



Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1 (2): 170-183. Julio-Diciembre, 2010
http://www.rvcta.org
ISSN: 2218-4384 (versión en línea)
© Asociación RVCTA, 2010. RIF: J-29910863-4. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

Artículo

Cuantificación y comparación de sustancias marcadoras de envejecimiento de rones envejecidos aceleradamente y en barriles de roble (*Quercus humboldtii* Bonpland)

Quantification and comparison of ageing markers substances of accelerated aging rums and in oak (*Quercus humboldtii* Bonpland) barrels

Rafael E. **González**^{1*}, Luis C. **Baleta**²

¹Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Básicas.

km 1, vía Bucaramanga, Pamplona, Norte de Santander, Colombia.

²Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

km 1, vía Caño Limón, Arauca, Departamento de Arauca, Colombia.

*Autor para correspondencia: raemgo@hotmail.com

Aceptado 20-Diciembre-2010

Resumen

Las Sustancias Marcadoras de Envejecimiento son compuestos que determinan la calidad y autenticidad de las bebidas alcohólicas, dependiendo de la concentración en que se encuentren. En este trabajo se determinan dos: siringaldehído y vainillina que mayoritariamente se encuentran en las bebidas destiladas y envejecidas, teniendo una participación significativa en las características sensoriales de la misma. Las sustancias se cuantificaron por cromatografía líquida de alta eficiencia, en Rones Envejecidos Aceleradamente, utilizando extractos de virutas de roble a diferentes concentraciones y en rones nacionales con diferentes años de envejecimiento. La comparación entre las concentraciones se realizó por medio de la matriz de Análisis de Varianza (un factor), Análisis de Componentes Principales y Análisis de Conglomerados Jerárquico, encontrando que el Análisis de Varianza fue más sensible que el Análisis de Componentes Principales y Análisis de Conglomerados

Jerárquico; ya que con estos últimos no fue posible diferenciar entre las distintas categorías del ron (tiempos de envejecimiento). Se encontró que la técnica de envejecimiento utilizada no es capaz de disminuir el tiempo envejecimiento de la bebida, ya que se obtuvieron Ronces Envejecidos Aceleradamente con concentraciones diferentes a aquellos que permanecieron en los barriles durante 1, 3, 5, 8 y 12 años. Los rones de 8 y 12 años presentaron disminución de siringaldehído y vainillina; por tal motivo estos aldehídos no pueden ser considerados marcadores de envejecimiento en los rones analizados.

Palabras claves: barriles de roble, REA, siringaldehído, SME, análisis estadísticos en rones, vainillina.

Abstract

Ageing Markers Substances are compounds that determine the quality and authenticity of alcoholic beverages, depending on the concentration they are found. In this work are determinate two: syringaldehyde and vanillin mostly found in distilled ageing beverages, taking a majority participation in the sensory characteristics. These substances were quantified by high performance liquid chromatography in Accelerated Aging Rums, using different concentrations of extracts from oak chips and national rums with different aged years. The comparison between concentrations was done by Analysis of Variance (one way), Principal Components Analysis and Hierarchical Clusters Analysis, finding that Analysis of Variance was more sensitive than the Principal Components Analysis and Hierarchical Clusters Analysis; since the latter cannot differentiate between different categories of rum (ageing times). Was found that the ageing technique is not able to reduce ageing time of the drink, because Accelerated Aging Rums with different concentrations to other witch remained in barrels for 1, 3, 5, 8 and 12 years, were obtained. The rums with 8 and 12 years presented lower syringaldehyde and vanillin; for this reason these aldehydes may not be considered as ageing markers in the analyzed rums.

Key words: AAR, AMS, oak barrels, statistical analyses in rums, syringaldehyde, vanillin.

Nota de Consenso entre los Autores del Trabajo y el Editor de la Revista

El **abuso** en el consumo de bebidas alcohólicas vulnera la salud y bienestar social del consumidor; es causa de muerte prematura por enfermedades, afecciones, lesiones, accidentes de tránsito y violencia; crea dependencia habitual-compulsiva y repercute en la Sociedad en general.

INTRODUCCIÓN

El contenido de sustancias marcadoras de envejecimiento (SME) en bebidas alcohólicas destiladas envejecidas, es importante; ya que es considerado como un buen parámetro para señalar la calidad y autenticidad de estas bebidas (Chatonnet, 1991; Mangas *et al.*, 1996; Spillman, 1997; Batista de Aquino *et al.*, 2006); además, porque su

cuantificación durante el proceso de envejecimiento puede ser usada para estimar el tiempo requerido de envejecimiento de una bebida destilada, es decir, cuando sus concentraciones aumentan con el tiempo de envejecimiento (Bozhinov y Bekalov, 1983; Lo Coco *et al.*, 1995; Quesada-Granados *et al.*, 1996; Jaganathan y Dugar, 1999). Estos compuestos han sido estudiados en vinos, whisky y otras bebidas destiladas, pero pocos

estudios han sido publicados sobre rones.

Algunos de estos compuestos considerados marcadores de envejecimiento son aldehídos fenólicos tipo benzoico y cinámico, aldehídos furánicos (furfural y 5-hidroximetilfurfural) y cumarinas. Entre las cumarinas, la escopoletina principalmente se encuentra en mayor concentración en las bebidas alcohólicas destiladas envejecidas (Calderón-Jaimes, 2002). Como regla general, el siringaldehído y la vainillina son los compuestos predominantes en bebidas alcohólicas envejecidas (Yokoya, 1995); además la relación entre las concentraciones de estos dos compuestos ha sido utilizada como un indicador de la calidad de las bebidas espirituosas y envejecimiento genuino en madera (Delgado *et al.*, 1990).

En la actualidad los robles más utilizados para la crianza de aguardientes son los robles franceses (*Quercus sessilis* y *Quercus robur*) y el americano (*Quercus alba*). Las dos áreas más importantes que suministran madera, destinada a la fabricación de barriles son Europa y Estados Unidos (Mosedale *et al.*, 1999). Robles de otras áreas en el centro de Europa (Hungría, Rusia, Bélgica) y Colombia son utilizados para el envejecimiento o fermentación de algunas bebidas, pero hay poca información al respecto de este tipo de madera (Chatonnet, 1998; González *et al.*, 2008).

