

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA

DETERMINACION DE FURFURAL Y 5-HIDROXIMETILFURFURAL
EN AGUARDIENTES DE VINO Y SU RELACION CON EL
PROCESO DE ENVEJECIMIENTO EN ROBLE

MEMORIA que presenta para aspirar al Grado de Doctor en Farmacia, el
Licenciado JOSE JAVIER QUESADA GRANADOS.

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA

TESIS DOCTORAL

DETERMINACION DE FURFURAL Y 5-HIDROXIMETILFURFURAL
EN AGUARDIENTES DE VINO Y SU RELACION CON EL
PROCESO DE ENVEJECIMIENTO EN ROBLE

JOSE JAVIER QUESADA GRANADOS

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA

DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL

Prof. Dra

M^a C. López Martínez

Prof. Dra.

Herminia López G^a de la Serrana

Prof. Dra.

Marina Villalón Mir

Licenciado: JOSE JAVIER QUESADA GRANADOS

Aspirante al Grado de Doctor en Farmacia

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Directora: M^a DEL CARMEN LOPEZ MARTINEZ

**CERTIFICO que el presente trabajo ha sido realizado por el
Licenciado JOSE JAVIER QUESADA GRANADOS, en el Laboratorio
del Departamento de Nutrición y Bromatología (Facultad de
Farmacia de Granada).**

Granada, Mayo de 1993

AGRADECIMIENTOS

A la hora de presentar esta Memoria de Tesis Doctoral, quisiera expresar mi agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

A la Dra. López Martínez como Directora Departamento, por la confianza depositada en mí, y por su inestimable apoyo en los momentos complicados.

A mis Directoras de Tesis, Dras. López Martínez, López García de la Serrana y Villalón Mir, por haberme introducido en el mundo de la investigación y por su generosa ayuda, sin la cual, no hubiese podido concluir este trabajo.

A todos mis compañeros "machacas" del Departamento, por su colaboración, así como por los buenos ratos pasados, que también los hubo.

A mi paisana Marisa Vílchez por su siempre interesante contribución a la realización de esta memoria.

A todos los componentes del Departamento de Nutrición y Bromatología por su amistad y apoyo, sin los cuales, no me hubiese resultado tan ameno el trabajo en el Departamento.

Al INRA de Montpellier (Francia) por su cooperación en el suministro de la muestras necesarias para la realización de este trabajo de investigación.

A mi Familia y amigos por su colaboración durante la realización de esta Tesis, y por haberme "aguantado" en los momentos difíciles.

Por último, a todas aquellas personas, que aunque no aparezcan en esta página, han contribuido de una forma u otra a que este trabajo salga adelante.

A todos, Gracias.

*A mis Padres, Hermano
y Novia.*

INDICE

	Páginas
I. OBJETIVOS	10
II. INTRODUCCION	11
II.1. HISTORIA DEL BRANDY	11
A.- Origen y nacimiento del brandy	12
B.- Situación del mercado nacional e internacional	15
II.2. ELABORACION DEL BRANDY	18
A.- Métodos de destilación	18
A.1. Destilación del Cognac	18
A.2. Destilación del Armagnac	18
A.3. Destilación del Brandy de Jerez	19
A.4. Destilación del Brandy Catalán	19
A.5. Destilación de otros tipos de Brandy	19
B.- Métodos de envejecimiento	20
B.1. Fabricación del barril	20
B.2. Envejecimiento por el sistema tradicional	21
B.3. Envejecimiento por el sistema de "soleras"	21
B.4. Otros tipos de envejecimiento	22
II.3. COMPOSICION QUIMICA DEL BRANDY	23
A. Componentes originados durante la destilación	23
B. Componentes originados durante el envejecimiento	24
C. Papel de estas sustancias como marcadores de envejecimiento	26
D. Papel que desempeñan los aldehídos furánicos en el seno de la composición química de los aguardientes.	28
D.1. Furfural y 5-HMF: Origen y formación	28
D.2. Mecanismos de degradación de la celulosa y hemicelulosa de la madera	30
D.3. Presencia de aldehídos furánicos en aguardientes envejecidos	30
D.4. Formación del 5-HMF y furfural durante los procesos de caramelización	31
D.5. Contribución de los aldehídos furánicos en la calidad de los brandies: evolución durante el proceso de envejecimiento	32
D.6. Técnicas analíticas existentes para la determinación de aldehídos furánico	33
E. Investigación experimental sobre la toxicología del furfural y 5-HMF	34
II.4. PAPEL DEL CARAMELO EN LA COMPOSICION QUIMICA DE LOS AGUARDIENTES.	37
A. Tipos de caramelos usados en las industrias alcoholeras	37
B. Utilización del caramelo como colorante en la industria del brandy	37
C. Toxicología del caramelo como aditivo	38
II.5. COMENTARIOS A ALGUNAS REGLAMENTACIONES EUROPEAS SOBRE LA PRESENCIA DE ALDEHIDOS FURANICOS EN AGUARDIENTES.	40
A. La reglamentación española	40
B. La reglamentación en la C.E.E.	40
C. La reglamentación francesa	41
III. PARTE EXPERIMENTAL.	43
III.1. REACTIVOS, MATERIAL Y APARATOS	43
III.2. MUESTRAS ANALIZADAS	43
III.3. CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICACIA	45
A. Puesta a punto del método cromatográfico	45
A.1. Condiciones experimentales	45
A.2. Reproducibilidad del método cromatográfico	45
A.3. Rectas de calibración	46
A.4. Comprobación de la exactitud de las técnicas analíticas propuestas por CLAE en el sistema modelo	48
B. Determinación de aldehídos furánicos en brandies comerciales sometidos a envejecimiento.	48
B.1. Muestras analizadas	48
B.2. Técnica analítica	49
B.3. Resultados obtenidos y Discusión	49
B.4. Comprobación de la exactitud de la técnica analítica propuesta por CLAE aplicada a muestras de brandy	51
C. Presencia de aldehídos furánicos en muestras comerciales de caramelo	52
C.1. Preparación de las muestras	52
C.2. Determinación de furfural y 5-HMF en caramelos comerciales por CLAE	52
C.3. Resultados obtenidos y Discusión	52
III.4. ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.	54
A. Estudio de la relación absorbancia/concentración para la determinación de aldehídos furánicos	54
A.1. Ley de Beer para disoluciones de furfural en etanol de 40% V/V y pH=10	54
A.2. Ley de Beer para disoluciones de 5-HMF en etanol de 40% V/V a pH=10	54
B. Empleo de un sistema modelo para la comprobación del método espectrofotométrico de determinación de aldehídos furánicos en brandy.	55
B.1. Preparación del sistema modelo	55
B.2. Determinación de furfural y 5-HMF en el sistema modelo	55
C. Determinación por espectrofotometría de aldehídos furánicos en brandies comerciales sometidos a envejecimiento.	55
C.1. Muestras analizadas	55
C.2. Resultados	57
C.3. Discusión	57
D. Comprobación de la exactitud de las técnicas analíticas propuestas aplicadas a muestras de brandy	58
III.5. COMPARACION DE METODOS DE DETERMINACION DE FURFURAL Y 5-HMF EN BRANDIES COMERCIALES.	60
A. Introducción	60
B. Factores considerados en la comparación de los diferentes métodos de análisis	60
C. Discusión de resultados	61
D. Interpretación estadística de los resultados	62
III.6. ENVEJECIMIENTO.	64
A. Evolución en el contenido de aldehídos furánicos para aguardientes sometidos a distintos procesos de envejecimiento	64
A.1. Envejecimiento por el procedimiento estático tradicional	64
A.2. Envejecimiento por el procedimiento dinámico de soleras	66
A.3. Influencia de la madera de roble y del proceso de envejecimiento sobre el contenido en aldehídos furánicos	67
B. Estudio de la composición de aldehídos furánicos para macerados de aguardientes en distintos tipos de virutas	71
B.1. Condiciones de maceración	71
B.2. Evolución en el contenido de aldehídos furánicos en los macerados de aguardiente durante 24 meses de envejecimiento	77
B.3. Análisis comparativo entre el envejecimiento en barril y el de los macerados de virutas con respecto al contenido en aldehídos furánicos	79
B.4. Influencia del proceso de agitación en la extracción de aldehídos furánicos a partir de macerados hidroalcohólicos	80
III.7. RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE CARAMELO Y EL CONTENIDO EN ALDEHIDOS FURANICOS EN AGUARDIENTES DE VINO ENVEJECIDOS.	84
A. Muestras analizadas	84
B. Técnica analítica	84
C. Resultados obtenidos y Discusión	84

	Página
111.8. ESTUDIO ESTADISTICO	87
A. Estudio mediante modelos no lineales de la evolución en la presencia de alde- hídos furánicos en aguardientes envejecidos	87
A.1. Resultados obtenidos en el estudio mediante modelos no lineales	87
A.2. Discusión de resultados	116
B. Relación furfural/5-HMF en muestras de brandy con caramelo y sin caramelo	129
B.1. Discusión de resultados	129
C. Influencia de los factores que afectan a las condiciones de envejecimiento sobre la extracción de aldehídos furánicos	129
C.1. Resultados obtenidos y Discusión	130
IV. CONCLUSIONES	136
V. BIBLIOGRAFIA	138

OBJETIVOS

I.- OBJETIVOS DEL TRABAJO

Dentro de la línea de investigación existente en nuestro Dpto. sobre bebidas alcohólicas, hemos creído interesante programar este estudio sobre "Determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural en aguardientes de vino y su relación con el proceso de envejecimiento en roble", ya que estos compuestos furánicos son habituales en la composición química de los aguardientes envejecidos en barriles de dicha madera y entre los que se encuentra el brandy.

El objeto del presente trabajo radica pues en la determinación de los aldehídos furánicos anteriores en distintas muestras de brandy, mediante la aplicación de la cromatografía líquida de alta eficacia, con el fin de precisar la relación que pueda existir entre estas sustancias y el proceso de envejecimiento en roble que sufren los brandies.

Para ello atenderemos a los siguientes objetivos:

- Poner a punto la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia y aplicarla al análisis de los compuestos furánicos en brandies comerciales, como alternativa al método recomendado por el Ministerio de Sanidad y Consumo (1985) ya que dicho método resulta mucho más laborioso por la preparación previa de las muestras. Asimismo se aplicará esta técnica de determinación de aldehídos furánicos sobre muestras de caramelo colorante usado habitualmente para la coloración de estas bebidas.

- Análisis de la relación furfural/5-HMF en cada una de estas muestras y su aplicación como indicativo de adición de caramelo como colorante, al ser esta sustancia empleada con el fin de acentuar en unos casos y enmascarar en otros, el proceso de envejecimiento natural en barril.

- Comprobar la influencia que el proceso de envejecimiento y sus distintos condicionantes (especie de roble, tecnología de fabricación, estado del barril, sistema de envejecimiento y presencia o no de caramelo) tienen sobre el contenido en aldehídos furánicos para poder así considerar a estos compuestos como marcadores de envejecimiento.

- El cuarto objetivo ha sido el estudio de la composición en compuestos furánicos de macerados preparados por nosotros con virutas de maderas de roble de distintas procedencias y de cáscaras de almendras, aplicándoles diferentes tratamientos (tamaño de virutas, quemado de las mismas, agitación, ...) y observando la evolución de dichos compuestos furánicos en el tiempo con el fin de compararlo con el método clásico de envejecimiento de estas bebidas.

- Por último, se intentará ajustar la presencia de aldehídos furánicos en las distintas muestras de brandies estudiadas, mediante una función matemática capaz de predecir de una manera aproximada, el contenido en estos dos aldehídos de dichas muestras.

INTRODUCCION

II.1. HISTORIA DEL BRANDY

A.- ORIGEN Y NACIMIENTO DEL BRANDY

Para DELGADO, C. (1987) el gran motor de la humanidad en su desarrollo histórico ha sido el buscar la razón última de las cosas, su esencia, espíritu, mecanismo e impulso. El hombre ha gozado con las cosas que le proporcionaba la naturaleza, urgando en ellas y buscando el motivo de su gozo. ¿Qué es lo que hace que un jazmín huela tan agradablemente o por qué el vino nos embriaga? Son preguntas que el hombre se ha ido planteando a lo largo de los siglos con el único fin de descubrir el por qué o la causa última de las cosas.

Es la historia de la destilación la que ejemplariza de una mejor forma esta búsqueda de la verdad. La historia del brandy va unida de forma inseparable a la del aguardiente de vino, porque después de todo, ¿qué es el brandy sino un aguardiente envejecido en roble?—

Es por eso que al hablar de origen y nacimiento del brandy, hay que estudiar el origen y nacimiento del aguardiente.

El nacimiento del aguardiente va unido de forma indivisible a los descubrimientos de los principios físicos de la destilación (GEORGE, H. 1989).

Desde que el hombre aprendió a calentar líquidos en sus cacerolas primitivas o en pellejos de animal, pudo apreciar cómo los vapores de la cocción, al condensar accidentalmente, concentraban los aromas del líquido (DELGADO, C. 1987).

¿Quién sabe si no fue un alquimista en uno de sus múltiples intentos de convertir los metales vulgares en oro, el que dio con los secretos de la destilación creyendo haber descubierto el secreto de la cocción-condensación? (GEORGE, H. 1989).

Realmente no sabemos si fue exactamente así, aunque ya Aristóteles habla de la sublimación de líquidos con el fin de potabilizar el agua marina. Este arte era utilizado frecuentemente por los Griegos para obtener esencias de flores con las que elaborar sus perfumes. Plinio I en su tratado sobre la Vid y el Vino menciona la destilación aunque sin precisar a qué se refería (DELGADO, C. 1987).

Sin embargo, fueron los egipcios los que consiguieron los mayores avances en los procesos de destilación. De hecho, la primera muestra fidedigna de la existencia de la destilación es el dibujo del alambique que un laborioso alquimista egipcio, Zósimo de Panópolis, esbozó en un manuscrito, alambique muy parecido a los que hoy se siguen utilizando para la destilación del Cognac en la región de la Charente (LUJAN, N. 1985).

De las fuentes egipcias y concretamente en aquellas situadas en la cuna del saber de aquellos tiempos, Alejandría, los árabes aprendieron el arte de la destilación, convirtiéndose en sus entusiastas, propagadores y verdaderos impulsores por todo el Mediterráneo (DELGADO, C. 1987).

Esta misma hipótesis se aportaba por M. LE NORMAND en su trabajo *L'art du Distillateur des eaux-de-vie et des esprits*, publicado en París en 1817. Dice: "Los árabes se ocuparon desde tiempos ancestrales de extraer por destilación las partes aromáticas de plantas y flores para darles posteriormente un gran uso en su civilización. En sus incursiones por Europa llevaron estas técnicas a Italia, España o Francia".

Morewood en sus estudios llegó a la misma conclusión, pero aclarando el origen egipcio, hindú o chino del arte de la destilación. La contribución de los árabes se limitó a su propagación por Europa y mejorar las técnicas (BARNARD, A. 1969).

Sin embargo, existen historiadores que afirman la hipótesis que las técnicas de destilación procedentes de Alejandría, llegaron a las milenarias tierras de Irlanda por los monjes egipcios que partieron del puerto de Alejandría antes de que los árabes propagaran estas técnicas por el Mediterráneo. Estos monjes convirtieron a Irlanda durante el siglo VI en una verdadera civilización monástica y en uno de los grandes centros científicos de Europa.

Gracias a esta obra vía de penetración del conocimiento en Europa, se pudo salvar el vacío creado por los árabes en el estudio de otro tipo de sustancias, prohibidas para ellos por su religión, y que los monjes cristianos en sus monasterios, únicos centros del Saber en aquellas épocas, estudiaban como sustancias terapéuticas: las bebidas alcohólicas (DELGADO, C. 1987).

Hasta nosotros llegó fundamentalmente la cultura árabe y, fuimos por tanto receptores de toda esa sabiduría traída de Alejandría. Con ellos la química conoce un progreso impresionante, que propicia el desarrollo del arte de destilar (GEORGE, H. 1989).

Es así como Córdoba, capital del Califato, se convierte en la nueva Alejandría de la mano de los mejores médicos, naturalistas y alquimistas. Allí durante el siglo XII, la industria del destilado para perfumes, pomadas y elixires conoce un gran esplendor, irradiando su sabiduría a todos los países mediterráneos.

A los árabes debemos no sólo el arte sublime de destilar alcohol, sino el mismo nombre del precioso líquido, ya que éste deriva de la palabra *kohol*, que en árabe designa una preparación de antimonio con la que las mujeres se maquillaban los ojos. Igual sucede con las palabras alambique y alquitara que proceden respectivamente del árabe *ambiq* y *qatra*.

En Europa, los monasterios cristianos continuaban siendo los únicos centros del Saber existentes. En ellos, los monjes preparaban sus vinos, pan y otras sustancias tales como los destilados terapéuticos los cuales administrados por vía oral parecían tener cualidades curativas muy especiales. Nace así, el primer alcohol destilado en Europa y que provenía del grano, el whisky. El gran Alejandro Magno conocedor de estos brebajes, ya mencionaba una receta para la elaboración de esta bebida. Esta popularidad hizo que ya en el siglo XII en Europa existieran numerosos alambiques (Figura Nº 1) y se destilara el alcohol por perfumistas y boticarios, con la escuela de Salerno como centro prestigioso y propagador (DELGADO, C. 1987).

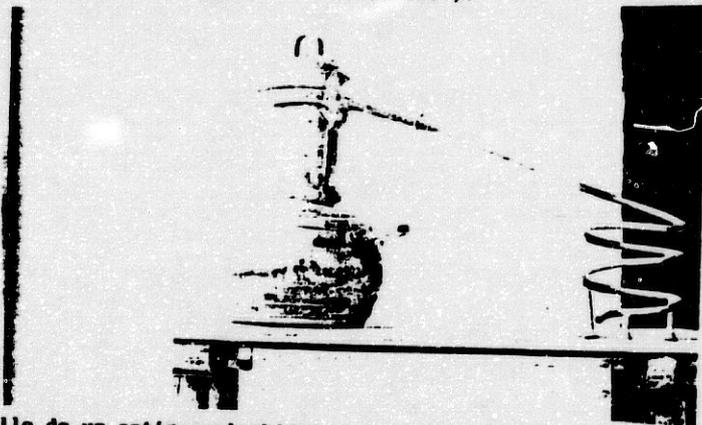


FIGURA Nº 1: Detalle de un antiguo alambique usado para ensayos de destilación.

Ahora bien, existe la creencia que la destilación y la invención del alambique en Europa se debe a Arnau de Vilanova, el médico, teólogo y escritor del siglo XIII. Nacido en Valencia en 1238, de familia de sangre judía, estudió en Montpellier y posiblemente recibió órdenes menores. Los dominicos fueron sus maestros en muchas disciplinas y quizás de ellos, comenzó a aprender el arte de la destilación. Sabía árabe, griego y algo de hebreo. Fue profesor en Montpellier, físico de Pedro III de Aragón y protegido de los papas Bonifacio VIII y Clemente V. Su importancia para nosotros radica en ser el inventor de la destilación del vino. En su obra latina titulada *De vi. is. sive de cōfectione vinorum* figura una frase considerada como acta de bautismo de un producto maravilloso y extraordinario: "Se extrae por destilación del vino o de sus heces, el vino ardiente llamado agua de vida que es vánico. Sin embargo, y sin quitarle ningún mérito, es posible que Arnau, conocedor del árabe, pudiese conocer las obras de Avicena, Abulcasis y Averroes, las cuales trataban, aunque no de una forma muy científica, de la destilación del agua de rosas, del vinagre y del vino. Incluso es fácil que conociera la famosa receta de Alejandro Magno sobre la destilación del aguardiente (LUJAN, N. 1985).

Un discípulo de Arnau de Vilanova, el mallorquín Raimundo Lulio, se considera sucesor en la pasión por el aguardiente de su maestro. Este médico considera al alcohol destilado como una medicina de extraordinarias características cuyas cualidades no son sino una "emanación de la Divinidad". Según él, el aguardiente era bueno para el corazón, cólicos, dolores, gota y preservar de la tan temida peste (DELGADO, C. 1987).

Friar Bacon fue un contemporáneo de Raimundo Lulio que también se dedicó a desarrollar y mejorar las técnicas árabes de destilación, y que consiguió como resultado de sus experimentos en la destilación, su *elixir vitae* (BARNARD, A. 1969).

Desde aquí, y hasta el siglo XIV la destilación del vino era patrimonio exclusivo de monjes y médicos (GEORGE, H. 1989).

Ya en el siglo XV, el doctor Hugh Fogl, de la Universidad de Nuremberg, había prevenido contra los excesos en la aplicación de este remedio: "Visto que actualmente se tiene la costumbre de beber aqua vitae como medicina, sería necesario recortar la cantidad que se puede beber si uno quiere comportarse como un caballero". Esta frase expresa claramente el uso y abuso que empezaba a tener tan eficaz remedio.

Otro hecho que viene a demostrar el abuso que comenzaba a darse con el aguardiente, es la existencia de noticias que cuentan de la aparición en las ciudades de carreteras dispuestas por las autoridades, y cuyo fin no era otro, que el de recoger a los borrachos que por culpa de la nueva bebida comenzaban a aparecer tirados por las calles (GEORGE, H. 1989).

Sin embargo, y aunque se comenzaba a abusar de tal medicina, ésta no era aún demasiado bien bebible. Los destilados producidos eran ricos en alcoholes de la flema, convirtiéndolos en bebidas ásperas y ardientes en demasía. Cuando se tomaba con fines medicinales se ingería en pequeñas cantidades fácilmente asimilables, pero cuando esta bebida comenzó a hacerse popular ya se intentó mejorar su sabor (LUJAN, N. 1985).

Raimundo Lulio no fue ajeno a este problema y en su libro *Testamentum novissimum* ya habla de destilar el alcohol por lo menos siete veces para eliminar toda clase de residuos, que podían influir negativamente en el sabor y en las virtudes curativas de esta medicina.

A partir de este momento, cuando el alcohol era ya popular comenzó a separarse este producto de lo meramente medicamentoso. Se comenzó a destilar con el fin de conseguir una bebida grata al consumo. Se recurrió como siempre a plantas, frutas, especias y a la adición de azúcar que provenía de las plantaciones americanas, así como a seguir empleando la miel como principal edulcorante. Aparecen así los primeros licores (DELGADO, C. 1987).

El primer antecedente conocido que hiciera reseña a la palabra "brandy", data de 1353, cuando el boticario francés Hyeronimus Burkhard se llevó consigo el secreto de la destilación del vino, obtenido durante una campaña militar en Italia. Existe un certificado por el cual se otorga a este boticario francés el privilegio de la "elaboración del brandy" (GEORGE, H. 1989).

En principio a cualquier aguardiente se le podría llamar brandy, que es la palabra universal que significa destilar, quemar.

En España se menciona por primera vez esta denominación cuando aparece en el libro *La vida y los hechos de Estebanillo González, hombre de buen humor, compuesta por él mismo*, que fué redactada en los años cuarenta del siglo XVII y donde aparece indistintamente la palabra brandevin y aguardiente.

Cierto es que cuando se refiere a estas bebidas el autor de la obra, se encuentra en los ejércitos del cardenal infante Don Fernando en los Países Bajos, en Alemania y en toda Polonia y la palabra brandevin suena a una castellanización de la palabra holandesa "brandewijn", de la que procedería la inglesa brandy (LUJAN, N. 1985).

No es de extrañar que Esteban González conociera por primera vez la palabra "brandewijn" durante su estancia en los Países Bajos, pues es en esta zona de Europa donde adquiere un mayor desarrollo el arte de la destilación. A finales del siglo XVI, fugitivos flamencos que huían del dominio español del Duque de Alba y entre los que se encontraban expertos destiladores, aceptaron la oferta de hospitalidad que les hizo el príncipe de Brandeburgo para trabajar para él. Fue entonces, cuando se consiguieron avances realmente importantes en las técnicas de destilación (GEORGE, H. 1989).

Así la tradición destiladora de estos hombres ha llegado hasta nuestros días y aún hoy, permanecen abiertas empresas fundadas en el siglo XVI, como es el caso de la conocida casa BOLS fundada en 1575 por Lucas Bols (LUJAN, N. 1985).

En principio el aguardiente era áspero, de alta graduación, destilado de granos y que sólo bebían los soldados, con la desesperación del hambre, para olvidar. Fue el nacimiento del gran alcoholismo (LUJAN, N. 1985).

El consumo de aguardiente siempre ha ido parejo con las épocas de las grandes guerras. Cuenta la historia de cómo Napoleón mandó preparar seiscientos mil litros de brandy para su campaña de Rusia.

Se dice que la afición de Napoleón por esta bebida fue tal que hoy en día son muchas las casas elaboradoras de brandy que mencionan en su etiquetaje de las botellas la figura del Emperador, bien como nombre del brandy, bien como sinónimo de calidad. De todas formas este aspecto puede tener mucho de leyenda ya que no existe constancia de que Bonaparte consumiera Cognac y por otro lado, una de las más famosas casas elaboradoras de Cognac y que presenta en su etiquetaje la célebre frase "le Cognac de Napoleón" con la silueta del Emperador dibujada se fundó en 1835 y por aquel entonces Bonaparte llevaba catorce años desterrado en su exilio de Santa Elena (DELGADO, C. 1987).

Poco a poco, con el paso de los años el incontrolado delirio por el brandy se calmó. Se consiguió un control estatal por parte de los gobiernos y aparecieron las primeras reglamentaciones sobre el vino y su destilación (GEORGE, H. 1989).

En esta época aún se entendía por brandy el aguardiente de vino resultado de una destilación, el "vino quemado" del que hablaban los holandeses. Fueron estos, sin embargo, los que posteriormente se dedicaron a manipular el vino que anualmente compraban en la región francesa de Charente y que luego revenderían en Alemania y los países escandinavos ya que se encontraban con el problema de los excedentes de compra durante el tiempo en el que los puertos estaban cerrados por el crudo invierno, por lo que decidieron destilar estos excedentes y conservarlos en las mismas barricas de roble en las que venía el vino. Nace así el brandy tal y como hoy lo conocemos (DELGADO, C. 1987).

La primera corporación de destiladores en Francia data de 1624 y en el año 1637 el rey Luis XIII concedió cartas patentes para el oficio de "destilador y elaborador de agua de vida" (LUJAN, N. 1985).

Desde entonces en la región francesa de La Charente, los viticultores decidieron incluso dedicar cosechas enteras a la elaboración de vinos blancos que luego serían destilados y vendidos al Norte donde tenía gran aceptación. Nace así la leyenda del Cognac, nombre éste tomado de la ciudad de Cognac y cuyas tierras circundantes se dedican casi con exclusividad a la producción de vino para la posterior elaboración del Cognac (GEORGE, H. 1989).

El Cognac francés puede decirse históricamente que fue el primero que se comercializó. La leyenda del Cognac subió tan rápidamente, que ya se llegó incluso a atribuir el descubrimiento de la destilación a un boticario de La Rochelle, de nombre desconocido, pero seguramente comerciante avisado (LUJAN, N. 1985).

Se puede decir que el Cognac es el rey de los destilados, gracias sobre todo a los habitantes de la región de Cognac (Figura Nº 2), que han sabido dar categoría de arte a su "eaux de vie de vin". En 1860 comienza a comercializarse este aguardiente en botellas de vidrio y no en la misma barrica de roble donde envejeció como era costumbre. De esta forma se comenzaron a sentar las bases del poderoso desarrollo comercial, que pronto tendría imitadores por todo el mundo. Se hizo necesaria la intervención de juristas y legisladores en lucha por una denominación de origen que sólo se ha resuelto definitivamente a mediados del presente siglo (DELGADO, C. 1987).

Se puede decir que un aguardiente es Cognac cuando cumple una serie de requisitos: ser destilado de vino a partir de las variedades de uva denominadas "Saint-Émilion blanche" y "Colombard" y procedentes de la región de La Charente; ser destilado el vino en dos tiempos, con alambiques tradicionales de Charente; envejecer en roble del Limousin al menos durante dos años; tener un mínimo de 40 grados. Cualquier otro aguardiente francés o extranjero que no cumpla con estas características podrá ser tan exquisito como el Cognac, pero no será ni podrá llamarse Cognac.

No todo es Cognac en Francia. En sus tierras también se produce otro aguardiente envejecido y por el cual disputan los entendidos. Se trata del Armagnac que toma el nombre de una antigua región francesa, centrada en el departamento de Gers y que según dicen los técnicos no tiene nada que envidiarle al Cognac. Su producción se limita a las regiones del Bas Armagnac, Ténarèze y Haut Armagnac con una extensión total de 200.000 hectáreas. El Bajo Armagnac es el que da mejores calidades, mientras que es el Alto el menos estimado (LUJAN, N. 1985) (Figura Nº 3).

Tiene fama por su profundo sabor y penetrante aroma. Tanto es así que ha sido usado frecuentemente mediante un apropiado "coupage" para dar cuerpo y color al Cognac. Hoy en día comienza a conocerse como tal y no como reforzador del otro aguardiente.

Los resultados obtenidos tras este viaje fueron sorprendentes, se consiguió crear un Brandy siguiendo las enseñanzas charentinas que a la vez tenía todas las cualidades propias de nuestra tierra y que empleaba para su envejecimiento el tradicional método jerezano de soleras. Ha sido tal el éxito de este brandy que pronto acaparó todo el mercado nacional, impidiendo la entrada de aguardientes franceses en nuestro mercado interno, y al alcanzando posiciones importantes en el resto de Europa.

A los jerezanos se unirían posteriormente catalanes y manchegos, constituyendo hoy día los grandes grupos elaboradores de Brandy en España, si bien los manchegos y catalanes utilizan para el envejecimiento el clásico sistema francés y no el empleado en Jerez (DELGADO, C. 1987).

La destilación del brandy en Cataluña se centra sobre todo en el Penedés y más concretamente en su capital Vilafranca, zona ésta de una amplia y antigua tradición vitivinícola. El vino del Penedés produce un grado suficiente como para poder obtener un aguardiente excelente, y dar así brandies con características más parecidas al francés que al andaluz. Si a esto le unimos su inferior coste respecto al francés, tenemos un Brandy muy apreciado por aquellas personas poco hechas al bouquet jerezano y que encuentran en estos brandies un sustituto ideal del brandy francés (LUJAN, N. 1995).

No solo España y Francia elaboran Brandy. Todos los países viticultores elaboran brandy, y son más o menos aficionados a él. Italia, Grecia y Portugal en menor medida, son países productores de brandy, aunque generalmente sin alcanzar la calidad del Cognac y Armagnac o del Brandy español.

En Hispanoamérica, como consecuencia de la herencia española se elaboran también brandies. Las zonas con más tradición vitivinícola como son Chile, Argentina, Bolivia o Perú fabrican un Brandy más dulce que el europeo al estar elaborado con uva moscatel. Es el conocido "pisco" cuyo nombre hace referencia a la ciudad peruana donde primero se elaboró. El pisco se acostumbra a consumir sin envejecimiento en madera, y se obtiene mediante una destilación muy lenta, en base a un mosto fermentado, a temperatura controlada para que conserve de esta forma la mayoría de sus aromas primarios. El aumento de calidad en este brandy que se produce como consecuencia del esmero con el que se elabora, está haciendo que cada vez se consuma más en detrimento de los alcoholes procedentes de la caña de azúcar o frutos azucarados (DELGADO, C. 1987).

B.- SITUACION ACTUAL DEL MERCADO NACIONAL E INTERNACIONAL

El consumo del Brandy en España desde el año 1989 tiende a la baja, al igual que otras bebidas alcohólicas como son los anisados.

Pese a ello, el brandy con un 26% del consumo total, sigue figurando a la cabeza del grupo de bebidas alcohólicas de mayor aceptación, por delante de la ginebra (20%) y whisky (16%) entre otros.

Este descenso del brandy se aprecia sobre todo en el ámbito urbano, mientras que sigue siendo consumido en zonas rurales y en los estratos de menor capacidad económica.

Así por ejemplo, en el año 1988 y realizando una distribución por zonas geográficas en la península y Canarias, encontramos cómo la mayor cantidad "per cápita" expresada en litros anuales corresponde al Noreste peninsular con 0.80 litros, seguida de Canarias y Levante con 0.70 litros. En el otro extremo nos encontramos con el centro-sur y áreas metropolitanas con un consumo anual de 0.42 litros (Figura Nº 5).

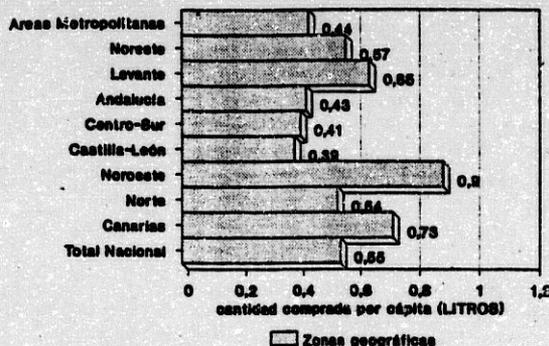


FIGURA Nº 5: Distribución geográfica del consumo de brandy en España.

Si se realiza esta división por clases sociales, en los años controlados el mayor consumo "per cápita" anual corresponde a la clase media con 0.57 litros, seguidos en orden decreciente por la clase baja y media baja con 0.55 litros. La división la cierra la clase alta con 0.45 litros por persona y año (Figura Nº 6).

Atendiendo al tamaño del hábitat, vemos cómo aquellos de menos de dos mil habitantes figuran a la cabeza con 0.67 litros. Le siguen aquellos hábitats de cien mil a quinientos mil habitantes con 0.65 litros "per cápita" anuales. Los de mil a cien mil habitantes con un consumo de 0.51 litros por persona y año; los de dos mil a diez mil con 0.47 litros y cierran los de más de quinientos mil habitantes con 0.42 litros.

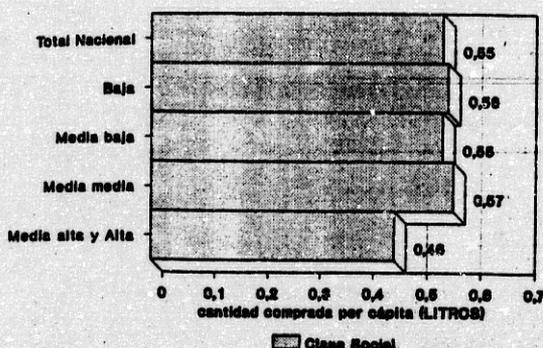


FIGURA Nº 6: Distribución por clases sociales del consumo de brandy en España.

Estos datos vienen a confirmar la tendencia a la baja en las zonas metropolitanas, donde otras bebidas alcohólicas como whisky, ron o licores de reciente aparición desplazan al brandy en las preferencias de los consumidores. Sin embargo se mantiene el consumo en aquellas zonas rurales de menor número de habitantes (Figura Nº 7).

Igualmente se puede hacer una distinción del lugar donde el consumidor español prefiere tomar esta bebida. Así por ejemplo, el consumo en establecimientos de hostelería y restauración es el más popular con un 57%, aunque con una tendencia actual a la baja del 1%.

Le sigue el consumo en el hogar con el 43% del total, pero con una tendencia a la baja mayor que en el caso de la hostelería y restauración, situándose en este caso en el 10%. El consumo en el hogar es bastante regular a

lo largo del año, con la excepción del mes de Diciembre, donde se produce un fuerte aumento del consumo y compra de esta bebida debido a las fiestas navideñas. Se pasa, pues, de un 25% de hogares compradores a un 60% en la época de Navidad.

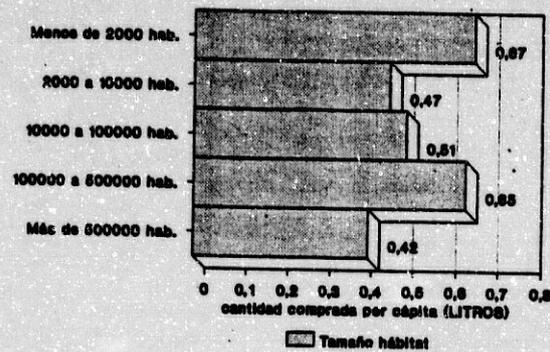


FIGURA Nº 7: Distribución por tamaño de hábitat del consumo de brandy en España.

El lugar preferido para la compra de esta bebida, así como para la compra de otras bebidas alcohólicas, son los autoservicios y supermercados, seguidos de tiendas tradicionales y economatos.

Hay que tener en cuenta a la hora de estudiar el consumo mundial de brandy, el hecho de que la destilación se puede realizar en cualquier lugar del mundo al no ser una actividad agrícola como la elaboración del vino. Es un proceso que depende de la industria y por tanto, cualquier zona a la que puede acceder un camión y exista agua, será apropiada para la elaboración de un destilado. Esta facilidad de elaboración ha dado lugar a una gran variedad de aguardientes semejantes al brandy que son consumidos en el mundo. Cada país suele elaborar su brandy particular y lo denomina también de forma particular por lo que muchas de las veces dicho aguardiente pasa inadvertido en las estadísticas (JOHNSON, 1987). Es, por tanto, difícil encontrar datos concretos sobre el consumo particular de brandy en el mundo.

Si disponemos de datos sobre el consumo del brandy más conocido mundialmente, y que no es otro que el Cognac. La Figura Nº 8 refleja estos datos.

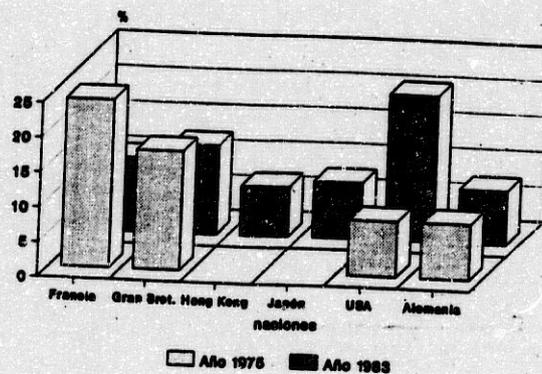


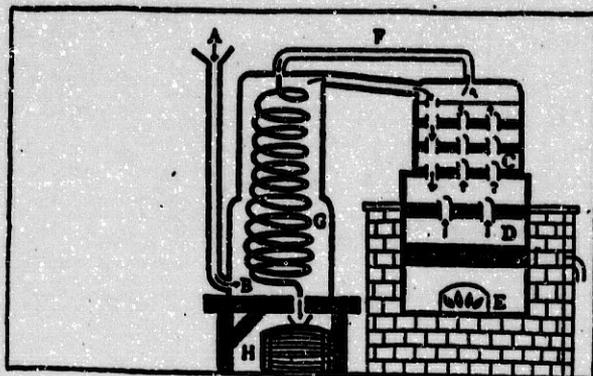
FIGURA Nº 8: Distribución del consumo de Cognac en el mundo.

La distribución del consumo de alcohol por bebidas y zonas geográficas viene recogida en la Figura Nº 9, donde se puede apreciar claramente cómo el consumo mayoritario de brandy se centra en Europa, Sudáfrica, Australia y en parte de América del Sur, quedando el resto de zonas geográficas repartidas entre el consumo de whisky, ginebra, vodka y ron.



FIGURA Nº 9: Distribución del consumo de alcohol por zonas geográficas mundiales.

Por lo que respecta a los datos disponibles sobre el consumo de Cognac, podemos observar cómo es Francia en 1975, la nación que más Cognac consume de las controladas con un 24% del total, mientras que en 1983 es ampliamente superada por los Estados Unidos de América con un 20.8% del total. Los Estados Unidos pasan de consumir el 8% en 1975 al 20.8% en 1983, frente a Francia que baja desde 1975 a 1983 algo más del 13% en su consumo de Cognac. Es curioso observar cómo la ciudad de Hong Kong se introduce en la lista de países consumidores de Cognac a partir de 1983 con un porcentaje de consumo del 7.1%, muy parecido este al porcentaje encontrado para países como Alemania Occidental o Japón.



Esquema del proceso de elaboración del armagnac: A) Entrada del vino. B) El vino se calienta al actuar como refrigerante del serpentín. C) Columnas de bandejas. E) Hogar. F) Vapores de alcohol. G) Serpentín. H) Salida del armagnac.

FIGURA Nº 11: Esquema de un alambique típico para la destilación del Armagnac y de su proceso de elaboración.

El vino base pasa a través de un tubo hasta la torre refrigerante donde será precalentado al bañar el serpentín de refrigeración. A la vez es el propio vino el que actúa como refrigerante y no el agua circulante como pasaba en el destilador del Cognac. La columna refrigerante se comunica con una típica columna de destilación de platos. Esta columna se encuentra incrustada en un horno de ladrillo en el que arde normalmente leña muy seca, no resinosa y que arde completamente.

El vino cae a la parte más baja de la columna de destilación y comienza así el proceso de destilación, que ocurrirá simultáneamente en cada bandeja de la columna. Los vapores producidos escapan por la parte más alta de la columna de destilación, llegando hasta el serpentín bañado en el vino base entrante, donde comenzará a condensar (DELGADO, C. 1987).

El destilado obtenido es un aguardiente de menor contenido alcohólico que el resultante de la doble destilación (alrededor de 55°) pero que conserva mayor cantidad de aromas primarios.

La destilación en continuo no es cara en términos energéticos y se realiza más rápidamente que la doble destilación, pero tiene el inconveniente de tener que ajustar muy bien las condiciones de destilación en la columna, número de platos, temperatura del horno, tipo de condensadores, etc., para obtener siempre aguardientes de calidad similar. Un pequeño cambio en cualquier factor de la destilación, condiciona la aparición de aguardientes con características diferentes (BERTRAND, A. 1989).

A.3. Destilación del brandy de Jerez

Por la Orden de 26 de Abril de 1989 de la Junta de Andalucía, publicado en el BOJA nº 35 del 5 de Mayo de 1989, se aprueba el Reglamento de la denominación específica de Brandy de Jerez, donde se define este brandy como "el aguardiente compuesto que obtenido de destilados de vino, se produce en la zona de elaboración y envejecimiento comprendida exclusivamente por los términos municipales de Jerez de La Frontera, Puerto de Santa María y Sanlúcar de Barrameda, en la provincia de Cádiz, y conforme a las prácticas tradicionales que este reglamento determina".

En esta orden queda clara la necesidad de elaborar el brandy de Jerez, en las comarcas antes citadas y conforme a las características expresamente indicadas, por dicho Reglamento y entre las que destaca el envejecimiento, mediante la técnica de soleras y criaderas.

Sin embargo, tal Reglamento no hace alusión concreta al tipo de destilación que debe sufrir el vino base para la elaboración del brandy de Jerez, aunque deja abiertas las puertas al empleo de aguardientes, obtenidos mediante una sola destilación (holandas de vino) o al empleo de una doble destilación, cuando se trata de conseguir aguardientes de alta graduación.

El método empleado para la destilación, continuo o por etapas, no está especificado en esta Reglamentación. Sin embargo es posible que cuando a mediados del siglo XIX se trasladara a Francia un grupo de elaboradores de brandy de la región de Jerez, se trajeran consigo el método charentino de destilación del Cognac y lo emplearan en la elaboración del brandy de la comarca de Jerez.

Para DELGADO, C. (1987), el brandy jerezano debe su personalidad a la peculiaridad de su proceso de elaboración, que debe a Charente el afinado de la destilación, pero que aporta la singularidad de su proceso de envejecimiento en soleras.

La destilación se hace a partir de un buen vino, de 13°, sano y aromático, generalmente blanco que son los que producen los mejores aguardientes al no haber entrado en contacto con el hollejo durante la fermentación. La destilación puede ser de una o dos vueltas, según el tipo de vino, ya que el objetivo es conseguir una holanda de 65° máximo, plena de aromas primarios que resulta esencial para la calidad del brandy. Se trata de una destilación lenta, con fuego suave y calor regular.

De otra parte, LUJAN, N. (1985), afirma que el brandy destilado al método Charentino que se centra en la ciudad de Jerez comenzó a destilarse a finales del siglo XIX con vinos no necesariamente de la región sino con los importados de La Mancha.

A.4. Destilación del brandy catalán

Este brandy elaborado fundamentalmente en la comarca catalana del Penedés se asemeja bastante al brandy francés, tomando de él no sólo el método de destilación charentino, sino también la técnica de envejecimiento. No obstante, también se suele utilizar la técnica de criaderas y soleras para el envejecimiento del brandy catalán (LUJAN, N. 1985).

A.5. Destilación de otros tipos de brandy

El brandy italiano tomó auge gracias a los conocimientos traídos de Francia por un destilador charentino llamado Jean Boutonne que se estableció en Italia y fundó la más prestigiosa casa elaboradora de brandy en este país. Aplicó en ella todas las técnicas francesas, desde la destilación por el método charentino hasta el envejecimiento según la tradición francesa, pasando por el tipo de madera empleado en las barricas (roble del Limousin) (DELGADO, C. 1987).

Sin embargo, ahora mismo la mayoría de las casas elaboradoras italianas emplean para la destilación del aguardiente sistemas continuos de destilación, amparados en la ambigüedad de la legislación italiana que no establece diferencias entre el brandy elaborado por el método charentino y aquel destilado en columnas mediante destilación continua. En concreto esta reglamentación en este aspecto sólo dice: "el aguardiente deberá obtenerse mediante destilación fraccionada o mediante destilación repetida... el producto final listo para soportar la fase de envejecimiento debe tener una graduación alcohólica comprendida entre 38.5 y 86 grados alcohólicos..." (FEZZI, E. 1987).

B.- METODOS DE ENVEJECIMIENTO

El roble es el material más empleado para el proceso de crianza y envejecimiento de vinos y aguardientes. Es un material que no se limita simplemente a ser la base de los barriles donde envejecen estos líquidos, sino que interviene de forma fundamental en los procesos que tienen lugar durante este periodo de crianza o envejecimiento. Aporta los caracteres olfativos y gustativos propios de la madera, pero además contribuye a la clarificación por sedimentación natural, la pérdida del gas carbónico en exceso, la penetración del oxígeno necesario para que tengan lugar los fenómenos de oxidación-reducción, etc.

Las reacciones químicas que tienen lugar durante este periodo de envejecimiento son consecuencia no tanto del vino, como de las características propias del roble empleado en la fabricación del barril. Los elaboradores de vinos y brandies pueden elegir entre una gran diversidad de barricas, elaboradas con roble de diversos orígenes geográficos, así como emplear un tipo u otro de técnica para la fabricación de las mismas. Cualquiera de estos factores va a influir notablemente en las características finales de la barrica y por consiguiente en las del aguardiente envejecido en estas barricas.

Cada elaborador aporta a sus brandies unas características propias que ha de mantener durante todo el periodo de comercialización, por lo que el tipo de barrica empleado deberá ser constante durante la elaboración de ese aguardiente. El aporte de la madera de roble a las características organolépticas del vino o aguardiente es fundamental, y hay que adecuar el tipo de barrica empleado al tipo de brandy que queremos elaborar. El mayor o menor aroma a roble puede ser uno de los caracteres que un elaborador puede ir buscando en sus productos, y éste se consigue aumentando o disminuyendo el grado de tostado del barril y usando uno u otro tipo de roble.

El roble es una de las 250 especies del género *Quercus*, en el que se distinguen dos subgéneros: el *cyclobalanopsis* y el *euquercus*. Este último agrupa seis secciones, siendo la *lepidobalanus* la más usada en la industria tonelera (ARTAJONA, J. 1991).

El roble empleado en la fabricación de toneles procede fundamentalmente de Francia, Estados Unidos, Rusia, Alemania, etc. Los más utilizados para la crianza de vinos y aguardientes son el roble francés y el americano.

El roble americano pertenece a la especie *Quercus alba* y es originario de los estados de Virginia, Missouri, Kentucky, etc.

El roble francés empleado en la fabricación de barriles procede fundamentalmente de dos especies: el *Quercus pedunculata*, que abunda en el Limousin y el *Quercus sessilis* más abundante en Allier y Nevers.

El roble empleado debe tener de 70 a 150 años que según los entendidos es el tiempo de roble que da mejor tabla (MARSTELLER, B. 1992).

B.1. Fabricación del barril

Las duelas se obtienen de los troncos por hendido o serrado. Cada una de estas técnicas presenta sus ventajas y sus inconvenientes. El hendido respeta las fibras de la madera lo que hace que los barriles fabricados con duelas hendidas tengan una gran estanqueidad, evitándose así los riegos por pérdidas de líquido durante el periodo de envejecimiento. El inconveniente de la técnica es que se producen importantes pérdidas de madera pues no se aprovecha completamente el tronco del roble.

La técnica de serrado es más rápida y rentable, sin embargo, en el corte de esta forma, los radios medulares de la madera, no siempre son paralelos a la cara de la duela, con lo que no se asegura la estanqueidad posterior del barril.

Un periodo importante en la elaboración del barril es el secado de las duelas. El secado debe realizarse a la intemperie dejando reposar las maderas durante aproximadamente tres años. El uso de tablas demasiado frescas puede otorgar un sabor amargo al brandy como consecuencia del alto contenido en taninos de la madera fresca. Durante el secado de las duelas al aire libre, la humedad cae hasta un 15%. Un secado artificial en hornos conseguiría los mismos efectos de reducción de la humedad, pero tendríamos los mismos problemas de amargor que al emplear maderas demasiado frescas. El agua de lluvia va a arrastrar los taninos amargos, mientras que los rayos UV del sol favorecerán actividades enzimáticas de la madera que mejorarán las características organolépticas del roble (ARTAJONA, J. 1991).

La regla general del tiempo de secado necesario es de un año por centímetro de espesor de la duela (PUECH, J.L. 1989).

Los elevados costes de la madera y los de mantener estos materiales inmovilizados están llevando al empleo de técnicas mixtas de secado.

Quizás la etapa más importante en la elaboración de una barrica sea el "doblado de las duelas" ya que la tecnología empleada en el proceso va a condicionar las características organolépticas de la bebida envejecida. Este proceso de doblado comienza con la humidificación de la cara externa de las duelas y el calentamiento de éstas mediante un fuego de virutas de madera. A continuación, alrededor del fuego se sitúan las duelas y de esta forma se obtiene, un quemado más o menos intenso de la cara interna de las mismas. El quemado se realiza de una forma totalmente empírica, y es característico de cada maestro tonelero.

Este quemado no se limita a un cambio de color superficial sino que afecta a la longitud de 50 cm de la cara interna de la duela y a un espesor de 2 mm. El doblado de las duelas crea pliegues que pueden dejar huecos de 1-2 mm bajo la superficie y con una longitud de hasta 5 mm. Estas oquedades supondrán posteriormente un problema para la necesaria limpieza de las barricas (RUIZ, M. 1989) (Figura Nº 12).

Una vez dobladas las duelas, para conseguir que mantengan la forma adquirida no se podrán emplear ni clavos ni encolados, es decir, no se podrán emplear técnicas que puedan influir en las características organolépticas del producto envejecido. Para conseguir tal fin se emplean aros de metal, que calentados previamente para conseguir su dilatación, se introducen externamente en los extremos del barril. Una vez fríos estos aros toman su tamaño normal apretando firmemente las duelas entre sí e impidiendo que pierdan las formas curvas (ARANGUREN, P. 1991).

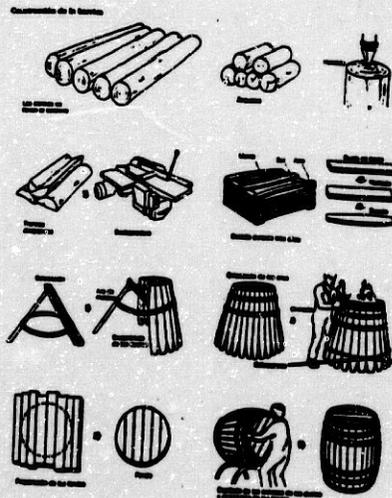


FIGURA Nº 12: Proceso de elaboración de un barril que incluye el doblado de las duelas y el empleo de calor para su realización.

B.2. Envejecimiento por el sistema tradicional

Este es el sistema empleado en el envejecimiento de Cognacs y Armagnacs. Los barriles empleados para el añejamiento de estos aguardientes tienen que estar fabricados a partir de duelas hendidas y no serradas, secadas a la intemperie durante cinco o seis años y nunca demasiado frescas (ARANGURHN, P. 1991).

En Francia se utiliza para el envejecimiento del Cognac el roble del bosque del Limousin o de Tronçais (*Quercus sessiflora*) obtenido siguiendo las condiciones antes mencionadas. Dicha madera tiene una alta porosidad y muy bajo contenido en taninos. Sin embargo para el envejecimiento por el método tradicional del Armagnac se usa el roble "negro" (*Quercus pedunculata*), rico en savia y en aromas. El licor envejece más deprisa en barricas de este tipo de roble que en el de Limousin blanco usado para el Cognac. Treinta meses en un barril de roble del Limousin o de Tronçais es el tiempo mínimo legal para cualquier Cognac. Aquellos que llevan las siglas VSOP (*Very Special Old Pale*) han permanecido en barril durante cinco años o más (JOHNSON, 1986).

Sin embargo, ningún Cognac podrá envejecer más de 70 años en una barrica, ya que cada año pierde aproximadamente 1 grado y como comienza a envejecer con 70 G.L., quiere decir que transcurridos esos años el Cognac se ha convertido en un líquido imbebible. Por eso el tiempo ideal de permanencia en el barril es de 30 años, así se reduce el grado alcohólico hasta los 40 G.L. reglamentarios durante el propio envejecimiento, y no posteriormente por dilución con agua. De todas formas el tiempo máximo de envejecimiento que la ley francesa deja poner en el etiquetaje de las botellas es solamente de siete años aunque realmente tenga 30 años de vejez.

El proceso que tiene lugar durante el envejecimiento por este método es el que sigue:

En una primera fase, el aguardiente es colocado en barriles de roble sin usar, para que de esta forma adquiera los aromas y taninos propios del roble. Las barricas más viejas están debilitadas en estos componentes y por tanto no son apropiadas para esta primera fase (DELGADO, C. 1987).

La segunda fase consiste en el paso del aguardiente desde la barrica nueva a las otras barricas usadas, donde permanecerá ya de forma estática e inmovilizado durante el tiempo necesario para que adquiera las características propias del brandy que se pretende elaborar.

Con este sistema se consigue una más completa extracción de los componentes de la madera nueva, y se favorecerán las reacciones de oxidación que tendrán lugar en el seno del aguardiente durante la maduración, como consecuencia del trasiego de unos barriles a otros.

