

-RESEÑA-

EL ROBLE PARA EL AÑEJAMIENTO DE LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS. ASPECTOS SENSORIALES Y ANALÍTICOS

*Juan Carlos González*¹ y Jorge A. Pino²*

¹*Laboratorio Central, Cuba Ron, S.A., Cuba Libre No. 1, Santa Cruz del Norte, Mayabeque, Cuba. C.P. 32 900.*

E-mail: juanca@ronstacruz.co.cu

²*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria, Carretera al Guatao, km 3 1/2, La Habana, C.P. 19 200, Cuba.*

RESUMEN

El roble blanco que aporta la madera para los barriles destinados al añejamiento de las bebidas alcohólicas, le cede a estas una serie de componentes donde los más importantes desde la perspectiva del añejamiento son: taninos, lignina, hemicelulosa y otros extractivos como lactona de roble, fenoles volátiles, compuestos nitrogenados, ácidos orgánicos y otros de diversas familias de compuestos. El presente trabajo recopila el impacto sensorial que producen estos compuestos, así como los indicadores químicos que generan y los principales métodos analíticos empleados en la investigación y el control de calidad para su determinación. A la luz de estas investigaciones se concluye la influencia en la tipicidad de las propiedades sensoriales de los vinos y destilados añejados de los principales compuestos del roble y la diversidad de métodos empleados en su análisis.

Palabras clave: roble, barriles, añejamiento, propiedades sensoriales, métodos analíticos.

ABSTRACT

Oak wood for aging alcoholic beverages. Sensory and analytical aspects

The white oak that supplies the wood for cooperage, in order to age alcoholic beverages give to them many compounds, where the most important are: tannins, lignin, hemicelluloses and other extractives like oak lactones, volatile phenols, nitrogen compounds, organic acids and others of diverse organic families. This article draws the sensory impact and the chemical indicators that this compounds produces and the analytical methods used in research and quality control. In the light of these review, it is concluded the influence in sensory properties of the main oak compounds and the variety of analytical procedures.

Key words: oak, barrels, aging, sensory properties, analytical methods.

INTRODUCCIÓN

El añejamiento en barriles de roble de los vinos y destilados alcohólicos produce cambios químicos y organolépticos que mejoran sus propiedades. Investigaciones sobre la influencia de la madera de roble en las características de estas bebidas han demostrado que es predominante respecto a las características originales, así como las diversas especies de robles influyen diferenciadamente en su tipicidad (1-8). El proceso de añejamiento provoca la extracción de componentes de la madera que generan la formación e incremento de un grupo de indicadores que son de gran va-

**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. Doctor en Ciencia Tecnología de Alimentos (IFAL, 2011).*

lor en la caracterización de las bebidas alcohólicas añejadas, sobre todo las destiladas, así como la presencia de cientos de compuestos volátiles que contribuyen de forma decisiva al aroma. En un trabajo previo (9) se recopilaron las principales características de composición del roble usado en el añejamiento de las bebidas alcohólicas. Esta revisión brinda los aspectos sensoriales y analíticos asociados al roble desde la perspectiva del añejamiento.

Efecto en las propiedades sensoriales de las bebidas de los componentes del roble

Taninos

No obstante el carácter tánico que los taninos aportan a los destilados y vinos que son añejados en barriles de roble (astringencia, aspereza y amargor), la principal propiedad que estos aportan es la de darle cuerpo a estas bebidas. Esto se explica porque más de 50 % de la materia sólida extraíble del barril durante el añejamiento lo componen los taninos, al menos en las bebidas destiladas, independientemente del contenido alcohólico (1). Otros investigadores han concluido que la variabilidad en el contenido de elagitaninos puede explicar las diferencias organolépticas, al encontrar diferencias significativas en el contenido individual y total de estos componentes en muestras de *Q. robur* y *Q. petraea*, afectados básicamente por la edad de la madera, mientras que la variabilidad entre árboles fue mayor que entre especies (10). Cuando el tiempo de añejamiento es grande, las transformaciones que se producen causan que el gusto astringente y amargo de los taninos desaparezca para dar lugar a un carácter rancio a los aguardientes viejos (11).