Por razones de rentabilidad se estudian alternativas de envejecimiento diferentes al tradicional uso de barriles de roble, intentando crear condiciones similares a las encontradas en las barricas. Una de estas técnicas consiste en adicionar virutas de roble americano a la bebida, para impartirle a esta el aroma y sabor característico, durante este proceso la bebida alcohólica es micro-oxigenada, motivo por el cual se presentan las reacciones de oxidación propias de este proceso, obteniendo una bebida similar a aquella envejecida en barriles (Garde-Cerdán y Ancín-Aspilicueta, 2006).

Esta técnica mayoritariamente usada, emplea extractos de madera de roble (Puech,

1987; Puech y Moutounet, 1992). Dichos extractos se preparan mediante cocción, infusión, percolación y maceración (Mangas *et al.*, 1996) de la madera que puede o no, haber sido sometida previamente a tratamientos físicos (como ultrasonido, presiones elevadas o tratamiento térmico) o químicos (con ácidos y bases).

Quesada-Granados *et al.* (2002) utilizaron la técnica de envejecimiento artificial, desarrollada por Monedero *et al.* (1998) y las compararon con las técnicas de envejecimiento tradicional mediante un análisis empleando técnicas estadísticas de redes neuronales. Este análisis lo basaron en la composición furánica y fenólica, encontrando pocas diferencias estadísticas entre las muestras, confirmando así la posibilidad de utilizar las técnicas de envejecimiento artificial para obtener un ron con características similares a aquellos rones envejecidos tradicionalmente.

La cromatografía líquida es usada normalmente como una técnica analítica para identificar y cuantificar los diferentes compuestos fenólicos (García-Parrilla *et al.*, 1997; Monedero *et al.*, 1998; Goldberg *et al.*, 1999; Rodríguez-Madrera *et al.*, 2003; Batista de Aquino *et al.*, 2006). Aunque cientos de compuestos han sido identificados en la madera de roble (Maga, 1984; Chatonnet, 1991), relativamente son pocos los que efectivamente son extraídos en cantidades significativas (Sefton *et al.*, 1993; Abbott *et al.*, 1995; Maga, 1996; Spillman, 1997).

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar y comparar las concentraciones de siringaldehído y vainillina (sustancias marcadoras de envejecimiento) en rones envejecidos aceleradamente (REA) usando virutas de roble colombiano (*Quercus humboldtii* Bonpland) con las encontradas en rones comerciales nacionales de distinto tiempo de envejecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras analizadas

Usando un muestreo de juicio se obtuvieron 29 muestras de rones con distinto tiempo de envejecimiento. 24 muestras correspondieron a rones elaborados en el Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad de Pamplona, Colombia, a partir de extractos de virutas de roble colombiano envejecidas durante seis meses; y las otras 5 muestras restantes a rones comerciales de diferentes fabricantes y con distinto periodo de envejecimiento (1, 3, 5, 8 y 12 años) adquiridos directamente de establecimientos comerciales. Las características de estos rones se muestran en el Cuadro 1.

Elaboración de los rones envejecidos aceleradamente (REA) a distintas concentraciones

Se escogieron las virutas de roble colombiano (*Quercus humboldtii* Bonpland) que presentaron un tamaño aproximado de 3-5 mm, previo lavado y secado de las mismas durante cinco semanas a temperatura ambiental. Este tamaño de viruta según estudios de Gimenez-Martinez *et al.* (1996) y Quesada-Granados (1993) es el apropiado para lograr una máxima extracción de compuestos fenólicos y furánicos, por parte del alcohol. Luego las virutas fueron sometidas a un tratamiento térmico a 180 °C/3 h (Monedero *et al.*, 1998) en un horno tostador Continental® Electric (modelo CE23521), con el fin de imitar el proceso de tostado del barril, para favorecer los procesos de termodegradación que ocurren en la madera.

Posteriormente se elaboraron los extractos con 2, 4, 6 y 8 g de viruta en 100 mL de destilado de caña a 60 °GL (Monedero *et al.*, 1998). A continuación, estos extractos fueron sometidos a un periodo de envejecimiento estático durante seis meses, en frascos de vidrio color ámbar en oscuridad a temperatura am-

biental (14 °C aproximadamente). Después de este periodo se obtuvieron finalmente los REA a distintos porcentajes (15, 30, 45, 60, 75 y 90 %), de cada macerado de distinta concentración de virutas.

Determinación y cuantificación de siringaldehído y vainillina. Análisis cromatográficos

Las muestras se analizaron por cromatografía líquida de alta eficiencia (high performance liquid chromatography – HPLC) en fase reversa, en un cromatógrafo líquido marca Agilent, modelo 1100 con bomba cuaternaria, columna Supelcosil® LC-18-DB de 25 cm x 4,6 mm, tamaño de partícula de 5 µm a 40 °C. Para la elución de los compuestos se empleó una fase móvil compuesta por dos solventes: fase móvil A compuesta por agua/ácido acético glacial (98/2) y una fase móvil B compuesta por metanol/agua/ácido acético glacial (70/28/2) (Batista de Aquino *et al.*, 2006) en gradiente con un flujo de solvente de 1,25 mL/min. Se utilizó un detector UV-VIS con arreglo de diodos y se cuantificó a una longitud de onda de 300 nm. En una fase preliminar los solventes fueron filtrados a través de un equipo de vacío con filtros de celulosa de 0,45 µm de tamaño de poro. Todos los solventes tenían pureza analítica para cromatografía líquida. La cuantificación de siringaldehído y vainillina se hizo conforme al método desarrollado por González *et al.* (2008).

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos se analizaron mediante el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versión 13.0 para Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, USA); utilizando Análisis de Varianza (ANOVA – un factor) para observar diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las medias de las SME de los rones comerciales y nacionales, utilizando la prueba de Diferencia

Cuadro 1.- Características de las muestras de rones nacionales.