Estas barricas en Francia son selladas y cada una de ellas posee su propia "cartilla de envejecimiento", que garantiza el tiempo real de envejecimiento que ha tenido un brandy. Una vez transcurrido este tiempo, se realiza una filtración para retener los restos de madera que pudiera llevar, así como otro tipo de operaciones permitidas en la reglamentación francesa y que incluyen la adición de sacarosa, caramelo, etc.

B.3. Envejecimiento por el sistema de "criaderas y soleras"

Esta técnica es originaria de la comarca de Jerez de La Frontera que incluye además de este municipio, los términos municipales de Sanlúcar de Barrameda y Puerto de Santa María, todos en la provincia de Cádiz (REGLAMENTO DE LA DENOMINACIÓN ESPECÍFICA "BRANDY DE JEREZ" Y DE SU CONSEJO REGULADOR, 1989).

En esta zona es además donde de forma paralela a la elaboración del brandy, se produce el famoso vino de "Jerez", mundialmente conocido.

El apelativo "brandy de Jerez" es una denominación de origen de los brandies elaborados en esta zona y que lleva implícito en ella el uso de la técnica de envejecimiento denominada de "criaderas y soleras". Esta denominación pasó a sustituir a la inapropiada "jerifnac" usada a raíz de la prohibición expresa en 1909 del uso de la palabra "coñac" para aquellos aguardientes elaborados fuera de dicha región francesa (DELGADO, C., 1987).

La diferencia entre este sistema y el tradicional, estriba en que mientras en el tradicional el aguardiente reposa de una manera estática e inmóvil en el mismo barril durante todo el tiempo que dura el envejecimiento, en el jerezano, existe una maduración dinámica ya que no va a permanecer todo el tiempo el aguardiente en el mismo barril (DÍEZ, J. Y COL, 1985).

Otra peculiaridad de este sistema de envejecimiento es el uso casi exclusivo de barriles de roble americano (*Quercus alba*), lo cual unido a las características propias del sistema de envejecimiento y de la materia prima de la que se parte, confiere al "brandy de Jerez" unos caracteres diferentes a los brandies producidos por el sistema francés (JOHNSON, H., 1986).

El sistema de envejecimiento por soleras comienza con la incorporación de la Holanda en barricas de roble nuevas, para pasar posteriormente a barricas de roble anteriormente usadas en la crianza del Jerez. En esta fase previa a la incorporación del aguardiente al sistema de soleras, éste va perdiendo grado alcohólico, adquiriendo color y aromas propios de los taninos del roble americano y los originados en el proceso oxidativo que ocurre a través de los poros de la madera (DELGADO, C., 1987).

El aguardiente así obtenido pasa ya al sistema de soleras donde acabará su crianza. Este sistema, idéntico al empleado para el envejecimiento del vino de Jerez, consiste en una serie de vasijas de roble envinadas con vino de la tierra y de capacidad no superior a mil litros, colocadas de manera vertical a distintos niveles. El nivel más bajo o primer nivel se denomina "solera" y en él se guardará el aguardiente envejecido de mayor añada. El nivel segundo o "segunda criadera" contendrá aguardiente de menor vejez que el contenido en la primera "solera".

De esta forma, al ir ascendiendo nos encontramos como la criadera superior va a contener siempre un aguardiente de menor edad al que contiene la criadera inferior.

La última criadera (último nivel) es la que cierra el sistema y está reservada para ser rellenada con brandy muy joven, procedente de la etapa anterior, que inicia el proceso. Cada nivel o criadera consta de un número determinado de barriles colocados horizontalmente.

A la hora de embotellar y comercializar el Brandy de Jerez, éste se saca de la "solera" y nunca de las criaderas. La reposición o "rocío" del brandy extraído de la "solera" se hace con igual cantidad de brandy de la segunda criadera (segundo nivel) y ésta a su vez es rociada con brandy de la tercera criadera (tercer nivel). Así se continúa hasta llegar a la última criadera que será repuesta mediante el aguardiente procedente de la etapa de envejecimiento previa. Los rellenos se hacen de forma que el brandy extraído de cada vasija se reparta entre todas las de la escala siguiente, con el objeto de lograr la mayor uniformidad en el tipo.

Es decir, siempre el "rocío" se realiza con el brandy del nivel inmediatamente superior, a excepción del último nivel que es repuesto con brandy joven envejecido, durante corto espacio de tiempo en vasija de roble, por el sistema estático.

Cuando se ha de inicializar una solera, los distintos niveles que la componen, se rellenan hasta la mitad del contenido total de la vasija con brandy envejecido en la etapa previa durante un tiempo conocido. El resto de la vasija se completa con brandy más joven aunque se deja un espacio de vasija sin rellenar (una sexta parte de su capacidad) para favorecer los fenómenos de oxidación que se producen durante el envejecimiento. La boca de las barricas se cierra con un tapón de corcho o madera para permitir un fácil acceso del aire al interior.

A medida que se vaya sacando brandy de la "solera" para su comercialización, el aguardiente más viejo quedará abajo, y el más joven estará arriba, pues el relleno se realiza a partir de la última criadera con brandy joven (REGLAMENTO DE LA DENOMINACIÓN ESPECÍFICA "BRANDY DE JEREZ" Y DE SU CONSEJO REGULADOR, 1989).

Este sistema permite obtener una homogeneidad en la calidad de los brandies así obtenidos así como un peculiar "bouquet" y sabor debido a las transformaciones y mejoras ocurridas al entrar en contacto holandas jóvenes con añejas (DELGADO, C., 1987).

Al sistema estático de envejecimiento que en Jerez es usado para rellenar las soleras se le denomina de "añadas" y siempre va a preceder al sistema de soleras.

Otra característica del sistema jerezano es la práctica del "cabecero" o conjunto de operaciones de combinación y mezclas de brandies procedentes de distintas soleras. Incluso está permitido el mezclar las holandas antes de ser sometidas al proceso de envejecimiento (REGLAMENTO DE LA DENOMINACIÓN ESPECÍFICA "BRANDY DE JEREZ" Y DE SU CONSEJO REGULADOR, 1989).

El tiempo mínimo de envejecimiento que ha de tener un brandy antes de su comercialización es de seis meses, denominándose en este caso como "Brandy de Jerez" Solera. Si la denominación que lleva el brandy es de "Solera reserva" quiere decir que tiene como mínimo un año de envejecimiento. Un brandy de Jerez "Solera gran reserva" ha sufrido un tiempo de envejecimiento superior a tres años.

Por otro lado, el grado alcohólico final del "Brandy de Jerez" listo para su comercialización ha de estar comprendido entre 34 y 45°.

B.4. Otros tipos de envejecimiento

La conservación de los aguardientes y vinos en barriles de roble durante periodos de tiempo más o menos prolongados forma parte de técnicas clásicas. De esta forma, los aguardientes son conservados en barriles de una a varias decenas de años lo que les confiere unas excelentes cualidades organolépticas.

Este modo de conservación, sin embargo, no está exento de riesgos ya que la utilización de barricas muy antiguas o insuficientemente cuidadas puede entrañar la aparición de olores y gustos desagradables. La calidad de una barrica es pues una condición preponderante para la obtención de un aguardiente de calidad.

Sin embargo, los riesgos no se limitan solamente a los aspectos organolépticos de la bebida obtenida, sino que se habrá de tener en cuenta una serie de factores económicos como son los altos costes que dicho proceso supone a los industriales de esta rama de la alimentación, como por ejemplo, el coste de la "no venta" y la rotación anual de los barriles (LAFON, J., 1971), el almacenamiento de la mercancía durante el período que dure este envejecimiento y sobre todo las pérdidas por evaporaciones que se producen durante el mismo. Es por esto que en países con una alta tradición vitivinícola como Francia, se producen pérdidas anuales muy importantes en el plano económico que han llevado a los fabricantes de aguardientes y licores a poner en práctica otras técnicas de envejecimiento que palien en gran medida los inconvenientes anteriores.

Estas técnicas se basan fundamentalmente en el uso de extractos de madera de roble los cuales mediante diferentes métodos como la decocción, infusión, lixiviación o maceración se ponen en contacto con el aguardiente a envejecer (GUYMON, J.F. y col., 1972; LAFON, J., 1971). Aparecen así los llamados "aguardientes enmaderados" caracterizados por envejecer en recipientes herméticos contruidos generalmente en acero inoxidable y en presencia de fragmentos de virutas o infusiones de roble. Si además de estas características a dicho recipiente se le introduce periódicamente oxígeno, se obtiene el llamado "aguardiente de depósito" (DRIBNER, L., 1976).

Estos métodos tienen como fin principal el conseguir que las sustancias químicas procedentes del extracto de madera de roble pasen fácilmente al aguardiente, otorgándole de esta forma, los caracteres organolépticos propios del envejecimiento sin los inconvenientes de las técnicas clásicas y en un menor tiempo. Los extractos de madera de roble empleados para estos fines están tratados previamente mediante procesos físicos (ultrasonidos y presión) o tratamiento con ácidos o bases (procedimientos químicos). El propósito de estos métodos es degradar la estructura celular de la madera del extracto afin de facilitar la extracción de los compuestos solubles por parte del aguardiente. Estos extractos se comercializan principalmente en forma de soluciones hidroalcohólicas o acuosas o bien en forma de polvo.

De cualquier manera, y según PUBCH, J.L. (1988d) los aguardientes envejecidos de esta forma no son comparables de ningún modo con aquellos aguardientes envejecidos mediante técnicas clásicas.

El empleo de este tipo de envejecimiento aún no está extendido principalmente por la falta de comercialización de los extractos de madera de roble. Este producto fué lanzado en Francia y en su publicidad se hacía alusión a las virtudes del producto capaz de conseguir los mismos efectos de envejecimiento que los barriles de roble nuevos.

Sin embargo, el anexo VI del REGLAMENTO de la C.E.E 822/87 relativo a las prácticas y tratamientos enológicos no autoriza la utilización de estos productos sobre el vino. Tampoco los REGLAMENTOS 1576/89, 3773/89 y 1014/90 de la C.E.E concernientes a bebidas espirituosas contemplan esta práctica.

Por el contrario, la RESOLUCION de la Dirección General de Industrias Alimentarias y Diversas (BOE de 11 de Marzo de 1977) autoriza en España el empleo de infusiones o extractos hidroalcohólicos de materias naturales en la elaboración del brandy. Dentro de estas sustancias permitidas se encuentra las fibras de madera de roble.

Además de los tipos de envejecimiento mencionados, existen trabajos en los que aparecen curiosos sistemas de envejecimiento para el brandy. Uno de esos trabajos lo llevaron a cabo KWASNIK, J. y col (1984) desarrollando un sistema de envejecimiento para los destilados de vino basado en el efecto de los campos magnéticos, ondas acústicas y ultrasonidos. Los mejores resultados fueron los obtenidos por la acción de los ultrasonidos a 800 KHz aplicados 3 veces de 10 minutos de duración en intervalos de 24 horas. Según los autores se obtuvieron resultados similares si se aplicaba una sonorización de 160 KHz durante 4 horas y un campo magnético de 18000 A/M.

OGANEZOVA, I.L. (1978) propone otra técnica que mejora las cualidades organolépticas del brandy a base también de virutas de madera. Somete a las virutas a un tratamiento degradativo a base de NaOH y calor (95-100°C) durante 6 horas, haciendo pasar posteriormente el brandy a través de una columna rellena de estas virutas tratadas. Esta técnica representaría un paso previo a la conservación del brandy en sus respectivos barriles de roble para el envejecimiento. El tratamiento de las virutas con otras soluciones al 1% de HCl o NH₄OH antes del calentamiento, así como una duración de éste superior a 6 horas, se mostraron menos efectivos que las condiciones primeras comentadas. Igualmente, la ausencia de tratamiento no mejoró en nada a la técnica primera.

Otros autores afirman (PETROSYAN, T.S. y col, 1980) que la presencia de siropes de azúcar a una concentración del 0.5%, así como el caramelo al 0.2% en el destilado de aguardiente antes de ser llevado a envejecer en barril, va a acelerar el envejecimiento del brandy mejorando igualmente la calidad final del mismo.

El uso del oxígeno como favorecedor del envejecimiento ha sido también estudiado (KROLENKO, V.F. y col, 1981; SEMENENKO, N.T. y col, 1979). La circulación continua del oxígeno (0.5 a 3.0 vols/día) durante la estancia del brandy en el barril de roble así como la disolución de este gas en el brandy a razón de 15-35 mg/L va a acelerar y mejorar el envejecimiento del mismo. En este sentido autores como MNDZHOYAN, E.L. y col (1989,90) y SEMENENKO, N.T. y col, (1982) desarrollan un método por el cual la aplicación simultánea de oxígeno y calor al brandy mientras envejece en el barril, consigue elevar las concentraciones de taninos, lignina y aldehídos aromáticos, a la vez que aumenta su estabilidad durante el almacenamiento entre 3 y 7 años.

Otros métodos pretenden mejorar la calidad final del brandy actuando no sobre el propio aguardiente, sino sobre el barril que contiene a ese brandy durante el envejecimiento. De esta forma RCOROV, I.A. y col (1981) mejoran la calidad de esta bebida mediante la impregnación de la madera con agua oxigenada y posterior aplicación de calor a la misma.

SKURIKHIN, I.M. y col (1986) proponen tratar la madera del barril mediante amoniaco gaseoso en condiciones de vacío, para continuar el tratamiento mediante la aplicación de oxígeno y presión. Se consigue así mejorar el aroma y sabor del brandy envejecido en barriles tratados de esta manera.

Por último, LYNBCHENKOV, P.P. y col., (1988) proponen un aumento progresivo de la temperatura durante el periodo de envejecimiento del barril, consiguiendo de esta forma importantes enriquecimientos en taninos por parte del aguardiente, con las consiguientes mejoras organolépticas que estas sustancias conllevan.

II.3 COMPOSICION QUIMICA DEL BRANDY

A.- COMPONENTES ORIGINADOS DURANTE LA DESTILACION

El brandy tiene una composición química compleja consecuencia de las fases de elaboración que sufre. Una de estas fases es el proceso de destilación y la otra es el envejecimiento en barriles de roble.

El proceso de destilación se realiza a partir de un vino base cuya composición química también es compleja. Por ello en la composición de un destilado van a influir una serie de factores relacionados principalmente con la calidad de las materias primas de las que se parte. Así ONISHI, M. y col (1977) afirman que la composición química de un brandy depende de un número de factores que incluye la composición inicial del destilado de vino, el cual a su vez va a depender de la composición del vino usado para la destilación, así como del modo y tipo de destilación.

BOZHINOV, A. y col (1983) llegan a la misma conclusión afirmando que la composición química del destilado va a depender principalmente de la naturaleza del vino. Para BRAVO ABAD, F. y col. (1985) la composición química de la holanda va a depender de: a) la variedad y calidad de las uvas; b) la fermentación del mosto y selección del mismo; c) la elección del vino para destilar y por último del método seguido en la destilación y fracciones de destilado seleccionadas.

Autores como DIEZ, J. y col (1982) han realizado trabajos destinados a crear unos "criterios de normalización o calidad" para la holanda e incluso para el brandy. Estos criterios establecen unos límites entre los que deben encontrarse las sustancias presentes en el destilado y que van a establecer la composición química del mismo.

- Entre estas sustancias, que en su conjunto son denominados "congénéricos" tenemos principalmente:
- Etanol y agua
 - Metanol
 - Ácidos como el acético, butírico, fórmico, propiónico, caprílico.
 - Alcoholes de peso molecular mayor al del etanol y que constituye el "aceite de fusel" tales como el isoamílico, isobutilico, butílico, propílico, etc.
 - Ésteres como el acetato de etilo, dietilsuccinato.
 - Aldehídos como el acetaldehído, furfural, paraldehído, formaldehído, aldehído butírico, valeriano, etc.

SIMAL, J. (1965) analiza la composición química de destilados de vino, destacando entre sus componentes fundamentales al etanol y el agua, así como pequeñas cantidades de diversos componentes, en su mayoría volátiles.

Entre estos componentes se encuentran los llamados alcoholes superiores o "aceite de fusel" que aparecen en la holanda como consecuencia de fermentaciones secundarias procedentes de aminoácidos. Existen diversas teorías para la explicación de su presencia en los vinos y consecuentemente en sus destilados. Una de ellas afirma que estos alcoholes son originados por las bacterias que acompañan a las levaduras. Otras dicen que estos alcoholes son productos del catabolismo de ciertos aminoácidos aunque la presencia de algunos no se explica de esta forma, como es el caso del n-pentanol, el cual procedería del catabolismo de la butilalanina, aminoácido que no existe en levaduras, mostos o proteínas vegetales.

En cuanto a los aldehídos, el que se encuentra mayoritariamente en un destilado es el acetaldehído y cuya presencia se debe principalmente a la descarboxilación del ácido pirúvico pasando rápidamente a etanol.

Otro aldehído posible de encontrar en los destilados es el furfural, el cual según JEURINGS, H.J. y col (1980) se origina como consecuencia del calentamiento que durante la destilación sufren los azúcares del vino.

Igualmente se han encontrado ácidos libres en los destilados aunque su importancia recae en el hecho de formar mediante reacciones de esterificación una gran serie de ésteres. De entre los ésteres formados hay que resaltar al acetato de etilo por la gran proporción en que se encuentra, así como una serie de ésteres minoritarios, pero no por ello menor importante desde el punto de vista organoléptico como son etil laurato, etil caproato, etil caprilato y el dietil succinato. También encuentran alcohol hexílico, 2-feniletanol, furfural y aceites de fusel (GUYMON, J.F. y col., 1972).

La presencia de estos compuestos es confirmada de nuevo por ONISHI, M. y col (1978) al estudiar los destilados obtenidos a partir de vinos elaborados con la cepa Thompson Seedless. Encuentra alcoholes de la serie de fusel, ésteres del ácido acético, ésteres del etanol, dietilsuccinato y furfural.

FUECH, J.L. y col (1984) hacen un estudio de la composición química de un destilado de vino antes de someter a envejecimiento. Incluye alcoholes como metanol, propanol, isobutanol, butanol-1, hexanol, 2-feniletanol, entre otros. Además de los alcoholes detecta una serie de ácidos libres como el ácido caprílico, caprílico, caprílico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oléico, linoléico y linolénico y sus correspondientes ésteres. Como era de esperar este autor también detecta aldehídos y cuerpos cetónicos que incluyen al acetaldehído y de nuevo el furfural.

Por su parte POSTEL, W. y col (1980, 1986a, 86b) y BRAVO ABAD, F. y col (1987) hacen un estudio sobre el envejecimiento de brandy en barriles de roble. Controlan en este estudio la composición química del brandy antes y después de envejecer, destacando entre los compuestos presentes en el destilado una gran cantidad de etil ésteres de ácidos libres de cadena larga.

BERTRAND, A. y col (1988) realiza un estudio analítico de "eaux-de-vie" d'Armagnac obtenidos por destilación continua y doble destilación y comparan la composición química de los destilados obtenidos por ambos procedimientos destacando, la presencia de alcoholes tales como el metanol, propanol-1, metil-2-propanol-1, metil-2-butanol-1, metil-3-butanol-1, hexanol-1, fenil-2-etanol-1 entre otros y sus correspondientes ésteres.

Entre los ácidos que encuentran tenemos al ácido isobutírico, al isovaleriano, hexanoico, octanoico y el decanoico.

Los compuestos aldehídicos y cetónicos también se encuentran presentes en los destilados analizados por este autor destacando al 2,3-butanodiol, acetoina, diacetilo, etanal, acetal y furfural.

LOPEZ ROMASANTA, F. (1990) realiza un estudio sobre los valores medios de once componentes de holandas españolas durante el período de 1982 a 1985. Analiza un total de 800 muestras de holandas mediante cromatografía de gases midiendo once componentes que incluyen el acetaldehído, metanol, acetato de etilo, propanol, butanol-2, 1-butanol, n-butanol, acetal, 2-metil-butanol-1, 3-metil-butanol-1 y lactato de etilo. Para los once componentes estudiados en las holandas españolas, más del 98 por 100 de sus valores se encuentran comprendidos entre los resultados de la media de los 40 valores máximos hallados y entre la media de los 40 valores mínimos encontrados, lo que nos da una homogeneidad bastante grande para los componentes estudiados en las holandas.

CANTAGREL, R. (1989) en su trabajo sobre el control de calidad del Cognac estudia todos los factores que pueden influir en las características finales del mismo. Para ello realiza un control sobre la composición química de vinos y destilados utilizados para la elaboración del Cognac. Dentro de los destilados que estudia, hace hincapié en los "brouilles" o vinos bajos obtenidos durante la primera destilación del vino base. En ellos establece seis tipos de sustancias químicas presentes en el "brouille". El tipo 1 incluye sustancias como el acetaldehído, 1,1-dietoxietano, acetato de etilo, butirato y caproato de etilo entre otros ésteres. El tipo 2 incluye solamente a una sustancia también comentada anteriormente por otros autores, el furfural. En el tercer tipo de sustancias estudiadas se encuentra el metanol. El cuarto grupo incluye una lista de alcoholes superiores de los de la serie de fusel. En el grupo quinto de Cantagrel se incluye, el 2-feniletanol y por último en el grupo sexto se incluyen dos sustancias, lactato de etilo y succinato de dietilo.

Por su parte CASAGRANDE, S. (1980) y PROFUMO, A. (1988) al estudiar la composición química de destilados de "grappa" encuentran entre sus componentes mayoritarios al furfural.

Otro autor FEZZI, E. (1987) realiza un estudio sobre la producción de aguardientes siguiendo el método "charentais", y el proceso de destilación en continuo. Para ello analiza destilados obtenidos de una forma u otra, encontrando una serie de compuestos químicos comunes a todos los destilados y similares a los encontrados por los autores anteriores.

Aunque las concentraciones pueden ir variando de un destilado a otro, la homogeneidad de los compuestos encontrados en estos dos tipos de aguardientes, así como los encontrados en otros destilados estudiados es grande.

B.- COMPONENTES ORIGINADOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO

Los componentes originados durante el envejecimiento están aportados por la madera de roble durante esta etapa.

El papel de la madera en la maduración de vinos y aguardientes se conoce desde hace mucho tiempo (GUYMON, J.P. y col., 1972; STERN, D.U. y col., 1975; ONISHI, M. y col., 1977; PISARNITSKII, A.F. y col., 1979a, 79b, 80; MAGA, J.A., 1984; PUECH, J.L. y col., 1985; ALONSO, E. y col., 1986; BOIDRON, J.N. y col., 1988; MAGA, J.A., 1989; MAURER, R. y col., 1990). La importancia de la madera de roble en la fabricación de barriles y en la producción de vinos y alcoholes de calidad es incuestionable. Factores tales como la anatomía de la madera, sus propiedades físicas como la porosidad, o sus propiedades químicas como la presencia de sustancias extraíbles por el alcohol, explican esta importancia (MNDZHOYAN, E.L. y col., 1978; PISARNITSKII, A.F. y col., 1979b; PONTALLIER, P. y col., 1982; NAUDIN, R., 1986).

Uno de los aspectos característicos de la maduración de aguardientes es la difusión a partir de la madera de compuestos extraíbles, en particular de aldehídos fenólicos de tipo benzóico y de tipo cinámico (BRICOUT, J., 1971; PUECH, J.L. y col., 1986). Está generalmente admitido que estos aldehídos provienen de la degradación de ligninas (PUECH, J.L. 1984), aunque no se conocen muy bien los mecanismos de formación ni extracción de estos compuestos. Es posible que estos mecanismos tengan varios orígenes: bioquímico (biodegradación de las ligninas), químico (alcoholisis y aridolisis) y físico (termodegradación consecuencia del calentamiento durante el cintrado de las duelas en la fabricación del barril) (NOMDEDEU, L. y col., 1988a, 88b).

De esta forma durante el envejecimiento, el aguardiente se va a ir cargando de una serie de sustancias provenientes de la madera del barril y que van a contribuir positivamente en el carácter organoléptico de la bebida elaborada.

Entre las principales sustancias extraídas de la madera del barril por el aguardiente durante su crianza, podemos destacar:

Sustancias de origen lignario como el lyoniresinol (SARNI, F. y col. 1990) y el syringaresinol (MONTIES, B., 1987; TANAHASHI, M. y col., 1989).

Ambos compuestos se encuentran en la madera de roble, tanto en la madera obtenida a partir de la corteza de roble, como a partir de la del corazón (NABETA, K. y col., 1987; NABETA, K., 1990 y BOZHINOV, A., 1990) y son susceptibles de ser cedidos al aguardiente como confirma PUECH, J.L. y col. (1988c) al estudiar extractos de madera de roble elaborados a partir de virutas obtenidas de roble del Limousin. La preparación de soluciones hidroalcohólicas con estos extractos y su estudio mediante técnicas cromatográficas por H.P.L.C. dió como resultado la presencia de lyoniresinol en dichas soluciones a una concentración significativa.

Asimismo, MOUTOUNET, M. y col. (1989) detectan la presencia de este componente en vino de Chardonnay envejecido en barricas de roble francés. Posteriormente, PUECH, J.L. y col. (1992) vuelven a poner de manifiesto la presencia de este componente al analizar muestras de brandies envejecidas durante 7 años en barricas nuevas de roble francés del Limousin.

Aldehídos benzóicos y cinámicos

Si bien todos los compuestos extraídos por el aguardiente durante la etapa de envejecimiento contribuyen de manera decisiva a las características organolépticas finales del aguardiente, existe un grupo de sustancias que contribuyen de una manera muy especial a este aspecto: los aldehídos aromáticos de tipo fenólico.

Estos compuestos han sido ampliamente estudiados en todas las bebidas que sufren envejecimiento en madera. Autores como DEIBNER, L., (1976); BERTRAND, A. y col., (1981); ALONSO, E. y col., (1986); SALAGOITY, M.H., (1987); NABETA, K. y col., (1987); PUECH, J.L. y col., (1987b); DELGADO, T. y col., (1987, 90); PROFUMO, A. y col., (1988); MOUTOUNET, M. y col., (1989), etc., han realizado estudios sobre estos compuestos en vinos y aguardientes. Sin embargo, la presencia de estas sustancias en uvas también ha sido puesta de manifiesto por autores como GUILLEN, D.A. y col. (1986); MACHEIX, J. y col. (1991), considerándolos responsables del pardeamiento que sufren mostos y vinos por acción de la polifenoloxidasas sobre estos compuestos.

La vanillina, el syringaldehído, coniferaldehído y sinapaldehído constituyen este importante grupo de aldehídos, tan abundantes en la madera del corazón del roble como en la madera de la corteza (MONTIES, B., 1987) (Figura Nº 13).

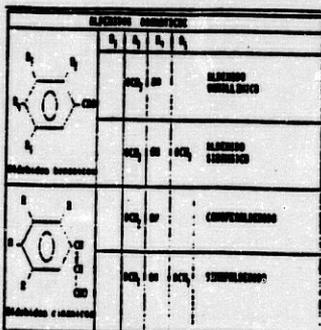


FIGURA Nº 13: Estructura química de los aldehídos benzóicos y cinámicos.

Su origen se encuentra en la alcoholisis ácida de la lignina de la madera del barril durante el envejecimiento y a temperatura ambiente (PUECH, J.L. y col., 1984, 88c; KAPLUNOVA, T.S. y col., 1990) y las concentraciones en las que pueden encontrarse estos aldehídos en los aguardientes vienen condicionadas por una serie de factores (Figura Nº 14).

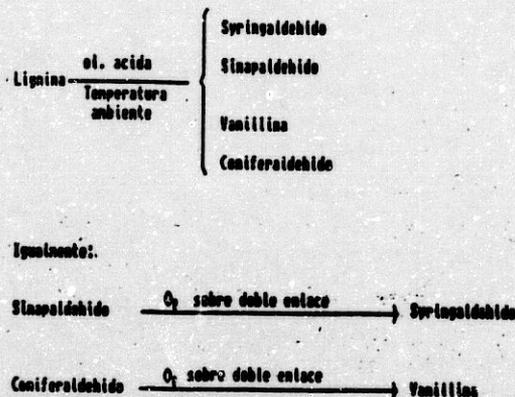


FIGURA Nº 14: Origen de los aldehídos aromáticos.

Uno de los factores que afectan a la presencia de aldehídos aromáticos en los aguardientes envejecidos es la especie de roble usada en la elaboración del barril, como pone de manifiesto PUECH, J.L. (1984) al estudiar la diferente aportación en aldehídos aromáticos de los distintos tipos de roble empleados en la industria alcohólica. Este autor encuentra, en general, que los aguardientes envejecidos en barricas de roble francés tienen un mayor contenido en vanilina y syringaldehído que los envejecidos en roble americano. De forma parecida BELCHIOR, A.P. y col. (1983) determinaron la composición fenólica de aguardientes de vino envejecidos en barricas de roble portugués.

JINDRA, J.A. y col. (1987) estudian mediante cromatografía líquida de alta resolución, la composición química en aldehídos fenólicos de vinos conservados en barricas de roble americano y roble francés, encontrando diferencias incluso en las características sensoriales de uno y otro compuesto.

Por su parte, para SALAGOITY, M.H. y col. (1987) la presencia de estos aldehídos es característica del envejecimiento en madera, por lo que pueden servir como indicadores del modo de envejecimiento que ha recibido el vino o aguardiente.

En este sentido, PROFUMO, A. y col. (1988) muestran como aparecen estos aldehídos en la composición de un destilado después de su envejecimiento durante tres años en un barril de roble. Sin embargo para un destilado conservado en recipientes de vidrio o acero inoxidable, la no presencia de estos compuestos es la característica común.

Ácidos benzóicos y cinámicos

Además de los aldehídos aromáticos la composición química de los aguardientes envejecidos incluye a los ácidos cinámicos y benzóicos. La existencia de estos ácidos tales como el ácido vanilínico, ácido siringico, ácido ferúlico ha sido puesta de manifiesto igualmente por diversos autores como PUECH, J.L. (1987), GLONTI, T.A. y col. (1988), SARNI, F. y col. (1990), etc.

El posible origen de estos compuestos se centra en la oxidación que sufren los aldehídos benzóicos y cinámicos presentes en el aguardiente (PETROSYAN, T.S. y col. 1981; PUECH, J.L. y col. 1984; LITCHEV, V., 1985) (Figura Nº 15).



FIGURA Nº 15: Origen de los ácidos benzóicos y cinámicos.

Es lógico pensar en este caso, si el origen de los ácidos aromáticos se encuentra en la oxidación sufrida por sus correspondientes aldehídos, las concentraciones de ácidos encontradas en un aguardiente van a depender de la especie de roble usada en el envejecimiento del mismo (MONTIES, B., 1987). Incluso la evolución de estos ácidos en el seno del aguardiente es idéntica a la que siguen los aldehídos aromáticos (DELGADO, T. y col. 1987).

Los autores que han trabajado con aldehídos aromáticos han determinado de manera paralela las concentraciones de estos ácidos presentes en vinos (MOUTOUNET, M. y col. 1989), aguardientes envejecidos (MARINOV, M. y col. 1981; PUECH, J.L. y col. 1984; PUECH, J.L. y col. 1987b; DELGADO, T. y col. 1990; PUECH, J.L. 1988c), extractos de madera de roble (PUECH, J.L. 1988b; PUECH, J.L. y col. 1988d; SARNI, F. y col. 1990; PUECH, J.L. y col. 1992; DELGADO, T. y col. 1987), dejando claro por un lado, el origen lignario de estos compuestos durante el envejecimiento, y por otro el origen paralelo que tienen aldehídos y ácidos aromáticos.

Cumarinas

Otro grupo importante de sustancias originadas en la etapa de envejecimiento son las cumarinas tales como la esculetina, umbeliferona, escopoletina y metilumbeliferona. Las cumarinas son un grupo de lactonas originadas a partir del ácido cinámico el cual por ciclación dará estos compuestos o mediante hidroxilaciones originará las 7-hidroxycumarinas (escopoletina) (PUECH, J.L. 1988a) (Figura Nº 16).

CUMARINAS					
		R ₁	R ₂	R ₃	
				OH	
	CH ₃	OH		METILUMBELIFERONA	
	OH	OH		ESCULETINA	
	OCH ₃	OH		ESCOPOLETINA	

FIGURA Nº 16: Estructura química de las cumarinas.

De todas estas cumarinas la que se incrementa de una manera más notable durante la etapa de envejecimiento es la escopoletina. SALAGOITY, M.H. (1987) al comparar las cantidades encontradas en cumarinas para un vino conservado en barricas de acero inoxidable y para el mismo vino conservado en barricas de roble, observó como la concentración de escopoletina encontrada en el vino conservado en roble era ocho veces mayor que la detectada en el vino conservado en acero inoxidable, mientras que las concentraciones de las otras tres cumarinas permanecían constantes en ambos tipos de vino.

Sin embargo, las concentraciones de escopoletina van a venir determinadas entre otros factores por la especie de roble, la antigüedad del barril empleado y la duración del período de envejecimiento (PUECH, J.L. y col. 1988a y b; PUECH, J.L. y col. 1992).

DELGADO, T. y col (1987) obtuvieron resultados parecidos al estudiar distintos tipos de brandies, macerados de roble y cáscara de almendra. La presencia de escopoletina fue detectada en todas las muestras aunque con diferencias según se tratase de brandies, macerados de roble o macerados de cáscara de almendra. Las mayores concentraciones fueron encontradas en los macerados de roble.

Otros autores como MOUTOUNET, M. y col., (1989) y MATTIVI, F. y col., (1989) detectan también de forma sistemática la presencia de escopoletina tanto en macerados de virutas de roble como en vino conservado en barricas de roble. Sin embargo y al contrario de lo encontrado por DELGADO, T. y col (1987), estos autores encuentran las mayores cantidades de escopoletina en los vinos, y no en los macerados.

La presencia de las otras tres cumarinas en la madera de roble, está confirmada por MONTIES, B. (1987) entre otros, aunque estas sustancias no sean extraídas de la madera de roble en la misma proporción que la escopoletina. Hay sin embargo autores que han encontrado umbeliferona y 4-metilumbeliferona en cantidades apreciables de muestras de Cognacs (PUECH, J.L. y col. 1988a).

Taninos Hidrolizables

Otros compuestos frecuentemente encontrados en los aguardientes envejecidos son los ácidos gálico y elágico, así como los correspondientes elagitaninos: castalina, vescalina, vescalagina y castalagina.

Reacciones de oxidación, polimerización e hidrólisis van a estar involucradas en la formación de estos compuestos durante la fase de envejecimiento del aguardiente en el barril de roble modificando las características organolépticas del mismo (PUECH, J.L. y col., 1990a y 90b).

El calentamiento que sufren las barricas de roble durante su elaboración dá lugar a un descenso de las cantidades de castalina y castalagina encontradas posteriormente en el brandy, mientras que ese mismo calentamiento origina mayor cantidad de ácido eláxico libre, quizás como consecuencia del proceso de degradación sufrido por los taninos eláxicos (SARNI, F. y col., 1990; PUECH, J.L. y col., 1992).

A conclusiones similares llegan MOUTONNET, M. y col (1989) al comprobar como durante el envejecimiento de un vino, se va produciendo una hidrólisis ácida de los taninos eláxicos incrementándose las concentraciones de ácido eláxico libre. Estos autores ponen asimismo de manifiesto la ausencia total de los taninos gálicos en el vino o una presencia muy escasa en comparación a los taninos eláxicos.

CHEN, C.L. (1970), afirmaba la existencia de esos taninos gálicos en la madera de roble, pero al contrario de lo que sucede con los taninos eláxicos, la presencia de estos en los aguardientes como consecuencia del envejecimiento es nula.

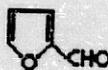
Aldehídos de estructura furánica

Otro grupo de sustancias, que aunque no contribuye de forma tan clara a las características sensoriales del brandy, pero que aparecen de forma mayoritaria como consecuencia del proceso de envejecimiento, es el formado por dos aldehídos furánicos, furfural y 5-hidroximetilfurfural (Figura Nº 17).

En trabajos realizados por GUYMON, J.F. y col (1972), se puede observar como los cromatogramas de destilados guardados en recipientes de vidrio no muestran la existencia de picos correspondientes a estas sustancias, mientras que si aparecen en aquellos cromatogramas pertenecientes a los destilados envejecidos en roble.



5-Hidroximetilfurfural



Furfural

FIGURA Nº 17: Estructura química de los aldehídos furánicos.

Posteriormente ONISHI, M. y col (1977) no sólo llegan a esta misma conclusión, sino que además ponen de manifiesto las diferencias existentes en el contenido de aldehídos furánicos para de los destilados envejecidos en roble francés y en roble americano.

MARSAL, F. y col (1987), detectan furfural y β -metil- γ -lactona en vinos envejecidos en madera de roble, mientras que los mismos vinos conservados en cubas no presentan estos compuestos.

La presencia de estos compuestos es reconocida también por BOIDRON, J.N. y col (1988). En concreto para ellos, los aldehídos furánicos se encuentran presentes de forma natural en la madera y en pequeñas cantidades, aunque el quemado de la misma entraña una síntesis importante de estos aldehídos, apareciendo en los aguardientes furfural, 5-metilfurfural y 5-hidroximetilfurfural en cantidades bastante significativas..

DI STEFANO, R. (1988) al estudiar vinos de Barbera d'Asti y Barbera de d'Alba por cromatografía de gases observa como estos vinos envejecidos en barriles nuevos y quemados durante la fase de elaboración son ricos en furfural, 5-metilfurfural y β -metil- γ -octolactona, y pone de manifiesto la influencia de estas sustancias en el aroma propio de estos vinos.

Otras sustancias volátiles

La práctica del quemado de las duelas va a incrementar las concentraciones de compuestos extraíbles del roble por parte del aguardiente entre los cuales destacamos a los aldehídos fenólicos, aldehídos furánicos, cis-trans β -metil- γ -octolactona. Además de estos hay que destacar a otro grupo de sustancias extraíbles por el aguardiente durante su envejecimiento: los fenoles volátiles.

Como el etil-4-fenol, etil-4-gaiacol, vinil-4-fenol, vinil-4-gaiacol, eugenol, gaiacol, 4-metil gaiacol, isoeugenol, 2,6-dimetoxifenol, 2,6-dimetoxialil, fenol, acetovanillona, acetosiringona, propiovanillona. Las concentraciones de estos fenoles volátiles crece al intensificar el tostado del roble. Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones, se trata de concentraciones de poco peso (NOMBEDEU, L. y col., 1988a; ARTA-JONA, J. 1991).

En 1989, CHATONNET, P. y col. realizan un estudio sobre la incidencia del tratamiento térmico de la madera en la composición química de los aguardientes envejecidos y encuentran a todos estos fenoles volátiles, destacando la alta concentración de eugenol presente en la madera sin quemar.

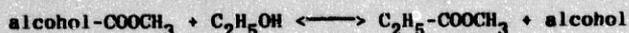
C.- PAPEL DE ESTAS SUSTANCIAS COMO MARCADORES DE ENVEJECIMIENTO

Muchas de estas sustancias han sido estudiadas con el propósito de poder llegar a ser indicativos del envejecimiento que nos orienten sobre el tiempo que un aguardiente ha estado madurando en barril, así como sobre el proceso de maduración seguido. BRICOUT, J., (1971) ha estudiado algunas sustancias de las anteriores capaces de comportarse como marcadores de envejecimiento, tales como aldehídos y ácidos aromáticos.

DELGADO, T. y col (1987,90) ponen de manifiesto la presencia de estos aldehídos en brandies españoles y en distintos macerados de virutas de roble y de cáscaras de almendra. Estudian la relación syringaldehído/vanillina del aguardiente comprobando como es mayor a la unidad cuando éste fué envejecido en roble, mientras que para aquellos aguardientes no envejecidos en roble (en cáscara de almendra) la relación entre estos dos componentes se hace inferior a la unidad. Comprueban esta relación en los brandies españoles, detectando como cuatro de ellos no fueron envejecidos en roble ya que la relación syringaldehído/vanillina encontrada fué inferior a la unidad.

Igualmente LUMO, A. y col., (1988) intenta algo parecido en el grappa italiano, pretendiendo establecer algún parámetro útil para determinar su vejez. En general, tanto unos como otros han encaminado sus estudios hacia aquellas sustancias químicas originadas durante el proceso de envejecimiento. Muchas de estas sustancias, van a ir evolucionando de alguna forma durante la maduración como sucede con el acetato de etilo que aumenta su concentración a medida que aumenta el tiempo de envejecimiento, como consecuencia de las esterificaciones que se producen entre el ácido acético y el etanol presentes en el destilado.

ONISHI, M. y col., (1977) estudian otros ésteres del acético, y llegan a la conclusión que todos estos ésteres del acético con el alcohol isoamílico, y el n-hexanol, decrecen en su concentración durante el envejecimiento, mientras que sus alcoholes correspondientes aumentan. Afirman que este hecho puede ser debido a que el etanol, que se encuentra en mucha mayor cantidad que los alcoholes anteriores, se comporta como un agente nucleofílico que desplaza a los otros alcoholes por medio de la reacción:



Un pH ácido comprendido entre 4.4-4.2 favorece esta reacción de transesterificación. De igual forma estos autores intentan estudiar la evolución de los ésteres etílicos de ácidos de elevado peso molecular durante el envejecimiento y comprobar así si pueden actuar como marcadores.

Sin embargo, van a encontrar algunos problemas ya que el mayor o menor contenido que presenta el aguardiente en estos ésteres no va a depender solamente del propio proceso de envejecimiento, sino también de una serie de factores externos como son la temperatura a la que tuvo lugar el proceso de destilación, así como el tipo de barril usado. Todo ello lleva a no poder considerar a estos compuestos como marcadores de envejecimiento fiables.

Otras sustancias estudiadas con estos fines han sido el dietilsuccinato y la "oak lactona". Ambos compuestos incrementan su concentración durante la maduración del aguardiente, pero de nuevo va a existir mucha variabilidad en los resultados obtenidos según se realice en barril de roble americano o en barril de roble francés, en barril nuevo o ya usado anteriormente, ya que la extracción de las sustancias de la madera de roble se produce durante los dos primeros rellenos, para llegar a ser lineal durante el tercero (MOUTOUNET, M. y col., 1989). Estos hechos condicionan el que ambas sustancias no puedan ser consideradas como indicativos de envejecimiento en barril para aquellos aguardientes que hayan sufrido maduración en barricas ya usadas, lo que podría inducir a errores considerables.

Ultimamente se está estudiando el empleo de la escopoletina como posible marcador de envejecimiento, aunque por los estudios realizados esta sustancia presenta los mismos inconvenientes anteriormente comentados.

Así PUECH, J.L. y col., (1988a) y PUECH, J.L. (1988b) realizan unos estudios sobre la presencia de cumarinas en la madera de roble empleada para la elaboración de barricas utilizadas en el envejecimiento de bebidas alcohólicas como el Armagnac y el Whisky. Utilizan madera de roble de las variedades *Quercus pedunculata*, *Quercus sessiliflora* y *Quercus alba* para su estudio, bien en forma de extracto hidroalcohólico o utilizando muestras de estas bebidas envejecidas en estas variedades de roble. Los resultados obtenidos demuestran como de las cuatro cumarinas estudiadas, esculina, umbeliferona, 4-metilumbeliferona y escopoletina, sólo ésta última se encuentra presente en todas las soluciones hidroalcohólicas de roble estudiadas. Igualmente el roble americano (*Quercus alba*) se mostró como el que más escopoletina cedia a las bebidas, existiendo una grandes fluctuaciones en las cantidades encontradas en las bebidas envejecidas en los otros tipos de roble. Los estudios también demostraron como el estado de uso del barril empleado en la maduración de la bebida influye en el contenido de esta en escopoletina. Las cantidades de esta sustancia encontradas en aguardientes envejecidos en barriles nuevos pueden llegar a ser 6.5 veces mayores que las encontradas en aguardientes que lo fueron en barriles usados.

De las muestras comerciales estudiadas se pudo comprobar igualmente como aquellas que fueron envejecidas en roble americano presentaban las mayores concentraciones de escopoletina.

Los estudios concluyen afirmando que el contenido en escopoletina de las bebidas envejecidas en roble va a venir determinado por el origen y variedad del roble empleado en la fabricación de la barrica, la calidad del barril (edad y uso) y en última instancia de la duración del periodo de maduración.

D.- PAPEL QUE DESSEMPEÑAN LOS ALDEHIDOS FURÁNICOS EN EL SENDE DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS AGUARDIENTES.

D.1. Furfural y 5-hidroximetilfurfural: Origen y Formación

Furfural y 5-hidroximetilfurfural son dos aldehidos furánicos originados durante el pardeamiento no enzimático (o reacciones de Maillard). Con este nombre se designa un conjunto de reacciones muy complejas, que conducen, en diversos alimentos, a la formación de pigmentos pardos o negros, así como a modificaciones favorables o no del olor y sabor. Los sustratos de estas reacciones son compuestos carbonilos y azúcares reductores, polihidroxicarbonilos, los cuales reaccionan con los grupos amino de proteínas, aminoácidos y péptidos, bajo condiciones de acidez, temperatura elevada y en ocasiones oxígeno, originando un proceso fruto del cual aparecen furfural y 5-hidroximetilfurfural. Si el azúcar reductor del que se parte es una pentosa, se forma furfural, mientras que si partimos de una hexosa se origina el 5-hidroximetilfurfural, si bien, las hexosas son menos reactivas que las pentosas (CHEFTEL, J.C. y col. 1980).

Un mecanismo reaccional plausible, propuesto por FEATHER, M.S. y col., (1972) es el representado en la Figura Nº 18. Por ejemplo, la glucosa procedente de la celulosa de materias vegetales se deshidrata, en presencia de ácido caliente, a 5-hidroximetilfurfural el cual puede continuar su degradación originando ácido levulínico y ácido fórmico ($C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_5H_8O_3 + CH_2O$).

Por otro lado, la glucosa puede perder una molécula de dióxido de carbono, dando lugar a la formación de furfural.

Otro posible que explica la presencia de estos aldehidos furánicos en los alimentos es el proceso de caramelización que tiene lugar cuando los azúcares son calentados por encima de su temperatura de fusión, en la que los monosacáridos forman enoles como paso inicial de la reacción, que se encuentra favorecida en presencia de ácidos carboxílicos, algunos metales y pH alcalinos, aunque también puede efectuarse en condiciones ácidas. En caso de que el azúcar sea un disacárido, como la sacarosa, debe existir primero una hidrólisis que produzca los correspondientes monosacáridos, que se transforman posteriormente a la forma enólica. El segundo paso es una deshidratación del enol para obtener derivados furánicos, los cuales a su vez pueden polimerizarse en un paso final para formar los pigmentos oscuros (BADUI, S. 1981; FERENC, 1985).

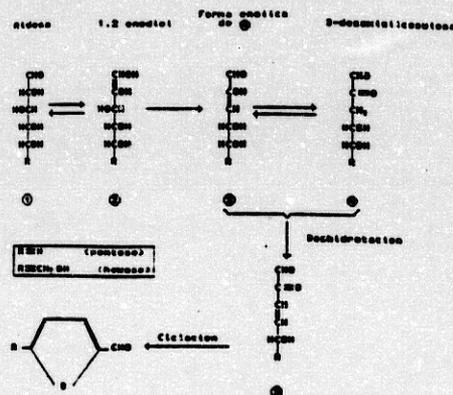


FIGURA Nº 18: Mecanismo reaccional de la obtención de furfural o hidroximetilfurfural por hidrólisis ácida de pentosas o hexosas, según Feather y col., (1972).

El 5-hidroximetilfurfural ha sido repetidamente encontrado como producto de caramelización de hexosas, incluso en rangos de pH entre 6 y 6.7, mientras que el furfural es un producto de la caramelización de las pentosas (ALEIXANDRE, J.L. y col, 1989).

Igualmente los aldehidos furánicos se pueden formar también a partir de pentosas y hexosas mediante ebullición prolongada en medio ácido acuoso, originándose una deshidratación intramolecular con formación de derivados del furano (VILLALON, M. y col, 1987).

D.2. Mecanismos de degradación de la celulosa y hemicelulosa de la madera.

El origen que más nos interesa para nuestro trabajo y por el que se encuentran mayoritariamente presentes estos aldehidos furánicos en los aguardientes envejecidos, es la degradación térmica de los polisacáridos presentes en la madera (PUECH, J.L. y col. 1988a).

Como ya vimos anteriormente, la composición química de la madera incluye entre otras sustancias a la lignina y a polisacáridos como la celulosa y hemicelulosa (Figura Nº 19).

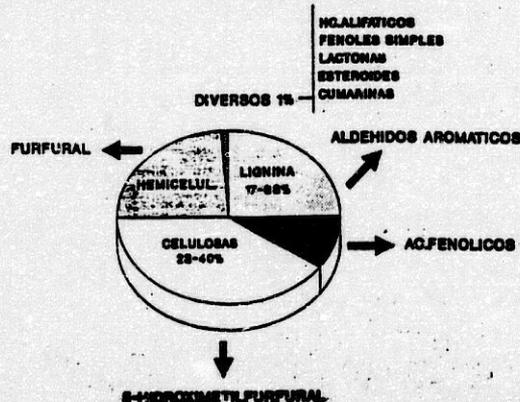


FIGURA Nº 19: Composición de la madera de roble según NOMEDEU, L. y col. (1988a).

La celulosa, es un polímero lineal constituido por enlaces de β -glucosa unidas entre sí por enlaces 1-4. Las principales propiedades físico-químicas de las celulosas son:

- por hidrólisis ácida catalizada origina unidades de glucosa
- posee un índice de polimerización comprendido entre 1000 y 10000.
- presenta cristalinidad
- presenta porosidad.

La hemicelulosa está formada por polímeros de distintos azúcares: hexosas o pentosas. Dentro de las hemicelulosas se distinguen a su vez dos fracciones: la α -celulosa y la β -celulosa. Esta última muestra diferencias respecto a la celulosa en cuanto a la forma de sus cadenas, en su menor índice de polimerización y en su falta de cristalinidad. Las hemicelulosas pueden hidrolizarse a los correspondientes azúcares con mayor facilidad que la celulosa, aunque necesitando catálisis ácida o enzimática (VAZQUEZ, D. y col., 1989).

La obtención de furfural y 5-hidroximetilfurfural a partir de estos polisacáridos ha sido ampliamente reportada en los trabajos científicos. Así BUCHERT, J. y col., (1988) realizan una hidrólisis enzimática de lignoderivados, encontrando principalmente derivados furánicos como furfural y 5-hidroximetilfurfural.

Posteriormente GARCIA, F.J. y col., (1989) realizan hidrólisis fuertes de productos lignocelulósicos resultantes de una hidrólisis previa de diferentes materiales agrícolas (tallos de maíz, paja de arroz y sarmientos de vid), encontrando entre otros productos furfural y 5-hidroximetilfurfural.

La obtención de manera industrial de estos productos (CARRASCO, F., 91a, 91b, 93; SACHETTO, J.P. y col., 1987; MORZOV, E.F. y col., 1988a, 88b; STEINMUELLER y col., 1988), principalmente furfural, a partir de materiales lignocelulósicos derivados de residuos agrícolas y forestales da una idea de la facilidad de obtención de estos productos y de su claro origen lignocelulósico.

La formación de furfural a partir de materias lignocelulósicas tiene lugar por medio de reacciones de despolimerización y deshidratación. Un esquema reaccional muy simplificado podría ser el representado en la Figura Nº 20. Como puede observarse, una parte de las reacciones se llevan a término en la matriz sólida de las materias lignocelulósicas. Se trata fundamentalmente de reacciones de despolimerización, tales como la separación de las hemicelulosas del resto del complejo lignocelulósico, por ejemplo, ruptura de los enlaces que unen las hemicelulosas a la lignina o a la celulosa y la ruptura de enlaces glicosídicos de la cadena hemicelulósica, lo cual conduce a la formación de oligosacáridos. Estos pasan de la matriz sólida a la solución por mecanismo difusional. A partir de este momento, todas las reacciones de despolimerización y deshidratación acaecen en medio acuoso.

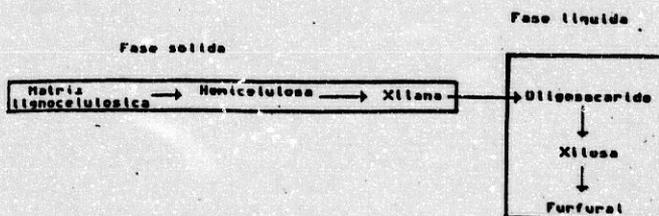


FIGURA Nº 20: Esquema reaccional simplificado de la obtención de furfural a partir de materias lignocelulósicas.

Durante el proceso de elaboración de las barricas de roble, la parte interna de las duelas que componen la barrica son quemadas y humidificadas con el propósito de conseguir el doblado de las mismas sin que se partan (ARTAJONA, J. 1991). Durante este tratamiento térmico, la celulosa es parcialmente degradada y da el 5-hidroximetilfurfural (FENDEL, D. y col., 1984) (Figura Nº 21).

El furfural se encuentra ausente de la madera de roble como tal, y al igual que el 5-hidroximetilfurfural, se va a formar como consecuencia del tratamiento térmico sufrido por las duelas durante el cintrado del barril, si bien, en este caso a partir de las pentosas constitutivas de la hemicelulosa de la madera de roble. Al quemar la madera se inicia el proceso de degradación térmica

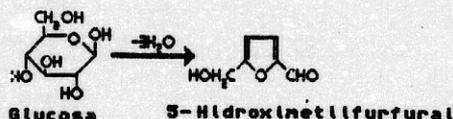


FIGURA Nº 21: Degradación de la glucosa para dar 5-hidroximetilfurfural.

de la hemicelulosa, dándose una ruptura de los enlaces glicosídicos y de los enlaces c-c de los ciclos de la piranosa cuando la temperatura llega a los 200°C. Al alcanzar los 225°C comienza la destrucción molecular y si sigue aumentando hasta los 290°C, los fragmentos moleculares son deshidratados para originar el furfural (PUECH, J.L. y col., 1988d) (Figura Nº 22).

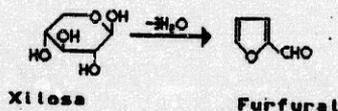


FIGURA Nº 22: Degradación de la xilosa para dar furfural.

