

EXTRACCIÓN Y DEGRADACIÓN DE LA LIGNINA EN MADERAS DE ROBLE DE BARRILES USADOS EN EL AÑEJAMIENTO DEL RON

Juan Carlos González^{1*}, José Delgado de los Ríos² y Jorge A. Pino³

¹Laboratorio Central, Cuba Ron S.A. Cuba Libre No. 1, Santa Cruz del Norte, Provincia La Habana. C.P. 32 900. E-mail: juanca@ronsantacruz.co.cu

²Centro Nacional de Toxicología. Calle 114 y Ave. 31, Marianao, La Habana, Cuba.

³Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria, Carretera del Guatao, Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

Virutas de roble de seis lotes de barriles de diversos orígenes fueron sometidas a una hidroalcoholisis por reflujo con un destilado de ron. Mediante análisis gravimétrico y espectroscopia IR se cuantificó la lignina de extracción y se confirmó su identidad; con HPLC se analizaron los aldehídos y ácidos aromáticos. Hubo diferencias significativas entre lotes para todos los compuestos; el espectro IR de la lignina de extracción coincidió con el reportado y las contracciones, de mayor a menor fueron: siringaldehído, vainilla, coniferaldeído y sinapaldehído para los aldehídos y para los ácidos: protocatechuico, siríngo, vainílico, ferúlico y cumárico. No existió correlación entre la lignina de extracción y los aldehídos y ácidos fenólicos; la composición estructural de la lignina es variable en cuanto a unidades monoméricas y el aporte de las maderas de roble a la composición de los rones añejados en ellas será diferente en los compuestos estudiados.

Palabras clave: barril, roble, lignina, añejamiento.

ABSTRACT

Extraction and degradation of oak lignin from barrel used in the aging or rum

Oak chips from six lots barrels of different origin were submitted to a hidroalcoholysis by reflux with a rum distillate. With gravimetric analysis and IR spectroscopy the lignin extracted was quantified and identified, and by means of HPLC the aromatic aldehydes and acids were analyzed. Significant differences for all compounds were found; the lignin IR spectra matched with the reported one and, concentrations in a decrease order was: syringaldehyde, vanillin, coniferaldehyde and sinapaldehyde form aromatic aldehydes and, for acids: protocatechuic, syringic, vanillic, ferulic and coumaric. There is not a good correlation between the lignin content and aromatic aldehydes and acids concentrations and the results shown that the structural compositions of lignin in different oak Woods are variable in monomeric units. According to the results, the composition of rums aged in these oak wood will be different in term of aldehydes and acids from lignin degradation.

Key words: barrels, oak, lignin, aging.

INTRODUCCIÓN

La madera de roble influye en la tipicidad de los destilados añejados (1). De los componentes de la madera, la lignina tiene una importancia relevante en los cambios que se operan durante el añejamiento de los destilados alcohólicos. Es extraída y degradada por un proceso de hidroalcoholisis en medio ácido (pH 4 a 5) dando como resultado la presencia de fracciones de lignina y una serie de aldehídos y ácidos aromáticos; también el calentamiento que se aplica a la madera de roble en la fabricación de los barriles, interviene en la degradación

**Juan Carlos González Delgado: Investigador Auxiliar. Labora en la Ronera Santa Cruz desde 1976 en Control de Calidad e Investigaciones en Cromatografía de Gases, Evaluación Sensorial y Tecnología de Ron. Maestro Ronero. Director Técnico del Laboratorio Central de Cuba Ron S.A. Miembro del CTN de Bebidas Alcohólicas. Ha participado en misiones de trabajo en 11 países y en numerosos congresos y simposios. Tutor de tesis de nivel medio y universitario. Autor de artículos científicos y formulaciones de licores y rones.*

de este polímero (2-4). La fracción de lignina que pasa a los destilados y a partir de la cual se forman vainilla, siringaldehído, coniferaldehído, siringaldehído y diferentes ácidos aromáticos, ha sido llamada complejo "etanol-lignina" (5) o "lignina de extracción" (1,2). Sensorialmente, la vainilla, el más significativo de estos compuestos, influye en el aroma (6). Existen diferencias cuantitativas en la lignina en los diferentes robles, que resultan en variaciones en las proporciones de los productos de descomposición (1,2). En estos factores influyen la especie, región geográfica, edad del árbol, secado de la madera y las prácticas de tonelería (7).