Muestra	Abreviatura utilizada	Características
Nº 1 Ron	C1	Envejecido en barril de roble durante 1 año. Grado alcohólico: 40 % vol. Adquirido directamente en la fábrica.
Nº 2 Ron	C2	Envejecido en barril de roble durante 3 años. Grado alcohólico: 35 % vol. Adquirido en establecimiento comercial.
Nº 3 Ron	C3	Envejecido en barril de roble durante 5 años. Grado alcohólico: 35 % vol. Adquirido en establecimiento comercial.
Nº 4 Ron	C4	Envejecido en barril de roble durante 8 años. Grado alcohólico: 35 % vol. Adquirido en establecimiento comercial.
Nº 5 Ron	C5	Envejecido en barril de roble durante 12 años. Grado alcohólico: 40 % vol. Adquirido en establecimiento comercial.

Mínima Significativa (DMS). Asimismo, se utilizó el Análisis de Componentes Principales (ACP) como método de extracción por Varimax, que transforma la linealidad de un juego de variables en otro con menos variables (factores) que conservan toda la información del juego original (Harman, 1967), sumado al Análisis de Conglomerados Jerárquico (ACJ).

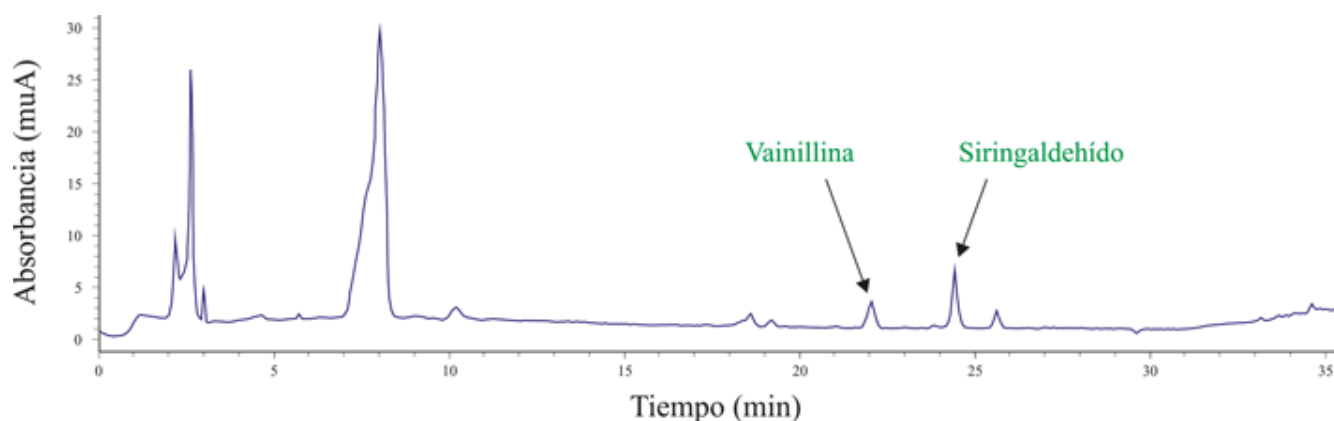
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparación entre rones nacionales y REA usando extractos de viruta de 2 g/100 mL de etanol

En los análisis cromatográficos efectuados a las muestras de rones nacionales (Fig. 1), se pudo observar la presencia de siringaldehído, vainillina y otros picos cromatográficos que indican la presencia de otros compuestos, que no son motivo de investigación en este trabajo pero que deberían ser abordados en trabajos futuros. En la Fig. 2a se ilustran las concentraciones de

siringaldehído y vainillina obtenidas por análisis HPLC de las muestras correspondientes a rones nacionales de 1, 3, 5, 8 y 12 años de envejecimiento y los REA en el laboratorio, utilizando extractos de viruta de 2 g/100 mL de etanol. Se puede observar que el siringaldehído se encontró presente en mayor concentración que la vainillina en todos los casos, tanto para los rones nacionales como para los REA; de igual manera se observa en los REA que al aumentar la concentración de extracto de viruta (15, 30, 45, 60, 75 y 90 %), aumenta la cantidad de SME.

Después de analizar los datos por ANOVA (un factor), se estableció que los rones nacionales de 1, 5 y 8 años de maduración presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con todos los REA, respecto a las concentraciones de vainillina que poseen ambos tipos de rones. Esta diferencia en el caso del ron nacional de 1 año, se originó por la concentración de vainillina (C1: 0,15 ppm) que es inferior a la de los REA los cuales tuvieron una concentración mínima de vainillina (2A:



muA: miliunidades de Absorbancia (adimensional) medidas a 300 nm.

Figura 1.- Cromatograma de una muestra de ron nacional.

0,30 ppm). Por otra parte la diferencia estadística mostrada por el ron nacional de 5 años de maduración se debió a que sus concentraciones de vainillina y siringaldehído no se lograron alcanzar con los REA utilizados en esta comparación.

Los únicos rones nacionales que presentaron similitudes en cuanto a las concentraciones de vainillina fueron los envejecidos durante 3 y 12 años (C2 y C5) y cabe destacar que en este último ron (12 años) se presentó un proceso de degradación para la vainillina. El ron de 3 años presentó igual concentración de este aldehído (C2: 0,30 ppm) a la del REA utilizando extracto de viruta de 2 g en una concentración de 15 % (2A: 0,30 ppm). En cuanto a las concentraciones de siringaldehído no se presentaron similitudes entre los rones nacionales y los REA usando extracto de viruta de 2 g.