Para BOLDWIN, J.N. y col. (1988) la técnica de quemar los barriles entraña el origen mayoritario de los aldehídos furánicos presentes en los aguardientes envejecidos. La madera no quemada posee cantidades pequeñas de furfural, pero en cuanto se produce su quemado, se origina una importante síntesis de estos aldehídos: furfural, 5-hidroximetilfurfural y 5-metilfurfural. Estas moléculas derivan de compuestos glucídicos de la madera por reacciones de Maillard, admitiéndose que el furfural se forma a partir de pentosas y que los dos otros aldehídos derivan de hexosas por el mismo mecanismo.

A conclusiones similares llegaron anteriormente BIERMANN, G.J. y col (1987), afirmando que a altas temperaturas (220-230°C) se comienza a producir una degradación de la hemicelulosa originándose furfural a partir de las pentosas constitutivas.

En esta misma línea se decantan los trabajos realizados por GLORIES, Y. (1989) al afirmar que además de los taninos, la madera es capaz de liberar una serie de compuestos aldehídicos dependiendo del proceso de elaboración de las barricas. Estos compuestos son por un lado vanilina y syringaldehído que provienen de la degradación de la lignina, y por otro el furfural y 5-hidroximetilfurfural cuyo origen está en la transformación de las celulosas como consecuencia del quemado de la madera.

El comportamiento de la estructura molecular de la madera durante el proceso de pirólisis es estudiado por BOURGOIS, J. y col (1988). En este trabajo, los autores confirman de nuevo el origen del furfural como consecuencia de la deshidratación de las xilosas de la hemicelulosa, descartando por tanto, el origen de este compuesto a partir de la celulosa.

TANAHASHI, M. y col (1989) obtienen resultados similares al estudiar los productos de degradación de la celulosa, hemicelulosa y lignina. El proceso de degradación que tiene lugar va a originar una serie de sustancias entre las que se encuentran el furfural y 5-hidroximetilfurfural, además de otras sustancias como los ácidos y aldehídos aromáticos.

Para otros autores la formación de compuestos furánicos a partir del quemado de la madera de roble durante el cintrado, es un proceso catalizado por el ácido acético que se origina por hidrólisis de los grupos acetilos de los xilanos, siendo un producto secundario de la degradación térmica de la madera y cuyo olor característico es fácilmente identificable durante el proceso de cintrado de las barricas, sobre todo después del quemado previa humidificación de las duelas.

El contenido en aldehídos furánicos extraíbles de la madera por el aguardiente aumenta con la intensidad del quemado, como ponen de manifiesto NOMDEDEU, L., L. y col., (1988a) y posteriormente CHATONNET, J.N. y col. (1989) al estudiar los compuestos originados como consecuencia del quemado de los barriles. En el caso que nos ocupa se observa la ausencia de estas sustancias en la madera de roble y un aumento lineal de sus concentraciones con la intensidad y la duración del quemado (tabla nº 1).

	N.C.	C.L.	C.M.	C.F.
FURFURAL	0	22.08	63.75	112.24
5-HIDROXIMETILFURFURAL	0	8.14	24.30	45.30

N.C. : no quemado

C.L. : calefacción ligera, 5 min.

C.M. : calefacción media, 10 min.

C.F. : calefacción fuerte, 15 min.

TABLA Nº 1: Furfural y 5-hidroximetilfurfural. Las concentraciones están expresadas en g por 100 g de madera seca.

El furfural es la molécula más abundante (60-80%), predominando sobre el 5-hidroximetilfurfural y 5-metilfurfural (3-7%), y aunque la fracción celulósica es la más abundante, parece que es la hemicelulósica la que preferentemente se ve afectada por el proceso de degradación térmica. Según BARNAUD, P., (1980) la naturaleza cristalina del polímero celulósico explicaría su mayor estabilidad a la hidrotermólisis durante las operaciones de quemado, de ahí el menor contenido en 5-hidroximetilfurfural encontrado en todos los casos en relación al furfural.

Contrariamente CHATONNET, J.N. y col., (1989), encuentran que un quemado fuerte de la madera durante quince minutos va a producir concentraciones de aldehídos furánicos inferiores a las encontradas con un quemado medio durante 10 minutos, superando la temperatura en superficie en este caso los 230 °C. A partir de este momento se pueden suceder reacciones de volatilización y degradación que van a disminuir el contenido en aldehídos furánicos, tales como la apertura del ciclo furánico que puede conducir a diversos compuestos entre los que se encuentran el ácido fórmico, levulinico y acético, la formación de pigmentos por condensación de los aldehídos furánicos con otros productos de degradación de los polisacáridos de la madera y la transformación de estos aldehídos en polímeros insolubles que no van a pasar al aguardiente.

Por su parte MOUTONNET, M. y col., (1989) aportan nuevos datos en sus trabajos sobre el origen de estos compuestos y descubren como en macerados de virutas de roble no quemadas existe una ausencia total de aldehídos furánicos, siendo estos sin embargo, frecuentes en vinos envejecidos en barricas quemadas. Encuentran diferencias en cuanto a la composición de aldehídos furánicos para un vino u otro dependiendo del barril en el que fué conservado y suponen tal diferencia al distinto grado de quemado que podría tener un barril en relación al otro.

A similares conclusiones llega ARTAJONA, J. (1991), evidenciando una vez más que el origen de estos dos aldehídos furánicos se encuentra en la degradación térmica sufrida por la madera durante la fase de cintrado del barril. Las concentraciones de aldehídos furánicos encontradas por este autor, tanto en barricas como en macerados preparados con virutas de roble, van en aumento a medida que se incrementa el grado de quemado del barril, por lo que estos compuestos pueden servir como índice del "grado de tostamiento" de una barrica y posibles "marcadores de envejecimiento". Sin embargo, encuentra pequeñas cantidades de 5-hidroximetilfurfural preformado en la madera sin quemar, tal como afirmaba CHATONNET, J.N. y col., (1989), aunque el tostado posterior hace incrementar las concentraciones en estos aldehídos en grandes cantidades.

Por el contrario, NABETA, K. y col., (1986) extraen las sustancias volátiles de robles europeos y japoneses y encuentran cantidades de furfural preformado en todas ellas. La presencia de furfural en los robles europeos es menor a la encontrada en el roble blanco americano y 2.6 a 3.6 veces menor también a la de los robles japoneses. Esta baja presencia de furfural preformado en el roble puede ser característico de los robles europeos.

D.3. Presencia de aldehídos furánicos en aguardientes envejecidos

La presencia de furfural y 5-hidroximetilfurfural en brandies y vinos ha sido ampliamente detectada por muchos autores en sus trabajos de investigación, al analizar la composición química de estas bebidas.

Así GUYMON, J.F. y col., (1972) detectan el furfural tanto en brandies envejecidos en madera de roble francés como en aquellos que lo fueron en madera de roble americano, afirmando igualmente el origen del furfural a partir de la xilosa como fruto del calentamiento de la madera durante el secado en horno de las duelas o durante el proceso de fabricación del barril.

ONISHI, Y., M. y col., (1977) afirman que el furfural es un producto extraído por el aguardiente de la madera de roble durante el envejecimiento del brandy, aumentando su concentración a medida que aumenta el tiempo de maduración. Posteriormente, ONISHI, Y., M. y col., (1978) analizan la composición química de distintos brandies elaborados a partir de vinos obtenidos con cepas distintas de uvas y comprueban la presencia del furfural en todas ellas.

JEURING y col., (1980) determinan furfural y 5-hidroximetilfurfural en mieles y aguardientes envejecidos por H.P.L.C. y encuentran concentraciones muy significativas de estos dos componentes.

PURCH, J.L. y col., (1984) estudian la evolución de constituyentes volátiles y furánicos de Cognac durante el envejecimiento, encontrando cantidades apreciables de furfural.

BRAVO ABAD, F. y col., (1985) determinan los espectros de absorción ultravioleta obtenidos a partir de muestras comerciales de brandies, encontrando los correspondientes al furfural y 5-hidroximetilfurfural.

DIEZ, J. y col., (1985) hacen un estudio de los componentes aromáticos encontrados en brandies de Jerez envejecidos mediante el sistema de soleras, encontrando entre otras muchas sustancias al furfural y 5-hidroximetilfurfural.

Por su parte BAUMES, R. y col., (1986) al determinar la composición en sustancias volátiles de distintos vinos según la cepa de uva usada para su elaboración, detectan furfural en todos ellos.

POMPEI, C. y col., (1986) detectan 5-hidroximetilfurfural en mostos de uva mediante técnicas por cromatografía líquida de alta resolución.
MARSAL, F. y col. (1987) encuentran furfural al estudiar las sustancias volátiles de la madera de roble.
BELLANATO, J. y col., (1988) realizan un análisis de componentes de distintos brandies por espectroscopía infrarroja, encontrando furfural y 5-hidroximetilfurfural.
PROFUMO, A. y col., (1988) estudian el envejecimiento del "grappa" italiano, muy parecido al brandy, detectando cantidades significativas de furfural.
MONTILLA, J. y col., (1988) encuentran de manera clara furfural y 5-hidroximetilfurfural en vinos de Málaga mediante la aplicación de técnicas espectrofotométricas.
GUERRA, E. y col., (1988) y posteriormente en 1990, determina igualmente 5-hidroximetilfurfural y furfural en varios vinos de Jerez y Huelva mediante técnicas cromatográficas y espectrofotométricas. Estos vinos se caracterizan por sufrir un proceso de crianza durante varios años en roble.
VAN DER SCHEE, H. y col., (1989) detectan posibles adulteraciones del cognac mediante la aplicación de análisis discriminante a GLC-arogramas, apareciendo en estos de forma clara el furfural.
CANTAGREL, R. y col., (1990) comparan varios métodos de análisis de furfural, ésteres y aldehídos en aguardientes envejecidos, encontrando al componente furánico en todas las determinaciones realizadas por cualquiera de los métodos comparados.

En todos estos trabajos, el origen mayoritario del furfural presente en los brandies y aguardientes es debido al quemado de la madera de roble durante el cintrado de las barricas. Sin embargo, es posible que una pequeña concentración en este aldehído furánico se formara en el aguardiente durante el proceso de destilación.

En este sentido ONISHI, Y., M. y col., (1977) afirman que el furfural es un producto de la deshidratación de pentosas, cuyo origen principal se encuentra en la extracción que del mismo realiza el aguardiente durante el envejecimiento en barriles, pero que también se ha podido formar durante el proceso de destilación, debido al enorme y prolongado calentamiento que sufre el vino durante este proceso, para pasar posteriormente al destilado.

JEURING y col., (1980) mantienen una opinión parecida a la anteriormente comentada confirmando la existencia de una pequeña cantidad de furfural originada durante el proceso de destilación y que según la Oficina Interprofesional del Cognac nunca deberá ser menor a 1.0 g/100 l de etanol.

SACHAVO, M.S. y col., (1982) ponen también de manifiesto la presencia de furfural durante el proceso de destilación del brandy, afirmando que las fracciones intermedias del destilado son las que presentan mayor contenido en este aldehído.

Más recientemente, ARTAJONA, J. (1991) encuentra al analizar muestras de brandies que los aldehídos furánicos ya se encuentran presentes en el propio destilado antes de someterlo al envejecimiento, como consecuencia lógica de la torrefacción que sufren los azúcares en el alambique.

De hecho son muchos los autores, que al estudiar la composición química de los destilados encuentran furfural entre las sustancias presentes en los mismos.

La comparación entre la composición química de los destilados obtenidos por doble destilación y destilación continua empleados en la elaboración de Armagnac por BERTRAND, A. y col., (1988), sirven para confirmar una vez más la presencia del furfural entre los componentes químicos encontrados y apoyar el origen de este compuesto durante la destilación.

Asimismo CASAGRANDE, S. (1980) estudia destilados de "grappa" en los que se dan condiciones de destilación parecidas a las del brandy, encontrando furfural en la composición química de las muestras analizadas.

De nuevo FEZZI, E. (1987) detecta furfural en su estudio sobre la composición química de destilados obtenidos por doble destilación (método charentais) y en aquellos obtenidos por destilación continua.

D.4. Formación del 5-hidroximetilfurfural y furfural durante los procesos de caramelización.

En cuanto al 5-hidroximetilfurfural presente en los brandies comerciales puede tener también otro origen distinto al hasta ahora comentado. La adición al brandy de caramelo colorante es una práctica habitual en la elaboración de bebidas espirituosas sometidas a envejecimiento. Toma así la bebida una coloración ámbar que resulta atractiva para el consumidor por el carácter de envejecida que dicho color le proporciona (LOPEZ, A., 1964; PUECH, J.L. y col., 1988d).

La composición química del caramelo es compleja, debido a la gran cantidad de sustancias que se van formando como consecuencia de los procesos de pirólisis que sufren los carbohidratos, como la sacarosa, la glucosa o el almidón. A altas temperaturas, aparentemente se siguen sólo dos rutas de degradación que dependen del pH del sistema, independientemente del tipo de azúcar del que se parta (BARDUI, S. 1981).

La formación de los compuestos furánicos comienza a partir de 1,2 enol, del cual y por sucesivas deshidrataciones se obtiene principalmente 5-hidroximetilfurfural. Además de este producto se han determinado en el caramelo alrededor de cuarenta componentes de naturaleza diversa tales como la acetona, metil acetato, etil acetato, metanol, metil-etil cetona, 2-propanol, etanol, propionato de etilo, 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol, 1-hexanol, aldehído valerianico, ácido acético, furfural, ácido propiónico, ácido isobutírico, metilfurfural, ácido isovalorianico, alcohol furfuralico, ácido pentanóico, ácido hexanóico, ácido heptanóico entre otros.

Los principales componentes responsables del aroma del caramelo son el acetato de etilo, metanol, etanol, ácido acético y furfural. En menor medida podemos considerar también a la acetona, metilfurfural, aldehído valerianico y ácido propiónico. El resto de componentes se encuentran en una menor concentración (GORETTI, G. y col., 1980).

HARDT, R., R. y col., (1987, 89) intentan diferenciar distintos tipos de caramelo mediante la aplicación de técnicas de cromatografía de gases capilar, espectrometría de masas y determinación del punto de pirólisis. Determinan de esta forma más de 100 componentes, siendo el 5-hidroximetilfurfural el más abundante en los cuatro tipos de caramelo identificados por estos autores.

Es interesante también el trabajo realizado por DROSS, A. y col., (1989), en el cual mediante técnicas de ultrafiltración van a separar los distintos componentes del caramelo de acuerdo a su masa molecular, para posteriormente mediante la aplicación de técnicas cromatográficas y de determinación del punto de pirólisis identificar cada uno de ellos. El caramelo contiene de un 15-25% de compuestos cuya masa molecular es inferior a 500 Dalton y sólo un 30% es inferior a 1000 Dalton. Algunos de los componentes identificados incluyen al 2-metilfuran, 2,5-dimetilfuran, pirrol, furfural y 5-hidroximetilfurfural (MARTYNEENKO, E. y col., 1980; UJSZASZI, J., 1980).

A conclusiones semejantes llega TSCHERSKY, H. y col., (1989) al investigar el punto de pirólisis de siropes de caramelo. Identifican más de 80 componentes mediante cromatografía de gases capilar y espectrometría de masas. Esta técnica permite identificar distintos siropes de caramelo e incluso diferenciar entre siropes y caramelos colorantes. Al igual que hacían DROSS, A. y col., (1989), estos autores separan los distintos componentes usando técnicas de ultrafiltración. De la larga serie de compuestos identificados hay que resaltar a los derivados furánicos, los cuales son encontrados en el caramelo en unas altas concentraciones. De estos compuestos furánicos el menos abundante es el furfural, seguido del 5-metilfurfural, siendo el 5-hidroximetilfurfural el componente más abundante no sólo entre los furánicos, sino incluso entre todos los compuestos identificados.

Posteriormente PONS, I. y col., (1991) afirman que entre los componentes del caramelo hay que destacar a varios productos consecuencia de la degradación de los azúcares, pero de ellos el 5-hidroximetilfurfural es el más abundante. Destacan también la presencia del furfural como otro componente presente en el caramelo.

Al determinar las concentraciones de estos componentes, comprueban como el furfural se encuentra en unas concentraciones de 800 ppm mientras que el 5-hidroximetilfurfural se encontraba presente en unas concentraciones de 4000 ppm.

A resultados semejantes llegaron COLLINO, F. y col., (1982) al estudiar mediante cromatografía de gases los compuestos furánicos del caramelo, observando como la cantidad de 5-hidroximetilfurfural presente en el caramelo

analizado era siempre 2.13 veces mayor que el furfural presente en ese mismo caramelo. Establecieron la relación 5-HMF/F = 2.13:1 la cual indica una predominancia del 5-hidroximetilfurfural sobre el furfural en el caramelo.

La presencia de 5-hidroximetilfurfural en el caramelo es tan intensa que algunos autores como ALFONSO, F.C. y col., (1980) desarrollan un método por cromatografía líquida de alta resolución para poder determinar la presencia de caramelo en bebidas alcohólicas. Afirman que el 5-hidroximetilfurfural es un buen indicativo de la presencia de caramelo en una muestra. Llegan a encontrar niveles de 5-hidroximetilfurfural en los caramelos que estudian comprendidos entre 18000 y 14000 ppm, además de otros productos como el furfural y 5-metilfurfural, aunque estos ya en menor cuantía. Incluso realizan una comparación entre los niveles de 5-hidroximetilfurfural encontrados en las muestras analizadas y la determinación cualitativa de caramelo en esas mismas muestras, resultando existir una correspondencia entre las altas concentraciones del aldehído furánico encontrado y la presencia positiva de caramelo en las muestras. Sin embargo, también afirman la necesidad de realizar trabajos posteriores para concretar mejor los límites entre los que se debe encontrar el 5-hidroximetilfurfural para considerarlo como indicativo de la presencia de caramelo.

Una vez conocida la presencia mayoritaria de 5-hidroximetilfurfural en la composición química del caramelo y habida cuenta de su adición como colorante a los brandies, es lógico pensar que el origen del 5-hidroximetilfurfural encontrado en ellos sea en gran medida, consecuencia de la adición de caramelo, y por tanto, y al igual que hicieron ALFONSO, F.C. y col., (1980), podemos tomar las altas concentraciones de este componente encontradas como indicativo de adición de caramelo al brandy.

A semejantes resultados llegaron PUECH, J.L. y col., (1988d) al estudiar muestras comerciales de Armagnac V.S.O.P. y encontrar en ellas concentraciones de 5-hidroximetilfurfural muy elevadas, afirmando que dichas concentraciones tan elevadas son consecuencia de la adición de caramelo colorante a estas muestras, sobre todo después de la determinación de compuestos furánicos en muestras de Armagnac controladas para las cuales confirman la ausencia de caramelo. En estas últimas muestras hallan concentraciones de furfural superiores a las de 5-hidroximetilfurfural, todo lo contrario a lo encontrado en los Armagnacs V.S.O.P. donde el componente mayoritario era el 5-hidroximetilfurfural.

D.5. Contribución de los aldehídos furánicos en la calidad de los brandies: evolución durante el proceso de envejecimiento.

El estudio de los derivados furánicos en Bromatología tiene importancia dado que estas sustancias están ampliamente distribuidas en los alimentos y bebidas, siendo numerosas las investigaciones realizadas por diversos autores en este campo. STOPPELSMAN, J. y col., 1968; FRATTINI, C. y col., 1977.; DAVIDEK, J. y col., 1982, entre otros.

AKHEMEDOV, D.A. y col., (1978) realizan espectros de absorción ultravioleta sobre distintos brandies y encuentran la presencia de taninos, aldehídos y furfural como una gran ayuda para conocer la composición y calidad del brandy mediante esa técnica espectrofotométrica. La presencia de un máximo de absorbancia a 275-280nm es característica del cognac (MNDZHOYAN, E.L. y col., 1963). Estas muestras de brandy se caracterizan por tener un alto índice en este aldehído furánico.

Asimismo, GORANOV, N. (1982), estudia los cambios que se producen en la composición química del brandy durante el envejecimiento. Observa que este máximo a 275-280nm se incrementa a medida que aumentan los años de maduración, al igual que sucede con el furfural y postula que este incremento en la absorbancia a esa longitud de onda sea debido a este compuesto, el cual mejora el aroma de los aguardientes envejecidos (SACHAVO, M.S. y col., 1982).

En bibliografía son muchos los trabajos realizados sobre 5-hidroximetilfurfural en alimentos ricos en azúcar tales como mieles. (BICCHI, C. y col., 1983) y frutas (TATUM, J.H. y col., 1967; WAHAB, A., 1948); así como en cervezas y vinos dulces de Madeira (KAZUMOV, N.B., 1963).

Son varios los autores que han utilizado el contenido en furfural como un índice aproximado para establecer la genuinidad y envejecimiento de aguardientes y otras bebidas alcohólicas en barriles de roble. Así, LOPEZ, A. (1964) comprueba que el furfural es un componente normal de los aguardientes envejecidos en madera, por lo que su determinación tiene interés en la catalogación de las bebidas genuinas. Este autor determina este aldehído en todos los brandies comerciales embotellados, correspondiendo dentro de ellos el valor máximo a una de las calidades consideradas como selectas. En los whiskies, los resultados de las muestras genuinas y sometidas a envejecimiento son muy superiores a los de los productos sospechosos. Si la bebida ha sido preparada a partir de un alcohol rectificado por simple dilución con adición de esencias y colorante, la cantidad de furfural será baja o nula.

Estudios llevados a cabo por JOHNSON, E.E. (1969) durante la maduración del whisky, demostraron que el color, los ácidos, ésteres, taninos y furfural se incrementan durante el proceso de envejecimiento.

SIMPSON, R.F. (1965) analiza la composición del aroma de vinos blancos envejecidos en botella. Considera que la presencia de furfural en los vinos muy envejecidos es uno de los índices más característicos y guarda concordancia con el contenido inicial de azúcares. Asimismo, para BOZHJNOV, A. y col., (1983) el contenido de furfural, junto con el de azúcares reductores y fenoles totales, es un buen índice de envejecimiento, dado que las concentraciones de dichos compuestos aumentan con el tiempo, al adicionar extractos de madera de roble a las muestras de brandy por él analizadas.

Este hecho puede dar pie a pensar en el furfural como un posible indicador del envejecimiento en madera. Así MAKSAL, F. y col., (1987) encuentran niveles satisfactorios de furfural en vinos conservados en barricas durante un tiempo más o menos prolongado, mientras que esos mismos vinos conservados en cuvas de acero no presentan este componente.

Igualmente, MOUTONNET, M. y col., (1989) aluden al aumento que experimenta el furfural y 5-hidroximetilfurfural en aguardientes envejecidos en barriles de roble al ser extraídos estos aldehídos furánicos por el aguardiente desde la madera del barril, pudiendo servir en este caso la presencia de furfural y 5-hidroximetilfurfural como indicativo de envejecimiento en madera. Sin embargo, ONISHI, M. y col., (1977) afirman que esta extracción va a depender no sólo del tiempo que permanezca el aguardiente en el barril, sino también de otros factores como son la variedad de roble con la que se construyó el barril, las dimensiones del barril, la antigüedad de éste, etc. Este autor comprueba como aguardientes envejecidos en barril de roble americano presentan un mayor contenido en furfural y 5-hidroximetilfurfural que estos mismos aguardientes envejecidos en barril de roble francés, aunque éste último parece contribuir más al color del brandy que el americano.

A conclusiones semejantes llegan JEURING y col., (1980) al afirmar que parte de ese furfural presente en el brandy proviene del proceso de destilación, por lo que no se puede asegurar que la presencia de este aldehído furánico en un aguardiente pueda servir como indicador o marcador de envejecimiento.

PROFUMO, A. y col., (1988) opinan igualmente sobre la validez del empleo del furfural como marcador de envejecimiento, afirmando de manera textual: "un vistazo a las concentraciones de furfural encontradas en las muestras, determina que podemos afirmar la no utilidad de éste parámetro para evaluar la duración del periodo de maduración del destilado, ya que no existen diferencias apreciables entre los destilados recientes y las muestras envejecidas en roble".

Si además tenemos en cuenta que la mayoría del 5-hidroximetilfurfural presente en las muestras embotelladas de brandy es consecuencia de la adición de caramelo colorante, será difícil tomar también a este compuesto como posible marcador de envejecimiento (PUECH, J.L. y col., 1988d).

Durante la etapa de envejecimiento a la que son sometidos los brandies, se consigue principalmente una mejora de las características organolépticas del producto debido a las sustancias aportadas por la madera durante este tiempo. Sin embargo no todas las sustancias tienen una clara contribución en este sentido. Este es el caso de los aldehídos furánicos. La contribución del furfural al sabor de los brandies no solo es bastante insignificante comparada con la contribución de otras sustancias tales como los aldehídos benzóicos y cinámicos, sino que además

parece ejercer un efecto adverso sobre las propiedades sensoriales que afectan al sabor del brandy (GUYMON, J.P. y col., 1972).

A similares conclusiones llegaron BOIDRON, J.N. y col., (1986) al estudiar la influencia que ejercen las sustancias furánicas extraídas de la madera sobre vinos elaborados a partir de cepas Merlot y Cabernet Sauvignon durante el envejecimiento. Afirman después de realizar un estudio de degustación con 30 jueces, que los índices aromáticos encontrados para el furfural, 5-metilfurfural, 5-hidroximetilfurfural y alcohol furfúrico permiten poner en evidencia la ausencia de papel organoléptico de estas sustancias, en la calidad de dichos vinos.

Sin embargo, existen otros autores como CHATONNET, J.N. y col., (1989) que si otorgan al furfural y 5-hidroximetilfurfural una cierta influencia sobre las características organolépticas de las bebidas espirituosas, aunque para otros autores como BERTUCCIOLI, M. y col., (1976) durante el envejecimiento, ciertos productos de degradación de estas sustancias como el ácido son los responsables del papel organoléptico de furfural y 5-hidroximetilfurfural.

D.6. Técnicas analíticas existentes para la determinación de aldehídos furánicos

Existen en bibliografía varios métodos para la determinación de aldehídos furánicos en aguardientes y otros alimentos. Estos métodos se pueden clasificar según el fundamento físico o químico en el que se basan. Los métodos químicos, por lo general, se basan en la reacción de algún agente químico con la sustancia a investigar y posterior medida espectrofotométrica de la sustancia originada a una longitud de onda en la cual presenta máxima absorbancia. Los métodos físicos se basan fundamentalmente en procesos cromatográficos ya sean en fase gaseosa, líquida o en capa fina.

Varios métodos colorimétricos (químicos) se encuentran disponibles para la determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural en bebidas alcohólicas. Uno de estos métodos se basa en la reacción en la que el furfural condensa con anilina en presencia de un ácido fuerte para formar una sustancia de color rojo, la cual puede ser determinada mediante medida espectrofotométrica a 277nm (AMERINE, M.A. y col., 1972; BREMAN, C.P., 1986; LOPEZ, A., 1964). Sin embargo, este método presenta una serie de inconvenientes tales como variación del color con el tiempo y la temperatura; falta de proporcionalidad entre el color y concentración, a no ser en márgenes estrechos; e influencia de la concentración alcohólica del líquido. Por todo ello se ha creído conveniente la determinación cuantitativa del furfural por otros métodos (LOPEZ, A., 1964).

Otro método para la determinación de aldehídos furánicos es el descrito por MCDUGALL, J. y col., (1963) para las cervezas, donde el furfural es determinado mediante la reacción antes comentada con la anilina y el 5-hidroximetilfurfural se hace reaccionar con ácido 2-tiobarbitúrico.

Por su parte GRIGSBY, J.H. y col., (1976); GUZMAN, G. y col., (1986) y JIMENEZ, S. (1992) también usan el ácido 2-tiobarbitúrico para la determinación del 5-hidroximetilfurfural en cervezas, cremogenados de albaricoque y leche UHT.

El método Winkler es el más empleado para la determinación de 5-hidroximetilfurfural. Es un método colorimétrico basado en la reacción que tiene lugar entre el ácido barbitúrico y la p-toloidina. La aparición de un compuesto coloreado da pie a la medida espectrofotométrica a 550 nm. Este método ha sido empleado por autores como BOSCH, J. y col., (1986); PORRETTA, S. y col., (1991); AMERINE, M.A. y col., (1980). ZHITAR, N.P. y col., (1986) emplearon un método basado también en la espectrofotometría para la determinación de diversos aldehídos en vinos de Jerez y brandies. Los aldehídos, entre los que se encuentran los furánicos, se hacen reaccionar con fucsina en un medio tamponado a pH de 2.09-3.78 y posterior medida de la absorbancia a 540 nm. Los ácidos presentes en el líquido no interfieren en ningún momento la reacción que tiene lugar.

También existe dentro de los métodos químicos un método por fluorescencia descrito por BRENNER y col., (1976), en el que el o-aminotiofenol reacciona con el furfural cuando se encuentra en una solución que contiene ácido sulfúrico dando fluorescencia que se puede medir mediante excitación a 538 nm y emisión a 403 nm.

BRAVO ABAD, F. y col., (1985) utilizan conjuntamente medios espectrofotométricos y cromatográficos en fase gaseosa para la determinación de furfural y otros componentes propios de muestras de brandies y Cognac. En concreto determinan furfural mediante el método recomendado por la AOAC (11ª Ed. de 1970), en el que el furfural es arrastrado por corriente de vapor de agua hacia el destilado. Posteriormente se mide la absorción de este compuesto a 277 nm. Este método por arrastre en corriente de vapor y posterior medida a esta longitud de onda es también el recomendado por el Ministerio de Sanidad y Consumo de España (1985) para la determinación de este aldehído furánico en brandies y otras bebidas espirituosas como el ron.

LAGE, M. y col., (1989) describen distintos métodos analíticos de determinación de furfural, cafeína y sustancias tánicas en el licor de café. Uno de estos métodos consiste en una destilación por arrastre en corriente de vapor y posterior medida colorimétrica de la coloración resultante tras la reacción de este componente con la anilina en medio ácido.

La reacción entre la tiosemicarbazida con el furfural y 5-hidroximetilfurfural para dar las respectivas tiosemicarbazonas a pH 2 y medida espectrofotométrica a 316 y 322 nm respectivamente fue utilizada por MONTILLA, J. y col., (1988); GUERRA, E. y col., (1988,90) para la determinación de estos aldehídos en vinos de Málaga, Huelva y Jerez.

Dentro de las técnicas cromatográficas podemos destacar los trabajos realizados por RONKAINEN, P. (1967a, 67b, 67c), el cual determina furfural junto a otros compuestos carbonílicos por cromatografía en capa fina. Igual técnica utilizan VOSTRIKOVA, E.J. y col., (1972) al realizar un estudio sobre los aldehídos del brandy; usando como eluyente el sistema C₆H₆-heptano (1:10) separan furfural, aldehído cinámico y aldehído valeriano.

LYALIKOV, Y.S. y col., (1963) determinaron una serie de aldehídos, entre ellos el furfural, haciendo pasar muestras de vino y brandy a través de columnas de intercambio iónico. Dos años más tarde, BARNIER, G. y col., (1965), usando la cromatografía en papel consiguen separar e identificar 5-hidroximetilfurfural en azúcares vainillados; los resultados fueron corroborados por absorción espectrofotométrica a 283nm.

MAARSE, H. y col., (1966) usando columnas capilares de polipropileno-glicol determinan por cromatografía de gases furfural en ron.

CHAUDHARY, S.S. y col., (1968); STERN, D.U. y col., (1975) realizan un estudio sobre los cambios que experimenta un vino durante dos años de envejecimiento en cuanto a su composición química. Para ello emplean la cromatografía en fase gaseosa con detector de ionización de llama, determinando entre otros muchos compuestos, a los derivados furánicos.

HASNIKA, A. y col., (1987) emplean la cromatografía en fase gaseosa en unión a un espectrómetro de masas para la identificación y detección de aditivos en los alimentos. Compuestos odoríferos se extrajeron e identificaron a partir de zumo de uvas y de bebidas destiladas, siendo frecuente en estos la presencia de furfural.

Igual técnica emplearon anteriormente STANG y col., (1980) para la determinación de compuestos volátiles, entre los que se encuentra el furfural, en vinos de Jerez.

CABEZUDO, M.D. y col., (1988) realizan un trabajo sobre el enriquecimiento de Jerez Oloroso en aldehídos y cetonas. Para la identificación posterior de estos compuestos emplean también las técnicas de cromatografía de gases-espectroscopia de masas semejantes a las comentadas anteriormente.

WAN, W., (1989) desarrolla un método para la determinación de aldehídos en bebidas alcohólicas mediante cromatografía gaseosa y por el cual identifica al formaldehído, acetaldehído y furfural. Este método ha sido recomendado por el gobierno chino para la determinación de aldehídos en bebidas alcohólicas.

BAUMES, R. y col., (1986) utilizan distintas técnicas para la determinación de compuestos volátiles en vinos entre los que se encuentra el furfural. La cromatografía en capa fina, cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución son empleados por los autores para este fin.

Un trabajo parecido es el realizado por BARROSO, C.G. y col., (1987) y en el cual mediante la aplicación de distintas técnicas tales como cromatografía líquida de alta resolución, de permeación de geles e intercambio iónico determinan aldehídos furánicos en muestras de vinos.

En un interesante estudio CANTAGREL, R. y col., (OIV f.v. n° 869) realizan una comparación entre varios métodos de determinación de furfural en bebidas espirituosas. Los métodos comparados entre sí son: el método oficial francés de destilación por arrastre de vapor, la cromatografía en fase gaseosa y la cromatografía líquida de alta resolución. Las diferencias encontradas no son significativas como para descartar unos métodos respecto a otros.

Pero sin duda alguna, la aparición de las técnicas de cromatografía líquida de alta resolución va a impulsar el estudio de la composición química de bebidas alcohólicas, especialmente de vinos y derivados. Trabajos como los realizados por MATAS, R., (1982) y posteriormente CACERES, I. y col., (1986) han contribuido al conocimiento y desarrollo de esta técnica, si bien con anterioridad ya era utilizada por algunos autores.

Resulta especialmente interesante el método desarrollado por JEURING y col., (1980) y posteriormente seguido también por MARINI, S. y col., (1976), mediante cromatografía líquida de alta resolución, para la determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural en mieles y bebidas espirituosas. Mediante él y sin ningún tipo de extracción previa los compuestos furánicos son determinados rápida y fácilmente.

Asimismo ALPONSO, F.C. y col., (1980) desarrollan un método para la determinación de 5-hidroximetilfurfural en caramelo por cromatografía líquida de alta resolución. Utilizan una columna de fase reversa C-18 con una fase móvil constituida por una mezcla de metanol y agua. El detector lo sitúan en el ultravioleta λ 277nm.

Otros muchos autores, entre los que se encuentra FUECH, J.L. (1988d), adaptan distintas técnicas de cromatografía en fase líquida para la determinación de aldehídos furánicos en bebidas espirituosas, encontrando resultados muy favorables.

Siguiendo esta línea POMPEI, C. y col., (1986), utilizan también la cromatografía líquida de alta resolución para la determinación de 5-hidroximetilfurfural en concentrados de mostos de uva, encontrando el pico correspondiente a este compuesto a los 3.6 minutos de inyectada la muestra.

Igualmente LEUBOLT, R. y col., (1989) utilizan un método basado en la cromatografía líquida de alta resolución con intercambio de iones para la determinación del 5-hidroximetilfurfural en bebidas, especialmente en cervezas. Para ello se requiere una solución diluida de ácido sulfúrico, y detección en el ultravioleta a 283 nm. La cuantificación de este aldehído la realizan mediante curvas de calibración externas.

Otro método para la determinación de 5-hidroximetilfurfural en leche es el desarrollado por MORALES, F.J. y col., (1992), basándose en la cromatografía líquida de alta resolución y cuya principal característica es el empleo de una fase móvil tamporada (pH = 4.0 - 4.2). De esta forma se evitan los posibles solapamientos entre el pico del 5-hidroximetilfurfural y aquellos otros picos correspondientes a sustancias presentes en la muestra eludida. El compuesto furánico ha de ser extraído previamente a su inyección cromatográfica, obteniéndose de esta forma resultados satisfactorios.

En general, la mayoría de estos métodos por CLAE presentan el inconveniente de que los aldehídos furánicos han de ser extraídos previamente a su determinación cromatográfica por distintos solventes, lo que encarece y dificulta el desarrollo de estas técnicas cromatográficas.

E.- INVESTIGACION EXPERIMENTAL SOBRE LA TOXICOLOGIA DEL FURFURAL Y 5-HIDROXIMETILFURFURAL.

El furfural fué descubierto por Dobereiner en 1832 cuando trataba de obtener ácido fórmico por reacción de azúcar y ácido sulfúrico en presencia de dióxido de manganeso. Tras la reacción observó que la solución resultante contenía gotas de un aceite amarillento y al cual le dió el nombre de "aceite de hormiga".

A partir de este momento muchas han sido las formas de obtención de furfural, sobre todo desde el punto de vista industrial.

En cuanto al empleo industrial del furfural podemos destacar: uso en industrias de lubricantes, resinas y grasas (disolvente de resinas, grasas, purificación de aceites etc.), en industrias de agricultura (insecticidas, fungicidas, germicidas etc.), en la industria farmacéutica (furantrona y furazolidina), en la industria petroquímica (destilación extractiva del butadieno e hidrocarburos) y en la industria química (síntesis de resinas y barnices etc.) (CARRASCO, F., 1991).

Las primeras investigaciones sobre la toxicidad del furfural datan de finales del siglo XIX y principios del XX. En ellas se establecen la dosis letal mínima en perros, conejos, cerdos de guinea, gatos, ratas, pescados y ranas.

NAKAHARI, W. y col., (1941) describieron lesiones cirróticas en el hígado de ratas 90-350 días después de suministrar el furfural a los animales en las comidas.

Posteriormente doce trabajadores implicados en la producción industrial del furfural resultaron intoxicados. Los síntomas que presentaron todos ellos eran irritaciones de las membranas mucosas en el aparato respiratorio y en el tracto digestivo (BUG'., B. y col., 1951).

Es muy interesante el trabajo realizado por CASTELLINO, N. y col., (1963), en el cual determinan la dosis letal 50, así como la dosis mínima letal, en ratas y conejos por administración subcutánea del furfural. La DL_{50} determinada para un día de supervivencia en las ratas resultó ser de 222.7 mg/kg; para tres días de supervivencia 211.7 mg/kg y 119.4 mg/kg para diez días de supervivencia.

Los conejos inyectados subcutáneamente con 0.5g/Kg murieron en un intervalo de tiempo comprendido entre los 30 y 50 minutos. Aquellos a los que le fué inyectada una dosis de 0.25g/Kg murieron después de 2 a 4 días. El examen histológico de distintos órganos de estos animales mostraba fenómenos congestivos y cambios edematosos degenerativos.

La administración subcutánea de 25 mg/Kg/día de furfural producía la muerte de los conejos entre 7 y 12 horas después de su administración. Un estudio de las funciones biológicas antes y durante la administración de este aldehído mostraba una disminución significativa de la filtración molecular, del flujo sanguíneo y de la excreción tubular. Estos datos demuestran una alteración de la función renal, sobre todo a nivel tubular, tal y como estudios histológicos posteriores demostraron. Los estudios realizados sobre las funciones hepáticas mostraron asimismo la existencia de lesiones a nivel de este órgano, en el cual aparecieron zonas degenerativas y centros necróticos.

Igualmente se observó una marcada reducción de los glóbulos rojos y hemoglobina. Se detectó la aparición de una rápida anemia con leucopenia, así como una hipoplasia del parénquima eritoblástico. Incluso se puede observar un descenso en el fibrinógeno y en el tiempo de coagulación.

Los animales inyectados con dosis de 2.5 mg/Kg/día de furfural murieron entre las 16 y 30 horas posteriores a la administración. El estudio, antes y durante la administración, de la función renal demostró igualmente la existencia de lesiones a nivel glomerular. Igualmente se detectó una necrosis hepática la cual originaba disfunciones hepáticas similares a las encontradas en los animales administrados con dosis mayores de furfural.

Las investigaciones sobre la hematopoyesis de los animales dan como resultado la aparición de una reducción significativa de los eritrocitos y de la hemoglobina, seguido de una reducción de glóbulos blancos y plaquetas. Cuando los animales mueren la médula presenta una hipoplasia de los elementos eritoblásticos y mieloblásticos, observándose igualmente un descenso del fibrinógeno y plaquetas, así como una prolongación del tiempo de coagulación.

Si el estudio se hace sobre los animales tratados con dosis de 500 μ g/Kg/día de furfural, se observa como estos mueren entre las 38 y 66 horas posteriores a la administración del tóxico. De nuevo el estudio de las funciones biológicas evidenciaron un deterioro renal consecuencia de las lesiones a nivel tubular, así como una disminución del flujo sanguíneo renal responsable igualmente de los bajos porcentajes de filtración glomerular observados. Las investigaciones a nivel hepático demostraron una gran degeneración de este órgano en los animales muertos. El estudio sobre la hematopoyesis demostró la existencia de una gran anemia acompañada de leucopenia, así

como una hipoplasia de los elementos eritroblásticos y mieloblásticos. También se pudo observar una reducción en el fibrinógeno y plaquetas, además de una prolongación del tiempo de coagulación.

Por el contrario, los animales tratados con furfural en dosis de 200 µg/Kg/día durante 60 a 80 días de tratamiento, no mostraron cambios significativos en las funciones biológicas investigadas ni los órganos estudiados presentaban lesiones.

En los animales expuestos a vapores de furfural en concentraciones de 1 g/m³/hora durante cuatro horas, cinco días a la semana, pudo observarse como al final de cada exposición, los animales presentaban síntomas de irritación en la conjuntiva, mucosas y parte alta del aparato respiratorio, muriendo después de nueve días de exposición a los vapores. Un estudio de los pulmones reflejó la existencia de congestión y edemas en los mismos. Histológicamente aparecían con una hiperemia.

Los animales expuestos a vapores de furfural en concentraciones de 0.5 g/m³/hora durante cuatro horas por día, y en las mismas condiciones, murieron entre los 17 y 20 días de exposición. En ellos se observó una importante disminución de la filtración glomerular, así como de la excreción tubular, lo cual indica un importante deterioro de este órgano consecuencia de las lesiones glomerulares y tubulares producidas. Sin embargo, la función hepática no mostró alteraciones significativas durante el tiempo de exposición. Se encontró anemia con ligeros signos de una hipoplasia del parénquima eritroblástico medular. El número de plaquetas fue normal así como el fibrinógeno y el tiempo de coagulación.

Si la exposición a estos vapores se reducía hasta concentraciones en furfural de 0.2 g/m³/hora durante cuatro horas/día, los animales estudiados no mostraron ningún signo de intoxicación después de 60 a 80 días de exposición, ni siquiera en los test bioquímicos ni en autopsias posteriores.

Por su parte LAPINE, M.R. (1987), observó como la administración intravenosa de furfural a perros en unas dosis de 250 mg/Kg de peso causaba convulsiones y parálisis respiratoria, seguido de dificultades cardíacas, hasta llegar a la muerte del animal a las 24 horas. Para los cerdos de Guinea, la administración de 1g/Kg de peso de furfural de manera subcutánea, era letal en 10 minutos. 0.1g/Kg de peso administrados subcutáneamente era letal a las 48 horas, mientras que la administración subcutánea de 0.05mg/Kg no resultó ser letal para estos cerditos. A similares conclusiones llegaron JOFFROY, A. y col., (1896) detectando en los animales afectados disnea, arritmia cardíaca, convulsiones, pérdidas de reflejos y parálisis.

MCGUIGAN, H., (1923), comprobó como 0.25 mL de una solución al 1% de furfural resultaba letal para las ratas a los 20 minutos; 0.25 mL a 0.50 mL de una solución 0.1% de furfural inducía irritabilidad seguida de somnolencia en los animales, aunque estos acababan recuperándose. En el gato 0.12 mL de furfural puro por kilogramo de peso inyectado hipodérmicamente producía convulsiones.

GANDER, G., (1932) encontró que dosis hipodérmicas de más de 350 mg mataban rápidamente a los conejos.

COLLINO, F. y col., (1963) observaron que dosis de 500 mg/Kg eran mortales para los conejos estudiados en un tiempo comprendido entre 30 y 50 minutos; 250 mg/Kg resultaban mortales en dos a cuatro días. La sintomatología observada era semejante a la anteriormente descrita, consecuencia de una acción inhibitoria del tóxico sobre los centros bulbares vegetativos.

Estos autores, sin embargo, observan como las DL₅₀ encontradas para las ratas en el primer y tercer día de administración del tóxico son muy semejantes. Este similitud la explican basándose en el hecho de que las ratas inyectadas con 200 mg/Kg o más de furfural muestran rápidamente la misma sintomatología descrita anteriormente para los conejos. La inhibición de los centros nerviosos causa la muerte de algunos de los animales en un corto período de tiempo, mientras que en otros, ésta sobreviene después de bastantes días. En estos últimos animales, la muerte es debida a las lesiones producidas por el tóxico en el riñón, hígado, médula, etc., observadas en varios tipos de intoxicaciones estudiadas (agudas, subagudas, etc.). El furfural en dosis elevadas actúa sobre el sistema nervioso central (centros bulbares y núcleos basales) y sobrepasado un cierto límite, la inhibición nerviosa es completa produciéndose la muerte del animal en un corto período de tiempo.

Igualmente, la función renal se ve claramente dañada por la acción tóxica del furfural, ya que los fenómenos de reabsorción que se pueden dar a nivel tubular intensifican esta acción produciendo degeneración tubular.

En concreto en la intoxicación con furfural la función renal aparece reducida de una forma estadísticamente significativa. En las intoxicaciones agudas y subagudas la lesión se localiza claramente a nivel tubular. En la intoxicación subcrónica el daño parece localizado a nivel tubular y no tanto a nivel glomerular.

Así se desprende, que el furfural ejerce una acción dañina sobre el riñón, predominando las lesiones tubulares en las intoxicaciones agudas y subagudas, mientras que en las intoxicaciones subcrónicas, se produce una reducción del flujo plasmático que podría originar un daño vascular a nivel tubular. El efecto del furfural y otros disolventes industriales sobre el riñón, es estudiado también por BERNARD, A.M. y col., (1989) en ratas hembras, encontrando que aunque los efectos de este componente son apreciables a nivel tubular, existen otros disolventes de los estudiados como el ciclohexano y estireno, que afectan de una forma cuantitativamente mayor a la función renal de los animales estudiados.

El daño a nivel hepático se ha demostrado también claramente, confirmado por medio de los análisis histopatológicos. La acción hepatotóxica del furfural queda así demostrada. La patogénesis de las lesiones hepáticas parece estar producida por los mecanismos detoxificadores del hígado. JAFFE, M. y col., (1949) observan en perros y conejos como el furfural es rápidamente oxidado y conjugado con la glicina.

NAKAHARI, W. y col., (1941) comprobaron como el proceso de oxidación del furfural en el hígado es el responsable principal de los daños ocasionados en el mismo. El furfural actúa como una toxina hepática directa. La morfología de las lesiones hepáticas es similar a la descrita para otros tóxicos hepáticos: aparición de fenómenos degenerativos y necróticos en un estadio agudo, e hiperplasia de los tejidos fibrosos y ligera degeneración en un estadio crónico.

Como conclusión a su trabajo COLLINO, F. y col., (1963) realizan un resumen de todo lo expuesto: para las ratas, la sintomatología observada en los animales tratados es una profunda inhibición de los centros bulbares vegetativos y de los núcleos basales. El estudio de las funciones hepáticas y renales, hematopoyesis y coagulabilidad refleja una gran relación entre estas funciones fisiológicas y las intoxicaciones agudas, subagudas y subcrónicas derivadas de la administración diaria por vía subcutánea del furfural. En las intoxicaciones por inhalación de furfural, las funciones antes mencionadas parecen estar poco afectadas. Con grandes concentraciones de furfural, la muerte se produce por una congestión pulmonar de los animales, consecuencia directa de la acción irritante del mismo. En las intoxicaciones crónicas derivadas de la administración por vía subcutánea de furfural o en aquellas derivadas de la inhalación de vapores de este componente, después de 80 días de tratamiento no aparecen alteraciones estadísticamente significativas.

En cuanto a los efectos que la administración oral de furfural tiene sobre las ratas, SHIMIZU, A. y col., (1988, 89) realizan un estudio y obtienen resultados semejantes a los citados anteriormente, detectando que las ratas alimentadas con dosis de furfural en la dieta comprendidas entre 20-30 mg/Kg durante un máximo de 150 días, morían 14 días después de terminada esta alimentación. Los estudios posteriores sobre los animales demostraron la capacidad del furfural en producir carcinógenesis y cirrosis en el hígado de las ratas así alimentadas.

En cuanto a la toxicología del 5-hidroximetilfurfural, HESSOV, I., (1975) realiza un estudio conjunto sobre la toxicidad de ambos aldehídos furánicos en *Daphnia magna*, y aboga por un estudio sobre la toxicidad de este aldehído furánico debido a la frecuencia con la que este componente aparece en soluciones azucaradas consumidas por el hombre.

El efecto tóxico del 5-hidroximetilfurfural sobre el fibroblasto medio fue estudiado con anterioridad. El daño celular aparece a partir de unas concentraciones comprendidas entre 500 µg/mL y 1 mg/mL de 5-hidroximetilfurfural (LANG y col., 1970). En los test realizados con *Daphnia magna* se encontró que la DL₅₀ para este componente después de 24 y 72 horas de exposición era 62 y 34 µg/mL respectivamente para concentraciones 1/10 de las utilizadas por LANG y col., (1970).

La Farmacopea Británica de 1968 establece un límite máximo permisible para la concentración de 5-hidroximetilfurfural en soluciones por infusión. Este límite corresponde a 50 mg de 5-hidroximetilfurfural en 1000 mL de una solución de glucosa o fructosa al 5%.

La toxicología del furfural ha sido estudiada principalmente por ser éste un componente frecuente en la industria. Los estudios realizados han estado dirigidos por un lado hacia la determinación de los posibles daños ocasionados por una intoxicación por este componente en los trabajadores de industrias que normalmente lo utilizan.

Pero por otro lado, existen estudios encaminados a dilucidar el efecto que este aldehído puede tener cuando es arrojado como residuo industrial en ríos y aguas superficiales. Este es el caso de los estudios realizados por VOLSKEY, V. y col., (1988) y MATSUI, S. y col., (1989) sobre aquellas sustancias encontradas en aguas superficiales y que vienen del vertido de residuos tóxicos de fábricas, y entre los que se encuentra el furfural. Las consecuencias sobre la flora microbiana presente en las aguas y responsable en última instancia de los procesos purificadores que tienen lugar en ella, es estudiada en estos trabajos. Se llega a la conclusión que estas sustancias, entre ellas el furfural, pueden actuar sobre esta flora microbiana reduciendo la capacidad de la misma para la purificación del agua.

Sin embargo, otros autores han estudiado la influencia que sobre compuestos mutagénicos como Trp-P-1, B[a]P y el 2-aminofluorano, tienen los compuestos furánicos furfural y 5-hidroximetilfurfural. Los estudios realizados por KONG, Z.W.E. y col., (1989) ponen de manifiesto que las reacciones que tienen lugar entre algunos aminoácidos y los compuestos furánicos pueden inhibir la capacidad mutagénica de los compuestos citados sobre algunas bacterias como *Salmonella typhisurium* TA 98 y TA 100. Este efecto desmutagénico es mayor en aquellos compuestos furánicos que poseen un grupo aldehídico en su estructura, como es el caso del furfural, 5-hidroximetilfurfural y 2-acetilfurano, por lo que estos autores creen que los grupos aldehídicos juegan un papel importante en las reacciones desmutagénicas que puedan tener lugar. Sin embargo, los mecanismos de dichas reacciones son complejos y aún desconocidos.

Por su parte HADI, S.M. y col., (1989) y NISHI, Y. y col., (1989) estudian la interacción del furfural y 5-hidroximetilfurfural con el DNA y cromosomas de bacterias, observando la capacidad de estos compuestos para producir aberraciones sobre el material genético de estas bacterias.

II.4. PAPEL DEL CARAMELO EN LA COMPOSICION QUIMICA DE LOS AGUARDIENTES

A.- TIPOS DE CARAMELO USADOS EN LAS INDUSTRIAS ALCOHOLICAS

Existen dos tipos principales de caramelo:

- El caramelo colorante obtenido por calentamiento de azúcares alimentarios en presencia o no de compuestos químicos como ácidos, bases, sales de amonio, etc. y que presenta un uso distinto como colorante según la técnica seguida en la elaboración del mismo, haciéndolo más indicado, por las distintas características organolépticas y tecnológicas obtenidas, para ser empleado en unos u otros productos.

- El caramelo aromático que posee un olor aromático característico (PUECH, J.L. y col., (1988d).

Dentro del primer grupo de caramelos y según la técnica de elaboración distinguimos:

- Color de caramelo I (sinónimos: caramelo solo, caramelo cáustico y tintura de caramelo); esta clase se prepara mediante el tratamiento térmico controlado de carbohidratos con álcali o ácido.
- Color de caramelo II (sinónimo: caramelo preparado por el proceso del sulfito cáustico); esta clase se prepara mediante el tratamiento térmico controlado de carbohidratos con compuestos que contienen sulfitos.
- Color de caramelo III (sinónimos: caramelo de amoniaco y caramelo de cerveza); esta clase se prepara mediante tratamiento térmico controlado de carbohidratos con compuestos de amonio.
- Color de caramelo IV (sinónimos: caramelo de sulfito de amoniaco y caramelo de bebidas gaseosas); esta clase se prepara mediante el tratamiento térmico controlado de carbohidratos con compuestos que contienen amoniaco y sulfitos (290 Informe del Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Ginebra, 1986).

El caramelo colorante posee las siguientes características:

- gran poder como colorante
- provocar, por su color, un efecto favorable en el consumidor hacia la bebida.
- ser un producto de origen natural.

El proceso de elaboración se realiza mediante la calefacción de la sacarosa previamente invertida o mediante calentamiento de glucosa. El azúcar comienza a dorarse a partir de 140 a 150°C siendo cada vez más intenso el color dorado a medida que aumenta la temperatura. Se consiguen así caramelos heterogéneos que no son útiles para la comercialización. Para conseguir la homogeneidad necesaria la legislación autoriza el empleo de distintos catalizadores entre los que podemos distinguir:

- catalizadores ácidos: ácido acético, cítrico, fosfórico.
- catalizadores básicos: hidróxido de amonio, hidróxido de sodio y de potasio.
- sales: carbonatos, fosfatos, sulfatos, sulfitos de potasio.