En Cuba es preciso importar los barriles de una diversidad de orígenes, mientras que los rones de las distintas fábricas presentan perfiles sensoriales diferentes entre sí; además no se conoce que en rones se haya estudiado la extracción y degradación de la lignina. El presente trabajo persigue establecer si existen diferencias en cuanto a la posible extracción y degradación de la lignina en diferentes lotes de barriles utilizados en el añejamiento de ron.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron seis lotes de barriles de diferentes orígenes y tiempos de uso: lote 1 de la ex – Yugoslavia (Y), lote 2 de origen americano (A), lote 3 de la ex – Unión Soviética (US) y lotes 4, 5 y 6 de orígenes desconocidos (D). Se tomaron 30 barriles de cada lote de forma aleatoria. De cada barril se escogió una duela que fue cortada en cuatro piezas, cepilladas por las cuatro caras a fin de eliminar suciedades y en el caso de la superficie interior que estuvo en contacto con el ron, se removieron 10 mm de espesor. Las cuatro secciones de cada duela fueron molidas y tamizadas para obtener partículas de 20 a 40 mallas. Con las 30 muestras de virutas de roble por cada lote, se prepararon tres muestras compuestas por lote, mezclando porciones iguales en peso de virutas de 10 duelas diferentes.

La hidroalcohólisis de la lignina de la madera de roble se realizó a partir de 10 g de viruta de este, que fueron refluadas durante 48 h con 400 mL de un destilado de ron a 55 % v/v, siguiendo el procedimiento descrito por Puech (1). El extracto se dejó enfriar y las virutas se separaron por filtración siendo lavadas con el destilado, llevándose el extracto a un volumen final de 500

mL. Las tres muestras compuestas de cada lote de barriles fueron procesadas de igual forma y los extractos obtenidos fueron analizados por duplicado.

Para la determinación gravimétrica de la lignina de extracción se partieron de 400 mL de extracto que fueron concentrados hasta 120 mL en un evaporador rotatorio con una temperatura de 40 a 45 °C y 35 mm de Hg de vacío. El residuo acuoso fue saturado con cloruro de sodio dejándose en reposo hasta que un sólido carmelita se separó. El sólido fue recogido por filtración y lavado con agua destilada hasta que el filtrado estuvo incoloro. Se dejó secar al aire, pesándose posteriormente junto con el papel de filtro. El peso obtenido fue corregido sustrayéndole la humedad retenida por el papel que fue determinada corriendo una serie de 10 ensayos en blanco. El sólido fue trasvasado hacia un vial con tapa, previamente tarado, desecándose a 105 °C durante una hora para determinar la humedad que contenía. El peso del sólido previamente obtenido fue corregido nuevamente en dependencia del porcentaje de humedad retenido.

Al sólido obtenido de cada extracto se le practicó un espesor IR en un espectrómetro ATTI MASON GENESIS (muestra en pastillas de KBr) desde 4 000 a 400 cm^{-1} .

Para la cromatografía líquida de alta resolución de aldehídos y ácidos aromáticos el extracto de roble se diluyó 1:2 en fase móvil y se inyectaron 50 μL en un equipo Shimadzu Mod. LC-6A con detector UV/Visible SPD-6 AV y válvula de inyección Rhedodyne Modelo 7125 con un lazo de 50 μL . Se empleó una columna Lichrosorb 100 RP-18 (250 mm x 4 mm d.i., 5 μL) con una precolumna similar de 10 mm. Se utilizó como disolvente una mezcla de 8 % de acetonitrilo, 90 % agua destilada y 2 % ácido acético con flujo de 1 mL/min y temperatura de columna de 35 °C. La detección de los aldehídos y ácidos aromáticos se realizó a 280 nm y el procesamiento de los datos se hizo con un integrador Shimadzu C-R6 A.

Los resultados fueron procesados con análisis de varianza y comparación de medias mediante análisis de rango múltiple con la utilización del programa estadístico Statgraphic 6.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 refleja que la hidroalcoholólisis de la lignina producida por el diseño experimental presenta una dispersión de las concentraciones de los compuestos obtenidos, en las muestras de los seis lotes de barriles. La lignina de extracción presentó valores de 352,0 a 613,0 mg/l, lo que representa que la cantidad de lignina extraída varió entre 3,6 y 6,3 % del total de lignina, para una composición promedio en los robles de 25 % (8,9), rango similar al reportado (3). Entre lotes, el que más contenido de lignina de extracción aportó fue el lote 3 (US) seguido del lote 6 (D), lote 1 (Y), lote 4 (D), lote 2 (A) y lote 5 (D); estas diferencias pudieran