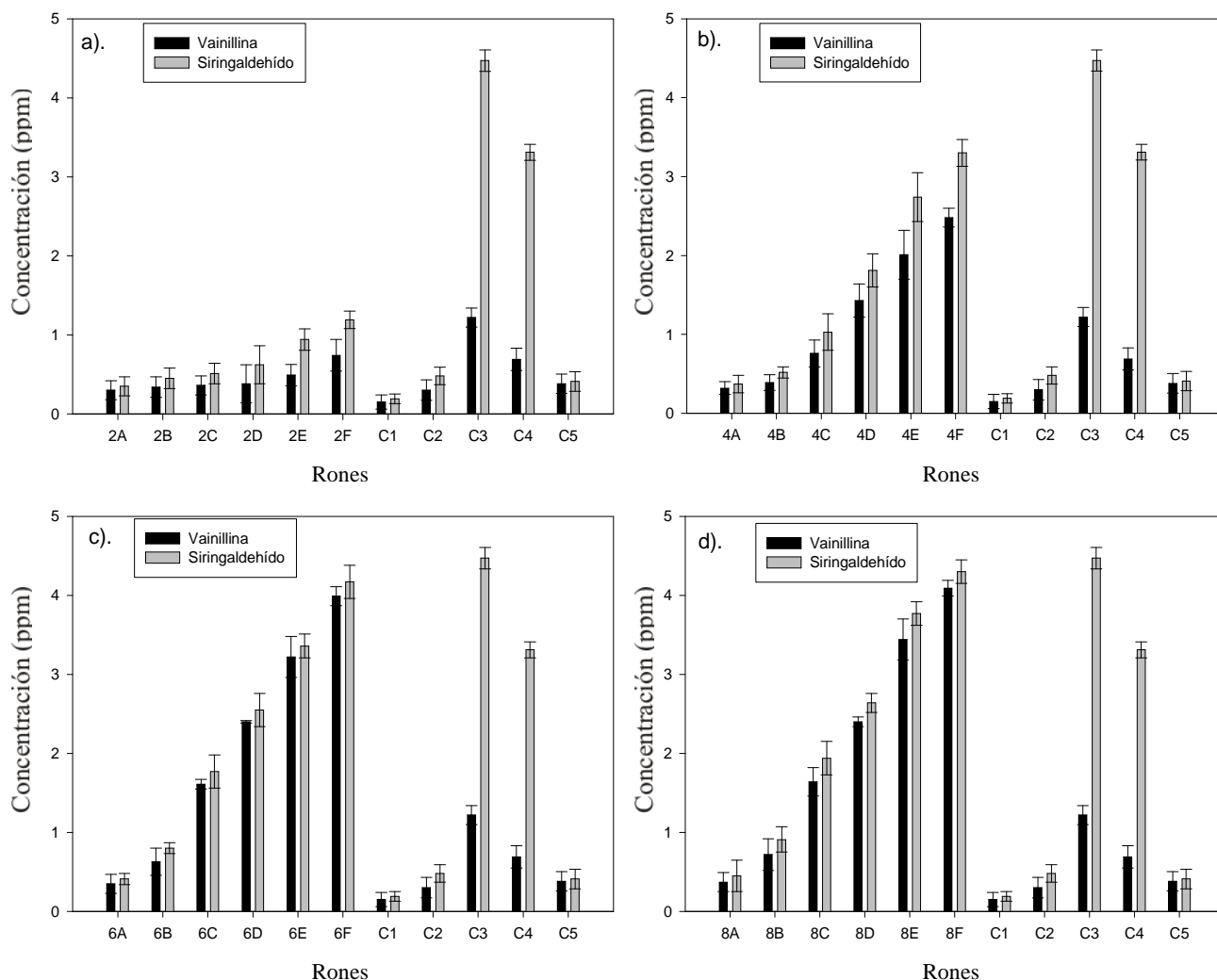
Comparación entre rones nacionales y REA usando extractos de viruta de 4 g/100 mL de etanol

En la Fig. 2b se pueden apreciar las concentraciones de siringaldehído y vainillina obtenidas por análisis HPLC de las muestras

correspondientes a REA en el laboratorio, utilizando extractos de viruta de 4 g/100 mL de etanol y los rones nacionales de 1, 3, 5, 8 y 12 años de envejecimiento.

Estos rones presentaron un comportamiento semejante a los REA del apartado anterior, ya que el siringaldehído se encontró presente en mayor concentración que la vainillina en todos los casos; de igual manera se observa en los REA que al aumentar la concentración de extracto de viruta (15, 30, 45, 60, 75 y 90 %), aumenta la concentración de SME; la máxima extracción en estos rones fue de 2,48 ppm para la vainillina y 3,30 ppm para el siringaldehído en el REA 4F.

En los rones nacionales se observó un gran incremento de SME cuando esta bebida pasa de 3 a 5 años de maduración, este incremento es realmente notorio para el siringaldehído. Al analizar los datos estadísticamente (ANOVA - un factor), el ron nacional de 1 año de envejecimiento presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de vainillina con todos los REA; esta disparidad obedece a la baja concentración de este aldehído (0,15 ppm) en la bebida. Los rones nacionales de 5 y 8 años (C3 y C4) de maduración presentaron de igual



La letra C corresponde a rones comerciales y los números al tiempo de envejecimiento así: 1 a 1 año, 2 a 3 años, 3 a 5 años, 4 a 8 años y 5 a 12 años. Para los rones envejecidos aceleradamente la clasificación es de la siguiente forma: los números corresponden a los gramos de viruta y las letras mayúsculas a la concentración de éste extracto (A=15%, B=30%, C=45%, D=60%, E=75%, F=90%).

Figura 2.- Concentraciones de SME en rones nacionales y REA usando diferentes extractos de viruta (a, b, c y d corresponden a concentraciones de 2, 4, 6 y 8 g de viruta de roble colombiano en 100 mL de etanol, respectivamente).

manera diferencias en su concentración de vainillina con respecto a todos los REA con los que fueron comparados. Los rones nacionales de 3 (C2: 0,30 ppm) y 12 (C5: 0,38 ppm) años de maduración, mostraron similitudes en sus concentraciones de este aldehído con los REA

4A (0,32 ppm) y 4B (0,39 ppm). Con respecto a las diferencias observadas en relación a las concentraciones de siringaldehído, estas se apreciaron en todos los rones nacionales; excepto el ron de 8 años (C4: 3,30 ppm) que presentó igualdad con el REA 4F (3,30 ppm).