B.- UTILIZACION DEL CARAMELO COMO COLORANTE EN LA INDUSTRIA DEL BRANDY

Los caramelos que a nosotros nos interesan son los empleados como colorantes de bebidas alcohólicas. La utilización del caramelo como colorante de brandies y otras bebidas alcohólicas viene condicionada por la necesidad de mejorar las características organolépticas y visuales de dichas bebidas. En el caso de los aguardientes envejecidos, el caramelo viene a intensificar el color dorado que adquiere la bebida de forma natural como consecuencia del proceso de envejecimiento en los barriles. Esta práctica, habitual en países con una gran tradición alcohólica, puede dar lugar a importantes fraudes si no se controla adecuadamente la utilización de estos caramelos.

La clasificación de estos caramelos adoptada por la FAO/OMS ha sido posteriormente recogida por otros muchos autores en sus trabajos. En estos trabajos se realiza un estudio de la composición química de los distintos tipos de caramelo. Así HART, R., R. y col., (1987, 89) determinan los componentes químicos de los caramelos I, II, III y IV para poder diferenciarlos químicamente. La nomenclatura empleada por estos autores para su identificación, es idéntica a la de la FAO/OMS del año 1986 pero seguida de unas siglas identificativas de la tecnología usada en su elaboración. De esta forma la clase I es CP (Colour Plain), la II es CCS (Colour Caustic Sulphite), la III es AC (Ammonia Caramel) y por último la clase IV es SAC (Sulphite Ammonia Caramel). De todos ellos los más empleados en las industrias alcohólicas son el caramelo I CP y el II CCS, los cuales se emplean en la industria de las bebidas espirituosas tales como brandy, ron, whisky y licores. Otro tipo de caramelo empleado en la industria de bebidas alcohólicas, el caramelo III AC, limita su utilización a la elaboración de cervezas. Por último mencionar que el empleo del caramelo IV SAC se limita a la industria de las bebidas analcohólicas o "soft drinks".

De forma paralela a los trabajos anteriores, SMOLNIK, H.D., (1987) realiza un estudio diferenciador de las distintas clases de caramelos según sus distintas aplicaciones. Especifica los usos de cada uno de ellos, distinguiendo de forma general, a los caramelos I y II los cuales son empleados en la coloración de las bebidas espirituosas. Los otros dos caramelos son empleados como colorantes de cerveza (caramelo III) y como colorante de bebidas refrescantes, "soft drinks" (caso del caramelo IV). Posteriormente profundiza algo más en las aplicaciones de estos caramelos, afirmando casi exclusivamente el empleo del caramelo II en la industria de las bebidas espirituosas, mientras que el caramelo I, además de su utilización como colorante de estas bebidas, es empleado como caramelo aromático, en la elaboración de vinagres (TRONCOSO, A. y col., 1988), industria farmacéutica y repostería.

Al mismo tiempo DROSS, A. y col., (1987) detectan e identifican caramelo colorante en algunas bebidas. Después de identificar la composición química de cada caramelo encontrado, llegan a la conclusión de separar los caramelos colorantes según la bebida en donde se utilicen. Distinguen así, entre caramelos empleados en bebidas espirituosas, caramelo de cerveza, caramelo de "soft drinks", caramelo de vinagre, etc.

La utilización del caramelo como colorante en la industria del brandy ha sido admitida desde hace mucho tiempo. CASARES, R. y col., (1949) hacían referencia a la utilización de este compuesto cuando hablaban de la necesidad muchas veces de dar color al coñac añadiéndole sustancias con poder de coloración como el caramelo.

JOHNSON, H., (1986) al comentar la elaboración del cognac pone de manifiesto igualmente el empleo del caramelo como colorante de estas bebidas, afirmando que la dulzura y el color final se retocan con azúcar y caramelo respectivamente.

Igualmente PUECH, J.L. y col., (1988d) aluden a la utilización del caramelo como colorante en "eaux-de-vie", además de cervezas, sidra, licores, bebidas refrescantes, etc. Afirman la existencia de un caramelo para cada tipo de bebida e incluso una forma distinta de obtención según se trate de un caramelo colorante de brandy, cerveza, etc.

MADRIGAL, E. y col., (1991) al estudiar la toxicología del brandy, hacen referencia a la necesidad de estudiar también los posibles efectos tóxicos de todas aquellas sustancias añadidas al brandy durante las distintas etapas de su elaboración, mencionando explícitamente al caramelo como una de estas sustancias añadidas.

Por último, el DECRETO 2484/1974, de 9 de Agosto, por el que se aprueba la Reglamentación Especial para la elaboración, circulación y comercio del brandy (B.O.E. núm. 218 de 11 de Septiembre de 1974), en su apartado de prácticas permitidas, hace referencia a la utilización como colorante en brandies del caramelo de sacarosa, glucosa o mosto de uva.

Sin embargo, el REGLAMENTO 1576/89 de la C.E.E. concerniente al establecimiento de Normas Generales relativas a la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas admite la posibilidad de coloración de esta bebida mediante uno o varios colorantes, aunque no especifica cuales. No obstante admite la presencia de "azúcar caramelizado" como edulcorante.

C.- TOXICOLOGIA DEL CARAMELO COMO ADITIVO

La toxicología del caramelo como aditivo ha sido objeto de numerosos estudios. El 290 Informe del comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios establece que con excepción de los caramelos preparados empleando sales de amoníaco o de amonio, el caramelo y los colores de caramelo son componentes naturales de la dieta y son aceptables como aditivos. Se les asignó un IDA "no limitada".

Color de caramelo I puede contener compuestos sulfurados en concentraciones que no serían de esperar cuando se parte de carbohidratos. Sin embargo, se asignó un IDA "sin especificar" a este caramelo, siempre que se observen las normas provisionales revisadas.

Para el color de caramelo II, el Comité concluyó que era tan diferente de las demás clases de caramelo que se justificaba evaluarlo por separado, pero que no se tenían para ello suficientes datos sobre su toxicología y composición. No se estableció ningún IDA pero se prepararon nuevas normas provisionales.

Los caramelos más conflictivos en su aspecto toxicológico son los caramelos III y IV.

El caramelo III (AC) tiene su principal efecto tóxico en una reducción de los linfocitos circulantes. Como no fué posible determinar una concentración de efecto nulo, se revocó la anterior IDA provisional. Desde la evaluación anterior se han realizado otros estudios que se sometieron a consideración del Comité.

La presencia del 2-acetil-4(5)-tetrahidroimidazol (THI) (XIANG, D. y col., 1991) en el caramelo III se ha mostrado como la responsable de la reducción de linfocitos causada por este tipo de caramelo (GAUNT, I.F. y col., 1977; EVANS, J.G. y col., 1977; ISCARO, A. y col., 1988). La comparación de la actividad reductora de linfocitos del THI puro con la de un lote de color de caramelo III que contenía una concentración conocida de THI, indicó la influencia que ejercía este componente del caramelo III en dicha reducción. Se demostró que la reducción linfocítica causada por el color de caramelo III puede mejorarse con una dieta que contenga piridoxina, ya que esta sintomatología no se observó en animales a los que se dió color de caramelo III con THI en concentraciones de 10 mg/Kg (15 mg/Kg basándose en los sólidos), cuando las concentraciones dietéticas de piridoxina eran adecuadas (SINKELDAM, E.J. y col., 1988; HOUBEN, G.F. y col., 1989, 92; GOBIN, S.J.P. y col., 1989). Sin embargo, como los colores de caramelo con bajas proporciones de THI no se habían ensayado en animales alimentados con raciones pobres en piridoxina, no fué posible efectuar comparaciones directas con ciertos estudios anteriores. El Comité recomienda la realización de estudios con color de caramelo III que contenga concentraciones diversas de THI y concentraciones menores de piridoxina en la dieta para confirmar que el THI es el único responsable de los recuentos linfocíticos más bajos y para establecer la concentración de THI de efecto nulo.

Las pruebas de mutagenicidad en *Escherichia coli* fueron negativas o ambiguas (BARABASZ, W. y col., 1990), y los estudios de carcinogenicidad de larga duración en ratas y ratones (O'BRIEN, J. y col., 1989) indicaron que el color de caramelo III no es carcinógeno cuando la concentración de la dosis no excede de 40 g por litro de agua potable, siendo esta también la concentración de efecto tóxico nulo.

Al no ser posible el estudio del color de caramelo III en concentraciones superiores a los 40 g por litro de agua potable en estudios de larga duración, y como el efecto de mayor interés, es decir la linfocitopenia, puede determinarse mejor en estudios de corta duración, el Comité basó su evaluación en la concentración de efecto nulo de 20 g por Kg de peso (la mayor concentración ensayada) probada en un estudio de 90 días de duración en el que se administró a varias ratas color de caramelo III que contenía unos 10 mg de THI por kg de peso (15 mg/Kg basándose en los sólidos). Se asignó al color de caramelo una IDA de 0-200 mg/Kg de peso (0-150 mg/Kg de peso basándose en los sólidos), lo cual está de acuerdo con las normas provisionales.

Por su parte RIVERA, N. y col., (1987), encontraron una DL_{50} por vía oral en ratas hembra para este tipo de caramelo de 40 g/Kg, hallando igualmente un efecto estimulante del metabolismo de las drogas cuando se administra caramelo durante largos períodos de tiempo.

Al color de caramelo IV a base de sulfito de amoníaco se le mantuvo una IDA provisional de 0-100 mg/Kg de peso en espera de estudios apropiados de carcinogenicidad/teratogenicidad. Se consideró la sustancia 4-metilimidazol, contaminante de los colorantes de caramelo amoníacos (LEHMANN, G. y col., 1985; LEHMANN, G., 1987). En el informe correspondiente se indicó que aunque el 4-metilimidazol no se consideraba ya motivo de preocupación y que gracias a la introducción de normas químicas se había limitado su concentración, el Comité decidió mantener el límite fijado para esta sustancia. Igualmente se señaló la necesidad de disponer de normas apropiadas para el color de caramelo IV y de realizar un estudio de carcinogenicidad de larga duración. Se prorrogó la IDA provisional en espera de los resultados de los de los estudios prolongados de toxicidad.

Se han efectuado estudios de carcinogenicidad en ratas y ratones, pero no se han observado cambios neoplásicos relacionados con el tratamiento. En los últimos estudios prolongados de toxicidad y carcinogenicidad, la concentración de efecto nulo para ratas y ratones fué de 10 g diarios por Kg de peso (administrados en agua potable). Se observaron mayores concentraciones de efecto nulo en estudios que duraron hasta 127 días. En los estudios con sujetos humanos y concentraciones que llegaron hasta los 18 g diarios no se observaron otros efectos adversos aparte de una acción laxante.

El Comité basó su evaluación del color de caramelo IV en la concentración inocua encontrada en un estudio de toxicidad/carcinogenicidad de larga duración a la cual, en vista de los datos suplementarios obtenidos en sujetos humanos, se aplicó un factor de seguridad de 50. Se asignó, por lo tanto, una IDA de 0-200 mg/Kg de peso (0-150 mg/Kg de peso basándose en los sólidos) a los colores de caramelo de la clase IV que satisfagan las nuevas normas provisionales. Se suprimió la anterior IDA provisional y se revisaron las normas vigentes las cuales se mantuvieron con carácter de provisional.

El límite para el 4-metilimidazol (4-Mel) de las anteriores normas provisionales era de 200 mg para el color de caramelo IV. Varios productos comerciales presentan una concentración de 1000 mg de 4-Mel por Kg de color de caramelo IV cuando se calcula a partir del contenido de sólidos. Todos los límites de las normas provisionales revisadas para el color de caramelo IV se calculan sobre la base del contenido de sólidos, habiéndose establecido por tanto un límite de 1000 mg/Kg (KVASNICKA, F., 1989).

Los datos presentados al Comité indicaban que no existe relación evidente entre la concentración de 4-Mel y la intensidad de color. Por tanto, muchos productos comerciales de color intenso no contienen más 4-Mel que los productos de color mucho menos intenso. El nuevo límite provisional de 1000 mg de 4-Mel por Kg de color de caramelo IV no debe servir de incentivo para llegar hasta ese límite.

A raíz de este estudio, el Comité instó a la industria a ofrecer una mejor apreciación de las diferencias químicas, no sólo, entre los colores de caramelo de distintas clases sino también entre los diferentes colores de caramelo dentro de cada clase. El Comité actual consideró que se había adelantado mucho en la diferenciación de las diversas clases de caramelo.

Por otra parte, mucha de la información presentada sobre los productos de caramelo dentro de cada clase no bastó para determinar la variabilidad del contenido y la concentración de cada uno de los componentes químicos. El Comité reiteró la necesidad de obtener esos datos. Además, se solicitó información sobre lo siguiente:

- fuentes e identidad de materia prima (clases I, II y III).
- condiciones de fabricación, inclusive las etapas en que se agrega todo el material (clases I, II y III).
- indicación de la naturaleza e identidad de los componentes nitrogenados y sulfurados (en todas las clases).
- información detallada sobre la relación entre los procedimientos de fabricación y el contenido de THI y de 4-Mel en el producto final (clases III y IV).

Al considerar las normas para los colores de caramelo, el Comité concluyó que, para efectos de determinación de estas normas, el contenido sólido es una base más significativa que la materia prima y las condiciones de elaboración o la intensidad del color. Las normas correspondientes a cada una de las clases se agruparon bajo el título "Colores de caramelo".

Más recientemente, el MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO (1990), realiza una recopilación de "IDA" y otros datos complementarios de los aditivos alimentarios donde se recogen algunas características del caramelo (E150) y se comentan algunas conclusiones a las que llegan otros grupos de investigación del caramelo. Así por ejemplo, el Comité Científico de la Alimentación Humana de las Comunidades Europeas (CCAH), en su Informe de la Serie Vigésimo Primera (1989), distingue cuatro tipos de caramelos (E150):

(a) **caramelo natural**: no incluye como reactivos ni compuestos de amonio ni sulfitos. Se establece una IDA Aceptable.

(b) **caramelo de sulfito cáustico**: contiene sulfitos pero no contiene compuestos de amonio. Se establece una IDA temporal Aceptable durante 5 años y sólo aplicable a bebidas alcohólicas.

(c) *caramelo de amonio*: contiene compuestos de amonio pero no sulfitos. Se establece una IDA temporal durante 5 años de 200.

(d) *caramelo de sulfito y amonio*: contiene compuestos de amonio y de sulfito como reactivos adicionales. Se establece una IDA de 200.

En la actualidad parece que la tendencia de la Comisión de las Comunidades Europeas es de subdividir el caramelo E150 en E150A, E150B, E150C, E150D y que corresponderían, respectivamente, con los caramelos I, caramelo II, caramelo III y caramelo IV del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios.

E150. (*caramelo natural E150A*); IDA aceptable.

E150. (*caramelo de sulfito cáustico E150B*); IDA aceptable durante cinco años, en bebidas alcohólicas.

E150. (*caramelo de amonio E150C*); IDA=200, temporal durante cinco años.

E150 (*caramelo de sulfito y amonio E150D*); IDA=200.

II.5 COMENTARIOS A ALGUNAS REGLAMENTACIONES EUROPEAS SOBRE LA PRESENCIA DE ALDEHIDOS FURANICOS EN AGUARDIENTES

A.- LA REGLAMENTACION ESPAÑOLA.

El tratamiento legal del brandy en España, se encuentra recogido en los siguientes DECRETOS:

- DECRETO 2484/74, de 9 de Agosto, por el que se aprueba la Reglamentación Especial para la elaboración, circulación y comercio del brandy (BOE nº 218 de 11 de Septiembre de 1974).
- CORRECCION de errores al Decreto 2484/74, de 9 de Agosto, por el que se aprueba la Reglamentación Especial para la elaboración, circulación y comercio del brandy (BOE de 13 de Noviembre de 1974).
- REAL DECRETO 1908/84 de la Presidencia del Gobierno, de 26 de Septiembre, que modifica los artículos 4º y 5º del anterior. (BOE nº 259 de 29 de Octubre de 1984).
- REAL DECRETO 723/1988, de 24 de Junio, del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaria del Gobierno que modifica el artículo 16, uno punto tres (BOE nº 163 de 8 de Julio de 1988).
- REAL DECRETO 1045/90, de 27 de Julio del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaria del Gobierno que deroga el artículo 16, uno punto cuatro del Decreto anterior (BOE nº 191, de 10 de Agosto de 1990).
- REAL DECRETO 1347/90 de 26 de Octubre del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaria del Gobierno que deroga el apartado 2 del artículo 6º del Reglamento anterior (BOE nº 268 de 8 de Noviembre de 1990).
- RESOLUCION de la Dirección General de Industrias Alimentarias y Diversas por la que se autoriza el empleo de infusiones o extractos hidroalcohólicos de materias naturales en la elaboración del brandy (BOE de 11 de Marzo de 1977).

En ellos se recogen todos aquellos aspectos concernientes a la definición, elaboración, prácticas permitidas, instalaciones industriales, producción, envasado, etiquetado, publicidad, comercio exterior, inspecciones y régimen sancionador del brandy.

El DECRETO 2484/74 define al brandy como el aguardiente compuesto obtenido de destilados de vino, aguardiente y holandas de vino, que habrán de permanecer en condiciones ambientales idóneas y en vasijas de roble el tiempo adecuado para adquirir las características organolépticas peculiares de cada sistema de elaboración.

Este Decreto establece unos límites máximos para algunas de las sustancias presentes en la composición química del brandy y entre las que se encuentra el furfural.

En primer lugar hace referencia al furfural al incluirlo dentro de las denominadas impurezas volátiles, junto a ácidos, ésteres y alcoholes superiores, las cuales no podrán ser inferiores a ciento cincuenta miligramos por cada cien centímetros cúbicos de alcohol absoluto. A continuación, se hace referencia expresa al furfural y para el cual, el límite máximo establecido es de diez miligramos por cada cien centímetros cúbicos de alcohol absoluto. Sin embargo, dicho Decreto no recoge el límite máximo de 5-hidroximetilfurfural en brandies, aunque si autoriza, como ya quedó expuesto anteriormente, el empleo de caramelo como colorante en estas bebidas.

El método recomendado por el Ministerio de Sanidad y Consumo (1985) para la determinación de furfural en brandies coincide con el recomendado por este mismo Organismo para el ron. Consiste en una destilación por arrastre en corriente de vapor de brandy y posterior medida espectrofotométrica del destilado a 277 nm.

La determinación del 5-hidroximetilfurfural no viene contemplada ni en los métodos recomendados para el brandy, ni en aquellos recomendados para el ron u otras bebidas alcohólicas.

La RESOLUCION de la Dirección General de Industrias Alimentarias y Diversas (BOE de 11 de Marzo de 1977), autoriza el empleo de infusiones o extractos hidroalcohólicos de sustancias naturales en el brandy. Las infusiones o extractos hidroalcohólicos permitidos deberán estar elaborados a partir de productos tales como uva pasa, ciruela pasa, fibras de madera de roble, pericarpio de almendra, vainas de vainilla y de nueces verdes y lias de vino producidas en la fermentación del mosto. El empleo de estos productos queda libre, tanto en lo referido a la concentración de producto activo inicial, como a la cantidad de infusión o extracto hidroalcohólico adicionado al brandy, y que según esta Resolución, queda al arbitrio del elaborador para conseguir el aroma y sabor deseado.

Sin embargo, estos productos deberán cumplir lo dispuesto en el DECRETO 406/75, de 7 de Marzo, concerniente a la Reglamentación Técnico-Sanitaria de los Agentes Aromáticos para la Alimentación.

Hay que destacar la existencia en la Reglamentación especial sobre el brandy, de una disposición adicional que deja vía libre a la aparición de denominaciones de origen, y por tanto, de reglamentaciones que regulen tal denominación. Este es el caso de la Denominación de Origen "Brandy de Jerez" que viene recogida en la ORDEN de 26 de Abril de 1989 de la Junta de Andalucía (BOJA nº 35 de 5 de Mayo de 1989).

Este Reglamento especifica las condiciones de elaboración, envejecimiento, características químicas, registros sobre la denominación de origen, derechos y obligaciones, Consejo Regulador de la denominación de origen, infracciones, sanciones y procedimientos que deben cumplir estos brandies para ser considerados dentro de la denominación de origen.

Dentro de las características químicas que deben cumplir estos brandies, sólo se especifica el "coeficiente no alcohol" o suma de ácidos volátiles, aldehídos, ésteres y alcoholes superiores según el tipo de "Brandy de Jerez" de que se trate. Por tanto, no se hace referencia expresa a las concentraciones mínimas y máximas de furfural y 5-hidroximetilfurfural aceptables en estos brandies, ni a los métodos recomendados para su análisis.

B.- LA REGLAMENTACION EN LA C.E.E.

Los siguientes Reglamentos de la C.E.E. recogen todo lo referente a bebidas espirituosas:

- REGLAMENTO (CEE) nº 1576/89 del Consejo de 29 de Mayo de 1989, por el que se establecen las normas generales relativas a la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 160, de 12 de Junio de 1989, pg.1.).
- RECTIFICACION por la que de acuerdo con el apartado 2 del artículo 3 del Reglamento (CEE) nº 1576/89, se publica la lista de bebidas espirituosas enumeradas en el Anexo II del citado Reglamento ("DOCE" nº C 1, de 4 de Enero de 1990, pg.14).
- REGLAMENTO (CEE) nº 3773/89 de la Comisión 14 de Diciembre de 1989, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 365, de 15 de Diciembre de 1989, pg.48).
- REGLAMENTO (CEE) nº 1759/90 de la Comisión, de 27 de Junio de 1990, por el que se modifica el Reglamento (CEE) nº 3773/89, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 162, de 28 de Junio de 1990, pg. 23).
- REGLAMENTO (CEE) nº 3207/90 de la Comisión, de 6 de Noviembre de 1990, por el que se modifica el Reglamento (CEE) nº 3773/89, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 307, de 7 de Noviembre de 1990, pg.11).
- REGLAMENTO (CEE) nº 3750/90 de la Comisión de 19 de Diciembre de 1990, por el que se modifica por tercera vez el Reglamento (CEE) nº 3773/89, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 360, de 22 de Noviembre de 1990, pg. 40).

- REGLAMENTO (CEE) nº 1014/90 de la Comisión de 24 de Abril de 1990, por el que se establecen las disposiciones de aplicación para la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 105, de 25 de Abril de 1990, pg.9).

- REGLAMENTO (CEE) nº 1180/91 de la Comisión de 6 de Mayo de 1991 por el que se modifica por segunda vez el reglamento (CEE) nº 1014/90 por el que se establecen las disposiciones de aplicación para la definición, designación y presentación de bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 115, de 8 de Mayo de 1991, pg. 5).

- REGLAMENTO (CEE) nº 1781/91 de la Comisión de 19 de Junio de 1991 por el que se modifica el Reglamento (CEE) nº 1014/90 por el que se establecen las disposiciones de aplicación para la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas ("DOCE" nº L 160, de 25 de Junio de 1991, pg. 5).

El Reglamento 1576/89 define al brandy como la bebida espirituosa obtenida a partir de aguardientes de vino asociados o no a un destilado de vino, destilado a menos de 94.8 por 100 vol., siempre que dicho destilado no exceda el límite máximo de 50 por 100 en grado alcohólico del producto acabado. Envejecida en recipientes de roble durante un año por lo menos, o como mínimo durante seis meses si la capacidad de los toneles de roble inferior a 1000 litros. Con un contenido de sustancias volátiles igual o superior a 125 gramos/hectolitros de alcohol a 100 por 100 vol., que proceda exclusivamente de la destilación o redestilación de las materias primas empleadas. Con un contenido máximo de alcohol metílico de 200 gramos/hectolitro de alcohol a 100 por 100 vol.

Los Reglamentos citados anteriormente no aluden en ningún momento a los límites mínimos y máximos a los que deben encontrarse el furfural y 5-hidroximetilfurfural en el brandy. Igualmente no hacen alusión a métodos de análisis para esta bebida.

C.- LA REGLAMENTACION FRANCESA

Los aguardientes de vino entre los que se encuentran el Cognac y el Armagnac, vienen regulados en Francia por el artículo 6, capítulo III del Decreto de 19 de Agosto de 1921 (J.O. del 21 de Agosto de 1921) relativo a las disposiciones generales y especiales sobre la elaboración, circulación y comercialización des "eaux de vie".

Este artículo limita la denominación de "aguardiente de vino" a los productos procedentes de la destilación exclusiva del vino, especificando que perderán todo derecho a esta denominación aquellos aguardientes que presenten características de un espirituoso rectificado. Son considerados como tales espirituosos aquellas bebidas que contengan una cantidad total de elementos volátiles a parte del alcohol (ácidos, aldehídos, ésteres, furfural y alcoholes superiores) inferior a 225 gramos por hectolitro de alcohol puro. En esta ley, el furfural viene recogido dentro de la tasa global de "elementos volátiles no alcohólicos" pero sin especificar las concentraciones individuales en las que debe encontrarse.

En el caso concreto del Cognac, esta bebida goza en el país vecino de una reglamentación especial que define las denominaciones controladas "Cognac", "Aguardiente de Cognac" y "Aguardiente de Charentes" y que vienen reguladas por el Decreto de 15 de Mayo de 1936 (J.O. del 17 de Mayo de 1936). El artículo primero de este Decreto define estas denominaciones y especifica que están exclusivamente reservadas a los aguardientes de vino que respondiendo a las condiciones citadas en el Decreto del 19 de Agosto de 1921, procedan de vinos recolectados y destilados sobre los territorios delimitados por el Decreto de 1 de Mayo de 1909.

Los artículos segundo, tercero y cuarto definen los tipos de cepas y la localización geográfica de las mismas. El tipo de alambique charentais, la capacidad del mismo y el modo de destilación quedan descritos en el artículo quinto.

En esta reglamentación la única referencia concreta al contenido en sustancias volátiles es sobre el grado alcohólico mínimo que deben presentar estos aguardientes en el momento de la venta al consumidor.

Curiosamente, la reglamentación española sobre el brandy, y en contra de lo que pudiera esperarse, es mucho más explícita al concretarse las concentraciones máximas en que deben encontrarse en estas bebidas los determinados congénicos y entre ellos el furfural.

Por su parte, el Decreto de 6 de Agosto de 1936 recoge el reglamento de administración pública relativo a las denominaciones de origen controladas "Armagnac", "Bajo Armagnac", "Ténarèze" y "Alto Armagnac".

Sólo tienen derecho a la denominación "Armagnac", los aguardientes procedentes únicamente de los vinos recolectados y destilados en los terrenos de producción de las denominaciones geográficas anteriores y que comprende los Departamentos de Gers, de Landes, y de Lot-et-Garonne. Este Decreto recoge igualmente las cepas a utilizar así como la destilación continua por medio de alambiques del tipo armagnac.

Como sucede en el caso del Cognac, no vienen especificadas las concentraciones mínimas ni máximas que deben llevar en ésteres, aldehídos, alcoholes superiores, furfural, etc.

En ambos casos remite el Decreto del 31 de Julio de 1973 relativo a los métodos oficiales de análisis de los alcoholes y aguardientes (servicio de la Represión de los Fraudes) donde el furfural es determinado por vía química, mediante destilación en arrastre de vapor. No obstante, deja la puerta abierta a otros métodos de análisis como la CPG, en cuyo caso el certificado de análisis deberá precisar el método utilizado.

En la tabla Nº 2, viene recogido un análisis tipo realizado en Francia para el Cognac

CERTIFICAT D'ANALYSE DE COGNAC CERTIFICATE OF ANALYSIS FOR COGNAC

- TITRE ALCOOMETRIQUE - Alcoholic strength "% Vol"
- TITRE ALCOOMETRIQUE BRUT - Gross alcoholic strength "% Vol"
- ACIDITE TOTALE - Total acidity (en mg/l d'acide acétique)
- ACIDITE FIXE - Fixed acidity (en mg/l d'acide acétique)
- ACIDITE VOLATILE - Volatile acidity (en mg/l d'acide acétique)
- EXTRAIT SBC en g/l - Dry extract
- METHANOL en g/hl d'alcool pur

ELEMENT DU NON ALCOOL - ELEMENTS OF NON ALCOHOL
(Expressed as grams per hl of pure alcohol)

- ACIDES VOLATILS - Volatile acids (en acide acétique)
- ALDEHYDES (en éthanal) - Aldehydes (as ethanal)
- FURFURAL
- ESTERS (en acétate d'éthyle) - Esters (as ethyl acetate)
- ALCOOL PROPYLIQUE (propanol-1) - Propyl alcohol
- ALCOOL ISOBUTYLIQUE (me-2, Propanol-1) - Isobutyl alcohol
- BUTANOL-1
- BUTANOL-2
- ALCOOLS AMYLIQUES (Me-2 et Me-3 Butanol-1) - Amyl alcohols

- COEFFICIENT NON ALCOOL - Coefficient of non alcohol

TABLA Nº 2: Análisis tipo realizado sobre el cognac.

Francia ha elegido un criterio para diferenciar los aguardientes de vino de otros alcoholes: la tasa en sustancias volátiles aparte del alcohol etílico y del metanol. Según la Legislación francesa, el contenido mínimo en estas sustancias debe ser 225 g/hl de alcohol puro o 150 g/hl de alcohol puro cuando la suma de metil-butanol y metil-propanol sea superior a 75 g/hl de A.P. Tales características deben cumplirlas también los aguardientes de vino A.O.C. (Cognac, Armagnac, ...).

Sin embargo, el principal problema que plantea esta legislación, al igual que sucede en la mayoría de los países miembros de la C.E.E. es que no se fijan límites para las sustancias volátiles por separado (ésteres, alcoholes superiores, aldehídos, etc.) entre las que se encuentran los aldehídos furánicos objeto de nuestro estudio: furfural y 5-hidroximetilfurfural. Ello puede dar lugar a la aparición de fraudes y en casos más extremos, intoxicaciones graves sin que existan medios legales que nos permitan combatir la calidad de estas bebidas.

PARTE EXPERIMENTAL

III.1. REACTIVOS, MATERIAL Y APARATOS

* REACTIVOS

Para las diferentes técnicas analíticas puestas a punto en este trabajo se han utilizado reactivos y patrones de pureza analítica los cuales se detallan a continuación:

Alcohol etílico absoluto	Merck
Agua bidestilada MilliQ	Millipore
Acido bórico	Merck
Cloruro potásico	Merck
Hidróxido sódico	Probus
Metanol	Merck
Isopropanol	Merck
Pectina	Sigma
2,4-dinitrofenilhidracina	Merck
Acido sulfúrico	Panreac (d=1.84)
Aguardiente de vino de 83% V/V	Larios

* PATRONES

Furfural	Merck
5-hidroximetilfurfural	Merck

* DISOLUCIONES EMPLEADAS

- Solución de etanol de 40 °G.L.
- Solución 200 mg/L de 5-hidroximetilfurfural en alcohol de 40G.L. A partir de ésta se obtuvo una solución 38 mg/L (3×10^{-4} M) de 5-hidroximetilfurfural en alcohol de 40 G.L.
- Solución 50 mg/L de furfural en etanol de 40 G.L.
- Solución de Hidróxido sódico 0.1M.
- Solución tampón Borico-Borato de pH 10.
- Solución de pectina al 1% P/V.
- Solución de 2,4-dinitrofenilhidracina al 1.3% P/V.
- Aguardiente de vino de 55 G.L.
- Fase móvil para cromatografía líquida. Solución de metanol-agua (10-90 V/V).

* MATERIAL Y APARATOS

En la realización de las distintas técnicas analíticas empleadas en este trabajo se han utilizado los aparatos y material que se mencionan a continuación:

- Balanza de precisión Mettler AE200 de sensibilidad 10^{-5} g.
- Desecador de O_5Pb_2 con tubuladora de para aplicación de vacío.
- Agitador magnético Agimatic-N de P-selecta.
- Medidor de pH radiometer 26 con electródo de vidrio tipo G202C y de calomelanos tipo K 401.
- Horno eléctrico Moulinex con termostato y 2000 wattios de potencia.
- Centrifuga Heraeus Christ GmbH.
- Material de uso frecuente en el laboratorio, matraces, pipetas, probetas etc.
- Frascos de 100 mL de capacidad.
- Viales de vidrio de 6 mL de capacidad.
- Espectrofotómetro Perkin-Elmer UV/VIS modelo 551S provisto de registrador Perkin-Elmer modelo 561.
- Cubetas de cuarzo de 1 cm de espesor.
- Cromatógrafo Líquido (C.L.A.E.) Konik 500-A series con un inyector modelo Rheodyne 7125 con "loop" de 20µL y un detector UV/VIS Konik Uvis 200 y provisto de un integrador HP 3394A.
- Columna para Cromatografía Líquida de Alta Eficacia CH-18 de fase reversa (Merck). 10 cms de longitud y 4.7 mm de diámetro interno. El tamaño de partícula interna de la columna es de 5µm.
- Kitasato Millipore^R con filtros de celulosa de 47 mm de diámetro y 0.45 µm de tamaño de poro.
- Membranas Millipore^R de 17 mm de diámetro y 0.45 µm de tamaño de poro.
- Microjeringa Hamilton de 20 µL para cromatografía.

III.2 MUESTRAS ANALIZADAS

Se han analizado 38 muestras de brandys comerciales. El muestreo se ha realizado en distintos comercios de Granada siguiendo criterios de calidad según el precio de mercado. Estos oscilaron desde las 400 pts hasta las 7000 pts teniendo todas ellas garantía de origen.

Estas muestras de Brandies comerciales se han clasificado en dos grupos según el sistema empleado para su envejecimiento:

- 1.- Brandies comerciales envejecidos por el método estático tradicional.
- 2.- Brandies comerciales envejecidos por el método dinámico de soleras.

Para evitar la posible contaminación de las muestras durante su manipulación se ha procurado tomar siempre la cantidad necesaria para el análisis, utilizando para ello terceros recipientes y nunca directamente de la botella.

Las muestras se han enumerado de la 1 a la 38 para evitar hacer referencia directa a las marcas comerciales recogidas en nuestro protocolo.

También se han estudiado 4 muestras diferentes de caramelo comercial, que son utilizadas como colorantes, suministradas por la casa Merck, cuya denominación responde a las siguientes:

- caramelo TS
- caramelo TPS
- caramelo TR
- caramelo 42005

Asimismo se ha realizado el seguimiento de distintos brandies "no comerciales" y cuyo proceso de envejecimiento estuvo perfectamente controlado. Para la clasificación de las muestras no comerciales se siguió el método anteriormente usado en el caso de las muestras comerciales de acuerdo con el sistema de envejecimiento.

Una vez seleccionadas las muestras de brandies "no comerciales envejecidos por el sistema estático tradicional", nos fué posible dividir este grupo de muestras según el tipo de roble usado en el envejecimiento en barrica:

- Roble francés de Limousin
- Roble americano de Kentucky

Se ha atendido también al estado de la barrica, diferenciándose así:

- barriles nuevos y quemados
- barriles nuevos sin quemar
- barriles quemados de 5 años de antigüedad.

De esta manera, las muestras se pueden dividir en seis grupos diferentes atendiendo al origen del barril, tal como se observa a continuación:

- Barril de roble del Limousin nuevo y quemado
- Barril de roble del Limousin nuevo sin quemar
- Barril de roble del Limousin quemado y de 5 años de antigüedad
- Barril de roble de Kentucky nuevo y quemado
- Barril de roble de Kentucky nuevo sin quemar
- Barril de roble de Kentucky quemado de 5 años de antigüedad.

Para el otro grupo de muestras, brandies "no comerciales y envejecidos por el método dinámico de soleras", pudimos disponer de muestras envejecidas en barricas de roble americano de Kentucky durante un tiempo aproximado de cinco años. Estos barriles habían contenido anteriormente Whisky, pero los años de antigüedad de los mismos en el momento de recibir las muestras de brandy no ha sido posible de precisar.

Por último se han estudiado también diferentes macerados preparados por nosotros a partir de aguardiente de vino de 83 G.L. Así dispusimos de:

- macerados con virutas de roble francés
- macerados con virutas de roble americano
- macerados con virutas de cáscara de almendra.

III.3 CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICACIA

A.- PUESTA A PUNTO DEL METODO CROMATOGRAFICO POR MEDIO DE UN SISTEMA MODELO PARA LA DETERMINACION DE FURFURAL Y 5-HIDROXIMETILFURFURAL.

A.1. Condiciones experimentales

La identificación y cuantificación de los aldehídos furánicos ha sido realizado en un cromatógrafo Konik modelo 500-A series descrito anteriormente en el apartado correspondiente a material y métodos.

La cromatografía del furfural y 5-hidroximetilfurfural ha sido realizada sobre una columna CH-18 de 10 cm de longitud, de 4.7 mm de diámetro interno y a temperatura ambiente.

Para la elución de la muestra se ha empleado una fase móvil consistente en una mezcla de metanol/agua en proporción 10-90 V/V, en régimen isocrático y con un flujo de solvente de 1 ml/min.

En una fase preliminar todos los componentes utilizados, solventes y muestras, fueron filtrados a través de filtros Millipore[®] (0.45 µm) y desgasificadas mediante una corriente de gas helio en el mismo cromatógrafo.

Las muestras han sido inyectadas directamente en el cromatógrafo sin sufrir extracción previa de sus componentes, con una detección U.V. a 280 nm. El volumen de muestra inyectado en cada caso fue de 15 µl.

Los parámetros de integración empleados en el desarrollo cromatográfico fueron los siguientes:

- Línea base (zero): 0.05
- Atenuación (att²): 0 y 2
- Velocidad papel (cht sp): 0.5
- Peak width (pk wd): 0.04
- Thrsh: 0
- Ar rej: 0

A.2. Reproducibilidad del método cromatográfico

El estudio de la reproducibilidad del método se realizó después de 10 inyecciones de una mezcla hidroalcohólica 40% V/V cuya concentración en furfural y 5-hidroximetilfurfural era de 10 mg/L y 14 mg/L respectivamente, siempre bajo condiciones cromatográficas idénticas a las descritas con anterioridad.

Los resultados están recogidos en la Tabla Nº 3.

La exactitud de este método para cada aldehído es expresada por el error relativo (E.R.), calculado a partir del factor de Student $t_{0.05}$.

$$E.R. = \frac{Sd \times t}{\text{Área media de los picos}} \times 100$$

La Figura Nº 23 muestra el cromatograma obtenido al inyectar directamente esta muestra hidroalcohólica en el cromatógrafo y en las condiciones anteriormente descritas.

	FFURFURAL (10 mg/L)	5-Hmf (14 mg/L)
	área	área
	320820	357020
	322619	356500
	321340	355900
	322980	356990
	322700	357120
	321450	356020
	321710	356460
	322110	356280
	320990	357020
	321560	356240
Area media	321827	356555
Sd	743	453
E.R.	0.52	0.29

TABLA Nº 3: Estudio de la reproducibilidad en la determinación de furfural y 5-Hmf por CLAE.

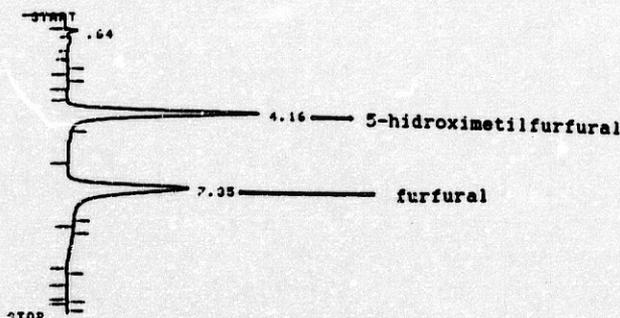


FIGURA Nº 22: Cromatograma de una mezcla de furfural (10 mg/L) y 5-Hmf (14 mg/L).

A.3. Rectas de calibración

A fin de determinar los intervalos en los que el método analítico presenta proporcionalidad lineal entre la concentración de aldehídos furánicos y el área del pico encontrado, se utilizaron soluciones hidroalcohólicas al 40% V/V de concentraciones crecientes en aldehídos furánicos, las cuales fueron inyectadas directamente en el cromatógrafo. Estas soluciones hidroalcohólicas se prepararon a partir de soluciones patrón de furfural y 5-hidroxiacetilfurfural en etanol de 40° G.L. y cuyas concentraciones eran 50 mg/L y 200 mg/L respectivamente. Las concentraciones de estas soluciones hidroalcohólicas estaban comprendidas entre 0.3 mg/L y 25 mg/L para el furfural, y 0.5 mg/L y 90 mg/L para el 5-hidroxiacetilfurfural (Tabla Nº 4).

FURFURAL mg/L	5-HIDROXIACETILFURFURAL mg/L
0.3	0.1
0.5	0.5
1	1
2	2
4	2.5
6	5
8	10
10	15
13	20
15	30
17	40
20	50
23	60
25	70
	80
	90

TABLA Nº 4: Concentración en mg/L de los patrones cromatográficos empleados en la recta de calibración por CLAE.

La Tabla Nº 5 recoge las áreas obtenidas por CLAE para cada una de estas soluciones hidroalcohólicas.

FURFURAL		5-Hmf	
Conc. Teórica (mg/L)	Area $\times 10^4$	Conc. Teórica (mg/L)	Area $\times 10^5$
0.3	0.6240	0.1	0.0958
0.5	1.8400	0.5	0.1290
1	3.2412	1	0.2540
2	6.4856	2	0.5090
4	12.8512	2.5	0.6255
6	19.4569	5	1.2726
8	26.0130	10	2.5486
10	32.4280	15	3.8277
13	40.2570	20	5.1017
15	48.3766	30	7.6359
17	54.7188	40	10.2345
20	64.3759	50	12.8020
23	69.0700	60	15.2917
25	91.1860	70	15.9500
		80	22.2800
		90	17.9000

TABLA Nº 5: Áreas de pico obtenidas a partir de la inyección en CLAE de los patrones cromatográficos.

Con los datos de esta tabla se han construido las rectas de calibrado para el furfural y 5-hidroxiacetilfurfural, las cuales vienen reflejadas en la Figura Nº 24.

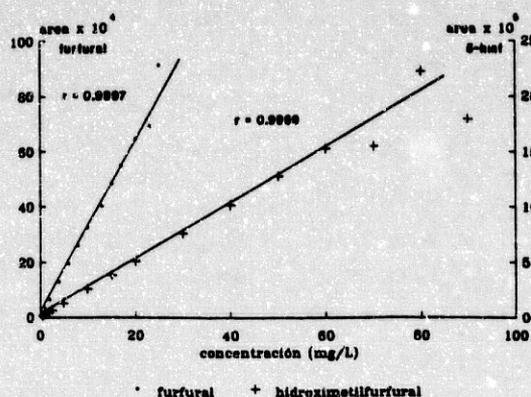


FIGURA Nº 24: Rectas de calibrado de los aldehidos furánicos.

De esta forma y de acuerdo con los trabajos realizados por LINDSAY, S. (1987), en los tramos donde existe linealidad podemos obtener un factor de respuesta para cada uno de los aldehidos estudiados:

$$FR_{\text{absoluto}} = \frac{\text{Concentración teórica (mg/L)}}{\text{área de pico}}$$

El factor de respuesta no se ve afectado ni por cambios en las cantidades de los componentes presentes, ni por la ausencia de uno de los componentes en la muestra.

Este parámetro es independiente de otros componentes no interesantes presentes y cuya presencia no afecta cuantitativamente a los resultados.

De la observación de las rectas de calibrado, se tiene que el furfural presenta linealidad entre 0.5 mg/L y 20 mg/L, mientras que el 5-hidroximetilfurfural la tiene entre 0.5 mg/L y 60 mg/L.

Fuera de estos intervalos no existe proporcionalidad lineal entre el área de pico para cada aldehido y su correspondiente concentración.

Las tablas Nº 6 y Nº 7 muestran los factores de respuesta obtenidos para cada una de las soluciones hidroalcohólicas en los intervalos de concentración donde existe linealidad, así como el factor de respuesta medio para cada aldehido, encontrándose que el furfural presenta un factor de respuesta de 3.10679×10^{-5} , y el factor encontrado para el 5-hidroximetilfurfural es de 3.92482×10^{-5} .

Concentración (mg/L)	Área $\times 10^4$	Factor de respuesta $\times 10^{-5}$
0.5	1.6093	3.10681
1	3.2412	3.08527
2	6.4856	3.08375
4	12.8512	3.11254
6	19.4569	3.08373
8	26.0130	3.07538
10	32.4280	3.08375
13	40.2570	3.22925
15	48.3766	3.10067
17	54.7188	3.10679
20	64.3759	3.10675

FACTOR DE RESPUESTA MEDIO

$$3.10679 \times 10^{-5}$$

TABLA Nº 6: Determinación del factor de respuesta por CLAE para el furfural en soluciones hidroalcohólicas al 40% V/V.

Concentración (mg/L)	Area $\times 10^5$	Factor de respuesta $\times 10^{-5}$
0.5	0.1290	3.87626
1	0.2540	3.93700
2	0.5090	3.92927
2.5	0.6255	3.99680
5	1.2726	3.92911
10	2.5486	3.92379
15	3.8277	3.91806
20	5.1017	3.92026
30	7.6359	3.92800
40	10.2345	3.90834
50	12.8020	3.90563
60	15.2917	3.92370

FACTOR DE RESPUESTA MEDIO

3.92482×10^{-5}

TABLA Nº 7: Determinación del factor de respuesta por CLAB para el 5-hidroximetilfurfural en soluciones hidroalcohólicas al 40% V/V.

A.4. Comprobación de la exactitud de las técnicas analíticas propuestas por CLAB en el sistema modelo.

Para comprobar la exactitud de la técnica analítica por CLAB en el sistema modelo, se ha aplicado el cálculo estadístico propuesto por MARTIN Y LUNA (1988) a partir de una solución patrón hidroalcohólica al 40% V/V que contenía furfural y 5-hidroximetilfurfural a unas concentraciones de 10 mg/L y 14 mg/L respectivamente. La exactitud del método ha sido estudiada a partir de 10 inyecciones de esta solución en las mismas condiciones.

Esta exactitud ha sido expresada como porcentaje de recuperación y los resultados encontrados aparecen reflejados en la Tabla Nº 8. La concentración encontrada para cada aldehído representa la media de los valores obtenidos en las diez determinaciones. De acuerdo con los resultados encontrados, podemos comprobar cómo el método de determinación de aldehídos furánicos por CLAB presenta una buena exactitud y con unos porcentajes de recuperación que van desde el 99.96% para el furfural hasta el 99.95% para el 5-hidroximetilfurfural.

Otros parámetros representativos de la precisión son la desviación estándar, el error relativo y el coeficiente de variación sobre el valor medio:

$$E.R. = \frac{S_m \times t}{X_m} \times 100 \quad C.V. = \frac{S_d}{X_m} \times 100$$

Ambas como medida de dispersión dan idea de la distribución de los datos de un análisis. Para un intervalo del 95% de confianza, el verdadero valor medio con un 95% de probabilidad se encontrará entre los límites:

$$X_m \pm S_m \times t$$

El coeficiente "t" (Student) tiene un valor de 2.262 para n = 10.

	FURFURAL	5-Hmf
Concentración real (mg/L)	10	14
Concent. media encontrada (mg/L)	9.996	13.993
Recuperación (%)	99.96	99.95
Desviación estándar (Sd)	0.0212	0.0183
Coefficiente de variación (C.V.%)	0.212	0.130
Error estandar (S_m)	$6.71 \cdot 10^{-3}$	$5.79 \cdot 10^{-3}$
Error relativo (E.R.)	$1.52 \cdot 10^{-1}$	$9.36 \cdot 10^{-2}$
$X_m \pm S_m \cdot t$	9.996 ± 0.0152	13.993 ± 0.0131

TABLA Nº 8: Comprobación de la exactitud de las técnicas analíticas propuestas en el sistema modelo por CLAB.

B.- DETERMINACION POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICACIA DE ALDEHIDOS FURANICOS EN BRANDIES COMERCIALES SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO.

B.1. Muestras analizadas

Hemos procedido a determinar el furfural y 5-hidroximetilfurfural en muestras de brandies comerciales. Estas muestras fueron compradas al azar en distintos establecimientos de Granada y su origen y autenticidad estuvo garantizado en todo momento.

Pertencen a brandies producidos tanto en España como en el extranjero y se han clasificado en dos grandes grupos atendiendo al sistema de envejecimiento seguido en su fabricación:

* Brandies comerciales envejecidos por el METODO DE SOLERAS:

Se han analizado un total de 18 muestras de brandies madurados por este procedimiento dinámico de envejecimiento y producidos en su totalidad en nuestro país, sobre todo en el sur de España y en concreto en la zona comprendida entre Jerez, Puerto de Santa María y Sanlúcar de Barrameda.

* Brandies comerciales envejecidos por el METODO TRADICIONAL:

En su totalidad hemos analizado 20 brandies comerciales envejecidos por este sistema estático muy habitual fuera de nuestras fronteras y en países con una alta tradición vitivinícola como Francia e Italia. Los brandies españoles elaborados por este procedimiento y que han sido analizados, estaban producidos en las regiones limítrofes con los Pirineos. Posiblemente la proximidad geográfica de Francia se ha dejado sentir en estas zonas de España a la hora de utilizar este sistema de envejecimiento.

B.2. Técnica analítica

Se ha aplicado la técnica de determinación de aldehídos furánicos por cromatografía líquida de alta eficacia a las muestras de brandies comerciales cuyo envejecimiento se realizó por diferentes procedimientos.

Las muestras de brandy fueron inyectadas directamente en el cromatógrafo sin sufrir ningún tratamiento previo, salvo la filtración a través de filtros Millipore[®] de 0.45 µm, y en condiciones iguales a las empleadas en el desarrollo del sistema modelo.

En cada caso se han inyectado 15 µl. de brandy en modo "split less" sobre una columna CH-18 de 10 cm de longitud y 4.7 mm de diámetro interno. El furfural y 5-hidroximetilfurfural se han determinados a 30 °C.

Las concentraciones de cada aldehído en las muestras de brandy se calculan a partir del área de pico en el cromatograma y del factor de respuesta calculado en el sistema modelo, por medio de las siguientes expresiones:

$$\text{Concentración (i) mg/L} = \text{área de pico (i)} \times \text{FR}_{\text{absoluto}} \text{ (i)}$$

siendo,

$$\text{FR}_{\text{absoluto}} \text{ furfural} = 3.10679 \times 10^{-5}$$

$$\text{FR}_{\text{absoluto}} \text{ 5-Hmf} = 3.92482 \times 10^{-5}$$

La Figura Nº 25 muestra el cromatograma de uno de los brandies comerciales estudiados.

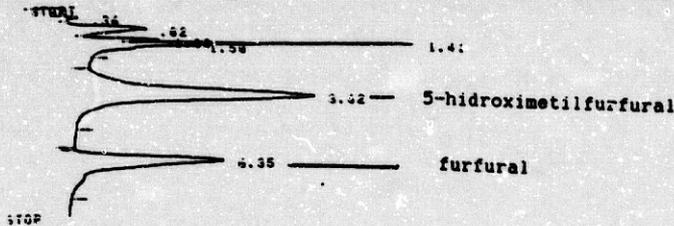


FIGURA Nº 25: Cromatograma obtenido en el análisis de un brandy comercial analizado en este apartado.

B.3. Resultados obtenidos y Discusión

Los resultados obtenidos en la determinación de aldehídos furánicos en muestras comerciales de brandies envejecidos por el método de soleras y por el método tradicional se muestran en las Tablas Nº 9 y Nº 10. En las Figuras Nº 26 y Nº 27 se han representado de forma gráfica mediante diagramas de barras los resultados recogidos en estas tablas respectivamente.

Brandy	Concentración		Relación
	Furfural	5-Hmf	
1	1.35	47.62	0.029
2	0.53	12.90	0.041
3	0.58	34.83	0.017
4	-	52.05	0
5	-	40.01	0
6	-	23.59	0
7	-	14.64	0
8	-	8.77	0
9	0.52	20.00	0.026
10	0.63	100.66	0.006
11	0.62	33.68	0.018
12	-	22.62	0
13	0.70	25.08	0.028
14	0.55	19.77	0.028
15	3.44	18.83	0.183
16	2.30	9.74	0.236
17	4.03	138.50	0.029
18	2.50	16.70	0.150

TABLA Nº 9: Resultados obtenidos en la determinación de furfural y 5-Hmf en brandies envejecidos por el método de soleras. (Resultados en mg/L).

Brandy	Concentración		Relación F/5-Hmf
	Furfural	5-Hmf	
1	13.47	31.19	0.432
2	0.55	16.75	0.033
3	0.74	80.29	0.009
4	1.30	7.85	0.165
5	0.62	88.27	0.007
6	-	27.28	0
7	-	25.26	0
8	13.50	39.66	0.540
9	1.30	18.48	0.070
10	10.64	32.14	0.331
11	9.30	14.03	0.663
12	2.71	9.55	0.284
13	4.28	11.54	0.371
14	13.45	30.77	0.437
15	9.33	6.35	1.469
16	9.10	14.37	0.633
17	3.43	16.75	0.205
18	8.81	5.87	1.501
19	2.29	17.58	0.130
20	2.87	36.70	0.078

TABLA Nº 10: Resultados obtenidos en la determinación de furfural y 5-HMF en brandies envejecidos por el método tradicional. (Resultados en mg/L).

En todas las muestras analizadas se ha encontrado una mayor presencia de 5-hidroxiacetilfurfural en relación al furfural. En general, los brandies envejecidos por el método de soleras tienen una concentración media en 5-hidroxiacetilfurfural de 35.56 mg/L, valores éstos muy similares a los encontrados en los brandies envejecidos por el método tradicional con una concentración media en este aldehído furánico de 26.53 mg/L.

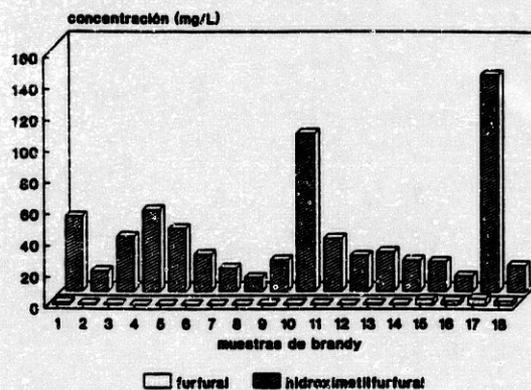


FIGURA Nº26: Histograma correspondiente a los brandies comerciales envejecidos por el método de soleras.