Lignina

Los congéneres derivados de la lignina contribuyen en gran medida al mejoramiento de las propiedades sensoriales de los destilados. La vainillina puede cambiar significativamente el aroma de los vinos, mientras que fenoles volátiles y fenil cetonas producidas por la degradación de la lignina dan un olor y sabor ahumado a los vinos (12). La lignina puede ser significativa al cuerpo y al color de los destilados con añejamiento prolongado, pero en los vinos no debe ser muy importante debido a la baja concentración de etanol que implica un menor poder para extraerla, lo que milita contra su ex-

tracción de la madera. La vainillina, usualmente presente en menores cantidades que el siringaldehído, es por el contrario más aromática que este y los otros aldehídos, que están presentes en cantidades muy pequeñas. En destilados añejados durante mucho tiempo, la vainillina excede claramente la concentración del umbral sensorial y probablemente esté aumentado por sus aldehídos relativos, por lo que son elementos importantes del aroma de los destilados añejados. En vinos es menos probable que tengan una importancia significativa porque están usualmente en concentraciones por debajo del umbral sensorial. Por el contrario, los ácidos fenólicos por diversas razones no son importantes desde el punto de vista sensorial. Como productos de una oxidación posterior de la vainillina, el ácido vainílico y análogamente el ácido sirínico representan realmente una pérdida del aroma y sabor (3). Por otro lado, vainillina y siringaldehído reaccionan con flavonoides y antocianidinas en el vino para generar productos de condensación que intervienen en el color y la astringencia (13).

Hemicelulosa

No existe información suficiente relativa al efecto de los azúcares provenientes de la madera sobre el aroma y sabor de los vinos y destilados añejados en barriles de roble. La mayoría de estos azúcares son pentosas, que son poco dulces, pero se ha encontrado glucosa y fructosa que presentan un nivel superior de dulzor; el sabor de la glucosa es algo menos dulce que el de la sacarosa (3, 14). En "vinos secos", un pequeño contenido de glucosa residual no le da al mismo un carácter dulce pero, provoca que el vino sea juzgado como más suave y redondeado (3). No obstante, teniendo en cuenta el sabor dulce que presentan los monosacáridos en mayor o menor medida y el peso específico que tienen los carbohidratos en general en el total de sólidos extraídos de la madera, no hay dudas de que estos componentes tienen un peso en el cuerpo de las bebidas alcohólicas añejadas y un efecto sobre su sabor, especialmente las destiladas.

Lactona de roble

Los dos isómeros de la lactona de roble (β -metil- γ -octalactona) han adquirido mucho interés como una de las fuentes del olor a roble y tienen un olor distintivo que recuerda al coco seco. Hay evidencias de que su

olor en concentraciones muy bajas es maderoso y se ha observado que los vinos comerciales tienen, como parte de su bouquet de roble, un matiz tenue de coco. La mejor suposición en la actualidad es que la lactona de roble más la influencia de otros componentes conforman el olor a roble. Generalmente se acepta que su presencia en las bebidas alcohólicas indica que las mismas han sido añejadas en barriles de roble (3). Los umbrales de ambos isómeros en medio gaseoso fueron 0,001 mg/L para el isómero *cis* y 0,02 mg/L para el *trans*, confirmando esto la significación olfativa del isómero *cis* en relación al *trans*, además de la importante contribución de estos isómeros al aroma de las bebidas alcohólicas añejadas (15).

Fenoles volátiles

El tratamiento térmico dado al roble tiene un efecto sobre el carácter sensorial de los vinos, dado que los fenoles volátiles provenientes de la degradación térmica de la lignina produce un sabor y un aroma ahumado (12), mientras que otros resultados experimentales sugieren que los fenoles volátiles proveen la impresión sensorial primaria que reciben los vinos cuando son tratados con roble (16). Como grupo, los fenoles volátiles tienen un olor ahumado, medicinal, pero están en concentraciones demasiado bajas en los vinos normales para tener un efecto sobre el olor y sabor. El eugenol, con un umbral sensorial estimado en 50 µg/L en solución a 20 % de etanol, requiere de contenidos muy altos para ser percibido como clavo, pero es considerado como un indicador del olor a roble, dado el potencial de extracción desde el roble, lo que puede influenciar las propiedades sensoriales de los vinos (3, 17).