incidir de forma significativa en el "cuerpo" de los rones (7). Esta variabilidad indica que el contenido de lignina total en las diferentes maderas no es homogéneo, o al menos su fracción extraíble, lo que pudiera incidir en el aporte de los productos de su degradación. Lo anterior se confirma con las diferencias significativas entre el lote con el resto y el lote 2 que presentó diferencias con los lotes 1, 4 y 6. Los espectros IR de la lignina de extracción fueron idénticos en todos los lotes y similares a los reportados por Baldwin (5). La Tabla 2 presenta los valores de los máximos de absorción para las principales longitudes de ondas del espectro IR para la lignina de extracción obtenida de la hidroalcoholólisis de la lignina en los seis lotes de barriles.

Tabla 1. Compuestos fenólicos producidos por la hidroalcoholólisis de la lignina

Compuesto (mg/L)	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6
Lignina de extracción	439,3 (53,0) b	352,0 (8,0) b	613,3 (59,0) a	438,0 (12,0) b	348,0 (60,0) c	453,0 (15,0) b
Ác. protocatequico	16,0 (13,7) b	26,9 (18,7) ab	40,0 (28,3) ab	49,2 (16,6) a	40,4 (18,3) ab	13,6 (8,4) a
Ác. vainílico	11,4 (2,1) b	8,3 (0,7) b	22,9 (7,4) a	8,4 (2,0) b	7,4 (0,9) b	8,1 (0,8) b
Ác. siríngico	6,2 (1,5) b	18,2 (14,0) ab	18,9 (10,2) ab	22,6 (2,6) a	17,8 (8,0) ab	6,2 (0,9) b
Vainilina	6,8 (0,9) ab	6,1 (1,2) b	9,5 (1,7) a	6,8 (2,2) ab	5,0 (2,7) b	3,7 (1,0) b
Ác. p-cumárico	nd	0,5 (0,4) b	3,9 (3,5) a	1,2 (1,2) ab	1,2 (1,2) ab	nd
Siringaldehído	10,8 (0,3)	15,3 (10,0)	13,9 (2,2)	12,6 (2,2)	15,0 (6,6)	9,3 (1,3)
Ácido ferúlico	2,3 (1,4) bc	1,4 (0,8) c	10,0 (1,9) a	4,2 (1,4) bc	5,5 (4,5) b	1,6 (1,4) bc
Coniferaldehído	2,0 (1,3) a	1,4 (0,9) ab	2,3 (0,6) a	1,4 (0,7) ab	0,7 (0,2) b	1,0 (0,4) ab
Sinapaldehído	nd	nd	3,0 (1,4) a	0,5 (0,6) b	nd	nd
Siringaldehído	1,6	2,5	1,5	1,9	3,0	2,5
Vainilina	19,6	22,8	28,7	21,3	20,7	14,0
Total de aldehídos ¹	35,9	55,3	95,7	85,6	72,3	29,5
Total de aldehídos y ácidos aromáticos ¹	55,5	78,1	124,4	106,9	93,0	43,5

Media (desviación estándar). ¹ Suma de medias. Letras diferentes por fila indican diferencia significativa; nd: no detectado.

Tabla 2. Máximos de absorción de los espectros IR de la lignina de extracción (% T)

λ (cm ⁻¹)	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6
3 425	53,79	79,11	69,15	73,75	71,16	61,14
1 719	76,62	90,12	92,36	76,25	83,19	69,95
1 599	69,50	83,03	79,55	83,53	77,01	69,30
1 509	77,60	90,67	86,63	90,63	84,53	71,46
1 329	76,90	90,70	85,51	88,27	81,22	69,29
1 266	77,03	82,28	86,06	78,84	83,25	69,20
1 221	77,50	92,51	83,03	86,96	80,65	67,66
1 121	75,05	90,13	77,57	82,25	76,76	62,35
1 048	77,94	91,25	85,05	85,86	82,59	60,56