Donde existen mayores diferencias entre unos y otros tipos de brandies es en relación al contenido en furfural, presentando los brandies envejecidos por el método tradicional, en general, un mayor contenido en furfural con una concentración media de 5.83 mg/L frente a los 0.99 mg/L que presentan los brandies envejecidos por el método de soleras.

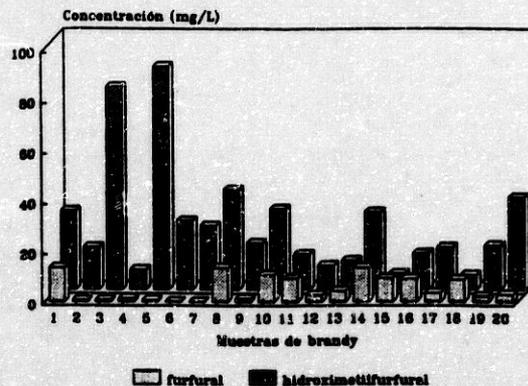


FIGURA Nº 27: Histograma correspondiente a los brandies comerciales envejecidos por el método tradicional.

Posiblemente, el envejecimiento más prolongado en el tiempo que sufren los brandies envejecidos tradicionalmente con relación a los de soleras pudiera ser el responsable del mayor contenido en furfural que presentan estas muestras.

No obstante, el origen de estos aldehídos furánicos en los brandies debiera relacionarse con el quemado que sufren las duelas de madera durante el proceso de cintrado llevado a cabo en la fabricación de los barriles. Así como han demostrado BOIRON, J.N. y col., (1988), al analizar vinos tintos de Burdeos conservados en barriles de roble, el quemado de la madera entraña una síntesis importante de aldehídos furánicos: furfural, 5-metilfurfural y 5-hidroximetilfurfural. Estas moléculas derivan de los componentes glucídicos de la madera por reacciones de Maillard. Está admitido que el furfural se forma a partir de las pentosas y que los otros dos aldehídos derivan de las hexosas por el mismo mecanismo (GLORIES, Y. 1989).

Igualmente, la adición de caramelo que sufren los brandies envejecidos por ambos métodos a fin de intensificar el color dorado que adquieren estas bebidas como consecuencia del proceso de envejecimiento natural que sufren en los barriles de roble, pudiera condicionar las altas concentraciones en 5-hidroximetilfurfural de los brandies analizados.

De hecho, y de acuerdo con los trabajos realizados por PUECH, J.L. y col., (1988d), la presencia de 5-hidroximetilfurfural en los aguardientes puede tener dos orígenes: la degradación térmica de la celulosa (como ya hemos explicado anteriormente) o el caramelo adicionado.

En el caso de los brandies analizados por nosotros, las muestras con una alta concentración en 5-hidroximetilfurfural, presentan a su vez un alto contenido en caramelo. Con el fin de poder confirmar estos resultados, se aplicó la técnica cualitativa de la AOAC (1990) a los brandies comerciales. Los resultados obtenidos (capítulo III.7), nos han servido como guía para establecer el valor de la relación furfural/5-hidroximetilfurfural en los brandies comerciales.

Por ello el 5-hidroximetilfurfural representa en los brandies envejecidos por el método de soleras el 97.29% del total de aldehídos furánicos analizados, mientras que el furfural solo representa el 2.71% de ese total.

Idénticos resultados se obtienen en los brandies envejecidos por el método de soleras donde el furfural representa el 16.86%, frente al 83.14% que corresponde al 5-hidroximetilfurfural (FIGURA Nº 28).

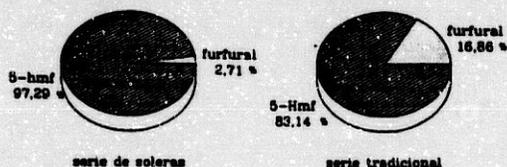


FIGURA Nº 28: Presencia media de aldehídos furánicos en muestras comerciales de brandy.

Respecto a la relación furfural/5-hidroximetilfurfural, ésta varía entre los límites 0 - 0.236 para los brandies envejecidos por el método de soleras y 0.09 - 0.663 para los brandies tradicionales.

En cualquier caso, e independientemente del proceso de envejecimiento seguido, el valor de esta relación se mantiene inferior a la unidad en todas las muestras analizadas excepto en los brandies nº 15 y nº 18 sometidos a envejecimiento tradicional. Precisamente estas dos muestras son las únicas de todas las analizadas que presentan un mayor contenido en furfural y que se caracterizan precisamente por la ausencia de caramelo en las mismas.

Estos datos están en contradicción a los obtenidos por PUECH, J.L. y col., (1988d) al analizar los aldehídos furánicos presentes en muestras de cognac y armagnac del tipo V.S.O.P. El control al que habían estado sometidas durante el tiempo que duró el proceso de envejecimiento, garantizaba la ausencia total de caramelo en estas muestras. Este autor encuentra que la relación furfural/5-Hmf era mayor a la unidad.

Esta discordancia entre los valores obtenidos por PUECH y col. y los obtenidos por nosotros puede explicarse por el alto contenido en caramelo que presentan nuestras muestras frente a la ausencia total del mismo en las muestras por él analizadas.

B.4. Comprobación de la exactitud de la técnica analítica propuesta por CLAB aplicada a muestras de brandy.

Para comprobar la exactitud de las determinaciones realizadas por CLAB se adicionaron cantidades conocidas de furfural y 5-hidroximetilfurfural a muestras de brandy comercial, cuyas concentraciones en ambos aldehídos habían sido determinadas previamente (Tablas Nº 11 y Nº 12).

De cada una de estas muestras se toman dos alícuotas a las que se le añaden 0.5 mg/L y 5 mg/L de furfural (Tabla Nº 11), así como 5-hidroximetilfurfural en una concentración de 10 mg/L y 80 mg/L (Tabla Nº 12), respectivamente.

De cada adición se han realizado tres medidas cuya media es la que aparece reflejada en las tablas.

A las disoluciones así preparadas se le aplica la técnica analítica por CLAB descrita anteriormente. Los resultados obtenidos en estos análisis han sido expresados como porcentaje de recuperación y se indican en las tablas Nº 11 y Nº 12.

La concordancia entre cantidades añadidas y cantidades encontradas ha sido en todos los casos adecuada.

BRANDY	CONCENTR. INICIAL	CONCENTR. ANADIDA	DESPUES DE LA ADICION		
			CONCENTR. ENCONTR.	CONCENTR. TEORICA	RECUPER. %
1	0	0.5	0.49	0.5	98.00
		5.0	4.81	5.0	96.20
2	0	0.5	0.48	0.5	96.00
		5.0	4.86	5.0	97.20
3	2.30	0.5	2.60	2.80	92.90
		5.0	7.20	7.30	98.63
4	0.63	0.5	1.06	1.13	93.80
		5.0	5.23	5.63	92.90
5	3.44	0.5	3.81	3.94	96.70
		5.0	8.39	8.44	99.40
6	0.52	0.5	0.98	1.02	96.10
		5.0	5.45	5.52	98.73

TABLA Nº 11: Investigación de cantidades conocidas en furfural añadidas a muestras comerciales de brandy. (Resultados en mg/L).

BRANDY	CONCENTR. INICIAL	CONCENTR. AÑADIDA	CONCENTR. ENCONTR.	DESPUES DE LA ADICION	
				CONCENTR. TEORICA	RECUPER. %
1	23.59	10	32.69	33.59	97.32
		80	102.08	103.59	98.54
2	40.01	10	49.19	50.01	98.36
		80	119.66	120.01	99.70
3	9.74	10	19.28	19.74	97.67
		80	89.60	89.74	99.84
4	100.66	10	109.45	110.66	98.91
		80	178.40	180.66	98.75
5	18.83	10	28.61	28.83	99.24
		80	97.80	98.83	98.96
6	20.00	10	29.40	30.00	98.00
		80	98.50	100.00	98.50

TABLA Nº 12: Investigación de cantidades conocidas en 5-HMF añadidas a muestras comerciales de brandy. (Resultados en mg/L).

C.- PRESENCIA DE ALDEHIDOS FURANICOS EN MUESTRAS COMERCIALES DE CARAMELO

El caramelo es habitualmente empleado como colorante en la elaboración de bebidas espirituosas, brandy y ron principalmente, ya que su color ámbar otorga a estas bebidas unas más atractivas características visuales, llegando incluso a poder enmascarar una palidez, fruto de un corto envejecimiento en madera. Su empleo es admitido por las Legislaciones para su uso como colorante en el brandy, dándose el caso de abusos en su adición.

Hemos creído interesante investigar su contenido en muestras de caramelos comerciales para poder dilucidar si su presencia en brandies comerciales, puede considerarse como indicativo de un correcto envejecimiento o de adición de caramelo a los mismos.

C.1. Preparación de las muestras

Se han analizado un total de 4 muestras de caramelo comercial. Para ello se toman 10 g de las mismos y se diluyen en una solución hidroalcohólica al 40% V/V hasta 100 ml.

Las soluciones así preparadas se pasan a través de filtros Millipore^R de 0.45 µm de tamaño de poro.

C.2. Determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural en caramelos comerciales por CLAE

Se cuantifican los aldehídos furánicos presentes en las muestras de caramelo, mediante la utilización del mismo sistema empleado anteriormente para las muestras de brandies comerciales.

La Figura Nº 29 muestra un cromatograma obtenido en este estudio.

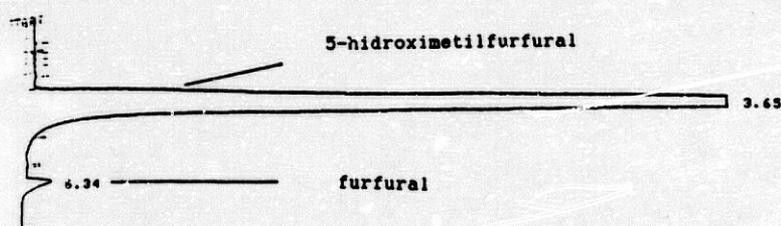


FIGURA Nº 29: Cromatograma obtenido tras la inyección de una muestra de caramelo comercial.

C.3. Resultados obtenidos y discusión

Los resultados obtenidos en la determinación de aldehídos furánicos en muestras comerciales de caramelo se muestran en la Tabla Nº 13.

Caramelo	COMPUESTOS FURANICOS DEL CARAMELO	
	Concentración FURFURAL (mg/Kg)	concentración 5-HMF (mg/Kg)
Caramelo TS	2.6	189.5
Caramelo 42005	5.6	251.3
Caramelo TPS	0	247.0
Caramelo TR	0	251.7

TABLA Nº 13: Compuestos furánicos presentes en muestras comerciales de caramelo.

El rango de concentraciones encontrado en los distintos tipos de caramelos comerciales estudiados varia desde los 189.5 mg/Kg para el caramelo TS, hasta los 251.7 mg/Kg para el caramelo TR, en el caso del 5-hidroximetilfurfural. Para el furfural, el rango se encuentra entre la no detección de este componente en los caramelos TPS y TR, hasta los 5.6 mg/Kg presentes en el caramelo 42005 (FIGURA Nº 30).

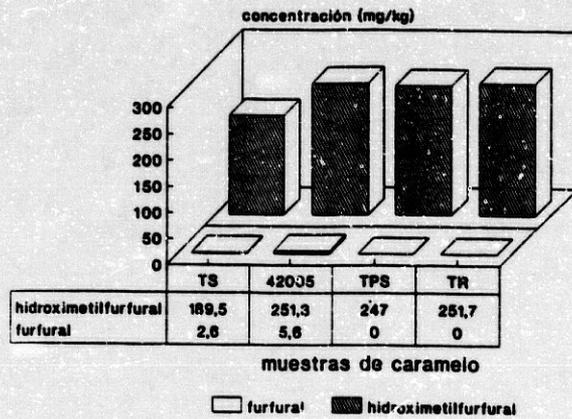


FIGURA Nº 30: Composición en aldehidos furánicos de los caramelos comerciales.

Con todo ello, podemos apreciar el predominio del 5-hidroximetilfurfural sobre el furfural en todas las muestras analizadas, representando en algunos casos el 99.9% del total de componentes furánicos presentes en los caramelos usados como colorantes en la industria alcohólica.

La relación furfural/5-hidroximetilfurfural para estas muestras de caramelo, observamos como es siempre menor a la unidad y comprendida entre 0 y 0.02.

III.4 ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA

A.- ESTUDIO DE LA RELACION ABSORBANCIA/CONCENTRACION PARA LA DETERMINACION DE ALDEHIDOS FURANICOS

Los aldehídos fenólicos presentan un máximo de absorbancia a 280 nm. De acuerdo con esto y para evitar las posibles interferencias y poder conocer la composición de los compuestos furánicos del brandy, se ha seguido el método propuesto por VILLALÓN, M y col., (1987) que utiliza un pH = 10 en el destilado del brandy. De esta manera se diferencia un máximo a los 280 nm para los aldehídos furánicos, y un máximo a 352 nm para los aldehídos fenólicos.

Por ello, es necesario trabajar en nuestro caso, a pH 10, por lo que debemos tener presente éste factor, a la hora de realizar el estudio de la relación Absorbancia/Concentración para los aldehídos furánicos.

A.1. Ley de Beer para disoluciones de furfural en etanol de 40% V/V y pH=10.

Se ha preparado una disolución hidroalcohólica (400G.L.) de furfural de una concentración de 50 mg/L (5.2×10^{-4} M). A partir de esta disolución se han preparado soluciones de concentraciones comprendidas entre 1 mg/L (1.04×10^{-5} M) y 7 mg/L (7.28×10^{-5} M) respectivamente. A continuación se añaden 2 ml de la disolución reguladora de pH 10 a cada una de las disoluciones preparadas. Los matraces se enrasan a 50 ml con alcohol de 400G.L. y se procede a su medida en el espectrofotómetro a 277 nm, longitud donde presenta el máximo de absorción el furfural.

El cumplimiento de la ley de Beer se recoge en la Figura Nº 31.

Para establecer el intervalo de aplicación de la ley de Beer, se siguió el método de Ringbow, el cual dió un intervalo de linealidad comprendido entre 1.7 y 4 mg/L.

Con los datos obtenidos durante el estudio de la ley de Beer, y considerando que en esta ley la absorptividad molar corresponde con la pendiente de la línea recta encontrada en el estudio, se deduce dicha pendiente:

$$A = 4.37 \cdot 10^{-3} \cdot C \quad r = 0.9997$$

$$m = 0.14913 \text{ L mg}^{-1} \text{ cm}^{-1} = 14\,640 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

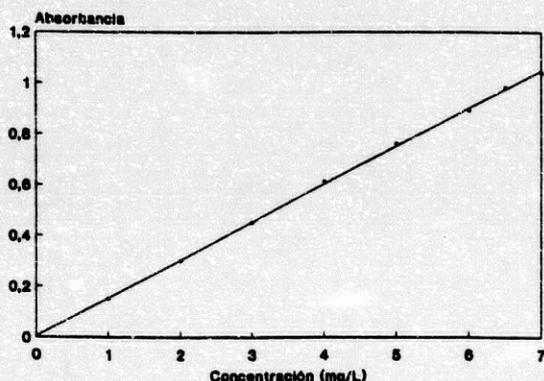


FIGURA Nº 31: Cumplimiento de la ley de Beer para disoluciones de furfural en etanol de 40% V/V y pH 10

A.2. Ley de Beer para disoluciones de 5-hidroximetilfurfural en etanol de 40% V/V a pH=10.

Al igual que se hizo para el furfural, se ha realizado un estudio de la ley de Beer para el 5-hidroximetilfurfural a pH 10.

Se ha preparado una disolución hidroalcohólica (400G.L.) de 5-hidroximetilfurfural de una concentración de 38 mg/L (3×10^{-4} M). A partir de ella se han preparado disoluciones hidroalcohólicas con etanol de 400 G.L. de concentraciones comprendidas entre 1 mg/L (0.79×10^{-5} M) y 7 mg/L (5.5×10^{-5} M) respectivamente. A continuación se añaden 2 ml de disolución reguladora de pH 10 a cada una de las disoluciones preparadas. Se enrasan a 50 ml con alcohol de 40 G.L. y se procede a su medida en el espectrofotómetro a 280 nm, longitud donde presenta el máximo de absorción el 5-hidroximetilfurfural.

El cumplimiento de la ley de Beer se recoge en la Figura Nº 32.

Para establecer el intervalo de aplicación de la ley de Beer, se siguió el método de Ringbow, el cual dió un intervalo de linealidad comprendido entre 2 y 6.3 mg/L.

Con los datos obtenidos durante el estudio de la ley de Beer, y considerando que en esta ley la absorptividad molar corresponde con la pendiente de la línea recta encontrada en su estudio, se deduce dicha pendiente:

$$A = 0.011 + 0.10525C \quad (r = 0.9992)$$

$$m = 0.10525 \text{ L mg}^{-1} \text{ cm}^{-1} = 13\,876 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$A = 0.011 + 0.10525C \quad (r = 0.9992)$$

$$m = 0.10525 \text{ L mg}^{-1} \text{ cm}^{-1} = 13\,876 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

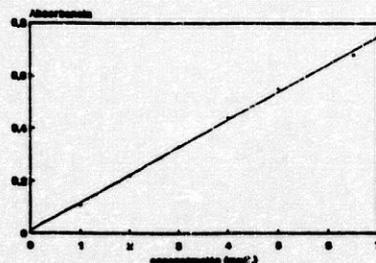


FIGURA Nº 32: Cumplimiento de la ley de Beer para disoluciones de 5-hidroximetilfurfural en etanol de 40% V/V y pH 10

B.- EMPLEO DE UN SISTEMA MODELO PARA LA COMPROBACION DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE DETERMINACION DE ALDEHIDOS FURANICOS EN BRANDY

B.1. Preparación del sistema modelo

Se ha pretendido estudiar la concentración de aldehidos furánicos: furfural y 5-hidroximetilfurfural respectivamente, en muestras de brandy comerciales cuyo envejecimiento en barriles de roble ha sido garantizado. La presencia de estos aldehidos en el brandy, se debe principalmente a la extracción que sufre la madera por parte del aguardiente durante el envejecimiento. Su origen se encuentra en el proceso de degradación térmica que sufren los polisacáridos de la madera de roble, principalmente celulosa y hemicelulosa, durante la etapa de cintrado de los barriles. De esta forma pasan a formar parte de la composición química del brandy.

Sin embargo, el 5-hidroximetilfurfural puede tener en este caso, otro origen distinto como consecuencia de la adición de caramelo colorante a los brandies. Esta practica habitual en las bodegas origina un incremento en la concentración de 5-hidroximetilfurfural presente en los brandies; ya que este aldehido se encuentra en el caramelo usado como colorante en concentración muy significativa.

Para ello, se ha preparado un sistema modelo que reproduzca las condiciones que nos vamos a encontrar en la determinación de estos compuestos furánicos en el brandy. Así se ha tenido en cuenta la elevada concentración de 5-hidroximetilfurfural del brandy por la razón expuesta anteriormente.

De acuerdo con esto, el sistema modelo en cuestión, va a estar formado por una solución hidroalcohólica de estos dos aldehidos en etanol de 40% G.L., y cuyas concentraciones en furfural y 5-hidroximetilfurfural son 2 mg/L y 35 mg/L respectivamente.

B.2. Determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural en el sistema modelo

Para la determinación de FURFURAL se ha puesto a punto la técnica recomendada por el Ministerio de Sanidad y Consumo (1985) y A.O.A.C.(1990) para brandy, que consiste en la destilación por arrastre en corriente de vapor de 50 ml. de la solución modelo previamente preparada.

Se recogen 90 ml. de destilado, el cual se mantiene en baño de hielo a lo largo del proceso de destilación y se le añaden 2 ml. de solución tampón bórico-borato para llevar el pH a 10 y evitar las posibles interferencias con los aldehidos fenólicos. Se completa a 100 ml y se mide la absorbancia a 277 nm (frente a un blanco de etanol de 40% G.L.).

La concentración de furfural se deduce a partir de la expresión siguiente:

$$\text{Furfural (mg/L)} = A/E \times F \times 1000 \times 96.09$$

siendo:

A = Absorbancia del destilado a 277 nm

E = Absortividad molar del Furfural a 277 nm y cuyo valor es $14640 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

F = Factor de dilución

96.09 = Peso molecular del Furfural.

Para la determinación de 5-HIDROXIMETILFURFURAL se ha seguido la técnica de VILLALON, M y col., (1987) citada anteriormente.

Los aldehidos furánicos totales se determinan a 280 nm por medida directa. La diferencia de la concentración encontrada en esta medida y la hallada para el furfural anteriormente es la correspondiente al 5-hidroximetilfurfural.

El método analítico es el siguiente:

Se toman 50 ml. de la solución modelo preparada y se llevan a pH 10 con tampón bórico-borato. Se procede a la medida directa en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 280 nm (frente a un blanco de etanol 40%G.L.).

De igual forma, las concentraciones en aldehidos furánicos totales expresados en 5-hidroximetilfurfural, se deducen de la expresión:

$$\text{Aldehidos Furánicos (mg/L)} = A/E \times F \times 1000 \times 126.11$$

siendo:

A = Absorbancia a 280 nm

E = $13876 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; Absortividad molar del 5-hidroximetilfurfural a 280 nm.

F = Factor de dilución empleado.

126.11 = Peso molecular del 5-hidroximetilfurfural.

A partir de la expresión anterior se calcula la concentración en 5-hidroximetilfurfural de la siguiente forma:

$$5\text{-Hmf(mg/L)} = (\text{Ald. Furánicos(mol/l)} - \text{Furfural(mol/l)}) \times 126.11 \times 1000$$

C.- DETERMINACION POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ALDEHIDOS FURANICOS EN BRANDIES COMERCIALES SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO

C.1. Muestras analizadas

Se han analizado las mismas muestras de brandies comerciales estudiados en el capítulo correspondiente a la cromatografía líquida de alta eficacia, divididas de igual manera en los dos grupos de acuerdo con su proceso de envejecimiento:

- muestras envejecidas por el sistema de soleras
- muestras envejecidas por el sistema estático tradicional

Para la determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural se ha utilizado la técnica analítica puesta a punto para el estudio de estos componentes en el sistema modelo. (apartado B).

C.2. Resultados

I.- Resultados obtenidos para el sistema modelo

Para la comprobación de la precisión y exactitud de las técnicas analíticas propuestas en el sistema modelo, se ha aplicado el método estadístico de MARTIN y LUNA, (1988) a los valores de concentración obtenidos en cada una de las determinaciones practicadas.

La exactitud expresada como porcentaje de recuperación y los porcentajes encontrados aparecen reflejados en la Tabla Nº 14. La concentración reflejada para cada aldehido representa la media de las 10 determinaciones realizadas en el sistema modelo.

	conc.real mg/L	conc.media Rec encontrada mg/L	Rec %	Rango	Sd	C.V. %	Sm	E.R. %	Xm+/-Smt
furfural	2	2.10	105	1.75-3.11	0.39	19.00	0.12	12.93	2.1+/-0.27
5-hmf	35	36.00	102.90	35.1-37	0.83	2.30	0.26	1.63	36+/-0.59

TABLA Nº 14: Comprobación de la exactitud y precisión de las técnicas analíticas aplicadas al sistema modelo por Espectrofotometría U.V.

II.- Resultados obtenidos en los brandies comerciales envejecidos

Las concentraciones halladas de furfural y 5-hidroximetilfurfural por espectrofotometría ultravioleta en los brandies comerciales envejecidos, se recogen en las Tablas Nº 15 y Nº 16, representadas en los histogramas de barras de las Figuras Nº 33 y Nº 34.

Brandy	Concentración		Relación F/5-Hmf
	Furfural	5-Hmf	
1	1.61	59.60	0.027
2	1.10	15.50	0.071
3	0.97	45.10	0.022
4	0.98	53.92	0.018
5	0.49	48.20	0.010
6	0.62	26.70	0.023
7	-	19.45	0
8	-	11.32	0
9	0.79	22.57	0.035
10	1.25	108.36	0.012
11	0.93	39.68	0.023
12	0.45	27.62	0.016
13	0.72	27.08	0.027
14	0.60	23.77	0.025
15	3.97	21.83	0.181
16	3.02	11.96	0.252
17	5.09	145.30	0.035
18	3.53	20.70	0.171

TABLA Nº 15: Resultados obtenidos en la determinación de aldehídos furánicos en brandies comerciales envejecidos por soleras. (Resultados en mg/L).

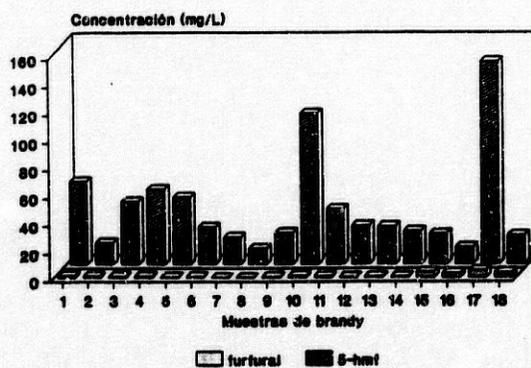


FIGURA Nº 33: Histograma obtenido con los resultados de la determinación de aldehídos furánicos en brandies comerciales envejecidos por soleras.

Brandy	Concentración		Relación F/5-Hmf
	Furfural	5-Hmf	
1	16.72	35.39	0.472
2	1.31	18.62	0.070
3	0.98	83.19	0.011
4	1.34	12.79	0.104
5	1.18	94.47	0.012
6	0.79	31.16	0.025
7	0.39	30.23	0.013
8	13.84	43.71	0.317
9	1.46	25.66	0.058
10	11.81	35.25	0.335
11	11.74	18.15	0.647
12	4.57	15.49	0.295
13	5.06	14.36	0.352
14	16.15	35.89	0.450
15	10.04	10.47	0.958
16	11.29	17.95	0.629
17	4.53	20.83	0.217
18	10.13	12.15	0.834
19	3.07	21.76	0.141
20	4.58	40.10	0.114

TABLA NO 16: Resultados obtenidos en la determinación de aldehídos furánicos en brandies comerciales envejecidos por el método tradicional. (Resultados en mg/L).

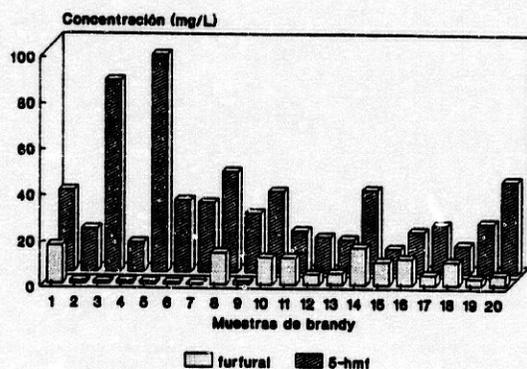


FIGURA NO 34: Histograma obtenido con los resultados de la determinación de aldehídos furánicos en brandies comerciales envejecidos por el método tradicional.

C.3. Discusión

Al estudiar el sistema modelo y a la vista de los resultados obtenidos, se puede indicar que el método espectrofotométrico resulta adecuado para la determinación de los aldehídos furánicos en el Brandy.

Los valores encontrados en las muestras de brandies envejecidos por el método de soleras son de 1.45 mg/L de concentración media para el furfural y de 40.49 mg/L para el 5-hidroximetilfurfural.

De acuerdo con estos valores, el contenido en furfural de los brandies envejecidos por soleras, es muy similar al hallado por LOPEZ, (1964) en muestras de brandies españoles envejecidos de igual manera, con una concentración media de furfural de 2.37 mg/L. De otra parte, en los brandies envejecidos por el método tradicional se han determinado unas concentraciones medias de 6.55 mg/L de furfural y 30.88 mg/L de 5-hidroximetilfurfural.

También se puede observar cierta diferencia en la concentración de furfural de acuerdo con el método de envejecimiento seguido. Así 1.45 mg/L para los soleras, frente a 6.55 mg/L para los de envejecimiento tradicional, posiblemente debido a las características propias del método tradicional con un tiempo más prolongado de envejecimiento frente a un menor tiempo en el caso de las muestras de solera.

De igual manera, BRAVO ABAD y col., (1985) estudian entre otros componentes de los brandies y cognacs el furfural. Estos autores determinan una concentración media para este componente de 6.7 mg/L en las muestras de brandies jerezanos (envejecimiento por soleras) y de 8.43 mg/L en los brandies, cognacs y armagnac envejecidos por el método tradicional francés.

BELLANATO y col., (1988) al estudiar los componentes del brandy por espectroscopia infrarroja, detectan igualmente concentraciones menores de furfural en aquellos brandies envejecidos por el método jerezano de soleras (5.96 mg/L de concentración media) frente a las concentraciones de furfural halladas en otros brandies que fueron envejecidos siguiendo el método francés y cuya concentración media encontrada fué de 7.8 mg/L de furfural.

Con respecto al 5-hidroximetilfurfural, la concentración es mucho mayor que la del furfural en ambas series de muestras, lo que pudiera deberse a la adición de caramelo colorante (FUECH, J.L. y col., 1988d). Hecho comentado en apartados anteriores y que puede ser la causa de la presencia en mayor o menor cuantía del 5-hidroximetilfurfural, sin que influya en este caso el método empleado en el envejecimiento.

Podría decirse que el 5-hidroximetilfurfural es aportado al brandy en su mayoría por el caramelo adicionado y no sólo como consecuencia de la degradación térmica de los polisacáridos de la madera durante el proceso de cintrado del barril. No así ocurre con el furfural, cuyo origen no se puede descartar sea debido a la degradación de la madera.

Se ha establecido una relación entre el furfural y el 5-hidroximetilfurfural, y se ha podido observar en todas las muestras estudiadas que esta relación furfural/5-Hmf es inferior a la unidad, tanto en las muestras comerciales envejecidas por soleras, como en aquellas que lo fueron por medio del sistema tradicional. Para las primeras la relación media furfural/5-Hmf fue de 0.036, mientras que para el otro grupo de muestras, fue de 0.212. Diferencia que viene motivada por una mayor concentración de furfural en los brandies envejecidos por la técnica francesa.

Los intervalos de concentración encontrados para nuestras muestras de brandies de soleras oscilan desde 0 a 5.09 mg/L para el furfural y de 11.32 a 145.50 mg/L para el 5-hidroximetilfurfural respectivamente. En el caso de los brandies tradicionales varía de 0.39 mg/L a 16.72 mg/L para el furfural y de 10.47 a 94.47 mg/L para el 5-hidroximetilfurfural.

En el total de los aldehídos furánicos en las muestras de brandies comerciales envejecidos por el método de soleras, el furfural representa sólo el 3.0%, no así, el 5-hidroximetilfurfural que representa el 97.0% restante. Los porcentajes totales para cada aldehído en las muestras de brandies comerciales envejecidos por el método tradicional francés varía claramente con respecto a los anteriores, debido a la mayor concentración de furfural de estas muestras. Así el porcentaje es del 17% y el del 5-hidroximetilfurfural del 83%, como se observa en el diagrama de la Figura Nº 35.

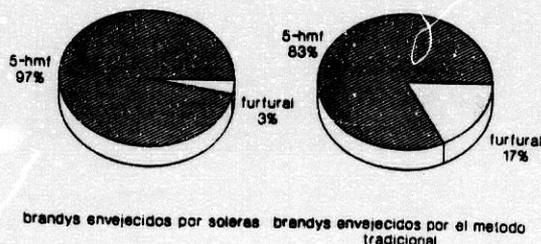


FIGURA Nº 35: Presencia media de aldehídos furánicos en muestras comerciales de brandies por espectrofotometría U.V.

D.- COMPROBACION DE LA EXACTITUD DE LAS TECNICAS ANALITICAS PROPUESTAS APLICADAS A MUESTRAS DE BRANDY.

Se ha empleado nuevamente el método de la adición conocida. Para ello se han utilizado muestras de brandy del comercio cuyo contenido medio en aldehídos furánicos medido por espectrofotometría U.V. aparece recogido en las Tablas Nº 17 y Nº 18.

De cada una de estas muestras se toman dos alícuotas a las que se le añaden 0.5 mg/L y 5mg/L de furfural, así como 10 mg/L y 80 mg/L de 5-hidroximetilfurfural respectivamente.

De cada adición se han realizado tres medidas cuya media es la que aparece en las tablas.

A las disoluciones así preparadas se le aplican las técnicas analíticas anteriormente descritas. Los resultados obtenidos en los análisis se muestran en las Tablas Nº 17 y Nº 18.

Los resultados obtenidos se han expresado como porcentaje de recuperación.

La concordancia entre cantidades añadidas y cantidades encontradas ha sido en todos los casos satisfactoria.

BRANDY	CONCENTR. INICIAL	CONCENTR. AÑADIDA	DESPUES DE LA ADICION		RECUPER. %
			CONCENTR. ENCOTR.	CONCENTR. TEORICA	
1	0	0.5	0.48	0.5	96.00
		5.0	5.10	5.0	102.00
2	0	0.5	0.49	0.5	98.00
		5.0	5.15	5.0	103.00
3	3.02	0.5	3.41	3.52	97.00
		5.0	8.42	8.02	105.00
4	0.72	0.5	1.16	1.22	95.10
		5.0	5.86	5.72	102.50
5	3.97	0.5	4.38	4.47	97.90
		5.0	9.33	8.97	104.00
6	0.79	0.5	1.25	1.29	96.80
		5.0	5.90	5.79	102.00

TABLA NO 17: Investigación de cantidades conocidas en furfural añadidas a muestras comerciales de brandy por espectrofotometría U.V. (Resultados en mg/L).

BRANDY	CONCENTR. INICIAL	CONCENTR. AÑADIDA	DESPUES DE LA ADICION		RECUPER. %
			CONCENTR. ENCOTR.	CONCENTR. TEORICA	
1	11.32	10	20.77	21.32	97.42
		80	94.52	91.32	103.50
2	19.45	10	28.83	29.45	97.90
		80	102.50	99.45	103.07
3	11.96	10	21.63	21.96	98.50
		80	95.60	91.96	103.96
4	27.08	10	36.00	37.08	97.10
		80	109.95	107.08	102.68
5	21.83	10	31.26	31.83	98.20
		80	107.15	101.83	105.22
6	22.57	10	31.92	32.57	98.00
		80	106.80	102.57	104.12

TABLA NO 18: Investigación de cantidades conocidas en 5-HMF añadidas a muestras comerciales de brandy por espectrofotometría U.V. (Resultados en mg/L).

III.5. COMPARACION DE METODOS DE DETERMINACION DE FURFURAL Y 5-HIDROXIMETILFURFURAL EN BRANDIES COMERCIALES.

A.- INTRODUCCION

Como apunta CANTAGNEL, R. (1992) en el informe nº 869 de la O.I.V. resulta conveniente la comparación de los métodos existentes para la determinación de todos aquellos elementos que condicionan en mayor o menor grado la calidad de un aguardiente con el fin de armonizar los métodos analíticos y llegar a conclusiones contundentes que permitan establecer un método de análisis único, rápido y sobre todo fiable a la hora de juzgar la calidad de una bebida alcohólica en función de la tasa de congéntricos. Esto surge dada la diversidad de técnicas analíticas a las que puede remitirse un analista cuando pretende realizar la determinación de la llamada "tasa no alcohólica" en los aguardientes y de sus elementos constitutivos (DEHOVE, 1984).

En el terreno que nos ocupa, tanto en España (MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO, 1985), como en un gran número de países de la C.E., el método recomendado para la determinación de furfural se basa en una destilación por arrastre en corriente de vapor y posterior medida espectrofotométrica de su absorción a 277 nm.

Frente a este método clásico han aparecido otros como la cromatografía en fase gaseosa (GUYMON, J.F. y col., 1972) y más recientemente la cromatografía líquida de alta eficacia (JEURING, H.J. y col., 1980).

Nos ha parecido interesante a fin de armonizar los distintos métodos que existen para la determinación de aldehídos furánicos, juzgar las ventajas e inconvenientes que presentan unos métodos frente a otros, no solo desde el punto de vista analítico, sino en cuanto a rentabilidad económica, eficacia y rapidez que pueda suponer para cualquier laboratorio de análisis encuadrado en el campo de evaluar la calidad de los distintos aguardientes.

B.- FACTORES CONSIDERADOS EN LA COMPARACION DE LOS DIFERENTES METODOS DE ANALISIS.

Hemos comparado el método espectrofotométrico (recomendado) con el método de la cromatografía líquida de alta eficacia puesto a punto por nosotros haciendo intervenir la reproducibilidad propia de cada uno de los métodos puestos en juego. Este último elemento nos ha permitido establecer un criterio importante de comparación.

Para el establecimiento de esta comparación se han utilizado las mismas 38 muestras de brandies comerciales analizadas a lo largo de este trabajo y cuyas concentraciones en furfural y 5-hidroxi-metilfurfural habían sido determinadas por ambos métodos. Estos resultados se han reunido en las Tablas Nº 19 y Nº 20 donde se pueden observar simultáneamente las concentraciones en aldehídos furánicos para una misma muestra de brandy, por uno u otro método.

Con las medidas de las dos series (método y CLAE) se han construido las figuras Nº 36 y Nº 37 en donde se han representado gráficamente las rectas de regresión de los resultados por CLAE en función de los resultados obtenidos por los métodos espectrofotométricos para el furfural y 5-hidroxi-metilfurfural en las distintas muestras de brandy, así como el coeficiente de correlación existente entre las dos medidas.

MUESTRAS	FURFURAL		5-Hmf	
	M.O.	CLAE (1)	(2)	CLAE (1)
1	16.72	13.47	35.39	31.19
2	1.31	0.55	18.62	16.75
3	0.98	0.74	83.19	80.29
4	1.34	1.30	12.79	7.85
5	1.18	0.62	94.47	88.27
6	0.79	-	31.16	27.28
7	0.39	-	30.23	25.26
8	13.84	13.50	43.71	39.66
9	1.48	1.30	25.66	18.48
10	11.81	10.64	35.25	32.14
11	11.74	9.30	18.15	14.03
12	4.57	2.71	15.49	9.55
13	5.06	4.28	14.36	11.54
14	16.15	13.45	35.89	30.77
15	10.04	9.33	10.47	6.35
16	11.29	9.10	17.95	14.37
17	4.53	3.43	20.83	16.75
18	10.13	8.81	12.15	5.87
19	3.07	2.29	21.76	17.58
20	4.58	2.37	40.10	36.70

M.O.: Método recomendado por el Ministerio de Sanidad y Consumo, 1985. (1): Cromatografía líquida de alta eficacia sobre columna Lichrospher C-18 de 10 cm de longitud y 4.7 de diámetro interno. (2): Espectrofotometría U.V. basada en la técnica desarrollada por VILLALON, M. y col., (1987).

TABLA Nº 19: Comparación de diferentes métodos de análisis para la determinación de furfural y 5-Hmf en brandies comerciales envejecidos por el sistema tradicional. (Resultados expresados en mg/L).

MUESTRAS	FURFURAL		5-HMP	
	M.O.	CLAE (1)	(2)	CLAE (1)
1	1.61	1.35	59.60	47.62
2	1.10	0.53	15.50	12.90
3	0.97	0.58	45.10	34.83
4	0.98	-	53.92	52.05
5	0.49	-	48.20	40.01
6	0.62	-	26.70	23.59
7	-	-	19.45	14.64
8	-	-	11.32	8.77
9	0.79	0.52	22.57	20.00
10	1.25	0.63	108.36	100.66
11	0.93	0.62	39.68	33.68
12	0.45	-	27.62	22.62
13	0.72	0.70	27.08	25.08
14	0.60	0.55	23.77	19.77
15	3.97	3.44	21.83	18.83
16	3.02	2.30	11.96	9.74
17	5.09	4.03	145.30	138.50
18	3.53	2.50	20.70	16.70

M.O. Método recomendado por el Ministerio de Sanidad y Consumo, 1985. (1): Cromatografía líquida de alta eficacia sobre columna Lichrospher C-18 de 10 cm de longitud y 4.7 de diámetro interno. (2): Espectrofotometría U.V. basada en la técnica desarrollada por VILLALON, M. y col., (1987).

TABLA Nº 20: Comparación de diferentes métodos de análisis para la determinación de furfural y 5-Hmf en brandies comerciales envejecidos por el sistema de soleras. (Resultados expresados en mg/L).

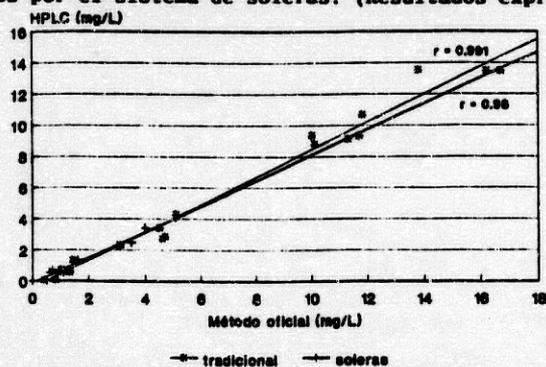


FIGURA Nº 36: Correlación entre el método por CLAE y por el espectrofotométrico en la determinación de furfural en muestras comerciales de brandy.

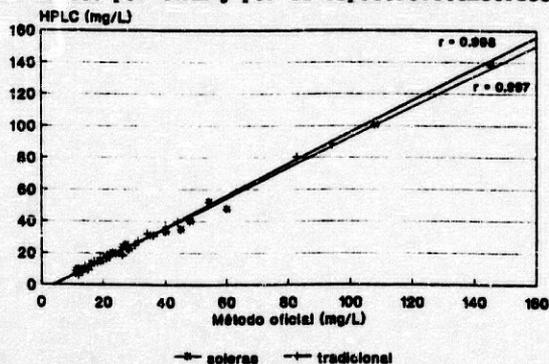


FIGURA Nº 37: Correlación entre el método por CLAE y por el espectrofotométrico en la determinación de 5-hidroximetilfurfural en muestras comerciales de brandy.

C.- DISCUSION DE RESULTADOS

1. FURFURAL

El método oficial para la determinación de furfural da en todos los casos resultados más elevados que el método cromatográfico. Así la concentración media encontrada para este aldehído en los brandies envejecidos por el método de soleras es de 1.45 mg/L (espectrofotometría) frente a los 0.99 mg/L encontrados para estos mismos brandies cuando se aplica la cromatografía líquida de alta eficacia. Idénticos resultados se encuentran para los brandies envejecidos por el método tradicional: 6.55 mg/L (método espectrofotométrico) y 5.39 mg/L (CLAE) como concentraciones medias.

La media de las diferencias entre las dos series: 1.16 para los brandies envejecidos por el método tradicional y 0.46 para los sometidos a envejecimiento por soleras representan el 17.70% y el 31.72% respectivamente de variación con relación al método oficial.

No obstante como podemos observar en la figura N°36, existe una excelente correlación para el furfural entre las dos series de medidas en ambos sistemas de envejecimiento. Así para los brandies envejecidos por el sistema tradicional, el coeficiente de correlación es de 0.991 y la pendiente de la recta de regresión es de 0.883. Igual proximidad de resultados se obtiene para los brandies envejecidos por el método de soleras: coeficiente de correlación 0.98 y pendiente de la recta de regresión 0.84.

2. 5-HIDROXIMETILFURFURAL

Al igual que sucede en el furfural, los resultados encontrados para este aldehído furánico por el método espectrofotométrico son más elevados que por CLAE. Así, en los brandies envejecidos por el método tradicional la concentración media en 5-hidroximetilfurfural encontrada por el método espectrofotométrico es de 30.88 mg/L mientras que por CLAE esta concentración media es de 26.53 mg/L. La media de la diferencia entre las dos series (4.35) representa un 14.08% de variación respecto al método espectrofotométrico.

Sin embargo, la recta de regresión de los resultados por CLAE (Figura N° 37) en función de los resultados del método espectrofotométrico muestra que existe una muy buena correlación entre ambos métodos: coeficiente de correlación 0.998 y pendiente de la recta de regresión 0.998.

Resultados muy raros se obtienen al observar las concentraciones encontradas para este aldehído por el método espectrofotométrico y por CLAE en los brandies sometidos a soleras. La media de las diferencias entre las dos series (4.93) representa 12.17% de variación con relación al método espectrofotométrico (concentración media = 35.55 mg/L).

La recta de regresión de los resultados por CLAE (Figura N° 37) en función de los resultados del método espectrofotométrico muestra que existe una buena correlación entre las dos series de medidas: coeficiente de correlación de 0.997 y pendiente de la recta de regresión de 0.956.

D.- INTERPRETACION ESTADISTICA DE LOS RESULTADOS

Con objeto de precisar el signo de las pequeñas diferencias obtenidas entre cada par de resultados y comprobar si ambas técnicas de determinación de aldehídos furánicos son equiparables, hemos sometido los resultados de las tablas N° 19 y N° 20 a un tratamiento estadístico que nos permita conocer si nuestras muestras siguen una distribución normal o de Gauss.

Para ello aplicamos, en primer lugar, el test de KOLMOGOROV-SMIRNOV sobre la bondad de ajuste para una distribución normal (BARBANCHO, A. 1992), el cual se ha realizado a un nivel de confianza del 95%, que es el porcentaje de confianza empleado a lo largo de toda esta memoria.

Si este test resultara no significativo, lo que quiere decir que nuestras muestras proceden de una distribución normal, aplicaríamos un test paramétrico de comparación de dos muestras independientes o no apareadas (t-test). Si por el contrario dicho test sobre la bondad de ajuste para una distribución normal resultara ser significativo, es decir, existen diferencias significativas entre una distribución normal y la distribución de la que proceden nuestras muestras, tendríamos que aplicar un test no paramétrico para la comparación de dos muestras no apareadas como sería el test de MAN-WHITNEY.

Nuestros datos han sido agrupados en ocho poblaciones muestrales atendiendo al método de análisis seguido para su determinación y el sistema de envejecimiento empleado. Al aplicar este test a nuestra población muestral se obtiene un nivel de significancia que va de 0.056 a 0.398 (Tabla N° 21).

POBLACION MUESTRAL	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
furfural en soleras (A)	0.130 (N.S.)
furfural en soleras (B)	0.056 (N.S.)
5-Hmf en soleras (C)	0.194 (N.S.)
5-Hmf en soleras (B)	0.280 (N.S.)
furfural en tradic. (A)	0.367 (N.S.)
furfural en tradic. (B)	0.377 (N.S.)
5-Hmf en tradic. (C)	0.336 (N.S.)
5-Hmf en tradic. (B)	0.398 (N.S.)

(A): Método recomendado por el Ministerio de Sanidad y Consumo, 1985.

(B): Cromatografía líquida de alta eficacia sobre columna Lichrospher C-18.

(C): Espectrofotometría U.V. (VILLALON, M. y col., 1987).

TABLA N° 21: Test de ajuste de la bondad para una distribución normal.

De acuerdo con los resultados de la Tabla N° 21, nuestras poblaciones muestrales proceden de una distribución normal por lo que debemos aplicar un t-test de comparación de dos muestras no apareadas o independientes.

Al aplicar este t-test a nuestras muestras se obtienen los resultados que aparecen en las tablas N° 22, N° 23, N° 24 y N° 25.

En ellas podemos observar niveles de significancia por encima de 0.05 en todas las comparaciones efectuadas lo que quiere decir que no existen diferencias significativas entre las distintas poblaciones muestrales en cuanto al método de análisis seguido para la determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural.

Estas comparaciones de métodos realizadas en los brandies nos permiten confirmar que el método espectrofotométrico para la determinación de aldehídos furánicos resulta muy adecuado. No obstante se podría incluir como método alternativo de análisis, la cromatografía líquida de alta eficacia para la determinación de estos aldehídos, al no existir entre ambos métodos diferencias estadísticas significativas.

Por todo lo anterior, es por lo que en los capítulos posteriores sólo aplicaremos la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia, más rápida que la espectrofotométrica recomendada.

RESULTADOS DEL ANALISIS EN LAS MUESTRAS

ESTADISTICA	(A)	(B)	Conjunto
Número de Obs.	18	18	36
Media	1.45111	0.991667	1.22139
Varianza	2.10633	1.54131	1.82382
Desviación Std.	1.45132	1.24149	1.35049
Mediana	0.95	0.565	0.665

HIPOTESIS TEST PARA H0

Diff = 0	t estadist. calculado = 1.02062
vs Alt: NE	Nivel de Sig. = 0.314643
con Alpha = 0.05	NO se rechaza H0

TABLA Nº 22: Comparación mediante t-test de las concentraciones en furfural obtenidas por los métodos (A) y (B) en muestras de brandy envejecidas por soleras.**RESULTADOS DEL ANALISIS EN LAS MUESTRAS**

ESTADISTICA	(C)	(B)	Conjunto
Número de Obs.	18	18	36
Media	40.4811	35.555	38.0181
Varianza	1225.09	1127	1176.05
Desviación Std.	35.0013	33.5708	34.2935
Mediana	26.89	23.105	24.425

HIPOTESIS TEST PARA H0

Diff = 0	t estadist. calculado = 0.430937
vs Alt: NE	Nivel de Sig. = 0.669234
con Alpha = 0.05	NO se rechaza H0

TABLA Nº 23: Comparación mediante t-test de las concentraciones en 5-Hmf obtenidas por los métodos (C) y (B) en muestras de brandy envejecidas por soleras.**RESULTADOS DEL ANALISIS EN LAS MUESTRAS**

ESTADISTICA	(A)	(B)	Conjunto
Número de Obs.	20	20	40
Media	6.55	5.3895	5.96975
Varianza	30.9634	24.5454	27.7544
Desviación Std.	5.56448	4.95433	5.26824
Mediana	4.575	3.15	4.405

HIPOTESIS TEST PARA H0

Diff = 0	t estadist. calculado = 0.696593
vs Alt: NE	Nivel de Sig. = 0.490297
con Alpha = 0.05	NO se rechaza H0

TABLA Nº 24: Comparación mediante t-test de las concentraciones en furfural obtenidas por los métodos (A) y (B) en muestras de brandy envejecidas por el método tradicional.**RESULTADOS DEL ANALISIS EN LAS MUESTRAS**

ESTADISTICA	(C)	(B)	Conjunto
Número de Obs.	20	20	40
Media	30.8811	26.534	28.7075
Varianza	494.213	494.078	494.145
Desviación Std.	22.2309	22.2279	22.2294
Mediana	23.71	18.03	21.295

HIPOTESIS TEST PARA H0

Diff = 0	t estadist. calculado = 0.61839
vs Alt: NE	Nivel de Sig. = 0.540008
con Alpha = 0.05	NO se rechaza H0

TABLA Nº 25: Comparación mediante t-test de las concentraciones en 5-Hmf obtenidas por los métodos (C) y (B) en muestras de brandy envejecidas por el método tradicional.

III.6. ENVEJECIMIENTO

A.- EVOLUCION EN EL CONTENIDO EN ALDEHIDOS FURANICOS PARA AGUARDIENTES SOMETIDOS A DIFERENTES PROCESOS DE ENVEJECIMIENTO

En este capítulo se pretende hacer un estudio de la evolución de los aldehídos furánicos a lo largo de un período de tiempo y en función del tipo de proceso usado en el envejecimiento del aguardiente, tipo de madera de roble usada en la fabricación del barril y antigüedad del mismo.

Son muchos los estudios realizados sobre la influencia de las condiciones de envejecimiento en la composición química del aguardiente. ONISHI, M. y col., (1977) ponen de manifiesto la influencia de la especie de roble usada en el envejecimiento del aguardiente. Los compuestos derivados de la madera de roble y que son extraídos por el aguardiente, eran cuantitativamente menores en aquellos aguardientes envejecidos en barril de roble americano que en aquellos que lo fueron en barril de roble francés.

PONTALLIER, P. y col., (1982) muestra la influencia tanto de la especie de roble usada en la elaboración del barril como de las diferentes técnicas usadas en la elaboración del mismo, respecto a las características organolépticas del aguardiente.

De igual forma, PUECH, J.L. y col., (1985) estudian también la influencia de la antigüedad del barril en la composición química final del aguardiente en cuanto al extracto seco, taninos y ligno-complejos, encontrando cantidades significativamente mayores de estos compuestos en los aguardientes que fueron envejecidos en barriles nuevos que en aquellos que lo hicieron en barriles usados.

Asimismo, y a lo largo de doce años, comprobaron como en ambas series a medida que avanzaba el tiempo, se iban produciendo menores extracciones de estos productos como consecuencia del agotamiento del barril.

ROUS, C. y col., (1983) evidenciaron grandes diferencias sensoriales entre vinos blancos envejecidos en barril de roble francés y en barril de roble americano. Diferencias sensoriales motivadas por las distintas curvas de extracción que muestran los aguardientes envejecidos en uno y otro tipo de barril.

A las mismas conclusiones llegó SALAGOTY, M.H. (1987) cuando al estudiar la escopoletina como marcador de la conservación en barriles de roble, vió como éste compuesto, además de los aldehídos aromáticos, presentaba concentraciones mayores en aquellos vinos y aguardientes envejecidos en barriles nuevos que en los que lo fueron en barriles viejos.

La única cita encontrada y que hace referencia a los diferentes procesos de envejecimiento la tiene DELGADO, T. y col., (1987). En ella estudian aldehídos y ácidos fenólicos en once muestras comerciales de brandy y entre las cuales existen seis envejecidas por el método habitual francés, y el resto por el método de soleras. Sin embargo, no hacen una comparación entre las concentraciones de estos aldehídos en uno y otro sistema, y por tanto no muestran la influencia de los diferentes procedimientos de envejecimiento en relación a su composición química y características organolépticas finales. También ponen de manifiesto la existencia de diferencias en cuanto a las concentraciones de ácidos y aldehídos fenólicos presentes en los brandies, según la especie de la madera usada para fabricar los barriles, y según la antigüedad y uso de estos.

A.1. Envejecimiento por el procedimiento estático tradicional

1.- Muestras analizadas

Se ha dispuesto de una serie de aguardientes cuyo envejecimiento estuvo controlado en todo momento. Se controló el período de estancia en el barril, el tipo de roble usado en su fabricación, el quemado (constante a 180 °C) o no de las duelas del barril, la antigüedad y uso de la barrica, así como la genuinidad de su proceso de envejecimiento.

Por otro lado, se controló también la no adición de caramelo como colorante a estos aguardientes.