Compuestos nitrogenados, ácidos y aldehídos furánicos

Los compuestos nitrogenados heterocíclicos, en particular ciertas pirazinas, pueden aportar notas de quemado, nuez, tostado, a bajos umbrales (3). El ácido acético y en general los congéneres ácidos no contribuyen significativamente al olor de las bebidas alcohólicas. Los ácidos presentes en un whisky artificial presentaron poca contribución al olor, cuando se compararon con otras fracciones de componentes como ésteres, carbonilos y alcoholes. El ácido acético tuvo una contribución ligera al olor, a pesar de su relativa alta concentración en general, los ácidos de mayor peso

molecular presentaron la menor contribución al olor (18), aunque no puede descartarse totalmente su contribución (19). Al parecer, su mayor aporte es en el sabor, ayudando a conformar la nota ácida, sin olvidar su contribución al cuerpo, debido a que la mayoría de estos ácidos son muy poco volátiles, estando presentes en el residuo seco. Los aldehídos furánicos intervienen también en los vinos en reacciones de condensación con flavanoles y antocianidinas y generan productos de condensación que intervienen en el color y astringencia (13). Se cree que el 2-furfural participa en el olor a caramelización y puede contribuir a la sensación de "calor" que brindan los destilados. Como sus concentraciones son bajas, es poco probable que brinde un aporte significativo.

La Tabla 1 muestra algunos de los principales compuestos volátiles del roble y los descriptores a los que se asocian. En general, en las propiedades sensoriales de los destilados y vinos influyen el origen del roble, el secado de la madera, el tostado y la adición de virutas o extractos de roble, donde la lactona de roble, vainillina y una variedad de fenoles volátiles son los compuestos más importantes (3, 5, 8, 16, 20-22).

Tabla 1. Descriptores asociados a compuestos volátiles del roble¹

Compuesto	Olor
Lactona de roble (β -metil- γ -octalactona)	A roble/coco
Vainillina	Vainilla
Fenoles volátiles (en general)	Ahumado/medicinal
Eugenol	Clavo/especia
Isoeugenol	Clavo/especia
2-Furfural	Caramelo
Maltol	Tostado/caramelo
1-Hexanal	Aserrín/herbáceo
1-Hexanol	Aserrín/vegetales
1-Nonanol	Aserrín/rancio
2-Etil-1-hexanol	Aserrín
1-Decanol	Aserrín/rancio
4-Vinilguayacol	Clavo/especia
Derivados terpénicos	Resinoso/violetas/limón/cuero

Indicadores físico-químicos aportados por la madera de roble a las bebidas

El proceso de añejamiento de las bebidas alcohólicas en barriles de roble provoca la extracción de componentes de la madera que generan la formación o incremento de un grupo de indicadores químicos que son de un gran valor en la caracterización de las bebidas alcohólicas añejadas, sobre todo las destiladas. Entre los más importantes tenemos: color, provocado fundamentalmente por compuestos de tipo polifenólicos, entre los que se encuentran taninos, flavonoides y lignina y productos de la degradación de la hemicelulosa cuando el roble es tostado o quemado (3, 23, 25, 26); fenoles totales donde se agrupan una serie de compuestos que tienen en común poseer en su estructura un grupo fenólico, los cuales son esencialmente elagitaninos (27), que son fácilmente extraíbles por mezclas alcohol-agua (28), aunque están presentes también flavonoides, lignina y sus productos de degradación, cumarinas y toda una serie de fenoles simples (3, 17, 29, 30). Los robles europeos presentan un mayor contenido de fenoles totales que los robles americanos (7, 31, 32) y el análisis de los fenoles ayuda a caracterizar una bebida alcohólica añejada, pues juegan un papel en las propiedades organolépticas; intervienen en el color, sabor, así como la astringencia y el cuerpo (23, 33). Otro indicador importante lo constituyen los sólidos solubles que lo componen taninos, derivados de la lignina y de la hemicelulosa y ácidos de peso molecular elevado; es un parámetro considerablemente variable en muestras individuales de maderas de roble (30, 34); a su vez, es muy utilizado en los estudios sobre la composición de la madera de roble (3, 30, 35). Finalmente, la acidez que se divide en tres clases: acidez total, fija y volátil; en los destilados y vinos añejados, la madera de roble contribuye tanto a la acidez fija, como a la volátil.

