientes de variación.

VAINILLINA	
R ² = 0.9599	C.V. = 4.70
SIRINGALDEHÍDO	
R ² = 0.9964	C.V. = 0.6

2. Para el análisis del comportamiento de las variables dependientes en estudio respecto a las variables independientes se tomo la ecuación de ajuste del modelo para cada caso y se obtuvieron los gráficos de las superficies de respuestas, llegando a los siguientes resultados:

TIEMPO QUEMADO (min.)	TIEMPO REFLUJO (h)	GRADO INICIAL (°GL)	VAINILLINA (mg/L)	SIRINGALDEHÍDO (mg/L)	
18.41	4.00	57.50	0.5	7.0	Valor Mím.
10.00	4.00	53.30	5.8	26.4	Valor Máx.

3. Del diseño estudiado se concluye que las mejores condiciones para el tratamiento térmico de las virutas, para lograr las mayores concentraciones de fenoles en los extractos de aguardientes son las siguientes: tiempo de quemado directo medio de la viruta: 10 minutos, tiempo de reflujo: 4 horas y a un grado alcohólico de 53.30°GL.

5. REFERENCIAS

BLACK, R. A.; ROSEN, A. A.; ADAMS, S. H. The chromatographic separation of hardwood extractive components living color reaction with phloroglucinol. *J. Am. Chem. Soc.* n. 75, p. 5344-5346, 1953.

BLANCO, I. Estudio del tratamiento térmico de las virutas de roble en la elaboración de extractos para la producción de rones. Tesis de Maestría en Ingeniería Alimentaria. Facultad de Ingeniería Química. CUJAE, 2004, p. 91

BOIDRON, J. N.; CHATONNET, P; PONS, M. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Conn. Vigne. Vin.*, v. 22, n. 4, p. 275-294, 1988.

CHATONNET, P; BOIDRON, J. N.; DUBOURDIEU, D. Martrise de la chauffe du brulage en tinellerie. Aplication a la vinification et a l'elevage de vins en barriques. *Tonellerie.*, n. 144, p. 1-13, 1993.

CHEN, C. L.; CHANG, H. M. Chemistry of lignin biodegradation . In *Biosynthesis and biodegradation of wood components*. Ed. Academy Press Pub., 1985, p. 535-556.

JOUNELA-ERIKSON, P; LEHTONE, M. Phenols in the aroma of distilled beverages. Ed. Academy Press, Inc., Finland, 1981

MARTÍNEZ, J.C. Perfeccionamiento de la producción de rones evaluando el contenido de lactonas y fenoles en extractos de roble mediante técnicas cromatográficas. Tesis de Grado de Licenciatura Química, Universidad de La Habana. Cuba, 2001, p. 70

Monedero, L. A. Influencia del envejecimiento acelerado sobre el contenido polifenólico en vinos sometidos a crianza oxidativa. Tesis de grado de Licenciatura en Farmacia, Universidad de Granada, España, 1995, p. 60

Puech, J. L.; *J. Sci. Food Agr.*, (42): 165-172, 1988.

Vázquez, M.A.; "Estudio de la variación de polifenoles en rones añejos producidos por combinación de añejamiento acelerado y clásico mediante cromatografía HPLC". *Memorias de TIPAL'2003*.