Comparación entre rones nacionales y REA usando extractos de viruta de 6 g/100 mL de etanol

En estos REA se hace más claro el incremento en la concentración de SME que en los casos anteriores. El siringaldehído siguió siendo el aldehído predominante en cuanto a concentración se refiere; aunque se puede apreciar que esta diferencia ya no es tan amplia como anteriormente se observó (Fig. 2c). Los rones nacionales presentan las mismas concentraciones para cada uno de los análisis debido a que son los mismos rones.

La máxima extracción de compuestos fue observada en el REA 6F (vainillina: 3,99 ppm; siringaldehído: 4,17 ppm), este es el ron con mayor cantidad de extracto de viruta (90 %). Teniendo en cuenta la concentración de vainillina, los rones nacionales presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con todos los REA con los que fueron comparados en este apartado, esto se originó por las mayores concentraciones que poseen los REA, en comparación con los rones nacionales. Con base en la cantidad de siringaldehído, se presentó igualdad entre el ron nacional de 12 años de envejecimiento (C5: 0,41 ppm) y el REA utilizando extracto de viruta de 6 g/100 mL de etanol al 15 % (6A: 0,41 ppm). Las diferencias observadas entre los rones nacionales y REA, obedecen a las concentraciones de SME encontradas en estos últimos rones, ya que excedieron las halladas en los rones nacionales.

Comparación entre rones nacionales y REA usando extractos de viruta de 8 g/100 mL de etanol

Los REA utilizando extractos de viruta de 8 g/100 mL, mostraron un comportamiento similar a todos los REA analizados anteriormente, en donde las concentraciones de siringaldehído y vainillina aumentaron en la medida en que aumentó el porcentaje de extrac-

to de viruta usado en la elaboración de la bebida alcohólica.

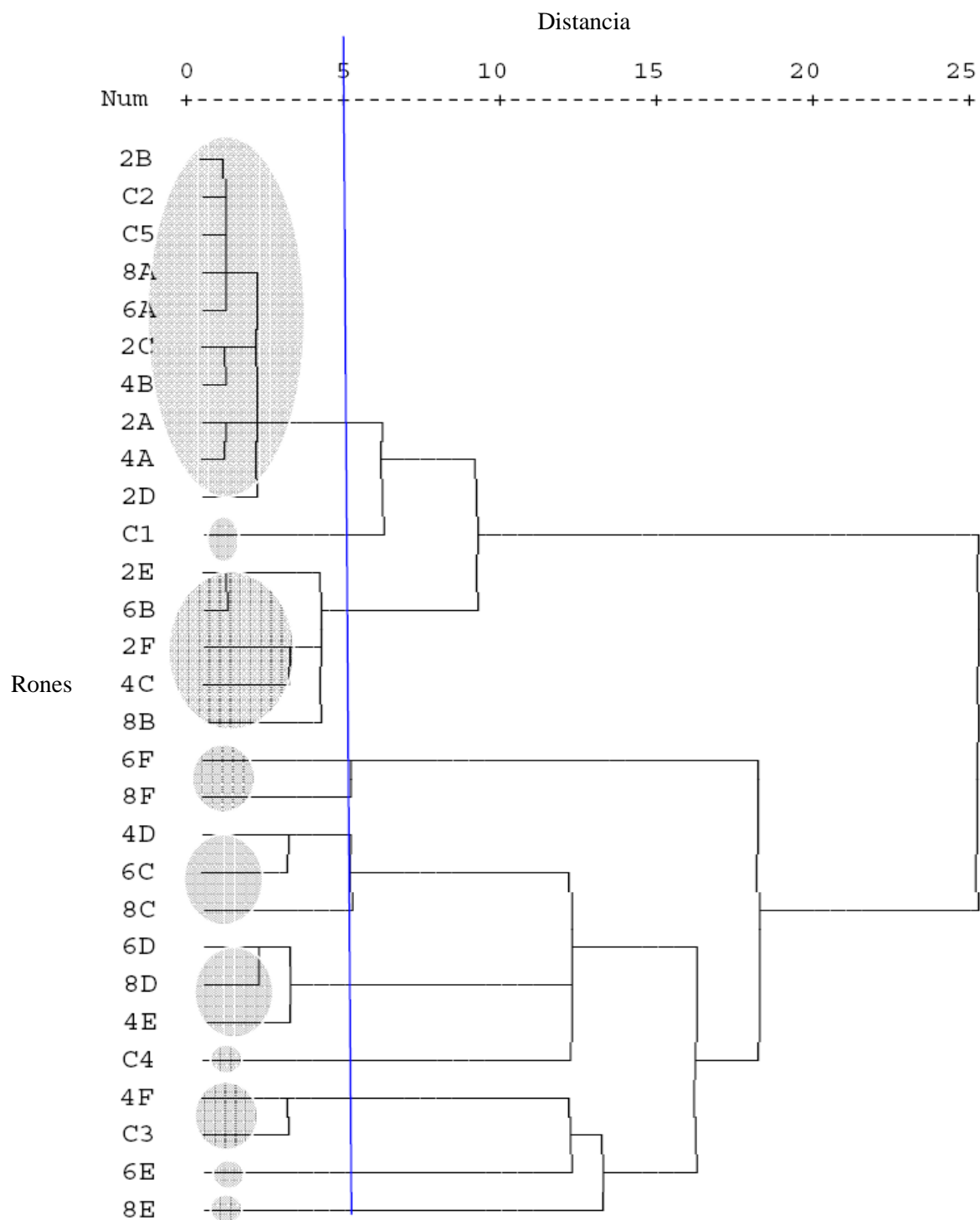
El ANOVA (un factor) aplicado sobre los resultados obtenidos, reveló que nuevamente los rones nacionales con distinto tiempo de envejecimiento (1, 3, 5, 8 y 12 años) presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con todos los REA comparados, debido a que estos últimos presentaron concentraciones de SME muy superiores a las presentes en los rones nacionales analizados (Fig. 2d). La única excepción se presentó para la concentración de vainillina en el ron nacional de 12 años de maduración (C5: 0,38 ppm), que fue semejante a la del REA utilizando extracto de 8 g al 15 % (8A: 0,37 ppm).