Las vibraciones de valencia del enlace O-H dan sobre los 3 425 nm (vmax) con un ligero corrimiento en relación con la banda reportada (5), debido probablemente a la interferencia que puede provocar el agua residual en el sólido (10); es una banda intensa y estrecha, de aquí que los grupos O-H sean libres preferentemente, aunque también puede haber grupos O-H asociados pues por debajo de esta frecuencia se observan bandas no muy intensas. Las restantes bandas dan similares a las reportadas (los valores de v de las bandas de los espectros obtenidos en el presente trabajo): 1 704 v (C=O, grupo carbonilo) (1 719 nm); 1 592 vmax (vibraciones esqueléticas del anillo aromático) (1 599 nm); 1 499 (C=C vibraciones de estrechamiento del anillo bencénico) (1 509 nm); 1 321 (O-H vibraciones de doblejes en el plano) (1 329 nm); 1 266 v asimétrica (C-O-C de aril éter) (1 266 nm); 1 208 v asimétrica (C-O-C de aril-alquil éter) (1 221 nm); 1 115 v asimétrica (C-O-C de dialquil éter) (1 121 nm), 1 026 v asimétrica (C-O-C de diaquil éter) (1 048nm), lo que confirma la identidad del sólido aislado como la lignina de extracción.

En los aldehídos fenólicos (Tabla 1), el que se presenta en mayor concentración es el siringaldehído, seguido de vainilla, coniferaldehído y sinapaldehído. La relación de concentración entre siringaldehído y vainilla está en un rango de 1,5 a 3,0 lo que concuerda con lo reportado, significando una degradación armónica de la lignina (11). Los niveles de concentración encontrados para coniferandehído y sinapaldehído son bajos, lo que puede ser debido al tratamiento térmico empleado en la obtención de los extractos (12), donde el coniferaldehído es convertido a vainilla y seguidamente a ácido vainílico y también en una pequeña fracción de ácido ferúlico; mientras que el sinapaldehído es oxidado a siringaldehído (1,2). Entre lotes, el contenido de aldehídos fenólicos en orden decreciente es: 3 (US), 2 (A), 4 y 5 (D), 1 (Y) y 6 (D).

Los aldehídos fenólicos presentan diferencias significativas entre lotes para vainillina, coniferaldehído y sinapaldehído (Tabla 1). Como la vainillina es uno de los compuestos más importantes que puede influir en el perfil sensorial de los destilados alcohólicos añejados en barriles de roble (6), la diferencia significativa en-

contrada pudiera ser importante es explicar posibles diferencias en la contribución sensorial que hacen estas maderas de roble a los rones añejados en ellas. El lote 3 (US) presentó diferencias significativas con el lote 2 (A), el lote 5 (D) y el lote 6 (D). Es de destacar que la concentración de vainillina en el lote 2 (A) es muy similar a la presentada en los lotes 1 (Y), 4 (D) y 5 (D) y superior al 6 (D), y sin embargo, tiene un contenido de lignina de extracción muy inferior al resto de los lotes, resultado consistente con el alto contenido de vainillina en los robles americanos (13). Para coniferaldehído y sinapaldehído al tener concentraciones tan bajas y tener poco potencial aromático, las diferencias significativas entre lotes son útiles para la clasificación de las maderas desde el punto de vista analítico pero, desde la perspectiva del impacto sensorial, no aportan diferencias apreciables.

Para los ácidos fenólicos, el ácido protocatequico es el que presenta en mayor concentración seguido del ácido siríngico en los lotes 2 (A), 4 (D), 5 (D) y 6 (D) y del ácido vainílico en los lotes 1 (Y) y 3 (US); los ácidos ferúlico y p-cumárico estuvieron en concentraciones menores en relación al resto de los ácidos. El mayor contenido de ácidos fenólicos lo tuvo el lote 3 (US), seguido de los lotes 4 y 5 (D), 2 (A), 1 (Y) y 6 (D). Se encontraron diferencias significativas entre lotes para todos los ácidos (Tabla 1), por lo que la concentración de estos compuestos marca una diferencia entre lotes en el orden de composición, aunque estas diferencias poco aportan al perfil sensorial dado el valor aromático de estos compuestos (7).

Para valorar si existía dependencia entre el contenido de lignina de extracción y las concentraciones de los aldehídos y ácidos fenólicos, se realizaron ajustes a un modelo de regresión lineal simple entre la lignina de extracción y los compuestos fenólicos individuales. Los coeficientes de correlación fueron: ácido protocatequico

0,12; ácido vainílico 0,84; ácido siríngico -0,02; ácido p-cumárico 0,54; ácido ferúlico 0,46; vainillina 0,48; siringaldehído -0,23; coniferaldehído 0,47. El sinapaldehído no se incluyó en los cálculos porque sólo fue detectado en dos lotes. Estos resultados indican que el aporte de aldehídos y ácidos fenólicos productos de la hidroalcoholisis de la lignina depende más de la composición estructural de este polímero (relación entre sus unidades monoméricas guayacilpropano y siringilpropano, que es variable, y de los diversos tipos de enlaces intermonoméricos), que de la cantidad presente en la madera con posibilidades de ser extraída, incluido el hecho de que las ligninas más ricas en unidades guayacilpropano son más fácilmente solubilizadas en los aguardientes (3), sustentado esto también por los diferentes valores de los máximos de absorción de la lignina de extracción de los seis lotes de barriles (Tabla 2).