Atendiendo a estas características se agruparon las muestras en tres series:

- Serie A
- Serie B
- Serie C

Dentro de cada serie, distinguimos a su vez, el tipo de roble usado en la elaboración de la barrica:

- roble francés del Limousin
- roble americano de Kentucky

La serie A estaba integrada por aquellos aguardientes cuyo envejecimiento se había conseguido mediante el uso de barricas de roble nuevas y de duelas quemadas.

La serie B la integraban los aguardientes envejecidos en barriles que habían sido usados con anterioridad para envejecer otros aguardientes durante cinco años, y cuyas duelas fueron quemadas durante el proceso de cintrado del barril.

La serie C la constituían aquellos aguardientes que fueron envejecidos en barriles nuevos pero de duelas no quemadas.

El período de envejecimiento de estos aguardientes comprende cinco años (0 - 5), entendiéndose por año cero, el momento inicial en el que fué introducido el aguardiente en la barrica para envejecer. Los controles en cada una de las muestras se realizaron con periodicidad anual, es decir, se tomaron muestras en los tiempos 0 (año cero), 1 (primer año), 2, 3, 4 y 5.

La Tabla Nº 26 muestra un resumen de las características de las muestras usadas para este estudio.

TIPOS DE ROBLE USADOS EN LA ELABORACION DEL BARRIL

Serie A (nuevo y quemado)	Limousin	Roble francés del	Roble americano de Kentucky
Serie B (quemado con cinco años de antigüedad)	Limousin	Roble francés del	Roble americano de Kentucky
Serie C (nuevo sin quemar)	Limousin	Roble francés del	Roble americano de Kentucky

TABLA Nº 26: Tipos de roble y barriles usados en el envejecimiento de los aguardientes estudiados en este capítulo.

2.- Metodología seguida en la determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural

Como hasta ahora, se ha seguido la Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (C.L.A.E.).

La instrumentación y metodología usada en este estudio es idéntica a la usada hasta ahora para CLAE.

Como siempre, las muestras antes de ser inyectadas en el cromatógrafo fueron filtradas a través de filtros Millipore® de 0.45 µm de diámetro de poro.

La Figura Nº 38 muestra uno de los cromatogramas obtenidos tras la inyección de una de las muestras.

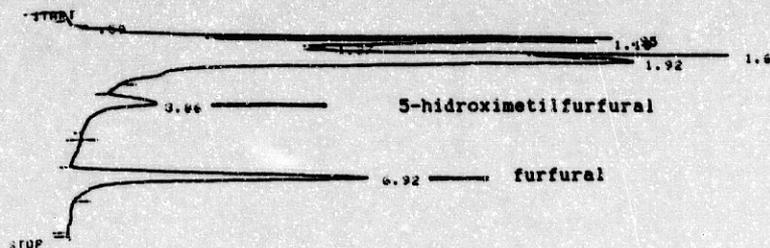


FIGURA Nº 38: Cromatograma de una muestra de aguardiente correspondiente a la serie A.

3.- Resultados obtenidos y Discusión

Las Tablas Nº 27 y Nº 28 muestran los resultados obtenidos tras la inyección de las muestras correspondientes a cada una de las series estudiadas.

Tiempo (años)	ROBLE FRANCÉS DEL LIMOUSIN					
	Serie A		Serie B		Serie C	
	Furfural	5-HMP	Furfural	5-HMP	Furfural	5-HMP
0	3.29	-	3.29	-	3.29	-
1	10.97	2.52	3.55	-	3.30	-
2	10.64	2.59	3.54	-	2.90	-
3	10.94	2.59	3.17	0.45	2.94	0.29
4	11.84	2.56	3.22	0.39	3.08	0.32
5	10.22	2.57	3.29	0.43	3.07	0.31

TABLA Nº 27: Concentraciones en furfural y 5-hidroxi metilfurfural encontradas para las series A, B y C de roble francés del Limousin (Resultados expresados en mg/L).

Tiempo (años)	ROBLE AMERICANO DE KENTUCKY					
	Serie A		Serie B		Serie C	
	Furfural	5-HMP	Furfural	5-HMP	Furfural	5-HMP
0	3.29	-	3.29	-	3.29	-
1	7.10	3.15	4.14	-	3.20	-
2	8.30	4.20	4.63	2.14	3.19	-
3	8.27	4.19	4.64	2.12	3.20	-
4	8.45	4.30	4.60	2.20	3.59	-
5	8.40	4.25	4.61	2.29	3.64	0.45

TABLA Nº 28: Concentraciones en furfural y 5-hidroxi metilfurfural encontradas para las series A, B y C de roble americano de Kentucky (Resultados expresados en mg/L).

Las concentraciones medias en furfural y 5-hidroxi metilfurfural encontradas en el aguardiente de la serie A y envejecido en roble del Limousin fueron de 9.65 y 2.14 mg/L respectivamente, mientras que para el mismo aguardiente envejecido en barril de roble de Kentucky, las concentraciones medias encontradas fueron de 7.30 mg/L para el furfural y 3.35 mg/L para el 5-hidroxi metilfurfural.

En ambos casos se pudo apreciar un aumento considerable para los dos compuestos furánicos durante el primer año de envejecimiento, para seguir con un contenido constante durante los cuatro años posteriores.

Para el aguardiente de la serie B y del roble del Limousin, las concentraciones medias encontradas fueron de 3.34 mg/L para el furfural y de 0.21 mg/L para el 5-hidroxi metilfurfural. Para el barril de roble de Kentucky, las concentraciones medias de furfural y 5-hidroxi metilfurfural fueron de 4.32 mg/L y 1.46 mg/L respectivamente. La antigüedad de los barriles y el uso anterior de los mismos, en ambos casos, podría explicar el menor contenido en estos compuestos.

Para el aguardiente conservado en los barriles de la serie C, las concentraciones medias de furfural y 5-hidroxi metilfurfural a lo largo de estos cinco años fueron de 3.09 y 0.15 mg/L respectivamente para el roble del Limousin y de 3.35 y 0.075 mg/L respectivamente para el roble de Kentucky.

Igualmente podemos apreciar en todas las muestras estudiadas como las concentraciones de furfural siempre son mayores que las de 5-hidroxi metilfurfural, lo cual nos da una relación furfural/5-hidroxi metilfurfural superior a la unidad.

Con los datos de las tablas anteriores se han construido las Figuras Nº 39, Nº 40 y Nº 41, donde se aprecian claramente las diferencias encontradas para una misma serie en los dos tipos de roble estudiados, en cuanto a su contenido en aldehídos furánicos.

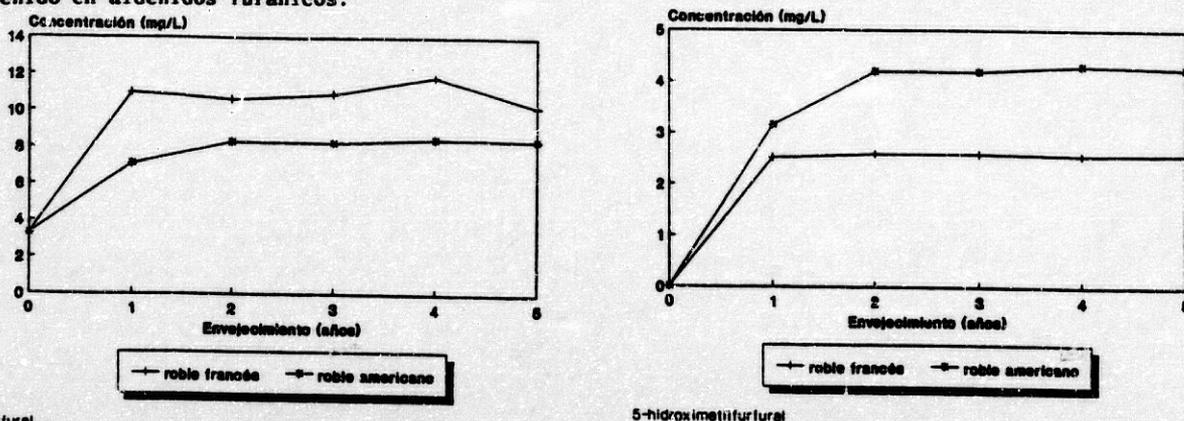
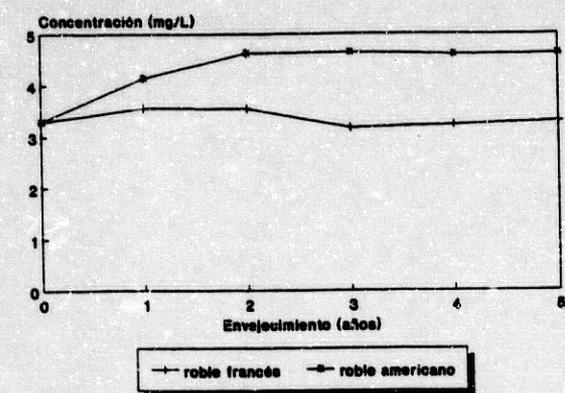
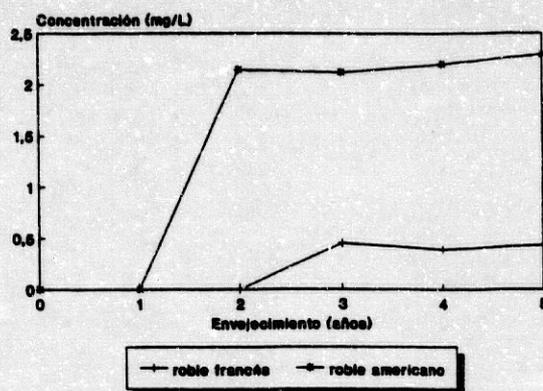


FIGURA Nº 39: Aldehídos furánicos presentes en aguardientes envejecidos según la serie A.

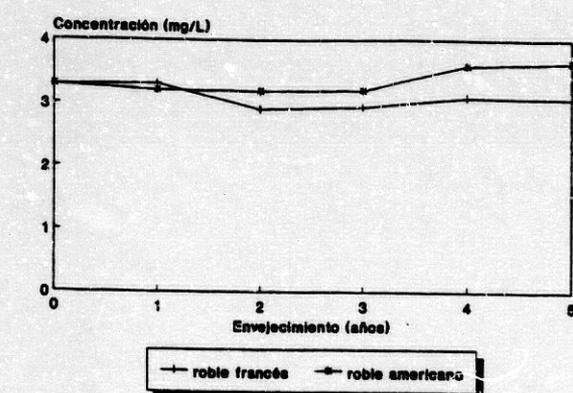


furfural

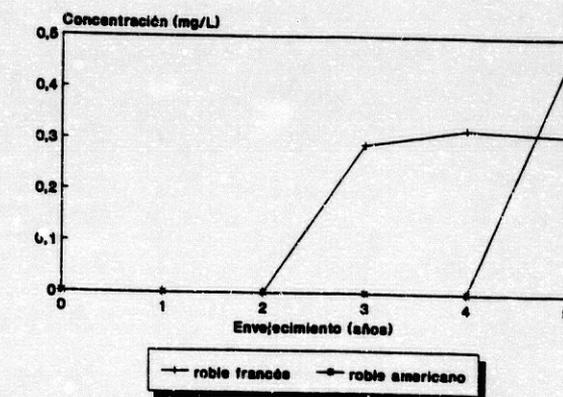


5-hidroxi metilfurfural

FIGURA Nº 40: Aldehidos furánicos presentes en aguardientes envejecidos según la serie B.



furfural



5-hidroxi metilfurfural

FIGURA Nº 41: Aldehidos furánicos presentes en aguardientes envejecidos según la serie C.

A.2. Envejecimiento por el procedimiento dinámico de soleras

1.- Muestras analizadas

Al igual que en el apartado A, se ha dispuesto de muestras de aguardientes que estuvieron controlados durante su envejecimiento.

En este caso se conocía el tipo de sistema usado en el envejecimiento, sistema de soleras, tiempo aproximado que estuvo envejeciendo en el sistema de criaderas y soleras, tipo de roble empleado en la construcción de las barricas utilizadas para el envejecimiento, características de antigüedad y elaboración de dichas barricas, así como la no adición de caramelo.

A estos aguardientes se les ha agrupado en la denominada serie D, cuyas características aparecen en la Tabla Nº 29.

CARACTERÍSTICAS DE LA SERIE D

Proceso de envejecimiento	SOLERAS
Roble usado en los barriles	AMERICANO
Tiempo de envejecimiento	0, 1, 2, 3, 4 y 5 años
Tecnología del barril	QUEMADO
Características del barril	USADO
Adición de caramelo	NEGATIVA

TABLA Nº 29: Características de envejecimiento en los aguardientes de la serie D.

2.- Metodología seguida en la determinación de furfural y 5-hidroxi metilfurfural.

Se ha empleado la cromatografía líquida de alta eficacia para la determinación de aldehidos furánicos en las muestras de la serie D.

Se realizó una inyección directa de las muestras previa filtración a través de membranas de 0.45 µm de tamaño de poro. Las condiciones experimentales utilizadas en el desarrollo cromatográfico son las empleadas hasta ahora.

La Figura Nº 42 muestra un cromatograma de una de las muestras analizadas en este apartado.

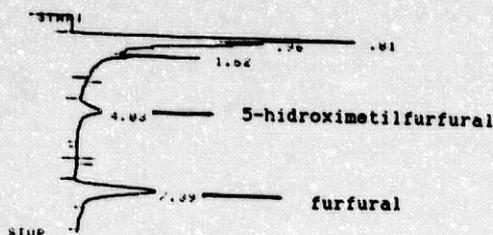


FIGURA Nº 42: Cromatograma obtenido tras la inyección de una de las muestras de la serie D.

3.- Resultados obtenidos y Discusión

La Tabla Nº 30 muestra los resultados obtenidos en este apartado.

SERIE D		
Años	furfural (mg/L)	5-hidroxi metilfurfural (mg/L)
0	3.29	-
1	3.87	-
2	4.19	-
3	4.09	-
4	4.13	0.52
5	4.19	0.65

TABLA Nº 30: Resultados obtenidos en la determinación de aldehídos furánicos en la serie D.

Podemos apreciar como el aguardiente de partida, idéntico al de las series A, B y C, lleva 3.29 mg/L de furfural y nada de 5-hidroxi metilfurfural, y que el contenido en estos dos aldehídos furánicos del aguardiente comienza a aumentar durante el envejecimiento.

Para el furfural se nota un incremento en el primer año de control pasando de 3.29 mg/L a 3.87 mg/L.

Se produce en este momento un incremento hasta alcanzar el segundo año, a partir del cual se mantiene prácticamente constante con una concentración media de 4.15 mg/L durante los años 2, 3, 4 y 5.

En el caso del 5-hidroxi metilfurfural, se aprecia como el aguardiente de partida carece de este aldehído furánico, y como su presencia no se detecta hasta el cuarto año de envejecimiento, dándose un pequeño incremento hasta el quinto año. En este período de tiempo pasa de 0.52 a 0.65 mg/L.

De nuevo nos encontramos con claras zonas de incremento y posterior meseta a partir del segundo año de envejecimiento para el furfural y sólo con una zona de incremento en el caso del 5-hidroxi metilfurfural a partir del cuarto año de estancia en el sistema.

El aumento de ambos aldehídos furánicos en el aguardiente después de un cierto tiempo de envejecimiento, pone de manifiesto una vez más, el origen de estos compuestos furánicos, principalmente por extracción de la madera del barril.

La relación furfural/5-hidroxi metilfurfural en estas muestras y en aquellas donde se puede realizar, es superior a la unidad, tal y como viene sucediendo en toda la serie de aguardientes control estudiados.

Este aspecto, además de las zonas de incremento y meseta que se presentan, se pueden observar claramente en la Figura Nº 43.

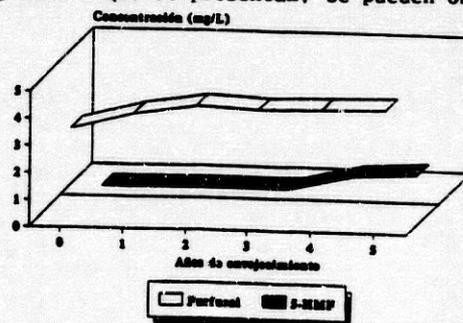


FIGURA Nº 43: Aldehídos furánicos de la serie D.

A.3. Influencia de la madera de roble y del proceso de envejecimiento sobre el contenido furánicos

en aldehídos

1.- Influencia de la madera

Las series A, B, C y D representan aguardientes envejecidos en distintos tipos de barril y roble.

Si realizamos una comparación serie a serie entre las muestras envejecidas en roble de Limousin y las que lo hicieron en roble de Kentucky, podemos establecer la influencia que sobre la extracción de aldehídos furánicos tiene la madera con la que se construyó el barril donde envejece el aguardiente.

Así, si comparamos la serie A del Limousin con la misma serie de Kentucky, apreciamos como pasa de 9.65 mg/L de concentración media en el roble francés, a 7.30 mg/L de media en el roble americano y para el furfural. Con el 5-hidroxi metilfurfural se pasa de 2.14 mg/L a 3.35 mg/L de media entre entre el roble francés y el roble de Kentucky.

En ambos casos las extracciones son muy parecidas, si bien, en un caso el contenido en furfural es algo mayor en el roble del Limousin que en el roble de Kentucky, mientras que para el 5-hidroxi metilfurfural las extracciones son algo mayores en el roble americano frente a las obtenidas en el roble francés.

Para las serie de barriles usados (series B) se observa un pequeño aumento en la extracción media de furfural en el roble americano, 4.32 mg/L, frente a la extracción media que se aprecia en el roble francés del Limousin, 3.34 mg/L.

La extracción media en el caso del 5-hidroxi metilfurfural fue de 1.46 mg/L en el roble de Kentucky contra los 0.21 mg/L encontrados en el roble francés.

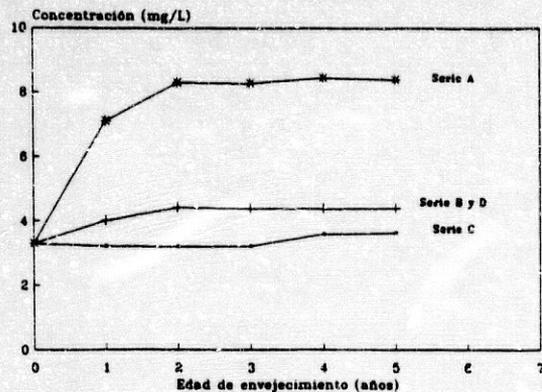
En estos dos casos, y al igual que ocurría para la serie A, las extracciones medias encontradas difieren entre sí, aunque estas diferencias son menores a las encontradas anteriormente para la otra serie.

En la serie C, es donde se encuentran menores diferencias entre ambos tipos de roble. Las extracciones medias encontradas fueron de 3.35 mg/L y 3.1 mg/L para el roble del Limousin y Kentucky respectivamente, en el caso del furfural. Para el 5-hidroximetilfurfural, se obtienen unas concentraciones de 0.15 mg/L para el roble del Limousin y de 0.075 mg/L para el roble de Kentucky.

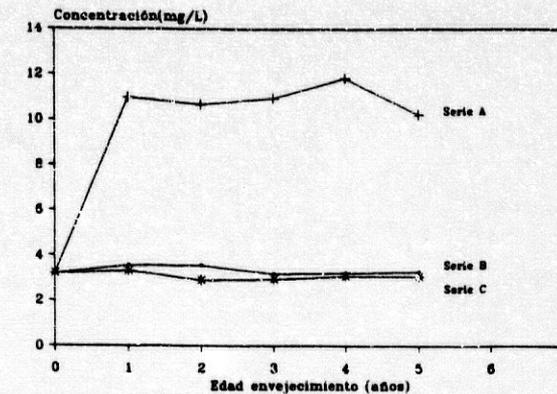
En definitiva, al observar los resultados, encontramos que existen diferencias cuantitativas en las concentraciones de aldehídos furánicos hallados en los aguardientes envejecidos en roble francés del Limousin, y en aquellos que lo hicieron en roble americano de Kentucky, si bien, estas diferencias se van haciendo cada vez menores a medida que se pasa de la serie A a la serie B y la serie C.

Según nuestros resultados, podemos observar la influencia que tiene la especie de roble empleada en la elaboración del barril, sobre el contenido en aldehídos furánicos de los aguardientes en ellos envejecidos.

Estos resultados aparecen reflejados claramente en las Figuras Nº 44 y Nº 45.

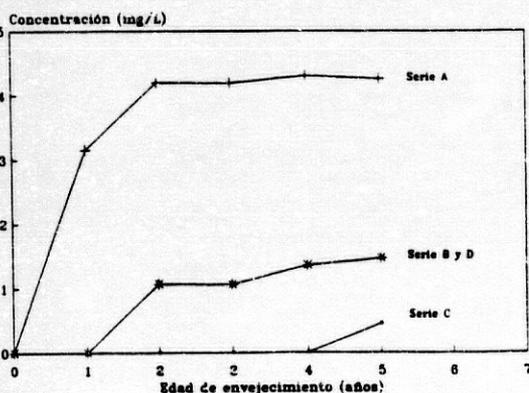


Roble de Kentucky

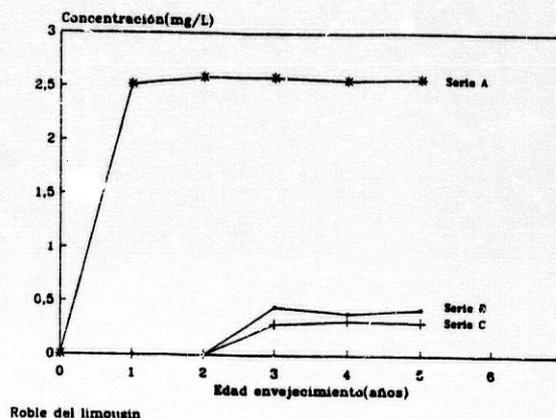


Roble del limousin

FIGURA Nº 44: Diferentes extracciones de furfural según el tipo de roble empleado en la elaboración del barril.



Roble de kentucky



Roble del limousin

FIGURA Nº 45: Diferentes extracciones de 5-hidroximetilfurfural según el tipo de roble empleado en la elaboración del barril.

Por otro lado y en este mismo apartado, podemos observar la influencia del quemado y uso de los barriles, sobre el contenido de aldehídos furánicos.

Existen diferencias entre las series A, B, C y D de cada uno de los tipos de roble estudiados, ya que representan envejecimiento en barriles con distintas características tecnológicas.

Así, un factor que influye en el contenido de furfural y 5-hidroximetilfurfural, es el proceso de quemado al que ha sido sometida la cara interna de los barriles de la serie A. Se observa que el aguardiente conservado en barriles de esta serie tiene una concentración media en compuestos furánicos a lo largo de estos cinco años de 11.22 mg/L, mientras que este mismo aguardiente conservado en barril de la serie C, presenta una concentración media de 3.34 mg/L.

Otro factor que condiciona la aparición de aldehídos furánicos es la antigüedad y uso de la barrica empleada. Se ha observado que los aguardientes conservados en barriles nuevos (serie A) y en los ya utilizados (series B y D), presentan diferencias notables en el contenido de estos aldehídos, pasando de 11.22 mg/L de concentración media en la serie A, a 4.50 mg/L en la series B y D.

En la Figura Nº 46 podemos apreciar la influencia de las características del barril, sobre la extracción de compuestos furánicos.

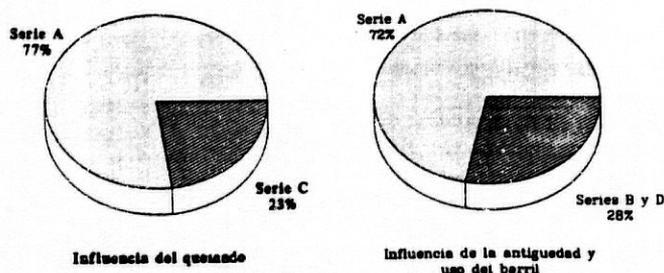


FIGURA Nº 46: Influencia de las características del barril sobre el contenido en aldehídos furánicos del aguardiente.

2.- Influencia del proceso de envejecimiento

Otro aspecto interesante a estudiar es la influencia del tipo de proceso de envejecimiento empleado en la maduración del aguardiente: envejecimiento estático y envejecimiento por soleras.

Para ello hemos dispuesto de los datos obtenidos en el estudio del envejecimiento por el procedimiento dinámico de soleras (apartado B) y de los datos del apartado A correspondiente al envejecimiento por el procedimiento estático tradicional.

En este estudio consideramos la concentración media de compuestos furánicos en cada una de las series mencionadas para un mismo año

La Tabla Nº 31 nos muestra las concentraciones de aldehídos furánicos empleadas en esta comparación.

Envejecimiento (años)	Serie tradicional		Serie soleras	
	Furfural	5-HMP	Furfural	5-HMP
0	3.29	-	3.29	-
1	5.38	0.95	3.87	-
2	5.53	1.49	4.19	-
3	5.52	1.61	4.09	-
4	5.80	1.63	4.13	0.52
5	5.54	1.72	4.19	0.52

TABLA Nº 31: Concentraciones de aldehidos furánicos empleadas en la comparación entre el envejecimiento tradicional y el sistema de soleras (Resultados expresados en mg/L).

En ambas series se observa un incremento en las extracciones de furfural con el transcurrir de los años manteniendo una constancia en los cinco años controlados.

Sin embargo, al comparar cada serie entre sí, podemos apreciar como la media de furfural durante los cinco años es de 5.55 mg/L en la serie tradicional, mientras que para el mismo compuesto en la serie D (soleras), la media fué de 4.10 mg/L.

Para el 5-hidroximetilfurfural los incrementos se observan desde el primer año de envejecimiento en la serie tradicional, mientras que en la serie de soleras el 5-Hmf aparece a partir del cuarto año.

En estos cinco años la concentración media encontrada de 5-hidroximetilfurfural en la serie tradicional fué de 1.48 mg/L y de 0.23 mg/L para la serie de soleras.

A la vista de estos resultados, podemos destacar la clara influencia que el proceso de envejecimiento puede tener sobre el contenido en aldehidos furánicos de los aguardientes envejecidos por uno u otro sistema. El proceso de envejecimiento va a condicionar la mayor o menor presencia de aldehidos furánicos en los aguardientes envejecidos. En la Figura Nº 47 se pueden observar las diferencias, en cuanto al contenido de aldehidos furánicos, existentes entre los aguardientes envejecidos por un sistema u otro.

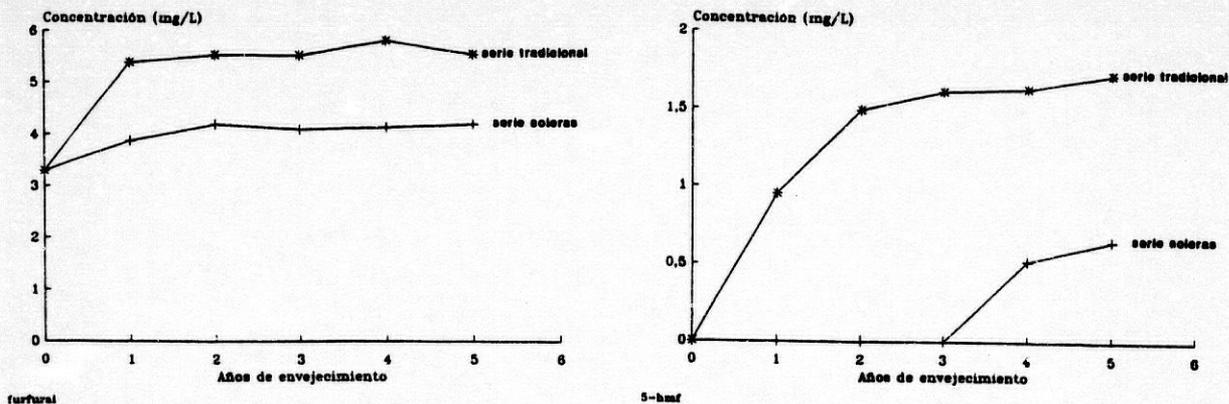


FIGURA Nº 47: Influencia del proceso de envejecimiento en la extracción de aldehidos furánicos.

B.- ESTUDIO DE LA COMPOSICION EN ALDEHIDOS FURANICOS PARA MACERADOS DE AGUARDIENTES EN DISTINTOS TIPOS DE VIRUTAS.

Como ya quedó expuesto en el apartado de introducción, el uso de extractos de virutas de roble (PUECH, J.L. 1984, 86, 87, 88a, 88b, 89, y SARNI, F. 1990 entre otros) y de cáscaras de almendra (DELGADO, T. 1987), ha sido un método muy utilizado en la investigación de los procesos de envejecimiento que sufren los aguardientes de vino. Nosotros, hemos realizado un estudio a fin de establecer las condiciones óptimas para la obtención de macerados de virutas en aguardiente de vino que permitan conocer de forma representativa los contenidos en aldehídos furánicos de dichos macerados e intentar utilizarlos como marcadores de envejecimiento. También, se ha seguido la evolución en aldehídos furánicos de tres macerados de aguardiente, elaborados con las condiciones óptimas encontradas anteriormente, durante un período de 24 meses. Asimismo, se ha dispuesto de un sistema de agitación para los macerados, para de esta forma, comprobar la posible influencia que sobre la extracción de aldehídos furánicos tiene la agitación. Estos tres apartados constituyen este capítulo.

B.1. Condiciones de maceración

1.- Determinación del tamaño óptimo de las virutas.

*** Preparación de las muestras**

En la preparación de los macerados empleados en este apartado se utilizaron virutas de distintos tipos:

- virutas de roble francés
- virutas de roble americano
- virutas de cáscara de almendra

Fueron clasificadas por tamaños mediante el uso de tamices. Así se obtuvieron virutas de 1, 3, 5, 10, 15 y >20 mm.

Una parte alícuota de cada tipo de virutas se llevan a frascos de 100 mL de capacidad y se les añade 100 mL de aguardiente de vino de graduación alcohólica igual a 55% V/V, que según estudios de PUECH, J.L. (1984) es la que produce una mayor extracción de los componentes de la madera de roble.

Los macerados así obtenidos se agitan suavemente durante quince minutos con el fin de favorecer una rápida extracción de los compuestos furánicos presentes en la madera.

*** Método**

De cada macerado se extraen 6 mL, se filtran a través de membranas Millipore^R y se toman 15 µL del filtrado de los distintos macerados. Se inyectan en el cromatógrafo en las mismas condiciones experimentales utilizadas hasta ahora.

La Figura Nº 48 muestra un cromatograma obtenido durante el estudio de este apartado.

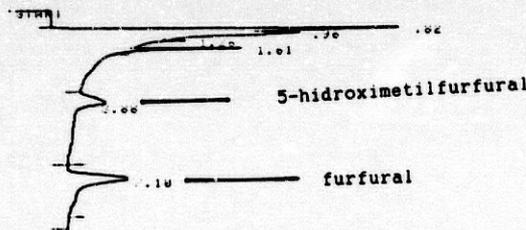


FIGURA Nº48: Cromatograma obtenido durante la determinación del tamaño óptimo de viruta.

*** Resultados obtenidos y discusión**

Los resultados obtenidos en este estudio se observan en las Tablas Nº 32, Nº 33 y Nº 34.

Se puede ver como en los tres tipos de virutas utilizados la extracción de los componentes furánicos va en aumento hasta llegar a un tamaño de 5 mm. A partir de dicho tamaño el rendimiento disminuye llegando incluso a ser nulo.

Esto se puede explicar por que el aumento de superficie que tiene lugar como consecuencia del fraccionamiento de la madera en virutas, ocasiona una mayor extracción de aldehídos furánicos.

La relación furfural/5-hidroximetilfurfural es superior a la unidad para las series de roble americano y de roble francés, mientras que para la serie de virutas de cáscara de almendra la relación anterior es inferior a la unidad.

Con los datos de las tablas anteriores, se han construido las figuras Nº49, Nº50 y Nº51.

VIRUTAS DE ROBLE FRANCÉS

Diámetro mm	Concentración (mg/L)	
	Furfural	5-HMP
1	ind.	ind.
3	0.46	0.44
5	0.55	0.50
10	0.45	0.42
15	ind.	ind.
20	ind.	-

TABLA Nº 32: Resultados obtenidos en la determinación del tamaño óptimo de las virutas de roble francés

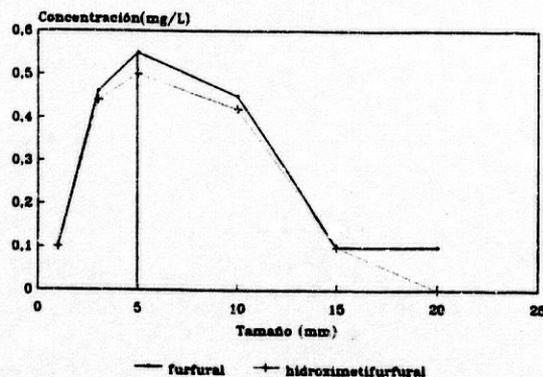


FIGURA Nº 49: Tamaño óptimo de las virutas de roble francés

VIRUTAS DE ROBLE AMERICANO

Diámetro mm	Concentración (mg/L)	
	Furfural	5-HMF
1	0.72	ind.
3	0.81	0.43
5	0.95	0.50
10	0.70	0.46
15	0.41	ind.
20	0.43	ind.

TABLA Nº 33: Resultados obtenidos en la determinación del tamaño óptimo de las virutas de roble americano.

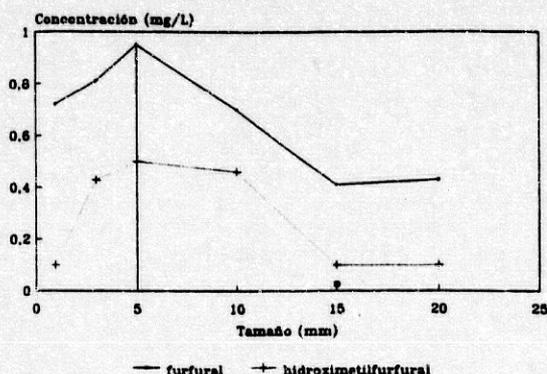


FIGURA Nº 50: Tamaño óptimo de las virutas de roble americano

VIRUTAS DE CÁSCARAS DE ALMENDRA

Diámetro mm	Concentración (mg/L)	
	Furfural	5-HMF
1	ind.	ind.
3	ind.	ind.
5	ind.	0.30
10	-	0.26
15	-	0.26
20	-	-

TABLA Nº 34: Resultados obtenidos en la determinación del tamaño óptimo de las virutas de cáscaras de almendra.

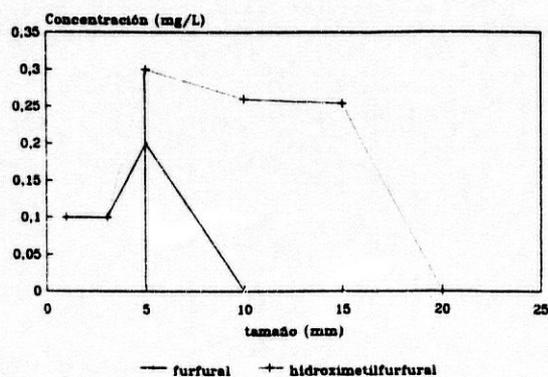


FIGURA Nº 51: Tamaño óptimo de las virutas de cáscaras de almendra

2.- Determinación de la temperatura óptima de quemado

* Preparación de las muestras

Los macerados de virutas empleados en esta determinación corresponden igualmente a virutas de roble francés, de roble americano y de cáscaras de almendra.

Las virutas cuyo tamaño óptimo hemos determinado, van a ser sometidas a un proceso de calefacción en horno eléctrico a temperaturas controladas de 1200C, 1400C, 1500C, 1800C, 2150C, 2200C y 2500C. Para ello se toman unos gramos de virutas de tamaño 5 mm, se reparten uniformemente en una bandeja para horno con el fin de conseguir un calentamiento homogéneo y se calientan durante tres horas a las temperaturas antes mencionadas.

Pasado este tiempo, elegido al azar con el propósito de fijar este parámetro, se sacan las virutas y se dejan enfriar. Se repite la operación con cada tipo de virutas y con cada temperatura.

Finalizada esta etapa de calefacción se toman unos gramos de virutas de cada grupo y se preparan los macerados con aguardiente de vino de 55% V/V, como se hizo en el apartado anterior. Se agitan suavemente durante quince minutos antes de ser inyectados en el cromatógrafo.

* Método

Siguiendo la metodología del apartado anterior, se toman 15 µL del filtrado y se inyectan en el CLAE en las condiciones experimentales ya descritas.

La Figura Nº 52 nos muestra un cromatograma obtenido tras la inyección de estos macerados.

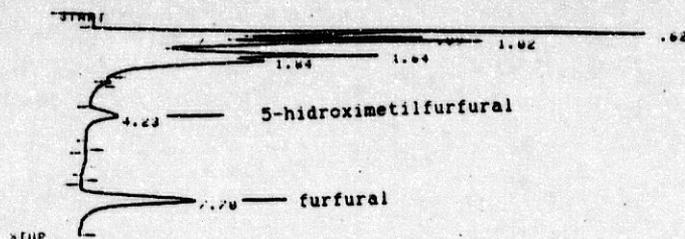


FIGURA NO 52: Cromatograma obtenido durante la determinación de la temperatura óptima de quemado.

*** Resultados obtenidos y discusión**

Los resultados obtenidos en este estudio se pueden observar en las Tablas NO 35, NO 36 y NO 37.

Igual que sucedía en la determinación del tamaño óptimo de viruta, se aprecia un aumento en las extracciones a medida que aumenta la temperatura de calefacción. Se alcanza un máximo de extracción a la temperatura de calefacción de 180°C para las virutas de roble francés y roble americano en el caso del furfural y 5-hidroxi metilfurfural, mientras que en el caso de las virutas de cáscaras de almendra, los máximos de extracción se desdoblaron a 140°C para el 5-hidroxi metilfurfural y a 220°C para el furfural. A partir de esas temperaturas de calefacción las extracciones comienzan a disminuir, hasta en algunos casos, llegar a hacerse nulas.

Esta disminución en las extracciones puede ser consecuencia de una degradación o ruptura de las moléculas objeto de estudio a partir de temperaturas de calefacción muy elevadas.

El aumento de extracción a partir de 120°C, hasta llegar al máximo correspondiente, puede deberse al fenómeno de termolisis de celulosa y hemicelulosa de la madera.

La relación furfural/5-hidroxi metilfurfural en estas series sigue siendo superior a la unidad para las virutas de roble francés y para las virutas de roble americano, sin embargo en el caso de las virutas de cáscaras de almendra, dicha relación aumenta hasta hacerse superior a la unidad (al contrario que sucedía en el apartado A.1.).

Las Figuras NO 53, NO 54 y NO 55 representan los datos de las tablas anteriores.

VIRUTAS DE ROBLE FRANCÉS

Temperatura quemado °C	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
120	1.86	0.41
140	2.05	0.51
160	2.10	0.83
180	2.15	0.86
215	2.03	ind.
220	1.59	-
250	0.59	-

TABLA NO 35: Resultados obtenidos en la determinación de la temperatura óptima de quemado para las virutas de roble francés.

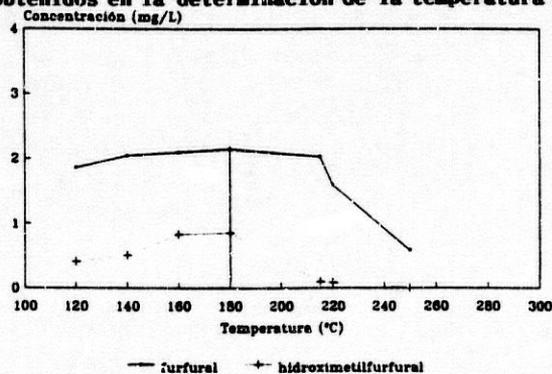


FIGURA NO 53: Temperatura óptima de quemado para las virutas de roble francés

VIRUTAS DE ROBLE AMERICANO

Temperatura quemado °C	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
120	0.63	0.36
140	0.80	0.51
160	0.76	0.63
180	1.00	0.80
215	-	-
220	-	-
250	-	-

TABLA NO 36: Resultados obtenidos en la determinación de la temperatura óptima de quemado para las virutas de roble americano

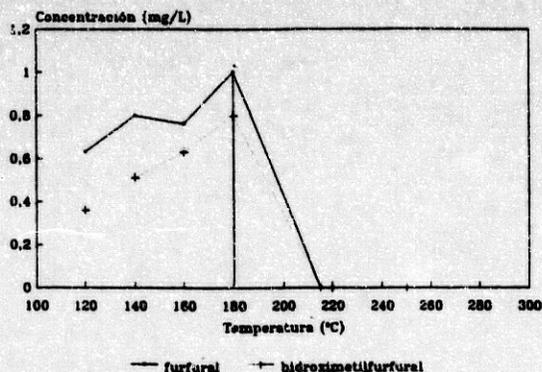


FIGURA Nº 54: Temperatura óptima de quemado para las virutas de roble americano

VIRUTAS DE CÁSCARAS DE ALMENDRA		
Temperatura quemado (°C)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
120	-	0.32
140	0.31	0.53
160	0.57	0.31
180	0.55	ind.
215	1.05	ind.
220	1.28	ind.
250	0.92	ind.

TABLA Nº 37: Resultados obtenidos en la determinación de la temperatura óptima de quemado para las virutas de cáscaras de almendra

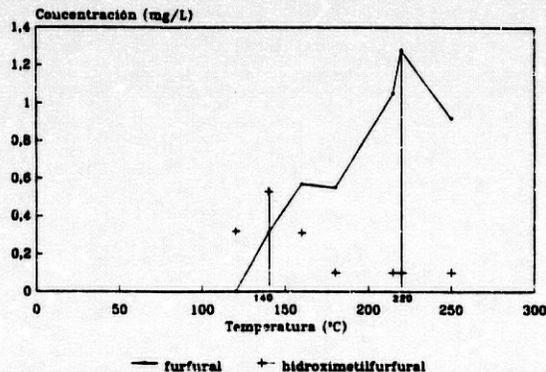


FIGURA Nº 55: Temperatura óptima de quemado para las virutas de cáscaras de almendra

3.- Determinación del tiempo óptimo de quemado

* Preparación de las muestras

En este apartado vamos a trabajar con los macerados de virutas de roble francés, roble americano y cáscaras de almendra cuyas condiciones de tamaño y quemado fijamos anteriormente.

Las virutas de tamaño óptimo se sometieron a calefacción a una temperatura fija y constante de 180°C para las virutas de roble francés y roble americano, y de 140°C y 220°C para las virutas de cáscaras de almendra, en horno eléctrico durante periodos de tiempo de 1, 2, 3, 5, 7, 10 y 15 horas para roble francés y americano, y de 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20 y 24 horas para las cáscaras de almendra.

Después de la calefacción se toman unos gramos de las virutas de cada grupo y se maceran con 100 mL de aguardiente de vino de 55% V/V. Se agitan suavemente durante quince minutos antes de ser inyectados en el cromatógrafo.

* Método

Se parte de 6 mL de cada uno de los macerados obtenidos y se filtran mediante membranas Millipore[®]. 15 µL del filtrado se inyectan en el CLAE utilizando las mismas condiciones experimentales a los empleados anteriormente. La Figura Nº 56 muestra un cromatograma de uno de los macerados estudiados en este apartado.

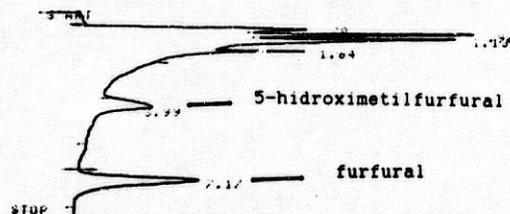


FIGURA Nº 56: Cromatograma obtenido tras la inyección de uno de los macerados estudiados en este apartado.

* Resultados obtenidos y Discusión

En las Tablas Nº 38, Nº 39 y Nº 40, se muestran las concentraciones de furfural y 5-hidroxi metilfurfural encontradas en el estudio de este apartado.

Se puede observar un aumento de las extracciones de aldehídos furánicos a medida que se incrementa el tiempo de calefacción, hasta alcanzar el máximo a las tres horas, tanto para el furfural como para el 5-hidroxi metilfurfural, en el caso de las virutas de roble francés y roble americano, y del furfural para las virutas de cáscaras de almendra.

El máximo de extracción para el 5-hidroximetilfurfural en las virutas de cáscaras de almendra, se encontró a las 15 horas de calefacción.

Las extracciones comienzan a disminuir a partir de este tiempo hasta llegar a hacerse nulas.

El origen de este aumento en las extracciones de aldehídos furánicos es idéntico al que tenía lugar al estudiar la temperatura óptima de calefacción, es decir una degradación térmica de celulosa y hemicelulosa.

De igual forma, el descenso puede deberse a la ruptura de las moléculas de compuestos furánicos formados, como consecuencia de una intensa termólisis por forzar el tiempo de calefacción (SARNI, P., 1990).

Las Figuras Nº 57, Nº 58 y Nº 59 se han construido con los datos de las tablas anteriores.

VIRUTAS DE ROBLE FRANCÉS

Tiempo quemado (h)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
1	1.86	ind. 0.30
2	1.90	0.85
3	2.15	0.75
5	1.42	ind.
7	ind.	-
10	ind.	-
15	-	-

TABLA Nº 38: Resultados obtenidos en la determinación del tiempo óptimo de quemado de las virutas de roble francés.

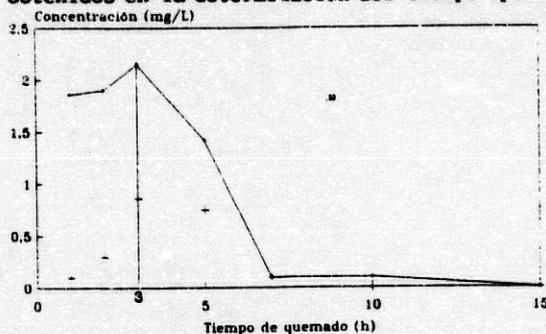


FIGURA Nº 57: Tiempo óptimo de quemado para las virutas de roble francés.

VIRUTAS DE ROBLE AMERICANO

Tiempo quemado (h)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
1	ind.	0.39
2	0.75	0.59
3	1.00	0.80
5	0.96	0.60
7	0.72	0.45
10	0.31	0.45
15	0.30	0.39

TABLA Nº 39: Resultados obtenidos en la determinación del tiempo óptimo de quemado para las virutas de roble americano.

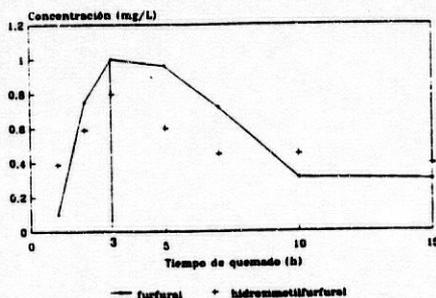


FIGURA Nº 58: Tiempo óptimo de quemado para las virutas de roble americano.

VIRUTAS DE CÁSCARAS DE ALMENDRA

Tiempo quemado (h)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
1	-	0.36
2	-	0.37
3	1.28	0.53
5	ind.	ind.
7	-	ind.
10	-	0.44
15	-	2.09
20	-	0.50
24	-	0.40

TABLA Nº 40: Resultados obtenidos en la determinación del tiempo óptimo de quemado para las virutas de cáscaras de almendra.

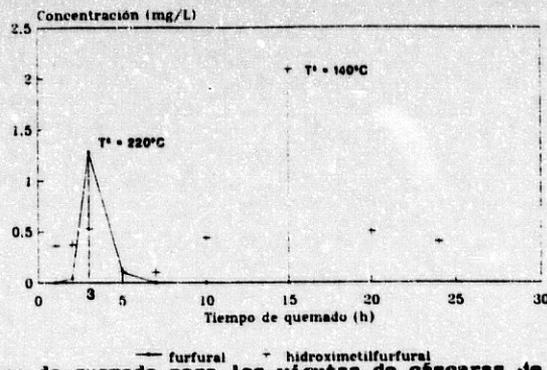


FIGURA Nº 59: Tiempo óptimo de quemado para las virutas de cáscaras de almendra.

Si comparamos los resultados obtenidos en este apartado con los encontrados en el apartado anterior, podemos apreciar como un aumento en la temperatura de calefacción provoca extracciones similares a las que se obtendrían con temperaturas inferiores pero con mayor tiempo de calefacción.

Este fenómeno se puede apreciar fácilmente en las figuras Nº60, Nº61 y Nº62.

De igual forma la relación furfural/5-hidroximetilfurfural en los macerados de virutas de roble francés y roble americano es superior a la unidad, mientras que para los macerados de cáscaras de almendra al no coincidir los máximos de extracción en un mismo tiempo de calefacción, dicha relación no es de utilidad.

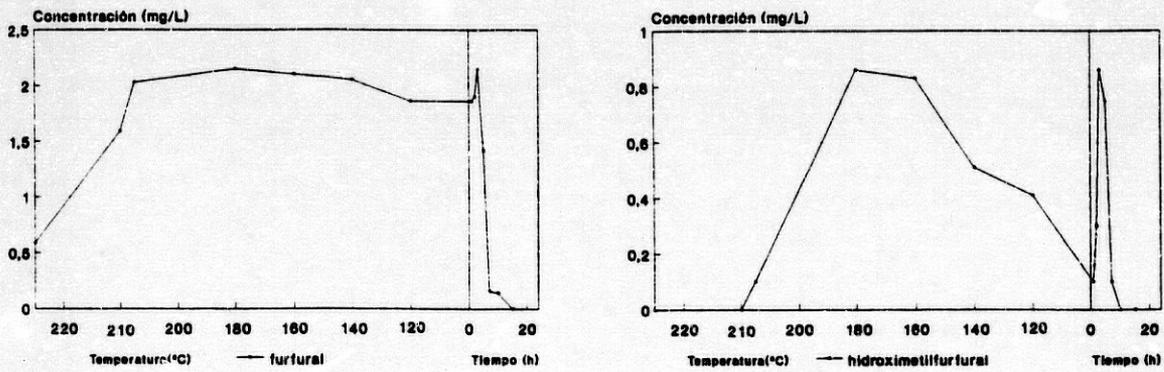


FIGURA Nº 60: Comparación temperatura-tiempo para las virutas de roble francés.

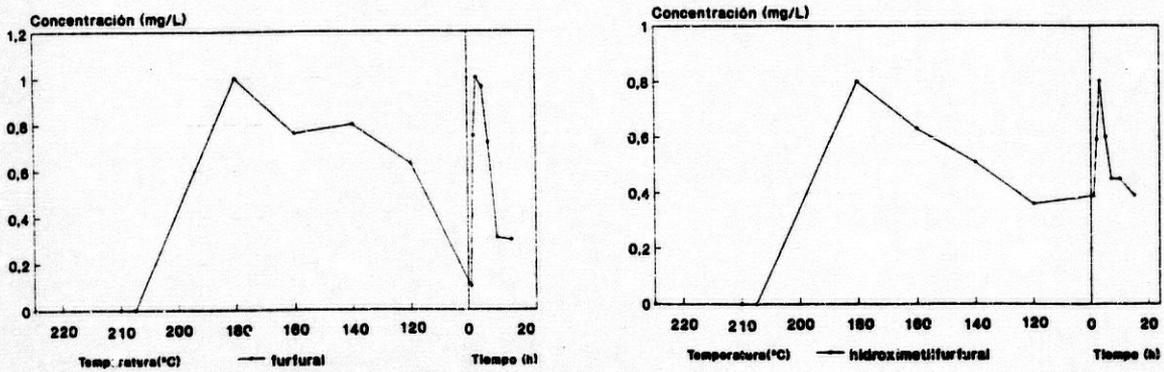


FIGURA Nº 61: Comparación temperatura-tiempo para las virutas de roble americano.

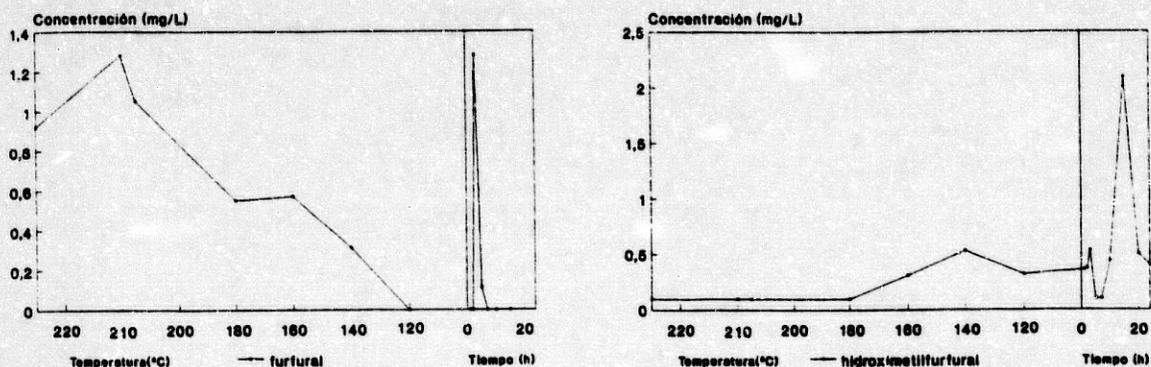


FIGURA Nº 62: Comparación temperatura-tiempo para las virutas de cáscaras de almendra.

B.2. Evolución en el contenido de aldehídos furánicos en los macerados de aguardiente durante 24 meses de envejecimiento

Una vez determinadas en el apartado anterior las condiciones óptimas de maceración, vamos a proceder a realizar un seguimiento de la evolución de la extracción de aldehídos furánicos a partir de los macerados de virutas de roble francés, roble americano y cáscaras de almendra, durante un período de tiempo de 24 meses.

De esta forma vamos a poder comprobar la influencia del tiempo de envejecimiento sobre la extracción de compuestos furánicos en los macerados de virutas.

1.- Preparación de las muestras

Las muestras de macerados se prepararon con arreglo a las condiciones óptimas de extracción de aldehídos furánicos determinadas en los apartados anteriores.

Una vez preparados se introducen en frascos de plástico de cuello estrecho y *sin agitar* se dejan estar 24 meses. Cada mes se va tomando una parte alícuota para analizarla por CLAE, en idénticas condiciones experimentales a las utilizadas hasta ahora. La Figura Nº 63 muestra alguno de los cromatogramas así obtenidos.