Análisis de Componentes Principales (ACP) y Análisis de Conglomerados Jerárquico (ACJ)

Posterior al ANOVA, se llevó a cabo un ACP con el propósito de comparar los dos análisis estadísticos aplicados y establecer el grado de sensibilidad de estos dos métodos comúnmente usados en el área de Ingeniería de Alimentos. Se pudo extraer un solo factor, dado que solo un factor tenía un auto valor mayor a uno (datos no mostrados). Esto explicó el 92,3 % de la variabilidad en los datos originales, por tanto, la solución no pudo ser rotada, y por ende se graficó por medio del ACJ (Fig. 3).

Los rones 2B, C2, C5, 8A, 6A, 2C, 4B, 2A, 4A y 2D se unen mediante un primer clúster con C1, un segundo clúster los une con 2E, 6B, 2F, 4C y 8B, y un tercero los une con el resto de rones nacionales y REA evaluados en este análisis estadístico. Los rones agrupados en un mismo clúster, presentan concentraciones parecidas de siringaldehído y vainillina.

En la misma figura se pueden apreciar los grupos que se forman con análisis de conglomerados. Los REA 6F y 8F forman un solo grupo, ya que sus concentraciones de vainillina y siringaldehído exceden al resto de rones. El ron nacional de 1 año (C1) no fue



La letra C corresponde a rones comerciales y los números al tiempo de envejecimiento así: 1 a 1 año, 2 a 3 años, 3 a 5 años, 4 a 8 años y 5 a 12 años. Para los rones envejecidos aceleradamente la clasificación es de la siguiente forma: los números corresponden a los gramos de viruta y las letras mayúsculas a la concentración de éste extracto (A=15%, B=30%, C=45%, D=60%, E=75%, F=90%).

Figura 3. Análisis de conglomerados jerárquicos de los distintos rones.

agrupado con ningún ron debido a sus bajas concentraciones de siringaldehído (0,19 ppm) y vainillina (0,15 ppm); el ron nacional de 8 años (C4) también presentó el mismo caso, debido a la diferencia existente entre las concentraciones de vainillina y siringaldehído, siendo esta última nueve veces superior a la de vainillina, mientras que el ron nacional de 5 años (C3) es agrupado con el REA utilizando el extracto de viruta de 4 g/100 mL de etanol al 90 % (4F).

Las concentraciones de siringaldehído y vainillina se lograron alcanzar para los rones nacionales (3, 5 y 12 años de envejecimiento) en un tiempo de seis meses, probablemente debido a la técnica utilizada, ya que las virutas por su pequeño tamaño al ser sometidas a tratamiento térmico, la mayor parte de lignina presente en la madera es convertida en sus correspondientes compuestos derivados, entre los que se destacan las SME estudiadas (Puech, 1987; Chatonnet y Dubourdieu, 1998). Por ende todas las sustancias presentes en la bebida, provenientes de la lignina son cedidas únicamente por esta vía (termodegradación de la lignina). Limitando el mecanismo de lixiviación lenta en donde se forma el complejo etanol-lignina (etanólisis) (Gómez-Cordovés *et al.*, 1997).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos por ACP y ACJ, se lograrían obtener rones de 3, 5 y 12 años de maduración, utilizando la técnica de envejecimiento acelerado desarrollada por Monedero *et al.* (1998), reemplazando al roble español por *Quercus humboldtii*, un roble colombiano de mayor accesibilidad.

De las técnicas empleadas, el ANOVA (un factor) fue más sensible y sencillo de analizar que el ACP y ACJ, debido a que en este último, el dendograma se puede interpretar de varias maneras dependiendo del investigador; además, al emplear una distancia reajustada de 5; en el análisis de clúster no se pudo diferenciar entre los rones nacionales de 3 y 12 años y el ron nacional de 5 años con el REA 4F, lo cual si fue posible con el ANOVA

(un factor), el cual estableció diferencias mínimas significativas entre estos rones.

En los rones con un tiempo de maduración de 8 años (C4) y 12 años (C5) las SME sufren un proceso de degradación en el cual se forman nuevos compuestos los cuales pueden influir en las características sensoriales de la bebida final, por tal motivo no es recomendable disminuir el tiempo de envejecimiento de estos rones utilizando la técnica de envejecimiento desarrollada por Monedero *et al.* (1998), aún cuando los análisis estadísticos (ACP y ACJ) agruparon al ron nacional de 12 años (C5) con los REA (2B, 8A, 6A, 2C, 4B, 2A, 4A y 2D).

Con respecto a las concentraciones de siringaldehído y vainillina en rones nacionales (1, 3, 5, 8 y 12 años de envejecimiento); estos compuestos son originados por degradación térmica de la lignina y son extraídos en gran cantidad hasta los cinco años de envejecimiento. Las proporciones de varios compuestos fenólicos, entre ellos la relación siringaldehído/vainillina (S/V) ha sido utilizada como un indicador de la calidad de las bebidas espirituosas y envejecimiento genuino en madera. Los resultados en cuanto a las relaciones (S/V) para los rones nacionales fueron de 1,26; 1,6; 3,66; 4,78 y 1,07 para rones de 1, 3, 5, 8 y 12 años, respectivamente, en concordancia con los resultados publicados por Gómez-Cordovés *et al.* (1997) en brandies, en cuanto a la disminución de esta relación con respecto a la calidad de la bebida, pero discrepan de los obtenidos por Puech y Jouret (1982), quienes tras analizar las concentraciones de siringaldehído y vainillina en muestras de coñac y rones de origen perfectamente conocido, llegaron a la conclusión que la relación S/V debe estar comprendida entre 1,4 y 2,5; lo cual indicaría que existe un equilibrio entre los productos de degradación de la lignina.