Analítica en la madera de roble

Las técnicas que se emplean se aplican a destilados y vinos añejados en barriles de roble o a extractos de roble cuando el objetivo es extender los resultados a los procesos de añejamiento.

Color

Los análisis de color de los destilados añejados en barriles de roble, tanto en control de calidad como en investigaciones, se han basados en la determinación de la intensidad del color por lectura de la absorbancia a 430, 440 y 525 nm (34, 36-38). Sin embargo, estos valores dicen poco sobre las características cromáticas de los destilados añejados y si estas varían en dependencia de los factores que afectan la composición de la madera. Adicionalmente, se han reportado inconvenientes técnicos en las lecturas de absorbancia a 430 nm, fundamentalmente la imposibilidad de correlacionar los resultados instrumentales con los visuales (39). En las características cromáticas que aporta la madera de roble, tanto a los destilados añejados como en los estudios de la madera de roble en sí, casi no se han empleado los sistemas de determinación del color basados en los valores triestímulos (XYZ, Yxy, Lab, L*b*a* y L*C*H°), aunque han sido reportadas modificaciones en ellas en los vinos durante el añejamiento, distinguiéndose si el barril empleado era de roble americano o francés mediante el análisis de grupos jerárquicos (40).

Fenoles totales

Generalmente la determinación de los fenoles totales o polifenoles totales como también se conocen, se realizan mediante métodos espectrofotométricos. Los más usuales en la actualidad son el de Folin-Dennis y Folin-Ciocalteu, basados en la formación de óxidos azules de wolframio y molibdeno, determinación de la absorbancia a 760 nm y expresan la concentración como ácido tánico o ácido gálico (35, 38, 41), aunque existen otros métodos que están en desuso (23). El método de Folin-Ciocalteu es el más utilizado, pero con varias variantes (1, 42), lo que lo hace menos normalizado en relación al de Folin-Dennis que es el método oficial de la AOAC y es el único con esta condición (11). Hay otros autores que han utilizado la absorbancia a 280 nm como una medida de los fenoles totales (16, 32, 43).

Acidez total, fija y volátil

Este indicador, en el caso de las bebidas alcohólicas, se determina por valoración con un hidróxido alcalino en presencia de un indicador de neutralización (38, 44).

La acidez total se evalúa en la muestra íntegra del destilado o el vino, la fija en su extracto seco después de diluido y la volátil por diferencia entre ellas.

Taninos

Con la aparición de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se comenzó el análisis de los elagitaninos, con extractos de roble a partir de virutas y diferentes mezclas: metanol/agua (1:1), acetona/agua (7:3), etanol/agua (2:1), con posterior extracción de los taninos con disolventes orgánicos (éter etílico y acetato de etilo) o eliminación del disolvente del extracto de roble a presión reducida y posterior secado de los extractos en frío. Los extractos son analizados con columnas del tipo C18 y varios gradientes de disolventes. Puede emplearse un prefraccionamiento con cromatografía de adsorción sobre Sephadex LH 20, detección a 270 nm y determinarse también los pesos moleculares mediante cromatografía de permeación de geles con una columna HP-PL gel Mixed-D y detección a 270 nm (7, 45-47).

Lignina y sus productos de degradación

Por precipitación de sólidos con saturación con NaCl después de concentrar la muestra al vacío; en el sólido precipitado se halla la lignina de extracción que es separada por filtración y lavado (34, 36). Otro método con varias variantes se basa en la determinación de grupos metoxilos y etoxilos de acuerdo al principio de Zeissel modificado, que escinde estos grupos por ebullición con ácido yodídrico, con formación de yoduros de alquilo, posteriormente cuantificados por gravimetría, por valoración con tiosulfato de sodio o por cromatografía de gases (48, 49). Las ventajas de estos métodos son que se pueden aplicar tanto a la madera como a los destilados (en su extracto seco) y a cualquier variedad de lignina y a sus productos de descomposición. Como desventaja tiene que los resultados se expresan como grupos metoxilo solamente y es necesario conocer qué porcentaje representa del total de lignina para expresar los resultados en base a este polímero. Además, al estudiar las diferentes especies se asume que el porcentaje de metoxilos es el mismo para cada lignina.