Tomando en consideración el contenido total de aldehídos y ácidos fenólicos en los extractos y ordenados en forma decreciente, las maderas de roble que más compuestos aportaron fueron: lote 3 (US), lote 4 (D), lote (5), lote 2 (A), lote 1 (Y) y lote 6 (D), que es el mismo orden observado para los ácidos fenólicos. Estos últimos tienen un mayor peso cuantitativo dado que los respectivos aldehídos son oxidados a sus respectivos ácidos e incluso una pequeña fracción de coniferaldehído es convertida en ácido ferúlico (1,2), lo que es consistente con el mayor contenido de este ácido en relación con el ácido p-cumárico encontrado en los extractos.

REFERENCIAS

1. Puech, J.L. *Am. J. Enol. Vitic.* 35 (2): 77-81, 1984.
2. Puech, J.L. *Am. J. Enol. Vitic.* 32 (2): 111-114, 1981.
3. Puech, J.L.; Leauté, R.; Mosedale, J. y Mourgues, J. Barrica y envejecimiento de los aguardientes en: *Enología. Fundamentos científicos y tecnológicos*, Madrid, Mundi-Prensa Libros, C. Flanzly Ed., 2003. Consultado el 15/05/09 en <http://books.google.com.cu>.
4. Viriot, C.; Scalbert, A.; Lapiere, C. y Moutounet, M. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1872-1879, 1993.
5. Baldwin, S.; Black, R. A.; Andreasen, A. y Adams, S. L. *J. Agric. Food. Chem.* 15: 381-385, 1967.
6. Mosedale, J. R.; Puech, J. L. y Feuillat, F. *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (4): 503-512, 1999.
7. Singleton, V. L. *Am. J. Enol. Vitic.* 46 (1): 98-115, 1995.
8. Benavent, J. L. A. *La cultura del vino. Cata y degustación*, Valencia, Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Alimentos, 2003. Consultado el 14/05/09 en: <http://books.google.com.cu>.
9. Feuillat, F.; Keller, R.; Masson, G. y Puech, J. L. *Madera de roble en: Enología. Fundamentos científicos y tecnológicos*, Madrid, Mundi-Prensa Libros, C. Flanzly Ed., 2003. Consultado el 15/05/09 en <http://books.google.com.cu>
10. MacLeod, A. J. *Instrumental Method in Food Analysis*, London, Paul Elek (Scientific Books) Ltd, 1973.
11. Gimenez-Martínez, R.; López-García, H.; Villalón, M.; Quesada, J. y Martínez, M. C. *Am. J. Enol. Vitic.* 47 (4): 441-446, 1996.
12. Puech, J. L. *J. Sci. Agric.* 42: 165-172, 1988.
13. Cadahía, E.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B. y García-Vallejo, M. C. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1790-1798, 2001.

CONCLUSIONES

El contenido de lignina de extracción en las maderas de roble presentó una variabilidad entre lotes, al igual que los aldehídos y ácidos fenólicos. El patrón de degradación obtenido fue consistente con los mecanismos establecidos, por lo que el diseño experimental es adecuado para investigar la degradación de la lignina en las maderas de roble estudiadas. La composición estructural de la lignina en las diferentes maderas fue variable en cuanto a sus unidades monoméricas, lo que se explica por la variabilidad encontrada en los aldehídos y ácidos aportados a los extractos, donde no se encontró una buena correlación entre la lignina de extracción y los aldehídos y ácidos fenólicos; sólo en el lote 3 origen ex-soviético coincide un mayor contenido de lignina de extracción con un mayor aporte de aldehídos y ácidos fenólicos; apoyado además por los valores de los máximos de absorción de los espectros IR de la lignina de extracción. Las diferencias de composición encontradas permiten inferir que las maderas de roble analizadas aportarán una diversidad de composición en lignina y aldehídos y ácidos fenólicos a los rones añejadas en ellas, lo que pudiera implicar diferencias en el olor y el sabor.