En los rones nacionales analizados en este estudio se pudo observar que la máxima relación S/V se encontró en el ron de 8 años de

maduración, esto fue consecuencia del proceso de degradación que sufrieron los compuestos, el cual fue más rápido para la vainillina que para el siringaldehído, llegando a equilibrarse esta relación en el ron de 12 años de envejecimiento. Esta relación entre el siringaldehído y la vainillina fue parecida a la indicada por Delgado y Gómez-Cordovés (1987) como límite mínimo de esta relación en 1, mientras que no indican un límite máximo.

En el caso de los REA, todos mantuvieron una relación S/V mayor que 1 y se encuentran dentro de un intervalo comprendido entre 1,04 y 1,91, lo que indica que existe un equilibrio entre estos compuestos. En el caso del ron nacional de 5 años de maduración, no existió este equilibrio ya que fue evidente el incremento en la concentración siringaldehído con respecto a la vainillina lo que se reflejó en su elevada relación S/V.

Establecer un límite en este tipo de relaciones es importante, debido al hecho que la vainillina es el aldehído que más contribuye con el aroma de estas bebidas y dada su fácil obtención a nivel industrial, puede ser adicionada fraudulentamente a los rones, con el objeto de mejorar las características sensoriales o enmascarar algún defecto de la misma. Por tanto, en el caso de que aguardiente sometido a crianza en madera de roble sufra una adición de vainillina con tales fines, hace que eventualmente esta relación disminuya por debajo de los niveles anteriormente mencionados.

Cuando las concentraciones de un compuesto, aumentan con el tiempo de envejecimiento, dicho compuesto puede ser considerado como una SME. En este trabajo se demostró que las SME (siringaldehído y vainillina), no pueden ser empleadas como tales después que los rones cumplen un añejamiento superior a 5 años, ya que después de ello sufren disminución, originando probablemente nuevos compuestos. La disminución de estos compuestos pudo deberse a reducción biológica hasta sus correspondientes alcoholes como lo

establecieron Chatonnet *et al.* (1992) y Spillman *et al.* (1998), aunque no se puede descartar una posible reducción química mencionada por Boidron *et al.* (1988).

Los resultados sobre las concentraciones de siringaldehído y vainillina obtenidas en este trabajo no fueron comparados con otras publicaciones sobre vinos comerciales ya que son sustratos diferentes, encontrándose en este último SO₂, el cual es un aditivo ampliamente usado para la conservación y dentro de las múltiples actividades de este aditivo se encuentran la unión de grupos carbonil de muchos compuestos (Boulton *et al.*, 1996) motivo por el cual este compuesto afecta la extracción de los aldehídos fenólicos.

CONCLUSIONES

El siringaldehído y la vainillina no pueden ser consideradas como SME en los rones analizados en este estudio, por acaecer disminución en sus concentraciones cuando la bebida cumple un periodo de 5 años de envejecimiento. Desde el punto de vista de las SME y resultados del ANOVA (un factor), una bebida alcohólica como el ron, no puede ser envejecida aceleradamente, ya que se obtienen rones con concentraciones diferentes de siringaldehído y vainillina en los REA, con respecto a los rones nacionales analizados. Las concentraciones de siringaldehído y vainillina extraídas de la madera de roble colombiano (*Quercus humboldtii* Bonpland) por parte del alcohol, es directamente proporcional a la cantidad de viruta y porcentaje del extracto usado en la elaboración del ron.

Con la relación de las concentraciones de siringaldehído/vainillina se puede diferenciar a los rones que han sufrido envejecimiento en barriles durante 5 y 8 años. Las concentraciones de siringaldehído y vainillina en los rones nacionales oscilaron entre 0,19 a 4,47 ppm y 0,15 a 1,22 ppm, respectivamente, siendo inferiores a la mayoría de los REA, las cuales comprendieron intervalos de 0,35 a 4,29 ppm para el siringaldehído y de 0,30 a 4,10 ppm para la vainillina.

RECOMENDACIONES

Se sugiere un estudio multivariado más completo, en el cual se realice análisis sensorial en rones envejecidos con extractos de virutas de roble, con el fin de evaluar la aceptación por parte del consumidor de este tipo de bebida; además un estudio cromatográfico del resto de compuestos de bajo peso molecular que se encuentran en las bebidas, para así poder emitir resultados más concluyentes sobre la utilización de *Quercus humboldtii* y la técnica de envejecimiento acelerado utilizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, N.; Puech, J.L.; Bayonove, C. and Baumes, R. 1995. Determination of the aroma threshold of the *cis* and *trans* racemic forms of β -methyl- γ -octalactone by gas chromatography-sniffing analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*. 46(3):292-294.
- Batista de Aquino, Francisco Wendel; Rodrigues, Sueli; Ferreira do Nascimento, Ronaldo and Soares-Casimiro, Antônio Renato. 2006. Simultaneous determination of aging markers in sugar cane spirits. *Food chemistry*. 98(3):569-574.
- Boidron, J.N.; Chatonnet, P. et Pons, M. 1988. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*. 22(4):275-294.
- Boulton, Roger B.; Singleton, Vernon L.; Bisson, Linda F. and Kunkee, Ralph E. 1996. The role of sulfur dioxide in wine. In *Principles and practices of winemaking*. (pp. 448-473). New York, USA: Kluwer Academic-Plenum Publishers.
- Bozhinov, A. and Bekalov, N. 1983. Oak extract in the aging of wine distillates. *Lozarstvo i Vinarstvo*. 32(2):21-24. (Bulgaria).
- Calderón-Jaimes, Lilia Socorro. 2002. Sistemas para la detección de fraudes en bebidas alcohólicas destiladas y envejecidas. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España.
- Chatonnet, P. 1991. Incidences du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins. Thesis. Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France. 224 p.
- Chatonnet, P. and Dubourdiou, D. 1998. Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for production of barrels used in barrel aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49(1):79-85.
- Chatonnet, P.; Dubourdiou, D. and Boidron, J.N. 1992. Incidence of fermentation and ageing conditions of dry white wines in barrels on their composition in substances yielded by oak wood. *Sciences des Aliments*. 12:665-685.
- Chatonnet, Pascal. 1998. Volatile and odoriferous compounds in barrels-aged wines. Impact of cooperage techniques and aging conditions. In *Chemistry of wine flavour*. (pp. 180-208). ACS Symposium Series, Vol. 714. Washington, USA: American Chemical Society.
- Delgado, T. et Gómez-Cordovés, C. 1987. Teneur des brandies commerciaux espagnols en aldéhydes et acides phénoliques. *Revue Française d'Oenologie*. 107:39-43.
- Delgado, T; Gómez-Cordovés, C. and Villarroja, B. 1990. Relationships between phenolics compounds of low molecular weight as indicators of the aging conditions and quality of brandies. *American Journal of Enology and Viticulture*. 41(4):342-345.
- García-Parrilla, M. Carmen; González, Gustavo A.; Heredia, Francisco J. and Troncoso, Ana M. 1997. Differentiation of wine vinegars based on phenolic composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(9):3487-3492.