Aldehídos y ácidos aromáticos

Se han utilizado diversos métodos en dependencia del grado de desarrollo de las técnicas instrumentales: el primero de ellos determina los grupos alcoxilos en base a los principios antes señalados y en que los aldehídos aromáticos son volátiles a 105 °C mientras que los ácidos no (48); el segundo emplea cromatografía en columna y placa delgada; posterior a la concentración de la muestra y extracción con disolventes (50); el tercero de los métodos emplea cromatografía en fase líquida donde después de concentrada la muestra, el residuo acuoso es ajustado a pH 9 y extraído con éter etílico. En esta fracción están los aldehídos. La fase acuosa es llevada a pH 2 y se vuelve a extraer con éter etílico para obtener los ácidos; a partir de aquí combinado cromatografía en placa y en columna, se determinan los aldehídos y ácidos con detección a 280, 310 y 390 nm para los aldehídos y a 235, 265 y 320 nm para los ácidos (51). Por último, se utiliza la HPLC. Inicialmente, los aldehídos y ácidos aromáticos son extraídos con disolventes orgánicos de los extractos de roble, con posterior evaporación y redisolución para su posterior análisis; también se ha usado la extracción en fase sólida (SPE) como forma de aislar los compuestos para su posterior análisis. Con el desarrollo de los equipos de HPLC se ha hecho posible analizar directamente los extractos con la utilización de columnas del tipo C18 (1, 35, 46, 52-54).

Compuestos volátiles de la madera de roble

En estos compuestos están representados fenoles y derivados fenólicos, ésteres, ácidos, terpenos, alcoholes, aldehídos y cetonas, acetales, derivados furánicos, lactonas y otros de diversas funciones químicas. Su determinación se hace generalmente mediante una maceración de virutas de roble con una solución hidroalcohólica con un contenido de etanol similar a la bebida que se quiere simular: 12 a 13 % para vinos, 40 a 60 % para bebidas destiladas y con el pH ajustados consecuentemente: a 3,5 para vinos y de 4 a 5 para bebidas destiladas. El tiempo de maceración no supera los 30 días y la relación peso de viruta/volumen de solución no excede una proporción que simule las condiciones del añejamiento natural en barriles (relación área superficial interior del barril/volumen de líquido que contiene). El macerado se somete a una extracción líquido-líquido, incluida la extracción-destilación simul-

tánea, con disolvente orgánico (diclorometano o acetato de etilo). Seguidamente se analiza la composición del extracto mediante GC-MS (25, 26, 55-59). Otra variante es el empleo de un extractor de disolvente acelerado con diclorometano, evaporación del disolvente para concentrar y análisis por CG-MS (60). También se emplean técnicas de análisis que atrapan los compuestos volátiles del roble directamente sobre la madera: desorción térmica directa y la microextracción en fase sólida (SPME), aunque este último presenta el inconveniente de no poder determinar cuantitativamente la composición; además del empleo de una nariz elec-

trónica (55, 61-64). Recientemente se ha empleado la espectroscopía en IR cercano para analizar compuestos del roble en vinos tintos añejados (63).

Los elementos extraíbles del roble como taninos, lignina y hemicelulosa y sus productos de degradación, además de otra serie de compuestos volátiles, contribuyen a la tipicidad de las características organolépticas de las bebidas alcohólicas añejadas, que brindan además una diferenciación entre ellas y generan una serie de indicadores físico-químicos, donde los métodos analíticos empleados implican una amplia abanico de técnicas.