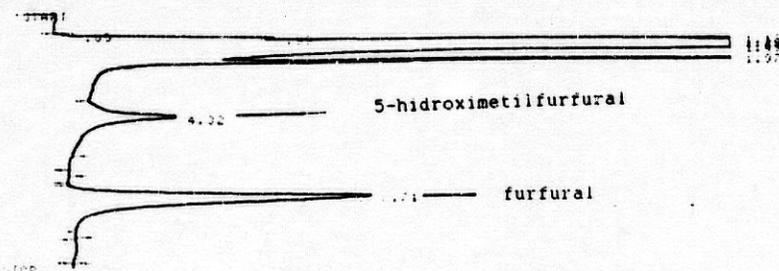


FIGURA Nº 63: Cromatograma de uno de los macerados estudiados en este apartado.

2.- Resultados obtenidos y Discusión

Con los resultados obtenidos se han realizado las Tablas Nº 41, Nº 42 y Nº 43 y las Figuras Nº 64, Nº 65 y Nº 66. En el estudio de la evolución de los aldehídos furánicos en los macerados que contenían virutas de roble francés se puede observar (Tabla Nº 41) un incremento en la concentración de furfural que se hace constante prácticamente a partir de los nueve meses de envejecimiento.

Para el tiempo de cero meses (tiempo inicial) se puede comprobar como en todos los casos las concentraciones de aldehídos furánicos encontradas en este apartado, son inferiores a las concentraciones halladas durante la determinación de las condiciones óptimas de maceración para ese mismo tiempo de contacto. Esta diferencia en las concentraciones de aldehídos furánicos encontradas entre una y otra serie, puede venir motivada por el proceso de agitación brusca que sufrieron los macerados donde se estudiaron las condiciones óptimas, para favorecer la extracción de los aldehídos furánicos, y que en estos otros macerados no se realizó.

Se comprueba también a la vista de los resultados obtenidos un aumento progresivo en las concentraciones de aldehídos furánicos encontradas en los aguardientes macerados con las virutas de roble francés, hasta llegar a hacerse relativamente constantes estas concentraciones a partir del noveno mes de maceración para el caso del furfural, y a partir del mismo mes para el caso del 5-hidroximetilfurfural. Las concentraciones encontradas oscilan desde los 0.84 mg/L de furfural a tiempo cero, hasta los 4.25 mg/L a los veinticuatro meses de maceración, dándose una serie de altibajos en las concentraciones halladas, pero siempre alrededor de esa cantidad.

El 5-hidroximetilfurfural se muestra inapreciable hasta su aparición a los nueve meses, a partir del cual se mantiene prácticamente constante hasta los veinticuatro con una concentración media durante esos quince meses de 0.60 mg/L.

Para los aguardientes macerados con virutas de roble americano, se observa también un crecimiento en las extracciones de compuestos furánicos a medida que aumenta el tiempo de envejecimiento del aguardiente, hasta llegar a una zona que corresponde con los siete meses para el caso del furfural, que podemos considerar como constantes.

Las concentraciones encontradas para el furfural van desde los 0.84 mg/L de tiempo cero a los 2.42 mg/L de media para la zona donde la extracción se hace constante. Para el 5-hidroximetilfurfural las extracciones oscilan entre los 0.94 mg/L en tiempo un mes, hasta los 2.24 mg/L a los dieciséis meses.

Respecto a los aguardientes macerados con cáscaras de almendra, se puede apreciar un claro aumento en las concentraciones de aldehídos furánicos desde tiempo cero a tiempo un mes, para seguir en ambos aldehídos furánicos, una zona de meseta donde las extracciones detectadas tienden a ser constantes, a pesar de la existencia en esta zona de altibajos en las concentraciones detectadas. Esta zona continua hasta los veinticuatro meses para el furfural, mientras que para el 5-hidroximetilfurfural se hace aún más plana a partir del mes de control número trece.

Las concentraciones medias encontradas para estas zonas de continuidad fueron de 5.96 mg/L para el furfural y de 2.02 mg/L para el 5-hidroximetilfurfural.

Igualmente podemos apreciar en las figuras, como las concentraciones de furfural encontradas en todos los aguardientes macerados (en roble francés, roble americano y cáscaras de almendra), son superiores a las encontradas para el 5-hidroximetilfurfural, por lo que la relación furfural/5-hidroximetilfurfural será superior a la unidad tal y como viene sucediendo en todos los casos realizados hasta ahora.

Por otro lado podemos apreciar como el contenido total de aldehídos furánicos detectados en los macerados, es mayor en el roble francés que en el roble americano y siempre inferior en ambos tipos de roble al detectado en los macerados de cáscaras de almendra.

Las concentraciones totales encontradas fueron de 3.62 mg/L, 3.2 mg/L y 7.27 mg/L para los macerados de roble francés, roble americano y cáscaras de almendra respectivamente.
La Figura Nº 67 nos muestra lo mencionado anteriormente.

**EVOLUCION DE LOS MACERADOS DE VIRUTAS
MACERADOS DE ROBLE FRANCÉS**

Tiempo (meses)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMP
0	0.84	-
1	1.95	-
3	2.80	-
5	3.09	-
7	4.01	-
9	4.20	0.50
11	4.09	0.57
13	3.94	0.55
16	4.00	0.68
24	4.25	0.70

TABLA Nº 41: Evolución en aldehídos furánicos de los macerados de roble francés.

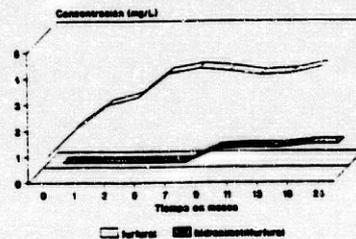


FIGURA Nº 64: Evolución de los macerados de virutas de roble francés.

**EVOLUCION DE LOS MACERADOS DE VIRUTAS
MACERADOS DE ROBLE AMERICANO**

Tiempo (meses)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMP
0	0.84	-
1	1.35	0.94
3	1.78	0.72
5	1.85	0.77
7	2.35	1.08
9	2.19	1.04
11	2.53	1.38
13	2.18	1.71
16	2.39	2.24
24	2.93	1.72

TABLA Nº 42: Evolución en aldehídos furánicos de los macerados de roble americano.

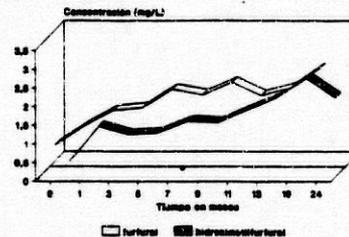


FIGURA Nº 65: Evolución de los macerados de virutas de roble americano.

**EVOLUCION DE LOS MACERADOS DE VIRUTAS
MACERADOS DE CÁSCARAS DE ALMENDRA**

Tiempo (meses)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMP
0	0.84	-
1	5.93	2.10
3	5.70	1.89
5	6.10	2.05
7	6.00	2.08
9	5.89	1.80
11	6.12	1.97
13	6.02	2.10
16	5.90	2.10
24	5.97	2.10

TABLA Nº 43: Evolución en aldehídos furánicos de los macerados de cáscaras de almendra.

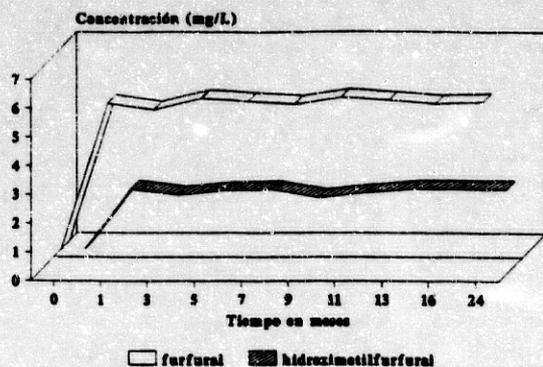


FIGURA Nº 66: Evolución de los macerados de virutas de cáscaras de almendra.

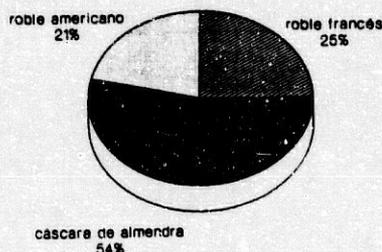


FIGURA Nº 67: Concentraciones totales de aldehídos furánicos encontrados en los distintos macerados analizados.

B.3. Análisis comparativo entre el envejecimiento en barril y el de los macerados de virutas con respecto al contenido en aldehídos furánicos

1.- Barril de roble francés y virutas de roble francés

Se han comparado los resultados obtenidos con respecto a la extracción de aldehídos furánicos durante dos años de maceración con las muestras envejecidas en barriles de roble francés. La Tabla Nº 44 nos muestra las concentraciones de aldehídos furánicos obtenidas.

envejecimiento años	Barril de roble		Macerados de virutas	
	furfural mg/L	5-hmf mg/L	furfural mg/L	5-hmf mg/L
0	3.29	-	0.84	-
1	10.97	2.52	4.09	0.57
2	10.64	2.59	4.25	0.70

TABLA Nº 44: Compuestos furánicos en aguardientes envejecidos en barril de roble y en macerados de virutas de roble francés.

Podemos observar que en el envejecimiento en barriles de roble francés se produce un incremento en las extracciones de dichos compuestos durante el primer año de envejecimiento, ya que pasan de una concentración media de 1.65 mg/L en el año cero, a otra de 6.75 mg/L para el primer año. Durante el segundo año de envejecimiento se pasa a una concentración media a 6.62 mg/L.

En los macerados de virutas de roble francés se aprecia igualmente un aumento durante el primer año de envejecimiento, pasando la media de aldehídos furánicos encontrados de 0.42 mg/L en el inicio del envejecimiento, a 2.33 mg/L en el primer año. Durante el segundo año de envejecimiento se aprecia un pequeño incremento en las concentraciones medias encontradas, estando en este tiempo la concentración de aldehídos furánicos en 2.48 mg/L, por lo que podemos considerar constantes las extracciones durante este periodo.

Por otro lado, podemos comprobar como las extracciones encontradas durante los dos años estudiados en el barril de roble francés, son cuantitativamente mayores que las halladas en los macerados de roble francés.

2.- Barril de roble americano y virutas de roble americano

En el roble americano se pueden observar las mismas etapas descritas anteriormente para el roble francés, con un incremento durante el primer año de envejecimiento que continúa durante el segundo año.

De una concentración media en aldehídos furánicos inicial de 1.65 mg/L se pasa durante el primer año a otra de 5.13 mg/L en el caso del barril, mientras que en los macerados se pasa de 0.42 mg/L a 1.96 mg/L en el primer año.

de maceración. En el segundo año de envejecimiento se obtuvo una extracción media de 6.3 mg/L en el barril y de 2.33 mg/L en el aguardiente macerado.

En este caso se aprecia una cierta tendencia a seguir aumentando las extracciones durante el segundo año de envejecimiento para ambos casos.

Estas etapas se corresponden igualmente con el mecanismo de extracción-agotamiento mencionado anteriormente y en las cuales concurren todos los fenómenos ya comentados para el roble francés.

En la Tabla Nº 45 se puede observar la comparación realizada.

envejecimiento años	Barril de roble		Macerados de virutas	
	furfural mg/L	5-hmf mg/L	furfural mg/L	5-hmf mg/L
0	3.29	-	0.84	-
1	7.10	3.15	2.53	1.38
2	8.30	4.20	2.93	1.72

TABLA Nº 45: Compuestos furánicos en aguardientes envejecidos en barril de roble y en macerados de virutas de roble americano.

Igualmente en las Figuras Nº 68 y Nº 69 se realiza una comparación entre los aguardientes envejecidos en barril y aquellos que lo fueron mediante maceración, en cuanto a la composición de aldehídos furánicos.

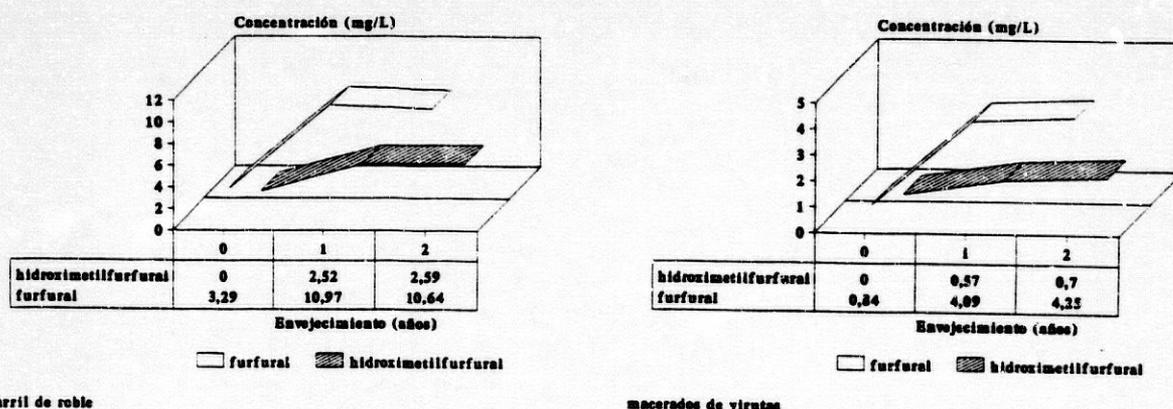


FIGURA Nº 68: Evolución de compuestos furánicos en brandies de envejecimiento controlado en roble francés.

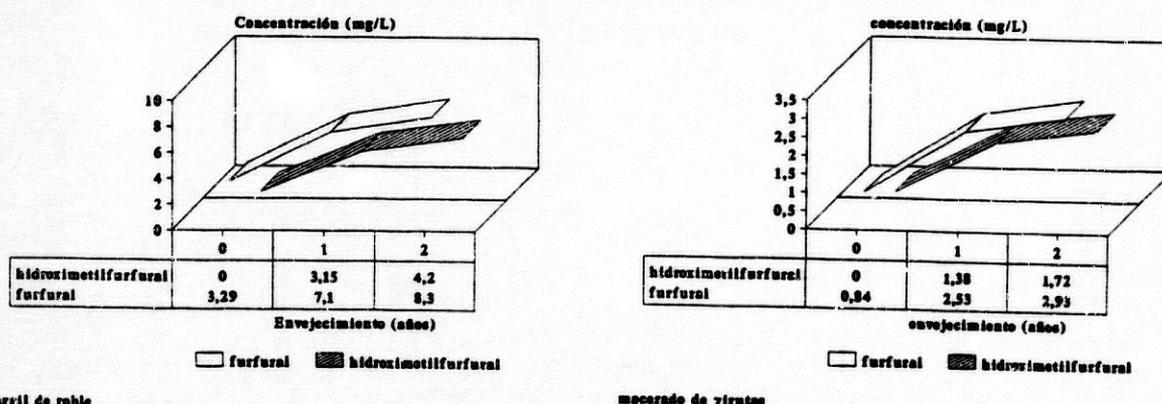


FIGURA Nº 69: Evolución de compuestos furánicos en brandies de envejecimiento controlado en roble americano.

B.4. Influencia del proceso de agitación en la extracción de aldehídos furánicos a partir de macerados hidroalcohólicos

1.- Muestras analizadas

En este apartado nos propusimos comprobar la influencia que puede tener la agitación mecánica de los macerados de virutas en la extracción de aldehídos furánicos, comparando posteriormente estos resultados con los obtenidos en los macerados envejecidos de forma estática durante veinticuatro meses.

Para tal fin dispusimos de macerados de virutas de roble francés y roble americano de características idénticas a las empleadas anteriormente.

2.- Preparación de las muestras

Las muestras han de ser sometidas a una agitación mecánica que favorezca la extracción de los compuestos furánicos presentes en la viruta, para lo cual se usó un agitador magnético de velocidad de giro regulable.

El macerado preparado anteriormente se coloca en un matraz erlenmeyer de 250 ml de capacidad y se lleva al agitador magnético. La velocidad de giro elegida para la agitación fue de 900 rpm, ya que a esta velocidad se produce una agitación homogénea y no turbulenta del macerado.

Se prepararon dos macerados idénticos de ambos tipos de roble y se sometieron al proceso de agitación en las condiciones mencionadas anteriormente, manteniendo dicho proceso durante 48 horas ininterrumpidas.

En los periodos de 1, 3, 7, 15, 24 y 36 horas se toman unos microlitros del aguardiente del macerado que se inyectan en el CLAE para conocer su contenido en aldehídos furánicos.

La Figura Nº 70 muestra un cromatograma de un macerado sometido a agitación.

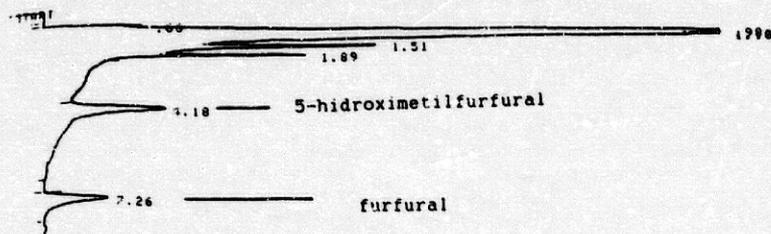


FIGURA Nº 70: Cromatograma de un macerado sometido a agitación.

3.- Resultados obtenidos y Discusión

Las cantidades de compuestos furánicos detectadas para los distintos tiempos de agitación establecidos figuran en las Tablas Nº 46 y Nº 47.

MACERADOS DE VIRUTAS DE ROBLE FRANCÉS

Agitación (horas)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
0	0.84	-
1	2.60	0.91
3	2.87	1.04
7	3.05	1.12
15	3.15	1.18
24	3.31	1.23
36	3.28	1.21
48	3.30	1.23

TABLA Nº 46: Concentraciones de aldehídos furánicos encontradas durante la agitación de macerados de virutas de roble francés.

MACERADOS DE VIRUTAS DE ROBLE AMERICANO

Agitación (horas)	Concentración (mg/L) Furfural	Concentración (mg/L) 5-HMF
0	0.84	-
1	1.02	0.97
3	1.21	1.03
7	1.25	1.05
15	1.75	1.06
24	2.56	1.09
36	2.54	1.08
48	2.55	1.10

TABLA Nº 47: Concentraciones de aldehídos furánicos encontradas durante la agitación de macerados de virutas de roble americano.

Podemos apreciar como influye de forma decisiva el proceso de agitación en la extracción de aldehídos furánicos. Partiendo de macerados idénticos a los utilizados en el envejecimiento estático, hemos conseguido extracciones que van desde los 0.84 mg/L de furfural en un macerado sin agitar, hasta los 2.55 mg/L después de 48 horas de agitación para los macerados de roble americano, y de 0.84 mg/L a 3.30 mg/L para los de roble francés tras el mismo período de agitación.

En el caso del 5-hidroximetilfurfural las concentraciones detectadas van desde la ausencia en ambos tipos de roble antes de la agitación, hasta los 1.10 y 1.23 mg/L en el roble americano y francés respectivamente después de 48 horas de agitación.

Se observa un incremento apreciable en la extracción de 5-hidroximetilfurfural durante la primera hora de agitación, tanto en el roble francés como en el americano, pasando de la ausencia a 0.91 y 0.97 mg/L respectivamente.

Para tiempos posteriores de agitación las concentraciones detectadas van en aumento y siempre siguiendo la tendencia apuntada en otros apartados de llegar a ser constantes las extracciones detectadas como consecuencia del proceso de agotamiento paulatino de la madera.

En el caso del furfural para el roble francés, durante la primera hora de agitación ha sufrido igualmente un gran aumento, pasando de 0.84 mg/L a 2.60 mg/L, mientras que para tiempos de agitación posteriores, el aumento de las concentraciones de furfural detectadas es muy lento.

En el caso del furfural en el roble americano, pasa en esta primera hora de agitación de 0.84 mg/L a 1.02 mg/L, pero los incrementos de las extracciones son inferiores al caso anterior.

En este apartado podemos seguir detectando concentraciones de furfural siempre mayores que las de 5-hidroximetilfurfural en ambos tipos de roble, tal y como viene sucediendo en el estudio de todos los apartados anteriores, con unas concentraciones medias de 2.80 mg/L y 0.99 mg/L para el furfural y 5-hidroximetilfurfural respectivamente en el roble francés.

En el roble americano las concentraciones medias encontradas fueron de 1.72 mg/L para el furfural y de 0.92 mg/L para el 5-hidroximetilfurfural.

También se puede apreciar como el total de aldehídos furánicos detectados en los macerados en agitación de roble francés, es superior al encontrado en el roble americano, con unas concentraciones totales respectivas de 3.79 mg/L y 2.64 mg/L, al igual que sucedía con las concentraciones de aldehídos furánicos encontrados en los macerados sin agitar estudiados anteriormente.

Con los datos de ambas tablas hemos construido las Figuras Nº 71 y Nº 72, en las que puede observarse lo que acabamos de discutir.

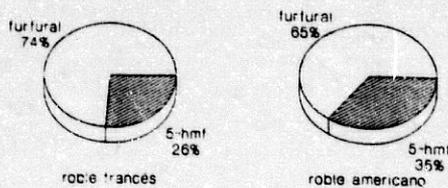


FIGURA NO 71: Concentraciones medias encontradas para cada aldehído furánico en los macerados de roble sometidos a agitación mecánica.

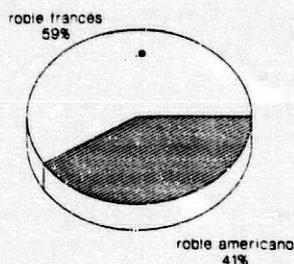


FIGURA NO 72: Concentraciones totales de aldehídos furánicos encontradas en macerados de roble sometidos a agitación mecánica.

Si comparamos las concentraciones detectadas en cada tipo de roble con las correspondientes detectadas al estudiar los macerados durante veinticuatro meses, podemos comprobar como con una hora de agitación se consigue una extracción de furfural equivalente a tres meses de maceración en el roble francés, mientras que en el roble americano, si bien no es tan acusada la extracción como en el francés, siete horas de agitación consiguen extraer aproximadamente el furfural equivalente a un mes de maceración estática.

Para el 5-hidroximetilfurfural los resultados obtenidos son aún más llamativos, ya que con la agitación mecánica se consigue extraer en 48 horas, el equivalente al doble de este aldehído furánico obtenido en veinticuatro meses de maceración en el roble francés, y el equivalente a nueve meses de maceración en el roble americano.

Estas comparaciones quedan reflejadas en las Figuras NO 73 y NO 74, donde podemos comprobar conjuntamente los resultados obtenidos tras el estudio de ambos tipos de maceración.

Después de veinticuatro horas, la detección de ambos tipos de aldehídos furánicos se hace constante tanto en el roble francés como en el roble americano, siendo las cantidades detectadas, después de 48 horas de agitación, inferiores a las encontradas anteriormente en los macerados no sometidos a agitación, si exceptuamos el caso del 5-hidroximetilfurfural detectado en los macerados de roble francés sometidos a agitación, y donde las cantidades encontradas fueron superiores a las halladas en la maceración estática.

Las extracciones obtenidas mediante el empleo de la maceración con agitación son mucho más regulares a lo largo del periodo de tiempo controlado que las correspondientes a la maceración estática. Al comparar ambos tipos de curvas, nos encontramos con unas más irregulares, que evolucionan con altibajos y que son las correspondientes a la maceración estática, mientras que las otras que corresponden a la maceración con agitación, tienen un comportamiento más homogéneo durante el periodo de tiempo estudiado.

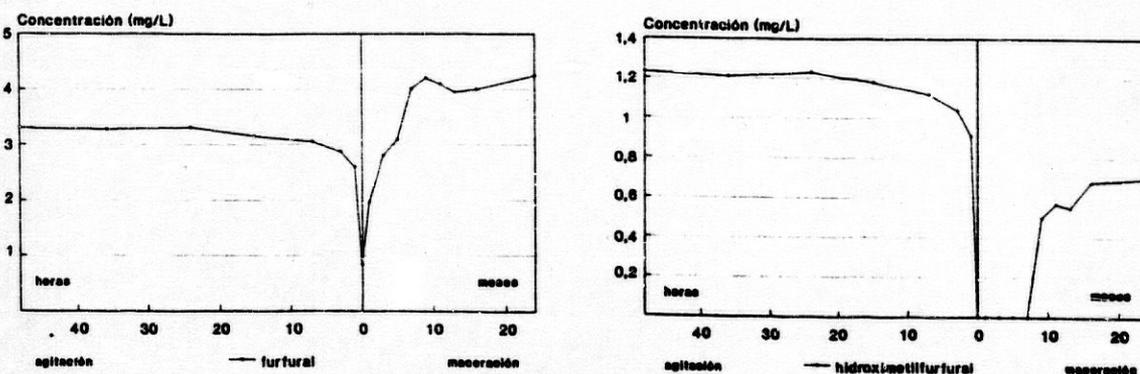


FIGURA NO 73: Equivalencia entre el método de maceración estática y el de agitación en roble francés.

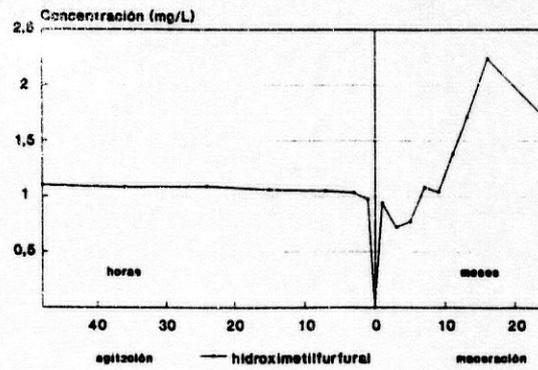
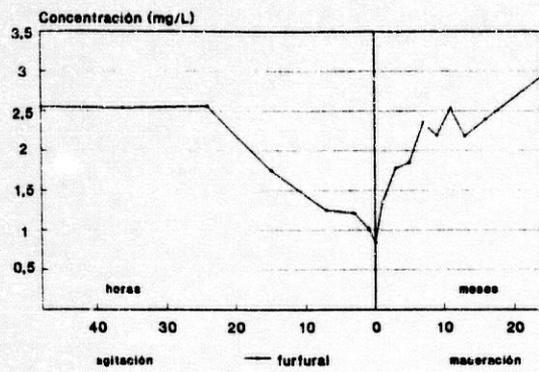


FIGURA NO 74: Equivalencia entre el método de maceración estática y el de agitación en roble americano.

III.7 RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE CARAMELO Y EL CONTENIDO EN ALDEHIDOS FURANICOS EN AGUARDIENTES DE VINO ENVEJECIDOS

Del estudio de los caramelos comerciales más empleados en la industria alcoholera, se deduce que su principal componente furánico es el 5-hidroximetilfurfural, quedando el furfural como componente minoritario. Igualmente al estudiar los compuestos furánicos en brandies comerciales, se comprobó como el 5-hidroximetilfurfural era mayoritario respecto al furfural. Se hizo preciso entonces un estudio que confirmara la supuesta presencia del caramelo en las muestras comerciales de brandies analizadas, para de ésta forma, poder relacionar los altos contenidos en 5-hidroximetilfurfural con una adición de caramelo.

A.- MUESTRAS ANALIZADAS

El análisis se realizó en todas las muestras de brandies comerciales estudiadas anteriormente, volviendo a separarse según el proceso empleado en su envejecimiento, sistema tradicional o por soleras, para de esta forma facilitar su identificación.

No se realizó el estudio sobre las muestras controladas, pues se conocía la no adición de caramelo a ellas.

B.- TÉCNICA ANALÍTICA

Se ha adoptado la técnica aceptada por la AOAC (1990) para la determinación cualitativa de caramelo colorante en vinos y aguardientes, que de modo esquemático se reseña en la figura Nº 75.

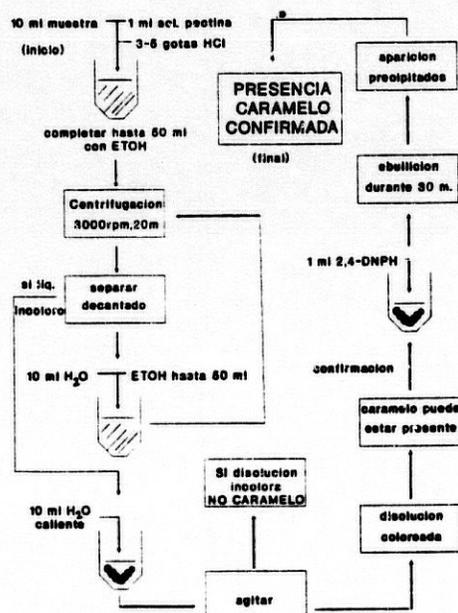


FIGURA Nº 75: Esquema de la determinación cualitativa de caramelo colorante en vinos y aguardientes.

C.- RESULTADOS OBTENIDOS Y DISCUSION

Tras la determinación cualitativa de caramelo en las muestras comerciales de brandy analizadas, podemos apreciar como dicha prueba resultó positiva en 36 de las 38 muestras estudiadas.

En las muestras de brandy envejecidas mediante el sistema de soleras se comprueba como el caramelo colorante se encuentra presente en todas ellas.

En los brandies comerciales envejecidos mediante el sistema tradicional se han obtenido resultados muy parecidos a los anteriormente mencionados, con un total de 18 pruebas positivas frente a los 20 brandies analizados en este apartado. Las dos pruebas negativas encontradas corresponden a las muestras números 15 y 18, en las que las relaciones furfural/5-hidroximetilfurfural encontradas, eran las únicas superiores a la unidad. El resto de muestras presentaban unas relaciones furfural/5-hidroximetilfurfural inferiores a la unidad y coincidiendo todas ellas con una presencia positiva de caramelo colorante.

Otro aspecto que se pone de manifiesto al estudiar los resultados obtenidos en este apartado, es el hecho del uso casi total del caramelo como colorante en la elaboración de bebidas espirituosas, brandy principalmente, y sin que influya para nada en este hecho, el proceso de envejecimiento utilizado en la fabricación de estas bebidas. Igualmente es conveniente recordar en este momento, que la legislación en España no da límites máximos autorizados para la presencia de caramelo colorante en en brandy, solamente hace referencia a la autorización del uso de este compuesto como colorante en los brandies.

A partir de este momento y a la vista de los resultados obtenidos tras la determinación de los compuestos furánicos en caramelos comerciales y brandies comerciales, y en la confirmación de la presencia de caramelo en estos brandies, podemos establecer una serie de relaciones:

- 1.- Todos los brandies comerciales analizados presentan valores en 5-hidroximetilfurfural superiores al furfural, ya sean envejecidos por el método tradicional o por el método de soleras (Tablas Nº 48 Y Nº 49, Figura Nº 28).

MUESTRAS	CARAMELO Tec. AOAC	FURFURAL Tec. CLAE (mg/L)	5-HMP Tec. CLAE (mg/L)
1	+	1.35	47.62
2	+	0.53	12.90
3	+	0.58	34.83
4	+	-	52.05
5	+	-	40.01
6	+	-	23.59
7	+	-	14.64
8	+	-	8.77
9	+	0.52	20.00
10	+	0.63	100.66
11	+	0.62	33.68
12	+	-	22.62
13	+	0.70	25.08
14	+	0.55	19.77
15	+	3.44	18.83
16	+	2.30	9.74
17	+	4.03	138.50
18	+	2.50	16.70

TABLA Nº 48: Determinación de caramelo y aldehídos furánicos en muestras comerciales de brandies envejecidas por el sistema de soleras.

MUESTRAS	CARAMELO Tec. AOAC	FURFURAL Tec. CLAE (mg/L)	5-HMP Tec. CLAE (mg/L)
1	+	13.47	31.19
2	+	0.55	16.75
3	+	0.74	80.29
4	+	1.30	7.85
5	+	0.62	88.27
6	+	-	27.28
7	+	-	25.26
8	+	13.50	39.66
9	+	1.30	18.48
10	+	10.64	32.14
11	+	9.30	14.03
12	+	2.71	9.55
13	+	4.28	11.54
14	+	13.45	30.77
15	-	9.33	6.35
16	+	9.10	14.37
17	+	3.43	16.75
18	-	8.81	5.87
19	+	2.29	17.58
20	+	2.87	36.70

TABLA Nº 49: Determinación de caramelo y aldehídos furánicos en muestras comerciales de brandies envejecidos por el sistema tradicional.

2.- Al estudiar el contenido en aldehídos furánicos de los caramelos comerciales pudimos comprobar igualmente que el 5-hidroximetilfurfural era el componente mayoritario (FIGURA Nº 76).

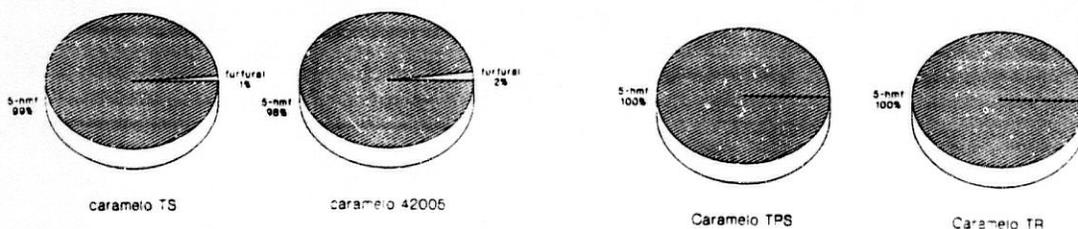


FIGURA Nº 76: Concentración media de aldehídos furánicos en caramelos comerciales.

3.- Presencia mayoritaria de caramelo en los brandies comerciales (TABLAS Nº 48 y Nº 49).

El cociente furfural/5-hidroximetilfurfural de los brandies comerciales es inferior a la unidad para aquellos donde la presencia de caramelo se puede detectar. Solamente en dos muestras, la relación furfural/5-hidroximetilfurfural fué superior a la unidad, dando negativa en estos casos la prueba del caramelo.

Igual ocurre para aquellos aguardientes control estudiados, y en los que tenemos la seguridad de la no presencia de caramelo en ellos. En estos aguardientes control, ya sean los envejecidos por el sistema tradicional, sistema de soleras, macerados y agitación, la relación furfural/5-hidroximetilfurfural es superior a la unidad (TABLA Nº 50 y FIGURA Nº 77).

- * Las concentraciones mostradas corresponden a la media de los 5 años estudiados en cada serie.
- ** Las concentraciones mostradas corresponden a la media de los 2 años estudiados en cada macerado.
- *** Las concentraciones mostradas corresponden a la media de las 48 horas estudiadas en cada macerado.

MUESTRA DE AGUARDIENTES CONTROL	CARAMELO	FURFURAL mg/L	5-HMP mg/L
Serie A Laraman *	-	5.05	2.15
Serie B Laraman *	-	1.74	4.22
Serie C Laraman *	-	3.48	4.02
Serie A Pineda *	-	7.35	3.25
Serie B Pineda *	-	4.22	1.46
Serie C Pineda *	-	1.15	4.09
Serie D Pineda *	-	1.94	4.2
Macerado de vino blanco **	-	1.22	4.3
Macerado de vino tinto **	-	1.04	1.16
Macerado de uva blanca de 48 ***	-	1.09	0.99
Macerado de uva roja de 48 ***	-	1.78	0.92

TABLA Nº 50: Determinación de caramelo y aldehídos furánicos en muestras de aguardientes control.

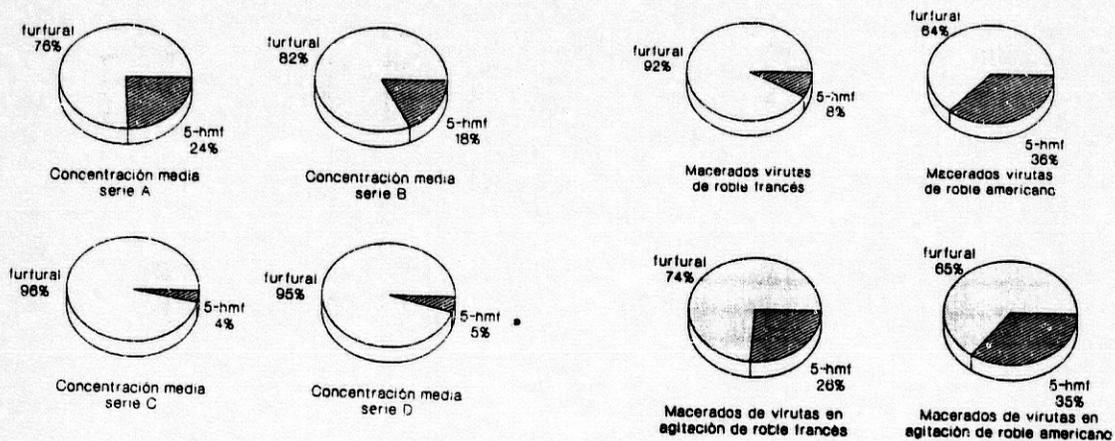


FIGURA Nº 77: Concentración media de aldehidos furánicos en aguardientes control.

De todo esto podemos deducir que el origen mayoritario de la presencia del 5-hidroximetilfurfural en los brandies comerciales es la adición de caramelo como colorante.

En las Figuras Nº 28, Nº 76 y Nº 77 podemos comprobar claramente como cambia el signo de la relación furfural/5-hidroximetilfurfural al pasar de brandies y caramelos comerciales a las series de aguardientes control.

El origen del furfural en estas muestras y dado el escaso porcentaje de este compuesto en los brandies comerciales y en caramelos comerciales, así como su predominancia en los aguardientes control, podemos decir que es consecuencia de su envejecimiento en roble.

III.8. ESTUDIO ESTADISTICO DE LOS AGUARDIENTES DE VINO ENVEJECIDOS

Debido a la necesidad de obtener de una forma objetiva las diversas relaciones que se han podido dar en este trabajo durante su realización, hemos considerado la necesidad de someter los resultados obtenidos en la determinación de furfural y 5-hidroximetilfurfural a un análisis estadístico que nos ponga de manifiesto el grado de interacción verdaderamente existente entre unas variables y otras.

Así otros autores someten los resultados encontrados en este campo a tratamientos estadísticos.

Este es el caso de SCHREIDER, P y col., (1979), que proceden a la caracterización y diferenciación de uvas destinadas a la elaboración de brandy mediante el empleo de un análisis discriminante múltiple.

De una manera algo más simple actúan BELCHIOR, A.P. y col., (1984) al estudiar de forma comparativa distintos métodos de determinación de furfural en aguardientes. Sin recurrir a complicados test estadísticos tal y como han hecho otros investigadores.

DIEZ, J. y col., (1985) someten los valores encontrados para los componentes del aroma brandy de Jerez envejecido por el método de soleras, a un estudio estadístico que incluye desde la estadística básica a un análisis de la varianza mediante el test de Newman-Keuls. Posteriormente aplican el análisis discriminante a estos datos.

VAN DER SCHER, H. y col., (1989) emplea técnicas de análisis discriminante a los GLC-aromagramas para separar varias clases de destilados de vino y comprobar mediante ésta técnica si existen adulteraciones en cognac, armagnac o brandy

BERTRAND, A. (1989) estudia la influencia de la destilación continua en los aguardientes de armagnac mediante el empleo de técnicas de análisis multidimensional.

Una comparación similar a la anterior es la que realiza PORRETTA, S. y col., (1991) entre dos métodos de determinación de 5-hidroximetilfurfural en productos elaborados a partir del tomate. Compara el método clásico de determinación de 5-Hmf por colorimetría (método de Winkler) frente a la técnica por CLAR. Los resultados obtenidos los trata mediante un análisis de regresión lineal y mediante un t-test de comparación de dos muestras apareadas, obteniendo diferencias significativas entre los resultados encontrados por uno u otro método.

Más recientemente MARTÍN-ALVAREZ, P.J. y col., (1991), realizan un estudio para la diferenciación de muestras de ginebras de diferente origen, mediante la aplicación de métodos estadísticos de variables múltiples.

Por lo tanto, en este capítulo se pretende realizar un estudio estadístico que nos permita, de una forma concluyente, establecer relaciones significativas entre todas las variables estudiadas en este trabajo.

Para tal fin se ha empleado el programa estadístico denominado STATGRAPHICS[®] (v.5.0) de la casa STSC.

A.- ESTUDIO MEDIANTE MODELOS NO LINEALES DE LA EVOLUCION EN LA PRESENCIA DE ALDEHIDOS FURANICOS EN AGUARDIENTES ENVEJECIDOS.

La extracción de aldehidos furánicos por parte del aguardiente durante el periodo de envejecimiento va a venir determinada, como hemos podido comprobar en apartados anteriores de este trabajo, por las condiciones en las que se encuentre la madera de roble donde envejece éste.

Una de estas características o condiciones es el estado de agotamiento en el que se puede encontrar la madera de roble como consecuencia del uso a la que ha sido sometida. Este agotamiento se caracteriza por la no cesión de sustancias químicas al aguardiente. Algunas de esas sustancias son los aldehidos furánicos.

Al realizar el estudio sobre la presencia de aldehidos furánicos en aguardientes envejecidos en distintos tipos de roble y barriles, pudimos comprobar como la extracción de estos compuestos por parte del aguardiente se caracterizaba por una primera fase donde se producía una cesión intensa durante un periodo relativamente corto de tiempo y una segunda fase caracterizada por una cesión mucho menos intensa y en un periodo más largo, era resultado de un cercano agotamiento de la madera en estos compuestos furánicos. Por último, la tercera fase venía condicionada por el agotamiento de la madera del barril, por lo que las extracciones de compuestos furánicos eran prácticamente nulas y su presencia en el aguardiente se hacía constante.

ROUS, C. y col., (1983), PUECH, J.L. y col., (1985) estudian la evolución de los compuestos fenólicos de la madera de roble en el envejecimiento de vinos y armagnac. Intentan ajustar las curvas de evolución encontradas mediante funciones lineales, exponenciales e hiperbólicas, encontrando que la función $Y = AX^b$ responde mejor a las curvas teóricas por ellos obtenidas.

De nuevo PUECH, J.L. y col., (1987a) estudia la evolución de los compuestos de degradación de la lignina durante el envejecimiento del armagnac para intentar ajustarlos a un modelo de extracción no lineal. Dicho modelo encontrado por PUECH, J.L. resulta estar condicionado igualmente por el agotamiento de la madera en los productos de degradación de la lignina, siguiendo una curva de extracción parecida a la ahora encontrada por nosotros para los aldehidos furánicos.

En este apartado se pretende realizar un ajuste similar al realizado por PUECH, J.L. (1987a) para los productos de degradación de la lignina, pero sobre los aldehidos furánicos extraídos por el aguardiente durante el envejecimiento. Mediante una curva funcionalizada vamos a intentar ajustar la presencia de estos compuestos en los distintos tipos de aguardientes envejecidos estudiados.

En la realización de nuestro estudio hemos tenido que eliminar aquellos periodos encontrados principalmente en barriles usados o nuevos sin quemar y en los cuales no se producía extracción de compuestos furánicos. Nuestro estudio se centra en la evolución de la extracción de estos compuestos, por lo que estos periodos, donde no existe extracción, y por tanto no hay cambios significativos en la presencia de aldehidos furánicos, carecen de importancia en este estudio y de ahí su eliminación.

A.1. Resultados obtenidos en el estudio mediante modelos no lineales

Las curvas de presencia de aldehidos furánicos encontradas tanto en la serie A, B, C, D, macerados de virutas y macerados de virutas en agitación, y cuya estadística básica aparece en las Tablas Nº 51 a Nº 58, responden al mecanismo de extracción-agotamiento antes mencionado. Estas curvas condicionadas por tal mecanismo de extracción-agotamiento, se caracterizan por tener, en primer lugar, una zona de aguda pendiente y máxima extracción (la fase primera antes mencionada), seguida de otra zona donde la pendiente se suaviza y por tanto las extracciones disminuyen (fase segunda), y una última zona donde la pendiente de la curva se hace nula y las extracciones cesan. Esta última fase coincide, como ya se comentó anteriormente, con el agotamiento de la madera del barril en aldehidos furánicos.

Variable: Serie A de roble americano FURFURAL

Tamaño de muestra	6
Media	7.30167
Desviación estándar	2.02946
Error estándar	0.829522
Coef. de variación	27.7944

Variable: Serie A de roble americano 5-HMF

Tamaño de muestra	6
Media	3.365
Desviación estándar	1.65781
Error estándar	0.6768
Coef. de variación	49.2664

Variable: Serie B de roble americano FURFURAL

Tamaño de muestra	6
Media	4.31833
Desviación estándar	0.539311
Error estándar	0.220173
Coef. de variación	12.4889

TABLA NO 51: Estadística básica de las series estudiadas

Variable: Serie B de roble americano 5-HMF

Tamaño de muestra	6
Media	1.49167
Desviación estándar	1.0796
Error estándar	0.440745
Coef. de variación	72.3754

Variable: Serie C de roble americano FURFURAL

Tamaño de muestra	6
Media	3.35167
Desviación estándar	0.20779
Error estándar	0.0848299
Coef. de variación	6.1996

Variable: Serie C de roble americano 5-HMF

Tamaño de muestra	6
Media	0.158333
Desviación estándar	0.142887
Error estándar	0.0583333
Coef. de variación	90.2444

TABLA NO 52: Estadística básica de las series estudiadas

Variable: Serie A de roble francés FURFURAL

Tamaño de muestra	6
Media	9.65
Desviación estándar	3.16092
Error estándar	1.29044
Coef. de variación	32.7557

Variable: Serie A de roble francés 5-HMF

Tamaño de muestra	6
Media	2.155
Desviación estándar	1.00707
Error estándar	0.411135
Coef. de variación	46.7318

Variable: Serie B de roble francés FURFURAL

Tamaño de muestra	6
Media	3.34333
Desviación estándar	0.162686
Error estándar	0.0664162
Coef. de variación	4.86598

TABLA NO 53: Estadística básica de las series estudiadas

Variable: Serie B de roble francés 5-HMF

Tamaño de muestra	6
Media	0.261667
Desviación estándar	0.178148
Error estándar	0.0727286
Coef. de variación	68.082

Variable: Serie C de roble francés 5-HMF

Tamaño de muestra	6
Media	0.203333
Desviación estándar	0.113608
Error estándar	0.0463801
Coef. de variación	55.8725

Variable: Serie C de roble francés FURFURAL

Tamaño de muestra	6
Media	3.09667
Desviación estándar	0.169076
Error estándar	0.069025
Coef. de variación	5.45993

TABLA NO 54: Estadística básica de las series estudiadas

Variable: Serie D FURFURAL

Tamaño de muestra	6
Media	3.96
Desviación estándar	0.348884
Error estándar	0.142431
Coef. de variación	8.3102

Variable: Serie D 5-HMF

Tamaño de muestra	6
Media	0.261667
Desviación estándar	0.253804
Error estándar	0.103615
Coef. de variación	96.9953

Variable: Serie maceración roble francés FURFURAL

Tamaño de muestra	10
Media	3.317
Desviación estándar	1.15015
Error estándar	0.363709
Coef. de variación	34.6744

TABLA NO 55: Estadística básica de las series estudiadas

Variable: Serie maceración roble francés 5-HMF

Tamaño de muestra	10
Media	0.35
Desviación estándar	6.269732
Error estándar	0.0852969
Coef. de variación	77.0664

Variable: Serie maceración roble americano FURFURAL

Tamaño de muestra	10
Media	2.039
Desviación estándar	0.606693
Error estándar	0.191853
Coef. de variación	29.7544

Variable: Serie maceración roble americano 5-HMF

Tamaño de muestra	10
Media	1.17
Desviación estándar	0.611773
Error estándar	0.19346
Coef. de variación	52.2883

TABLA NO 56: Estadística básica de las series estudiadas

Variable: Serie maceración cáscara almendra FURFURAL

Tamaño de muestra	10
Media	5.447
Desviación estándar	1.6231
Error estándar	0.513271
Coef. de variación	29.7981

Variable: Serie maceración cáscara almendra S-HMF

Tamaño de muestra	10
Media	1.829
Desviación estándar	0.616395
Error estándar	0.194921
Coef. de variación	33.7012

Variable: Serie agitación roble francés FURFURAL

Tamaño de muestra	8
Media	2.8
Desviación estándar	0.829113
Error estándar	0.293136
Coef. de variación	29.6112

TABLA Nº 57: Estadística básica de las series estudiadas

Variable: Serie agitación roble francés S-HMF

Tamaño de muestra	8
Media	1.0025
Desviación estándar	0.381042
Error estándar	0.134719
Coef. de variación	38.0092

Variable: Serie agitación roble americano FURFURAL

Tamaño de muestra	8
Media	1.715
Desviación estándar	0.738048
Error estándar	0.260939
Coef. de variación	43.0340

Variable: Serie agitación roble americano S-HMF

Tamaño de muestra	8
Media	0.935
Desviación estándar	0.339874
Error estándar	0.120164
Coef. de variación	36.3502

TABLA Nº 58: Estadística básica de las series estudiadas

La curva encontrada en todos los casos presenta un marcado carácter exponencial del tipo $y = e^x$ si la consideramos en todo su conjunto, mientras que si lo hacemos atendiendo solamente a las dos primeras fases, nos encontramos con una curva de las llamadas cuadráticas y que responde al tipo de $Y = a+bx+cx^2$.

Por tanto nuestros esfuerzos se centraron en encontrar principalmente dos funciones exponenciales que se ajustaran lo más fielmente posible a nuestras curvas en su totalidad. La función cuadrática queda sólo como comparación con las otras dos durante las fases primera y segunda.

Después del estudio de varias funciones exponenciales se encontraron dos de ellas que se ajustaban bastante fielmente a las curvas de presencia de aldehídos furánicos en aguardientes. Dichas funciones eran:

$$Y = B_1(1 - e^{-B_2x}) \text{ y } Y = e^{(a - a_1/x)}$$

donde B_1 , B_2 y a , a_1 toman valores diferentes según se trate de aguardientes envejecidos en unos u otros barriles. En la Tabla Nº 59 y posteriores, vienen recogidos todos los parámetros encontrados para estas curvas.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
β_1	0.1100000	.25023941	32.3314
β_2	.5100000	.11713830	4.3538

Interacciones totales = 1 Funciones evaluadas totales = 4

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	339.23118	2	169.61559	543.50071
Error	1.2483192	4	.3120798	
Total	340.47950	6		
Total (corr.)	20.593483	5		

R-cuadrado = 0.939383

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	2.13064486	.02155226	98.8595
α_2	.96797015	.12240486	7.9079

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	339.9225	2	169.9612	1220.5049
Error	.5570194	4	.1392549	
Total	340.47950	6		
Total (corr.)	20.593483	5		

R-cuadrado = 0.972952

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	3.62039041	.75089984	4.82140
b	.25375400	.05879227	4.31611
c	-.00300995	.00092958	-3.23797

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 13

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	338.61706	3	112.87235	191.81359
Error	1.8624409	3	.6208136	
Total	340.47950	6		
Total (corr.)	20.593483	5		

R-cuadrado = 0.909562

TABLA Nº 59: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie A de roble americano para el furfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
B1	4.33582677	.12587847	34.4445
B2	.10771767	.01544670	6.9735

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 10

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	81.51758	2	40.75879	997.04889
Error	.1635177	4	.0408794	
Total	81.681100	6		
Total (corr.)	13.741750	5		

R-cuadrado = 0.988101

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	1.55175090	.03286256	47.2194
α_2	4.36328102	.02435964	5.2929

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	81.5728	2	40.7864	1506.3657
Error	.1083041	4	.0270760	
Total	81.681100	6		
Total (corr.)	13.741750	5		

R-cuadrado = 0.992119

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	.34514230	.58648792	.58849
b	.20858021	.04591951	4.54230
c	-.00247975	.00072604	-3.41405

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 9

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	80.514948	3	26.848316	70.892728
Error	1.1361325	3	.3787175	
Total	81.681100	6		
Total (corr.)	13.741750	5		

R-cuadrado = 0.917321

TABLA NO 60: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie A de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
B1	4.52000000	.09628167	46.9456
B2	1.30000000	.10498623	7.0276

Interacciones totales = 1 Funciones evaluadas totales = 4

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	113.1569	2	56.5784	1270.6599
Error	.1854028	4	.0463567	
Total	113.34230	6		
Total (corr.)	1.4542833	5		

R-cuadrado = 0.872513

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	1.52300000	.01830585	83.1974
α_2	.33960000	.05961943	5.6961

Interacciones totales = 1 Funciones evaluadas totales = 4

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	113.2147	2	56.6074	1775.0627
Error	.1275614	4	.0318903	
Total	113.34230	6		
Total (corr.)	1.4542833	5		

R-cuadrado = 0.912786

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	3.32028232	.15439702	21.5048
b	.06890113	.01208863	5.6997
c	-.00081843	.00019114	-4.2819

Interacciones totales = 4 Funciones evaluadas totales = 17

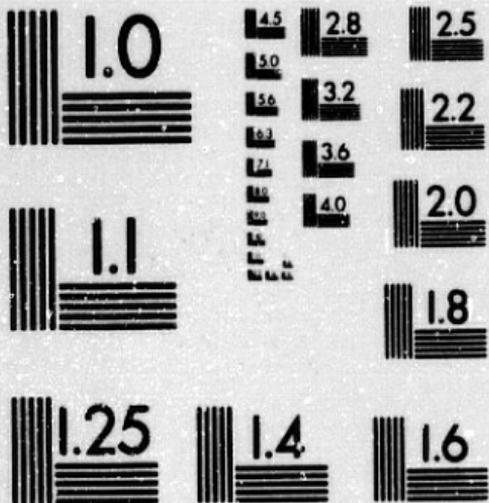
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	113.2636	3	37.7545	1438.4471
Error	.0787402	3	.0262467	
Total	113.34230	6		
Total (corr.)	1.4542833	5		

R-cuadrado = 0.945856

TABLA Nº 51: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie B de roble americano para el furfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
B1	.45310000	.00410327	11.478	
B2	.27290600	.02290705	11.9	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados	relación
AJUSTE 1	1.0222	2	.5111	6832.00
Error	.0002992	4	.0000748	
Total	1.0225000	6		
Total (corr.)	.1020833	5		
R-cuadrado = 0.997069				
AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
CX ₁	-.74405859	.01974748	-37.192	
CX ₂	1.48100387	.17196900	8.6120	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados	relación
AJUSTE 2	1.0212	2	.5106	111.972
Error	.0013109	4	.0003277	
Total	1.0225000	6		
Total (corr.)	.1020833	5		
R-cuadrado = 0.987158				
AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	.15140787	.08540514	1.77210	
b	.01770788	.00669310	2.6449	
c	-.00022259	.00010583	-2.1033	
Interacciones totales = 4		Funciones evaluadas totales = 17		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados	relación
AJUSTE 3	.998362	3	.33277	140743
Error	.0241379	3	.008046	
Total	1.0225000	6		
Total (corr.)	.1020833	5		
R-cuadrado = 0.763547				

TABLA Nº 64: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie C de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural.