- Garde-Cerdán, Teresa and Ancín-Aspilicueta, Carmen. 2006. Effect of oak barrel type on the volatile composition of wine. Storage time optimization. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT) - Food Science and Technology*. 39(3):199–205.
- Gimenez-Martinez, R; Lopez-Garcia de la Serrana, H; Villalon-Mir, M; Quesada-Granados, J. and Lopez-Martinez, M.C. 1996. Influence of wood heat treatment, temperature and maceration time in vanillin, syringaldehyde, and gallic acid contents in oak wood and wine spirit mixtures. *American Journal of Enology and Viticulture*. 47(4):441–446.
- Goldberg, David M; Hoffman, Barry; Yang, Joseph and Soleas, George J. 1999. Phenolic constituents, furans, and total antioxidant status of distilled spirits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(10):3978-3985.
- Gómez-Cordovés, Carmen.; Bartolomé, Begoña and Jimeno, M. Luisa. 1997. Identification of 2,3-dihydroxy-1-guaiacylpropan-1-one in brandies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(3):873-876.
- González, Rafael E.; Calderón, Lilia S. y Cabeza, Rodolfo A. 2008. Cuantificación de sustancias marcadoras de envejecimiento en *Quercus humboldtii* por cromatografía líquida de alta eficiencia. *Temas Agrarios*. 13(2):56-63.
- Harman, Harry H. 1967. *Modern factor analysis*. (2nd. ed.). Chicago, USA: The University of Chicago Press.
- Jaganathan, James and Dugar, Sumer M. 1999. Authentication of straight whiskey by determination of the ratio of furfural to 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde. *Journal of AOAC International*. 82(24): 997-1001.
- Lo Coco, Filippo; Valentini, Clementi; Novelli, Veronica and Ceccon, Luciano. 1995. Liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in beer. *Analytica Chimica Acta*. 306 (1):57–64.
- Maga, J. 1984. Flavour contribution of wood alcoholic beverages. In *Progress in flavour research, Proceedings of the 4th Weurman Flavour Research Symposium*. May 9-11. (pp. 409-416). Dourdan, France.
- Maga, Joseph A. 1996. Oak lactones in alcoholic beverages. *Food Reviews International*. 12(1):105–130.
- Mangas, Juan; Rodríguez, Roberto; Moreno, Javier; Suarez, Belén and Blanco, Domingo. 1996. Evolution of aromatic and furanic congeners in the maturation of cider brandy: a contribution to its characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(10):3303–3307.
- Monedero, Luis; Olalla, Manuel; Quesada, José J.; Lopez-Garcia, Herminia and Lopez-Martínez, M. Carmen. 1998. Exhaustion techniques in the selection and description of phenolic compounds in jerez wine extracts obtained by an accelerated aging technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(5):1754-1764.
- Mosedale, J.R.; Puech, J.L. and Feuillat, F. 1999. The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *American Journal of Enology and Viticulture*. 50(4):503–512.
- Puech, J.L. and Moutounet, M. 1992. Phenolic compounds in an ethanol-water extract of oak wood and in a brandy. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 25(4):350–352.
- Puech, J.L. et Jouret, C. 1982. Dosage des aldéhydes aromatiques des eaux-de-vie conservées en fûts de chêne: détection d'adultération. *Annales des Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique*. 75:81-90.
- Puech, Jean Louis. 1987. Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels.

- American Journal of Enology and Viticulture. 38(3):236–238.
- Quesada-Granados, J.; Merelo-Guervós, J.J.; Oliveras-López, M.J.; González-Peñalver, J.; Olalla-Herrera, M.; Blanca-Herrera and López-Martínez, M.C. 2002. Application of artificial aging techniques to samples of rum and comparison with traditionally aged rums by analysis with artificial neural nets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(6):1470-1477.
- Quesada-Granados, J.; Villalón-Mir, M.; López-García-Serrana, H. and López-Martínez, M.C. 1996. Influence of aging factors on the furanics aldehyde contents of matured brandies: aging markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(6):1378-1381.
- Quesada-Granados, José Javier. 1993. Determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural en aguardientes de vino y su relación con el proceso de envejecimiento en roble. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España.
- Rodríguez-Madrera, Roberto; Blanco-Gomis, Domingo and Mangas-Alonso, Juan J. 2003. Influence of distillation system, oak wood type, and aging time on composition of cider brandy in phenolic and furanic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(27):7969-7973.
- Sefton, M.A.; Francis, I.L.; Pocock, K.F. and Williams, P.J. 1993. The influence of natural seasoning on the concentrations of eugenol, vanillin and cis- and trans- β -methyl- γ -octalactone extracted from French and American oakwood. *Science des Aliments*. 13:629-643.
- Spillman, P.J. 1997. Oak wood contribution to wine aromas. Thesis. University of Adelaide, Australia.
- Spillman, P.J.; Iland, P.G. and Sefton, M.A. 1998. Accumulation of volatile oak compounds in a model wine stored in American and Limousin oak barrels. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 4(2):67-73.
- Yokoya, Fumio. 1995. Fabricação de aguardente de cana. Série Fermentações Industriais 2. Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello” Campinas, São Paulo, Brasil.