REFERENCIAS

1. Puech, J. J. *Enol. Vitic.* 35 (2): 77-81, 1984.
2. Francis, I.; Sefton, M. y Williams, P. J. *Am. J. Enol. Vitic.* 43 (1): 23-30, 1992.
3. Singleton, V. *Am. J. Enol. Vitic.* 46 (1): 98-115, 1995.
4. Mosedale, J.; Puech, J.; Feuillat, F. *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (4): 503-512, 1999.
5. Sauvageot, F. y Feuillat, F. *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (4): 447-455, 1999.
6. Pérez-Prieto, L.; López-Roca, J.; Martínez-Cutillas, A.; Pardo-Minués, F. y Gómez-Plaza, E. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3272-3276, 2002.
7. Glasbania, A. y Hofmann, T. *J. Agric. Food Chem.* 54: 3380-3390, 2006.
8. Cerezo, A.; Tesfaye, W.; Torija, M.; Mateo, E.; García-Parrilla, M. y Troncoso, A. *Food Chem.* 109: 606-615, 2008.
9. González, J. y Pino, J. *Cienc. Tecnol. Alim.* 20 (2): 73-81, 2010.
10. Masson, G.; Puech, J.; Baumes, R. y Moutounet, M. *Revue-des-Oenologue-et-des-techniques-vitivinicoles-et-Oenologiques* 82 : 20-23, 1996.
11. Puech, J.; Feuillat, M.; Boulet, J.; Feuillat, F.; Keller, R.; Masson, G.; Moutounet, M.; Naudin, R. y Peyron, D. *Enología. Fundamentos Científicos y Tecnológicos.* C. Flanzly Ed., Mundi-Prensa Libros, Madrid, 2003.
12. Chatonnet, P. y Boidron, J. En: *Proc. 17th Australian Wine Industry Conf.*, Adelaide, S.A. 13-17 August, 1989.
13. Nonier-Bourden, M.; Vivas, N.; Absalon, C.; Vitry, C.; Fouquet, E. y Vivas de Goulecac, N. *Food Chem.* 107: 1494-1505, 2008.
14. Birch, G. y Shamil, S. *Food Chem.* 21: 245-258, 1986.
15. Abbot, N.; Puech, J.; Bayonove, C. y Baumes, R. *Amer. J. Enol. Vitic.* 46 (3): 292-294, 1995.
16. Pocock, K.; Sefton, A. y Williams, P. J. *Enol. Vitic.* 45 (4): 429-434, 1994.
17. Masson, G.; Puech, J. y Moutounet, M. *Bulletin de l'O.I.V.* 69 (785/786): 634-657, 1996.
18. Salo, P.; Nykanen, L. y Suomalainen, H. *J. Food Sci.* 37: 394-398, 1972.
19. Pino, J. *Alimentaria* (269): 79-85, 1996.
20. Castino, M.; Ubigli, M.; Bossa, A. y Mariscalco, G. *Vignevine* 18 (4) : 53-58, 1991.
21. Díaz-Plaza, E.; Reyero, J.; Pardo, F.; Alonso, G. y Salinas, M. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 2622-2626, 2002.
22. Koussissi, E.; Dourtaglou, V.; Ageloussis, G.; Paraskevopoulos, Y.; Dourtaglou, T.; Paterson, A. y Chatzilazarou, C. *Food Chem.* 114: 1503-1509, 2009.
23. Salinas, M.; Garijo, J.; Pardo, F. y Alonso, G. Revisado: <http://4w.cajaduero.es/agro/public/cap20cone.htm>, 2008.
24. Muñoz, M. y Mariné, A. *Anal. Bromatol.* XXX-2: 107-122, 1978.
25. Cantagrel, R.; Snackers, G.; Nepveu, G. y Keller, R. *Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et oenologiques.* 84 : 7-13, 1997.
26. Cutzach, I.; Chatonnet, P.; Henry, R. y Dubourdieu, D. *J. Agric. Food Chem.* 45: 2217-2224, 1997.
27. Cutzach, I.; Chatonnet, P.; Henry, R. y Dubourdieu, D. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1663-1667, 1999.
28. Scalbert, A.; Montie, B. y Janin, G. *J. Agric. Food Chem.* 37: 1324-1329, 1989.
29. Peng, S.; Scalbert, A. y Monties, B. *Phytochem.* 30: 775-778, 1991.
30. Puech J. y Moutounet, M. *Lebensm. Wiss. Technol.* 25 (4): 350-352, 1992.

31. Viriot, C.; Scalbert, A.; Lapiere, C. y Moutounet, M. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1872-1879, 1993.
32. Masson, G.; Moutounet, M. y Puech, J. *Am. J. Enol. Vitic.* 46 (2): 262-268, 1995.
33. Chatonnet, P. y Dubourdiou, D. *Am. J. Enol. Vitic.* 49 (1): 79-85, 1998.
34. Cadahía, E.; Fernández de Simón, B.; Sanz, M.; Poveda, P. y Colio, J. *J. Agric. Food Chem.* 115: 639-649, 2009.
35. Baldwin, S.; Block, R.; Andreasen, A. y Adams, S. *J. Agric. Food Chem.* 15: 381-385, 1967.
36. Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E. y García-Vallejo, M. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1507-1511, 1996.
37. Reazin, G.; Baldwin, S.; Scales, H.; Washington, H. y Andreasen, A. *J. AOAC* 59 (4): 770-776, 1976.
38. Gomez-Cordovés, C. y González-San José, M. *J. Agric. Food Chem.* 43 (3): 557-561, 1995.
39. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD. Official Methods 956.02, 982.09, 2000.
40. Strunk, D.; Timmel, B.; Hamman, J. y Andreasen, A. *J. AOAC* 65 (2): 224-226, 1982.
41. Revilla I.; González, M. y Gómez Cordovéz, M. *Cienc. Tecnol. Alim. Intern.* 5 (2): 177-178, 1999.
42. Karvela, E.; Markis, D.; Kefalas, P. y Moutounet, M. *Food Chem.* 110 (1): 263-272, 2008.
43. Slinkard, K. y Singleton, V. *Am. J. Enol. Vitic.* 28 (1): 49-55, 1977.
44. Bosch-Fusté, J.; Sartini, E.; Flores-Rubio, C.; Caixach, J.; López-Tamames, E. y Buxaderas, S. *Food Chem.* 114: 782-790, 2009.
45. NC 291:2009. Bebidas Alcohólicas. Determinación de la acidez total. Oficina Nacional de Normalización. La Habana, 2009.
46. Cadahía, E.; Varea, S.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B. y García-Vallejo, M. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3677-3684, 2001.
47. Doussot, F.; de Jéso, E.; Quideau, S. y Pardon, P. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5955-5961, 2002.
48. Deibner, L.; Jouret, C. y Puech, J. *Ind. Alim. Agric.* 93 (4): 401-414, 1976.
49. Puech, J. *Am. J. Enol. Vitic.* 32 (2): 111-114, 1981.
50. Bricout, J. *Ann. Technol. Agric.* 20 (3): 217-223, 1971.
51. Puech, J. *J. Food Sci. Agric.* 42: 165-172, 1988.
52. Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E. y García-Vallejo, M. *C. J. Agric. Food Chem.* 47: 1687-1694, 1999.
53. Quesada Granados, J.; Merelos-Guervos, J.; Oliveras-López, M.; González-Peñalver, J.; Olalla-Herrera, M.; Blanca-Herrera, R.; López-Martínez, M. *C. J. Agric. Food Chem.* 50: 1470-1477, 2002.
54. Muñoz-Muñoz, A.; Grenier, A. y Gutiérrez-Pulido, H. *J. Chromatogr. A* 1213: 218-223, 2008.
55. Chatonnet, P.; Cutzach, I.; Pons, M. y Dubourdiou, D. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4310-4318, 1999.
56. Pérez-Coello, M.; Sans, J. y Cabezudo, M. *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (2): 162-165, 1999.
57. Pérez-Coello, M.; Sánchez, M.; García, E.; González-Viñas, M.; Sanz, J. y Cabezudo, M. *J. Agric. Food Chem.* 48: 885-889, 2000.
58. Guchu, E.; Díaz-Moroto, M.; Díaz-Moroto, I.; Vila-Lameiro, P. y Pérez-Coello, M. *J. Agric. Food Chem.* 54: 3062-3066, 2006.
59. Fernández de Simón, B.; Esteruelas, E.; Muñoz, A.; Cadahía, E. y Sanz, M. *J. Agric. Food Chem.* 57: 3217-3227, 2009.
60. Vichi, S.; Santini, C.; Natali, N.; Riponi, C.; López-Tamames, E. y Buxaderas, S. *Food Chem.* 102: 1260-1269, 2007.
61. García-Romero, E.; Pérez-Coello, M.; Sanz, J. y Cabezudo, M. *Analisis* 26: 33-35, 1998.
62. Díaz-Moroto, M.; Sánchez-Palomo, E. y Pérez-Coello, M. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6857-6861, 2004.
63. Garde-Cerdán, T.; Lorenzo, C.; Alonso, G. y Salinas, M. *Food Chem.* 119: 823-828, 2010.
64. del Alamo, M.; Nevares, J.; Gallego, L.; Martín, C. y Merino, S. *Anal. Chim. Acta* 621: 86-99, 2008.