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART
NATIONAL BUREAU OF STANDARDS
STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a
(ANSI and ISO TEST CHART No. 2)

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
B1	.45310000	.00410327	11.278
B2	.27290000	.02290705	11.9
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4	
Análisis de la varianza para la regresión completa			
fuentes	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados
AJUSTE 1	1.0222	2	.5111
Error	.0002992	4	.0000748
Total	1.0225000	6	
Total (corr.)	.1020833	5	
R-cuadrado = 0.997069			
AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
CX ₁	-.74085859	.01974748	-37.192
CX ₂	1.48100387	.17196900	8.6120
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7	
Análisis de la varianza para la regresión completa			
fuentes	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados
AJUSTE 2	1.0212	2	.5106
Error	.0013109	4	.0003277
Total	1.0225000	6	
Total (corr.)	.1020833	5	
R-cuadrado = 0.987158			
AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	.15140787	.08548514	1.77210
b	.01770288	.00669312	2.64497
c	-.00022259	.00010583	-2.10336
Interacciones totales = 4		Funciones evaluadas totales = 17	
Análisis de la varianza para la regresión completa			
fuentes	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados
AJUSTE 3	.998367	3	.332789
Error	.0241329	3	.0080443
Total	1.0225000	6	
Total (corr.)	.1020833	5	
R-cuadrado = 0.763597			

TABLA Nº 64: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie C de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
β_1	10.9493149	.27452572	39.8808	
β_2	.3619530	.07930863	4.5639	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	607.24458	2	303.62229	838.95530
Error	1.4476208	4	.3619052	
Total	608.69220	6		
Total (corr.)	49.957200	5		

R-cuadrado = 0.971023

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	2.43467593	.03013058	80.8042	
α_2	1.20730442	.21137614	5.7116	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	606.76351	2	303.38175	629.19773
Error	1.9286910	4	.4821727	
Total	608.69220	6		
Total (corr.)	49.957200	5		

R-cuadrado = 0.961393

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	4.22200000	1.76054344	2.39812	
b	.41210000	.13784307	2.98963	
c	-.00530600	.00217967	-2.43454	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 5		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	598.45427	3	199.48476	58.45464
Error	10.237925	3	3.412642	
Total	608.69220	6		
Total (corr.)	49.957200	5		

R-cuadrado = 0.795066

TABLA Nº 65: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie A de roble francés para el furfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
B1	2.62000000	.10355694	28.3001	
B2	.18000900	.05207231	3.4044	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	32.77754	2	16.38877	416.07374
Error	.1575564	4	.0393891	
Total	32.935100	6		
Total (corr.)	5.0709500	5		

R-cuadrado = 0.96893

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	1.07013778	.03562751	28.0580	
α_2	2.40135669	.59140386	4.0604	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	32.83048	2	16.41524	627.59180
Error	.1046237	4	.0261559	
Total	32.935100	6		
Total (corr.)	5.0709500	5		

R-cuadrado = 0.979360

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	.44300000	.58063103	.76296	
b	.12600000	.04546100	2.77161	
c	-.00158500	.00071880	-2.20508	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 5		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	31.821523	3	10.607174	28.575959
Error	1.1135767	3	.3711922	
Total	32.935100	6		
Total (corr.)	5.0709500	5		

R-cuadrado = 0.780401

TABLA NO 56: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie A de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
01	3.35399936	.00020770	41.7740
02	3.93550450	3.03709111	1.2950

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 10

Análisis de la varianza para la regresión completa				
f fuente	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	67.0707	2	33.5353	1040.4821
Error	.1209273	4	.0322306	
Total	67.199600	6		
Total (corr.)	.1323333	5		

R-cuadrado = 0.025776

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	1.20971214	.07500518	40.3705
α_2	.01395071	.06199772	.2250

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
f fuente	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	67.0689	2	33.5345	1026.6911
Error	.1306507	4	.0326627	
Total	67.199600	6		
Total (corr.)	.1323333	5		

R-cuadrado = 0.0127152

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	3.40228271	.17425005	19.5253
b	.00157604	.01364304	.1155
c	-.00008067	.00021571	-.3740

Interacciones totales = 4 Funciones evaluadas totales = 17

Análisis de la varianza para la regresión completa				
f fuente	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	67.09931	3	22.36644	669.04250
Error	.1002915	3	.0334305	
Total	67.199600	6		
Total (corr.)	.1323333	5		

R-cuadrado = 0.242129

TABLA NO 67: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie B de roble francés para el furfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
β_1	.42735442	.01203493	35.5095
β_2	.30699372	.07965625	3.9540

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 10

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	.91662	2	.45831	684.3282
Error	.0026789	4	.0006697	
Total	.9193000	6		
Total (corr.)	.0904833	5		

R-cuadrado = 0.970394

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	-.80300000	.03577080	-22.4485
α_2	1.40800000	.29305459	4.8046

Interacciones totales = 1 Funciones evaluadas totales = 4

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE	.91541	2	.45770	470.27474
Error	.0038931	4	.0009733	
Total	.9193000	6		
Total (corr.)	.0904833	5		

R-cuadrado = 0.956975

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	.15699930	.09116841	1.72268
b	.01545815	.00713810	2.16558
c	-.00019063	.00011286	-1.68995

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 9

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE	.891846	3	.297282	32.484983
Error	.0274541	3	.0091514	
Total	.9193000	6		
Total (corr.)	.0904833	5		

R-cuadrado = 0.696584

TABLA Nº 88: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie B de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
B1	3.0580242	8.71472E-002	35.0903
B2	27.1089274	4.19200E0010	.0000

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 10

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	57.52711	2	28.76355	757.47000
Error	.1518928	4	.0379732	
Total	57.679000	6		
Total (corr.)	.1429333	5		

R-cuadrado = 0

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	1.11409321	.02313259	48.1612
α_2	-.07976990	.05324445	-1.4982

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	57.5860	2	28.7930	1238.2280
Error	.0930135	4	.0232534	
Total	57.679000	6		
Total (corr.)	.1429333	5		

R-cuadrado = 0.349252

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	3.36131216	.12068700	27.8515
b	-.02067145	.00944928	-2.1876
c	.00027189	.00014940	1.8193

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 13

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	57.6309	3	19.2103	1197.8871
Error	.0481105	3	.0160368	
Total	57.679000	6		
Total (corr.)	.1429333	5		

R-cuadrado = 0.663406

TABLA Nº 69: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie C de roble francés para el furfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
B1	.30886604	.00942775	69.8402
B2	.37807633	.04640219	8.1478

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	.4844	2	.2422	2560.8278
Error	.0003783	4	.0000946	
Total	.4848000	6		
Total (corr.)	.0365333	5		

R-cuadrado = 0.989644

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	-1.13399340	.01197770	-94.6754
α_2	1.16321820	.07944451	14.6419

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	.4846	2	.2423	4112.9126
Error	.0002356	4	.0000589	
Total	.4848000	6		
Total (corr.)	.0365333	5		

R-cuadrado = 0.99355

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	.12386605	.04372762	2.83267
b	.01093989	.00342369	3.19535
c	-.00013677	.00005413	-2.52648

Interacciones totales = 4 Funciones evaluadas totales = 17

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	.478484	3	.159495	75.759543
Error	.0063158	3	.0021053	
Total	.4848000	6		
Total (corr.)	.0365333	5		

R-cuadrado = 0.827122

TABLA Nº 70: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie C de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
θ_1	4.09407661	.05912699	59.2421
θ_2	1.62754005	.17613222	9.2405

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	94.6283	2	47.3141	2706.7576
Error	.0699200	4	.0174800	
Total	94.698200	6		
Total (corr.)	.6086000	5		

R-cuadrado = 0.885113

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	1.41878985	.01256108	112.951
α_2	.23168278	.03779627	6.212

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	94.6490	2	47.3245	3846.7053
Error	.0492104	4	.0123026	
Total	94.698200	6		
Total (corr.)	.6086000	5		

R-cuadrado = 0.919142

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	3.33919366	.14278066	23.3869
b	.04158093	.01117912	3.7195
c	-.00047990	.00017676	-2.7151

Interacciones totales = 4 Funciones evaluadas totales = 17

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	94.6309	3	31.5436	1405.3211
Error	.0673375	3	.0224458	
Total	94.698200	6		
Total (corr.)	.6086000	5		

R-cuadrado = 0.889357

TABLA Nº 71: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie D para el furfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
01	.65401969	.00750599	86.3424	
02	.13964150	.00976821	14.2955	
interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerce	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	1.9697	2	.9848	5384.7550
Error	.0007316	4	.0001829	
Total	1.9704000	6		
Total (corr.)	.2423333	5		

R-cuadrado = 0.996981

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	-.39169565	.02556720	-15.3202	
α_2	2.07781689	.34864668	5.9597	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerce	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	1.9667	2	.9834	1077.6655
Error	.0036570	4	.0009130	
Total	1.9704000	6		
Total (corr.)	.2423333	5		

R-cuadrado = 0.98493

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	.13683011	.08352356	1.63872	
b	.02800813	.00653954	4.28789	
c	-.00033714	.00010340	-3.26055	
Interacciones totales = 4		Funciones evaluadas totales = 17		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerce	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	1.947357	3	.649119	84.510197
Error	.0230429	3	.0076810	
Total	1.9704000	6		
Total (corr.)	.2423333	5		

R-cuadrado = 0.904913

TABLA Nº 72: Coeficientes obtenidos en los ajustes de la serie D para el 5-hidroximetilfurfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
B1	4.19842961	.11639075	36.0770
B2	.31887744	.03279625	9.7230

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fFuente	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados	relación
AJUSTE 1	121.5282	2	60.7641	1298.3868
Error	.4022875	8	.0502853	

Total 121.93050 10
Total (corr.) 11.905610 9

R-cuadrado = 0.966211

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	1.53877188	.02886448	53.3045
α_2	1.64939596	.16312626	10.1112

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fFuente	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados	relación
AJUSTE 2	121.5434	2	60.7717	1255.8092
Error	.3871396	8	.0483924	

Total 121.93050 10
Total (corr.) 11.905610 9

R-cuadrado = 0.967483

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	1.21500000	.39730715	3.10843
b	.39480000	.08186649	4.82249
c	-.01170000	.00330788	-3.53701

Interacciones totales = 1 Funciones evaluadas totales = 5

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fFuente	suma de cuadrados	gl	Medio de cuadrados	relación
AJUSTE 3	119.99154	3	39.99718	144.39707
Error	1.9389608	7	.2769944	

Total 121.93050 10
Total (corr.) 11.905610 9

R-cuadrado = 0.837139

TABLA Nº 73: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los macerados de roble francés para el furfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
β_1	.74308217	.04617681	16.0921
β_2	-.12505087	.02095922	5.9664

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 10

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	1.83579	2	.91789	915.18758
Error	.0040118	4	.0010030	
Total	1.8398000	6		
Total (corr.)	.2381333	5		

R-cuadrado = 0.983153

AJUSTE 2 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
α_1	-.28909686	.09060320	-3.19080
α_2	2.86055141	1.08887053	2.62768

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	1.82773	2	.91387	302.87929
Error	.0120690	4	.0030173	
Total	1.8398000	6		
Total (corr.)	.2381333	5		

R-cuadrado = 0.949318

AJUSTE 3 Resultados del ajuste			
	estimado	error estándar	relación
a	.04440745	.04030690	1.10173
b	.06147777	.00656901	9.35876
c	-.00142508	.00074735	-5.76133

Interacciones totales = 3 Funciones evaluadas totales = 13

Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	1.83592	3	.61197	475.67650
Error	.0038759	3	.0012920	
Total	1.8398000	6		
Total (corr.)	.2381333	5		

R-cuadrado = 0.983774

TABLA Nº 74: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los macerados de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural.

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
β ₁	2.05000000	.37225023	5.49229	
β ₂	.12000000	.04781870	2.50948	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	16.337625	2	8.168812	90.792895
Error	.7197755	8	.0899719	
Total	17.057400	10		
Total (corr.)	3.3684000	9		

R-cuadrado = 0.786315

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α ₁	.69100000	.14187052	4.87064	
α ₂	3.05790000	1.10842107	2.75879	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	16.127240	2	8.063620	69.352528
Error	.9301602	8	.1162700	
Total	17.057400	10		
Total (corr.)	3.3684000	9		

R-cuadrado = 0.723857

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	.17749672	.22227026	-.79856	
b	.16605727	.04579954	3.62574	
c	-.00401687	.00185057	-2.17062	
Interacciones totales = 3		Funciones evaluadas totales = 13		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	16.450553	3	5.483518	63.252589
Error	.6068467	7	.0866924	
Total	17.057400	10		
Total (corr.)	3.3684000	9		

R-cuadrado = 0.819841

TABLA Nº 76: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los sacarados de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste

	estimado	error estándar	relación
β_1	6.12000000	.37302442	16.4064
β_2	.64000000	.19482657	3.2850

Interacciones totales = 1 Funciones evaluadas totales = 4

Análisis de la varianza para la regresión completa

fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	313.50081	2	156.75040	181.54240
Error	6.9074949	8	.8634369	
Total	320.40830	10		
Total (corr.)	23.710210	9		

R-cuadrado = 0.70867

AJUSTE 2 Resultados del ajuste

	estimado	error estándar	relación
α_1	1.90787857	.07461438	25.5699
α_2	.92836152	.31939608	2.9066

Interacciones totales = 2 Funciones evaluadas totales = 7

Análisis de la varianza para la regresión completa

fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	312.80400	2	156.40200	164.54058
Error	7.6043005	8	.9505376	
Total	320.40830	10		
Total (corr.)	23.710210	9		

R-cuadrado = 0.679282

AJUSTE 3 Resultados del ajuste

	estimado	error estándar	relación
a	3.45660000	1.11258764	3.10681
b	.40830000	.22925245	1.78101
c	-.01336000	.00926312	-1.44228

Interacciones totales = 1 Funciones evaluadas totales = 5

Análisis de la varianza para la regresión completa

fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	305.20336	3	101.73445	46.83617
Error	15.204940	7	2.172134	
Total	320.40830	10		
Total (corr.)	23.710210	9		

R-cuadrado = 0.358718

TABLA Nº 77: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los macerados de cáscaras de almendras para el furfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
β_1	6.1200000	.37302442	16.4064	
β_2	.6400000	.19482657	3.2850	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuente	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	313.53081	2	156.75040	181.54240
Error	6.9074949	8	.8634369	
Total	320.40830	10		
Total (corr.)	23.710210	9		

R-cuadrado = 0.70867

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	1.90787857	.07461430	25.5699	
α_2	.92836152	.31939608	2.9066	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuente	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	312.80400	2	156.40200	164.54058
Error	7.6043005	8	.9505376	
Total	320.40830	10		
Total (corr.)	23.710210	9		

R-cuadrado = 0.679282

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	3.45660000	1.11258764	3.10681	
b	.40830000	.22925245	1.78101	
c	-.01336000	.00928312	-1.44228	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 5		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuente	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	305.20336	3	101.73445	46.83617
Error	15.204940	7	2.172134	
Total	320.40830	10		
Total (corr.)	23.710210	9		

R-cuadrado = 0.358718

TABLA Nº 78: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los macerados de cáscaras de almendras para el furfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
β_1	2.07594676	.15973527	12.9962	
β_2	.60680480	.22781685	2.6636	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	35.63523	2	17.81762	115.26204
Error	1.2366685	8	.1545836	
Total	36.871900	10		
Total (corr.)	3.4194900	9		

R-cuadrado = 0.638347

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	.83560000	.09055106	9.22794	
α_2	1.01580000	.40084707	2.53413	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	35.62548	2	17.81274	114.32928
Error	1.2464167	8	.1558021	
Total	36.871900	10		
Total (corr.)	3.4194900	9		

R-cuadrado = 0.635496

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	1.11330000	.43085673	2.58392	
b	.14000000	.08877949	1.57694	
c	-.00432000	.00358720	-1.20428	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 5		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	34.591652	3	11.530551	35.396968
Error	2.2802477	7	.3257497	
Total	36.871900	10		
Total (corr.)	3.4194900	9		

R-cuadrado = 0.333161

TABLA Nº 79: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los macerados de cáscaras de almendras para el 5-hidroximetilfurfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	1.22000000	.07996523	15.2566	
α_2	.46000000	.12423170	3.7028	
Interacciones totales = 1		funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	8.88243	2	4.44122	153.17300
Error	.1739686	6	.0289948	
Total	9.0564000	8		
Total (corr.)	1.0163500	7		

R-cuadrado = 0.82883

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	.27000000	.06583539	4.10114	
α_2	1.20630000	.31082620	3.88095	
Interacciones totales = 1		funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	8.90004	2	4.45002	170.76588
Error	.1563552	6	.0260592	
Total	9.0564000	8		
Total (corr.)	1.0163500	7		

R-cuadrado = 0.84616

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	.63267098	.20556990	3.07764	
b	.04551074	.02650918	1.71679	
c	-.00072371	.00055657	-1.30032	
Interacciones totales = 3		funciones evaluadas totales = 13		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuerza	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	8.540089	3	2.846696	27.567629
Error	.5163114	5	.1032623	
Total	9.0564000	8		
Total (corr.)	1.0163500	7		

R-cuadrado = 0.491995

TABLA Nº 81: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los macerados por agitación de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural

AJUSTE 1 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
β_1	1.10026275	.08603464	12.7886	
β_2	.56397830	.19073426	2.9569	
Interacciones totales = 2		Funciones evaluadas totales = 7		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 1	7.59081	2	3.79541	107.62527
Error	.2115900	6	.0352650	
Total	7.8024000	8		
Total (corr.)	.8086000	7		

R-cuadrado = 0.738326

AJUSTE 2 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
α_1	.16440000	.08522812	1.92894	
α_2	1.00800000	.36312627	2.77589	
Interacciones totales = 1		Funciones evaluadas totales = 4		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 2	7.58007	2	3.79004	102.28215
Error	.2223283	6	.0370547	
Total	7.8024000	8		
Total (corr.)	.8086000	7		

R-cuadrado = 0.725045

AJUSTE 3 Resultados del ajuste				
	estimado	error estándar	relación	
a	.66144312	.20967213	3.15465	
b	.03417304	.02703818	1.26388	
c	-.00055084	.00056767	-.97034	
Interacciones totales = 3		Funciones evaluadas totales = 13		
Análisis de la varianza para la regresión completa				
fuentes	suma de cuadrados	gl	Media de cuadrados	relación
AJUSTE 3	7.265277	3	2.421759	22.543784
Error	.5371234	5	.1074247	
Total	7.8024000	8		
Total (corr.)	.8086000	7		

R-cuadrado = 0.335737

TABLE NO 83: Coeficientes obtenidos en los ajustes de los macerados por agitación de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural

Los resultados obtenidos en nuestro análisis nos indican unos altos coeficientes de regresión r^2 para las curvas $Y = \beta_1(1 - e^{-\beta_2 x})$ y $Y = e^{(a - \beta_1/x)}$, mientras que los ajustes para la curva cuadrática son bastante menores a los encontrados para las otras dos.

A partir de ahora a las curvas estudiadas las vamos a denominar de la siguiente forma:

$$Y = \beta_1(1 - e^{-\beta_2 x}) \text{ será AJUSTE 1}$$

$$Y = e^{(a - \beta_1/x)} \text{ será AJUSTE 2}$$

$$Y = a + bx + cx^2 \text{ será AJUSTE 3}$$

A.2. Discusión de resultados

Los r^2 medios hallados para los ajustes 1 y 2 fueron respectivamente de 0.8959 y 0.8950, mientras que el ajuste 3 tuvo un r^2 de 0.7264.

A la vista de estos resultados podemos apreciar como los r^2 medios de los ajustes 1 y 2 indican una aproximación mayor a los puntos experimentales, mientras que el r^2 medio del ajuste 3 indica una aproximación no tan fiel a los datos experimentales como la conseguida anteriormente con los otros ajustes, ya que sólo se ajusta fielmente durante las etapas primera y segunda, por lo que su coeficiente de correlación baja mucho cuando se tiene en cuenta la totalidad de la curva. Se descarta por tanto este ajuste frente a los otros dos.

Sin embargo, cabe destacar el coeficiente de correlación tan bueno que presenta el ajuste 3 para el furfural en el roble americano en los macerados de virutas por agitación. Dicho ajuste llega a 0.9670 de R^2 frente al 0.7744 del ajuste 1 y al 0.7498 del ajuste 2. En el resto de series el ajuste 3 se encuentra por debajo de los otros dos ajustes estudiados.

Hay que hacer notar igualmente la imposibilidad de ajustar las curvas correspondientes a las series b y c de roble francés para el furfural a cualquiera de los ajustes estudiados. Dichas series presentan unas extracciones de compuestos furánicos prácticamente constantes durante el periodo de tiempo controlado, lo cual nos aproxima más a una línea recta que a una curva de las características estudiadas.

Iguamente se comprueba como las series de cáscaras de almendra presentan coeficientes de correlación inferiores a los normalmente encontrados. Esta diferencia puede venir motivada por el distinto comportamiento en la extracción entre la cáscara de almendra y el roble, ajustándose mejor estas funciones a la extracción del roble que a la de cáscara de almendra.

Cualquiera de los ajustes 1 y 2 se podría usar como curva de presencia de aldehídos furánicos, ya que ambos presentan unos coeficientes de correlación muy próximos entre sí y muy ajustados a nuestros datos experimentales. Sin embargo sería conveniente un estudio sobre el comportamiento de la función para tiempos de envejecimiento superiores a los estudiados por nosotros.

Como ya se comentó anteriormente, la tendencia en las curvas de presencia de aldehídos furánicos para la tercera fase es a la constancia, es decir extracciones nulas y por tanto no existe aumento en las concentraciones de aldehídos furánicos presentes en las muestras.

El estudio de los ajustes 1 y 2 para tiempos de envejecimiento superiores a los experimentados dió como resultado las tablas de la Nº 84 a la Nº 95.

Serie A de roble americano para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	8.11	8.11	8.11	8.11
AJUSTE 2	8.28	8.30	8.31	8.33

Serie A de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	4.33	4.33	4.34	4.34
AJUSTE 2	4.39	4.44	4.48	4.51

TABLA NO 84: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie A de roble americano a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L)

Serie B de roble americano para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	4.52	4.52	4.52	4.52
AJUSTE 2	4.56	4.57	4.57	4.57

Serie B de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	2.26	2.26	2.26	2.26
AJUSTE 2	2.32	2.34	2.35	2.36

TABLA NO 85: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie B de roble americano a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L)

Serie C de roble americano para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	3.63	3.63	3.63	3.63
AJUSTE 2	3.64	3.64	3.64	3.64

Serie C de roble americano para el 5-hidroximetilfurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	0.45	0.45	0.45	0.45
AJUSTE 2	0.46	0.47	0.47	0.47

TABLA NO 86: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie C de roble americano a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L.)

Serie A de roble francés para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	11.0	11.0	11.0	11.0
AJUSTE 2	11.2	11.2	11.3	11.3

Serie a de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	2.62	2.62	2.62	2.62
AJUSTE 2	2.69	2.71	2.72	2.73

TABLA NO 87: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie A de roble francés a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L.)

Serie B de roble francés para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	IMPOSIBLE AJUSTE			
AJUSTE 2	IMPOSIBLE AJUSTE			

Serie B de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	0.43	0.43	0.43	0.43
AJUSTE 2	0.44	0.44	0.44	0.44

TABLA Nº 88: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie B de roble francés a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L)

Serie C de roble francés para el lurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	IMPOSIBLE AJUSTAR			
AJUSTE 2	IMPOSIBLE AJUSTAR			

Serie C de roble francés para el 5-hidroximetilfurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	0.31	0.31	0.31	0.31
AJUSTE 2	0.32	0.32	0.32	0.32

TABLA NO 89: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie C de roble francés a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L)

Serie D para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	4.10	4.10	4.10	4.10
AJUSTE 2	4.12	4.12	4.12	4.12

Serie D para el 5-hidroximetilfurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	0.65	0.65	0.65	0.65
AJUSTE 2	0.65	0.66	0.66	0.66

TABLA Nº 90: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie D a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/l.)

Serie de macerados de roble francés para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	4.2	4.2	4.2	4.2
AJUSTE 2	4.54	4.56	4.57	4.58

Serie de macerados de roble francés para el 5-hmf

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	0.74	0.74	0.74	0.74
AJUSTE 2	0.72	0.72	0.72	0.73

TABLA NO 91: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie de macerados de roble francés a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L.)

Serie de macerados de roble americano para el furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	2.48	2.48	2.48	2.48
AJUSTE 2	2.64	2.65	2.66	2.66

Serie de macerados de roble americano para el 5-hmf

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	2.05	2.05	2.05	2.05
AJUSTE 2	1.90	1.91	1.92	1.93

TABLA Nº 92: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie de macerados de roble americano a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L.)

Serie de macerados de cáscaras de almendra para el lurfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	6.12	6.12	6.12	6.12
AJUSTE 2	6.63	6.64	6.66	6.67

Serie de macerados de cáscaras de almendra para el 5-hmf

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	2.08	2.08	2.08	2.08
AJUSTE 2	2.27	2.27	2.28	2.28

TABLA NO 93: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie de macerados de cáscaras de almendra a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/l.)

Serie macerados por agitación de roble francés para furlural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	3.26	3.26	3.26	3.26
AJUSTE 2	3.42	3.43	3.43	3.44

Serie macerados por agitación de roble francés para 5-hmf

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	1.22	1.22	1.22	1.22
AJUSTE 2	1.28	1.29	1.29	1.29

TABLA Nº 94: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie de macerados por agitación de roble francés a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/L)

Serie macerados por agitación para roble americano furfural

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	2.42	2.42	2.42	2.42
AJUSTE 2	2.34	2.35	2.36	2.37

Serie macerados por agitación para roble americano 5-hmf

Tiempo en meses	61	72	84	96
AJUSTE 1	1.10	1.10	1.10	1.10
AJUSTE 2	1.16	1.16	1.16	1.17

TABLA Nº 95: Pronósticos encontrados mediante los ajustes 1 y 2 para la serie de macerados por agitación de roble americano a tiempos superiores a 60 meses. (Resultados expresados en mg/l.)

En ellas podemos observar como el ajuste 1 es muy rígido y aunque refleja perfectamente el periodo donde las extracciones son nulas, no es lógico pensar que en el transcurso de 3 años no exista una pequeña variación en las concentraciones de aldehídos furánicos en las muestras. Variaciones que son lo suficientemente pequeñas como para poder seguir pensando en la existencia de extracciones nulas o prácticamente nulas.

El ajuste 2 se presenta más cercano a la realidad, no tan rígido, existiendo series donde se producen esas pequeñas y lógicas variaciones en las concentraciones de aldehídos furánicos, y series donde esas variaciones, al igual que ocurría en el ajuste 1, no se producen. Estas pequeñas extracciones de compuestos furánicos durante periodos de tiempo posteriores, no impide pensar en una fase donde la curva no sea hace plana.

Por tanto podemos afirmar que es posible ajustar la curva de presencia de aldehídos furánicos en muestras de aguardiente envejecidos a una función del tipo $Y = e^{(a-dt)/x}$ y que esta función se ajusta mejor a aquellas muestras envejecidas en madera nueva y quemada donde la extracción de compuestos furánicos comienza desde el principio. No tan bien para muestras envejecidas en madera usada o nueva sin quemar donde las extracciones no comienzan desde el primer momento de envejecimiento, sino posteriormente.

B.- RELACION FURFURAL/5-Hmf EN MUESTRAS DE BRANDY CON CARAMELO Y SIN CARAMELO.

Durante el desarrollo de cada capítulo de la parte experimental, se ha ido estudiando la relación furfural/5-hidroxi metilfurfural en cada tipo de muestra analizada. Se ha podido ir comprobando como esta relación se hacia mayor o menor dependiendo de la presencia o no de caramelo en la muestra.
 En este estudio se pretende tratar todas las muestras estudiadas a lo largo de los diversos capítulos de una forma global, distinguiendo solamente entre muestras con caramelo y muestras sin caramelo. De esta forma podremos observar de forma global la influencia que la presencia de caramelo tiene sobre dicha relación.

B.1. Discusión de resultados

Se ha realizado un estudio basado en los parámetros estadísticos básicos de las muestras estudiadas y donde se puede comprobar principalmente la concentración media de furfural y 5-hidroxi metilfurfural de las muestras. Las Tablas Nº 96 y Nº 97 nos reflejan todos los parámetros encontrados tras estos análisis.
 Podemos apreciar como la relación furfural/5-hidroxi metilfurfural en las muestras no adicionadas de caramelo es superior a la unidad, encontrándose el furfural en una proporción tres veces mayor a la del 5-hidroxi metilfurfural. Sin embargo, en las muestras adicionadas de caramelo la relación es inferior a la unidad estando en este caso Muestras con caramelo:

$$F/5-Hmf = 3.19326/34.476 = 0.093 (<1)$$

Muestras sin caramelo:

$$F/5-Hmf = 4.27304/1.40141 = 3.049 (>1)$$

Variable: furfural en muestras sin caramelo

Tamaño de muestra	92
Media	4.27304
Desviación estándar	2.63822
Error estándar	0.275053
Coef. de variación	61.741
Mínimo	0.84
Máximo	11.84
Rango	11

Variable: 5-HMF en muestras sin caramelo

Tamaño de muestra	92
Media	1.40141
Desviación estándar	2.00618
Error estándar	0.209158
Coef. de variación	143.154
Mínimo	0
Máximo	12.15
Rango	12.15

TABLA Nº 96: Concentraciones medias de furfural y 5-hidroxi metilfurfural en muestras de aguardientes envejecidos sin caramelo

Variable: furfural en muestras con caramelo

Tamaño de muestra	72
Media	3.19326
Desviación estándar	4.19723
Error estándar	0.494648
Coef. de variación	131.44
Mínimo	0
Máximo	16.72
Rango	16.72

Variable: 5-HMF en muestras con caramelo

Tamaño de muestra	72
Media	34.476
Desviación estándar	28.6586
Error estándar	3.37745
Coef. de variación	83.1262
Mínimo	7.85
Máximo	145.5
Rango	137.65

TABLA Nº 97: Concentraciones medias de furfural y 5-hidroxi metilfurfural en muestras de aguardientes envejecidos con caramelo

C.- INFLUENCIA DE LOS FACTORES QUE AFECTAN A LAS CONDICIONES DE ENVEJECIMIENTO SOBRE LA EXTRACCION DE ALDEHIDOS FURANICOS.

En este apartado pretendemos realizar un estudio sobre la influencia que las variables de envejecimiento tienen sobre la presencia de aldehidos furánicos en los aguardientes envejecidos.
 Para ello, hemos tomado las variables (factores) que han afectado a las condiciones de envejecimiento estudiadas en este trabajo. Dichas variables son: presencia de caramelo, técnica de envejecimiento, madera usada en el barril, estado del barril, tiempo (meses) de envejecimiento, tiempo (horas) de agitación. La Tabla Nº 98 recoge cada variable estudiada con sus diversas categorías.

VARIABLE	CATEGORIAS
Caramelo	Si No
Envejecimiento	Soleras Tradicional Maceración Agitación
Madera	Roble francés Roble americano
Barril	Cáscara de almendra Nuevo y quemado Usado de cinco años Nuevo sin quemar
Meses	0 a 60
Horas	0 a 48

TABLA Nº 98: Variables y categorías estudiadas en este apartado.

Antes de comenzar el análisis hemos de averiguar si el tipo de distribución que siguen las poblaciones muestrales que tenemos es normal o no lo es. Se emplea el test de Kolmogorov-Smirnov para la bondad de ajuste de una distribución normal (o de Gauss).

Una vez conocida la normalidad o no normalidad de la distribución, hemos de saber si las varianzas de cada muestra tienen las mismas varianzas mediante el test de Bartlett.

En caso de que las muestras cumplan esas dos condiciones, es decir, procedan de una distribución normal y todas ellas tengan la misma varianza, realizaremos un estudio de la varianza mediante un test ANOVA de una sola vía (ANOVA I).

Si por el contrario falla cualquiera de las dos condiciones o las dos a la vez, tendremos que aplicar el test no paramétrico de KRUSKAL-WALLIS a nuestras muestras.

Con todo ello, conseguiremos averiguar la mayor o menor influencia de las variables estudiadas sobre la presencia de aldehidos furánicos en las muestras de aguardientes envejecidos.

C.1. Resultados obtenidos y discusión

1.- Estudio de las variables FURFURAL/CARAMELO

La prueba de Kolmogorov-Smirnov arroja la existencia de diferencias entre la distribución normal y la que siguen nuestras muestras. Por tanto esta población NO sigue una distribución normal (o de Gauss).

El test de Bartlett para la homogeneidad de las varianzas salió igualmente significativo, es decir, existen diferencias significativas entre las varianzas de las muestras.

Por todo ello tenemos que aplicar el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para averiguar la influencia del caramelo sobre la presencia de furfural en las muestras.

Tras este test podemos afirmar la influencia que la presencia de caramelo tiene sobre los contenidos de furfural encontrados en las muestras. Un nivel de significancia por debajo de 0.01 para esta prueba refleja la influencia del caramelo sobre los contenidos de furfural en las muestras.

La Tabla Nº 99 recoge todos los datos encontrados tras la realización de los diversos test.

FURFURAL/CARAMELO		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	$1.36 \cdot 10^{-5}$	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	$2.98 \cdot 10^{-6}$	(SIGNIFICATIVO)
ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMAÑO	RANGO
SI	72	64.0903
NO	92	96.9076

TEST ESTADISTICO: 19.2946

NIVEL SIGNIFICANCIA: $1.12 \cdot 10^{-5}$

TABLA Nº 99: Influencia del caramelo sobre el contenido en furfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

2.- Estudio de las variables 5-Hmf/CARAMELO

El test de Kolmogorov-Smirnov da resultados en el nivel de significancia por debajo del 0.05 requerido en este caso para considerar que la distribución de la muestra estudiada sea normal.

El test de Bartlett nos vuelve a dar niveles de significancia por debajo de 0.05, por lo que al igual que en el apartado anterior existen diferencias significativas entre las varianzas.

Aplicaremos por tanto Kruskal-Wallis, el cual nos dá un nivel de significancia de cero para el 5-hidroximetilfurfural sobre el caramelo. Por tanto se demuestra la gran influencia que el caramelo tiene sobre la presencia de 5-hidroximetilfurfural en las muestras de aguardientes envejecidos.

Esta afirmación era clara a la vista de los resultados encontrados en el estudio de las concentraciones de aldehidos furánicos en caramelos comerciales, donde el componente furánico más abundante encontrado era el 5-hidroximetilfurfural con 234.9 mg/kg frente a los 2.1 mg/kg de furfural.

La Tabla Nº 100 ofrece los resultados encontrados en este estudio.

5-HMF/CARAMELO		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	0	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	0	(SIGNIFICATIVO)
ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMAÑO	RANGO
SI	72	128.347
NO	32	46.6196

TEST ESTADISTICO: 120.237

NIVEL SIGNIFICANCIA: 0

TABLA Nº 100: Influencia del caramelo sobre el contenido en 5-hidroximetilfurfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

3.- Estudio de las variables FURFURAL/ENVEJECIMIENTO

Como en el apartado anterior se ha puesto de manifiesto la influencia del caramelo sobre la presencia de furfural y 5-hidroximetilfurfural en muestras de brandy envejecidos, a partir de ahora en todos los restantes estudios vamos a tomar solamente aquellas muestras que en la parte experimental de la tesis denominamos como muestras control y en las cuales conocemos la no presencia de caramelo en ellas. Con ello evitaremos resultados anómalos en las concentraciones de aldehídos furánicos encontrados en las muestras como consecuencia del aporte que en estos dos componentes hace el caramelo.

El test de la bondad de ajuste para una distribución normal de Kolmogorov-Smirnov nos da en este caso unos resultados idénticos a los antes obtenidos, con un nivel de significancia (alpha) menor de 0.05, lo cual nos indica la no distribución normal de la población muestral correspondiente.

Por otro lado el test de Bartlett para la homogeneidad de las varianzas nos da un nivel de confianza por debajo del 0.05 exigido como mínimo para este test, lo que indica diferencias significativas entre las varianzas.

Hemos de realizar el test de Kruskal-Wallis para demostrar la influencia de los distintos tipos de envejecimiento sobre el contenido en furfural de los aguardientes envejecidos. Los resultados obtenidos nos arrojan la existencia de diferencias significativas entre las concentraciones de furfural halladas en los brandies madurados por uno u otro método. Queda por tanto probada la influencia que los distintos métodos de envejecimiento ejercen sobre el contenido de furfural en los brandies.

En la Tabla Nº 101 se recogen todos los datos obtenidos en este estudio.

FURFURAL/ENVEJECIMIENTO		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	5.98 . 10 ⁻⁴	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	7.58 . 10 ⁻⁴	(SIGNIFICATIVO)

ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMANO	RANGO
TRADICIONAL	40	59.1000
SOLERAS	6	56.6667
MACERACION	30	41.2167
AGITACION	16	21.0938

TEST ESTADISTICO: 25.457

NIVEL SIGNIFICANCIA: 1.24 . 10⁻⁵

TABLA Nº 101: Influencia del tipo de envejecimiento sobre el contenido en furfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

4.- Estudio de las variables 5-Hmf/ENVEJECIMIENTO

La población muestral estudiada en este caso procede igualmente de una distribución no normal, lo cual unido al hecho de tener varianzas poco homogéneas nos vuelve a llevar a la aplicación del test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

En este caso, hemos obtenido un nivel de significancia superior al 0.01 exigido por la prueba, por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas en la concentración de 5-hidroximetilfurfural encontrado en las muestras de brandy envejecidas por distintos métodos. Es por esto que se puede afirmar la NO influencia del sistema de envejecimiento en la presencia de 5-hidroximetilfurfural en los brandies.

Los resultados de este estudio aparecen reflejados en la Tabla Nº 102.

5-Hmf/ENVEJECIMIENTO		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	4.028 . 10 ⁻⁵	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	0	(SIGNIFICATIVO)

ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMANO	RANGO
TRADICIONAL	40	47.6000
SOLERAS	6	22.5000
MACERACION	30	48.1333
AGITACION	16	49.6875

TEST ESTADISTICO: 5.40795

NIVEL SIGNIFICANCIA: 0.144249

TABLA Nº 102: Influencia del tipo de envejecimiento sobre el contenido en 5-hidroximetilfurfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

5.- Estudio de las variables FURFURAL/MADERA

El primer paso es de nuevo conocer la normalidad o no de la distribución de la que proceden las muestras. El correspondiente test para este caso nos da un resultado de alpha igual a 0.000598, que es muy inferior al 0.05 exigido. Por tanto nuestra población no procede de una distribución normal.

El test de Bartlett nos da también niveles de significancia por debajo de 0.05 lo que nos obliga a coger de nuevo la prueba de Kruskal-Wallis.

Dicha prueba nos reporta diferencias significativas entre las concentraciones de furfural encontradas en los brandies envejecidos en los distintos tipos de roble. Por tanto si existe influencia del tipo de madera sobre el contenido de furfural en los brandies.

La Tabla Nº 103 recoge los datos obtenidos sobre las variables FURFURAL/MADERA.

FURFURAL/MADERA		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	5.98 . 10 ⁻⁴	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	0.012	(SIGNIFICATIVO)

ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMANO	RANGO
RF	40	49.0125
RA	42	39.2262
CA	10	67.0000

TEST ESTADISTICO: 9.37275

NIVEL SIGNIFICANCIA: 9.22 . 10⁻³

TABLA Nº 103: Influencia de la madera sobre el contenido en furfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

6.- Estudio de las variables 5-Hmf/MADERA

De nuevo, la distribución que siguen nuestras muestras no es normal con un nivel de significancia igual a 0.00004. De otra parte, el test de Bartlett aprecia diferencias significativas entre las varianzas de las muestras estudiadas.

La prueba de Kruskal-Wallis sin embargo, nos afirma la NO existencia de diferencias significativas en el 5-hidroximetilfurfural encontrado en las muestras envejecidas en una u otra madera.

La Tabla Nº 104 recoge los resultados obtenidos.

5-Hmf/MADERA		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	$4.028 \cdot 10^{-5}$	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	$2.36 \cdot 10^{-6}$	(SIGNIFICATIVO)
ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMAÑO	RANGO
RF	40	43.0000
RA	42	45.3929
CA	10	65.1500

TEST ESTADISTICO: 5.80155

NIVEL SIGNIFICANCIA: 0.054581

TABLA Nº 104: Influencia de la madera sobre el contenido en 5-hidroximetilfurfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

7.- Estudio de las variables FURFURAL/BARRIL

La distribución no normal de la que procede la muestra, según el test de Kolmogorov-Smirnov, unido a la variabilidad de las varianzas nos lleva a la elección una vez más de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

El nivel de significancia encontrado en esta prueba demuestra la influencia que el estado del barril ejerce sobre el contenido en furfural de los brandies que fueron envejecidos en unos u otros barriles.

En la Tabla Nº 105 se pueden apreciar los datos obtenidos en este estudio.

FURFURAL/BARRIL		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	$4.694 \cdot 10^{-4}$	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	$3.26 \cdot 10^{-4}$	(SIGNIFICATIVO)
ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMAÑO	RANGO
NQ	12	33.5000
AN	18	21.2222
BN	12	9.91667

TEST ESTADISTICO: 22.3449

NIVEL SIGNIFICANCIA: $1.41 \cdot 10^{-5}$

NQ = BARRIL NUEVO Y QUEMADO

AN = BARRIL USADO

BN = BARRIL NUEVO

TABLA Nº 105: Influencia del barril sobre el contenido en furfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

8.- Estudio de las variables 5-Hmf/BARRIL

El test de Kolmogorov-Smirnov sobre la bondad de ajuste de una distribución normal refleja la no procedencia normal de nuestra distribución.

El test de Bartlett con valores de significancia por debajo de 0.05 refleja igualmente la existencia de diferencias significativas entre las varianzas de las muestras.

La aplicación del test de Kruskal-Wallis nos indica la existencia de diferencias significativas entre las concentraciones de 5-hidroximetilfurfural encontradas en cada tipo de barril estudiado. Existe por tanto influencia del estado del barril sobre el contenido en 5-hidroximetilfurfural de las muestras.

La Tabla Nº 106 nos ofrece los resultados obtenidos en este apartado.

5-Hmf/BARRIL		
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV:	$1.44 \cdot 10^{-3}$	(SIGNIFICATIVO)
TEST DE BARTLETT:	$1.24 \cdot 10^{-7}$	(SIGNIFICATIVO)
ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS		
NIVEL	TAMAÑO	RANGO
NQ	12	32.9167
AN	18	18.8611
BN	12	14.0417

TEST ESTADISTICO: 17.2578

NIVEL SIGNIFICANCIA: $1.79 \cdot 10^{-4}$

NQ = BARRIL NUEVO Y QUEMADO

AN = BARRIL USADO

BN = BARRIL NUEVO

TABLA Nº 106: Influencia del barril sobre el contenido en 5-hidroximetilfurfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

9.- Estudio de las variables FURFURAL/MESSES

El nivel de significancia del ajuste de bondad a la distribución normal fué de 0.00375, lo que indica una distribución no normal para las muestras.

Sin embargo en este caso el test de Bartlett nos dió un nivel de significancia mayor al requerido para este test por lo que No existen diferencias significativas entre las varianzas de nuestras muestras.

La necesidad de que ambas pruebas no sean significativas para poder aplicar un test paramétrico como el de ANOVA nos lleva de nuevo a la aplicación de Kruskal-Wallis.

En él podemos apreciar la NO existencia de diferencias significativas entre los distintos tiempos de envejecimiento estudiados.

Después de estos resultados se puede afirmar la no influencia del tiempo de envejecimiento sobre la presencia en las muestras de furfural.

Los datos obtenidos aparecen en la Tabla Nº 107.

FURFURAL/MESES

TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV: $3.75 \cdot 10^{-3}$ (SIGNIFICATIVO)
 TEST DE BARTLETT: 0.61 (NO SIGNIFICATIVO)

ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO	RANGO
0	10	20.5500
1	3	24.6667
3	3	25.6667
5	3	28.3333
7	3	37.3333
9	3	37.0000
11	3	37.5000
12	7	43.7857
13	3	34.6667
16	3	35.5000
24	10	42.1000
36	7	41.1429
48	7	44.4286
60	7	44.8571

TEST ESTADISTICO: 12.1188

NIVEL SIGNIFICANCIA: 0.517927

TABLA Nº 107: Influencia del tiempo de envejecimiento (meses) sobre el contenido en furfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

10.- Estudio de la variable 5-Hmf/MESES

La población muestral en este caso no procede de una distribución normal al obtener en la prueba de Kolmogorov-Smirnov un nivel de significancia menor de 0.05.

El test de Bartlett da por lo contrario un nivel de significancia superior a 0.05, lo que indica la existencia de homogeneidad entre las varianzas de las muestras.

Nos encontramos en la misma situación del apartado anterior y de igual forma al cumplirse solo una de las premisas debemos aplicar el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

Dicho test nos da un nivel de significancia superior a 0.01 y por tanto nos confirma la NO existencia de diferencias significativas entre el 5-hidroximetilfurfural encontrado a distintos tiempos de envejecimiento.

En la Tabla Nº 108 se recogen los resultados obtenidos en este apartado.

5-HMF/MESES

TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV: $3.75 \cdot 10^{-3}$ (SIGNIFICATIVO)
 TEST DE BARTLETT: 0.61 (NO SIGNIFICATIVO)

ANALISIS POR RANGOS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO	RANGO
0	10	13.5000
1	3	41.3330
3	3	33.8333
5	3	33.0000
7	3	39.1667
9	3	42.6667
11	3	45.0000
12	7	27.7857
13	3	51.0000
16	3	53.3333
24	10	39.5000
36	7	38.8571
48	7	42.0714
60	7	45.9714

TEST ESTADISTICO: 20.8565

NIVEL SIGNIFICANCIA: 0.07582

TABLA Nº 108: Influencia del tiempo de envejecimiento (meses) sobre el contenido en 5-hidroximetilfurfural para las muestras de aguardientes envejecidos.

11.- Estudio de las variables FURFURAL/HORAS

Este estudio se refiere solo a aquellas muestras envejecidas siguiendo el sistema de agitación de macerados de virutas y que no pudieron ser incluidas en el estudio del tiempo de envejecimiento expresado en meses debido a las características especiales de dicho sistema.

El test de la bondad de ajuste para una distribución normal fué en este caso no significativo, lo que quiere decir que estas muestras SI proceden de una distribución normal.

Igualmente el test sobre la homogeneidad de las varianzas resultó ser significativo con un nivel de significancia de 0.97, lo que indica una gran similitud entre las varianzas de las muestras.

En este caso para el estudio de la influencia de las horas de agitación sobre el contenido en furfural de las muestras, se aplicó el test de ANOVA de una sola vía (ANOVA I). Para la comparación de medias múltiples se aplica el test de Tukey, dado que el tamaño muestral es igual en todos los casos (MARTIN, A. y col., 1990).

El nivel de confianza para el ANOVA será del 95%.

Los resultados del test aparecen en la Tabla Nº 109, donde podemos apreciar un nivel de significancia de 0.332 que indica la NO existencia de diferencias significativas entre las concentraciones de furfural encontradas en los distintos tiempos de agitación. El test de Tukey para la comparación por parejas no refleja diferencias significativas entre todos los tiempos de maceración estudiados en relación a la presencia de furfural.

FURFURAL/HORAS			
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV: 0.30		(NO SIGNIFICATIVO)	
TEST DE BARTLETT: 0.97		(NO SIGNIFICATIVO)	
ANOVA 1			
FACTORIAL	VARIANZA	GL.	F EXP
RESIDUAL	1.0388	7	1.3771
	0.7577	8	
NIVEL DE SIGNIFICANCIA: 0.3322			
COMPARACION DE MEDIAS MULTIPLES		TEST DE TUCKEY	
NO EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS			

TABLA Nº 109: Influencia del tiempo de agitación (horas) sobre el contenido en furfural para las muestras de aguardientes envejecidos

12.- Estudio de las variables 5-Hmf/HORAS

De nuevo en esta ocasión, las muestras analizadas proceden de una distribución normal y tienen varianzas homogéneas. Aplicaremos por tanto otra vez un test ANOVA 1, cuyos resultados aparecen reflejados en la Tabla Nº 110.

El nivel de significancia igual a cero nos hace pensar en la existencia de diferencias significativas entre los distintos tiempos de agitación en cuanto a la presencia de 5-hidroximetilfurfural. Este dato se ve confirmado cuando al aplicar la comparación de medias múltiples por el test de Tukey se observa como existen diferencias entre la concentración de 5-hidroximetilfurfural a tiempo cero y las concentraciones encontradas a tiempos distintos de cero. Este resultado es lógico dado que a tiempo cero de agitación el contenido en 5-hidroximetilfurfural del aguardiente es cero.

El resto de las comparaciones entre los tiempos resultaron ser no significativas, con concentraciones de este compuesto muy parecidas entre todos los tiempos de agitación estudiados.

Si exceptuamos la diferencia existente entre las cero horas de agitación y el resto de horas en el caso del 5-hidroximetilfurfural, podemos afirmar que el tiempo de envejecimiento, medido en meses o en horas, no influye en la mayor o menor presencia de aldehídos furánicos en los brandies.

5-Hmf/HORAS			
TEST KOLMOGOROV-SMIRNOV: 0.065		(NO SIGNIFICATIVO)	
TEST DE BARTLETT: 0.74		(NO SIGNIFICATIVO)	
ANOVA 1			
FACTORIAL	VARIANZA	GL.	F EXP
RESIDUAL	0.3099964	7	64.921
	0.0047750	8	
NIVEL DE SIGNIFICANCIA: 0			
COMPARACION DE MEDIAS MULTIPLES		TEST DE TUCKEY	
COMPARACION	DIFERENCIA +/-	LIMITES	
0 - 1	-0.9400		0.27386 *
0 - 3	-1.0350		0.27386 *
0 - 7	-1.0850		0.27386 *
0 - 15	-1.1200		0.27386 *
0 - 24	-1.1600		0.27386 *
0 - 36	-1.1450		0.27386 *
0 - 48	-1.1650		0.27386 *

* INDICA EXISTENCIA DE DIFERENCIAS ESTADISTICA SIGNIFICATIVAS

EN EL RESTO DE COMPARACIONES NO EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS

TABLA Nº 110: Influencia del tiempo de agitación (horas) sobre el contenido en 5-hidroximetilfurfural para las muestras de aguardientes envejecidos

La Tabla Nº 111 nos ofrece la influencia de las distintas variables estudiadas sobre el contenido en furfural y 5-hidroximetilfurfural.

VARIABLE	FURFURAL	5-Hmf
Caramelo	SI	SI
Envejecimiento	SI	NO
Madera	SI	NO
Barril	SI	SI
Tiempo	NO	NO

TABLA Nº 111: Influencia de los condicionantes de envejecimiento sobre el contenido en aldehídos furánicos en brandies.

CONCLUSIONES

IV. CONCLUSIONES

- 1.- La cromatografía líquida de alta eficacia con inyección directa de la muestra, resulta una técnica eficaz y sencilla para la determinación de aldehídos furánicos en aguardientes envejecidos, comparable en resultados, con las técnicas espectrofotométricas empleadas hasta ahora.
- 2.- El origen de los aldehídos furánicos presentes en los aguardientes, es consecuencia del proceso de degradación térmica que sufren los polisacáridos de la madera de roble durante la etapa de cintrado de los barriles, y que serán extraídos de ésta por el aguardiente durante el envejecimiento, aunque no se puede descartar otro origen de estos compuestos durante la etapa de destilación, como consecuencia de las altas temperaturas que se alcanzan en dicho proceso.
- 3.- El 5-hidroximetilfurfural presente en los aguardientes puede tener además otro origen que es el caramelo colorante añadido a estos aguardientes con el fin de aumentarles el color y otorgarles el carácter de envejecidos.
- 4.- La presencia de aldehídos furánicos en los aguardientes envejecidos va a estar condicionada por la especie de roble de la que está fabricado el barril, por el quemado o no de la parte interna de las duelas, por la antigüedad y uso de éste, así como por el proceso de envejecimiento empleado en la maduración del aguardiente.
- 5.- La extracción de aldehídos furánicos por parte del aguardiente es un proceso determinado por el agotamiento de estas sustancias en la madera del barril.
- 6.- Es posible reproducir mediante un sistema de envejecimiento, a base de macerados de virutas de madera de características especiales (tamaño, temperatura de quemado, tiempo de quemado), el proceso de maduración de los aguardientes.
- 7.- Los aldehídos furánicos encontrados en los aguardientes envejecidos mediante este sistema alternativo, se encuentran sujetos a los mismos condicionantes de agotamiento y especie de madera, encontrados para los aguardientes envejecidos en barriles.
- 8.- Un proceso adecuado de agitación de los macerados de virutas aumenta considerablemente la extracción de aldehídos furánicos por parte del aguardiente, consiguiendo en horas, concentraciones de estos componentes encontradas en macerados envejecidos durante meses.
- 9.- El componente furánico más abundante de los caramelos colorantes empleados en el brandy, es el 5-hidroximetilfurfural, quedando el furfural en un porcentaje minoritario en comparación con el anterior.
- 10.- Existen diferencias cuantitativas entre los brandies comerciales envejecidos mediante el sistema estático francés y aquellos que lo fueron mediante el sistema dinámico de soleras, en cuanto al contenido de aldehídos furánicos en ellos.
- 11.- La mayoría de las muestras de brandies comerciales estudiadas contienen caramelo como colorante, lo cual indica una práctica habitual en la elaboración de estas bebidas.
- 12.- La mayoría de los brandies comerciales analizados presentan unas concentraciones de 5-hidroximetilfurfural muy superiores a las encontradas para los brandies controlados. Por el contrario, las concentraciones de furfural encontradas en ambos tipos de muestras son muy parecidas, lo que indica un mismo origen, la degradación térmica de la hemicelulosa.
- 13.- La relación furfural/5-hidroximetilfurfural en las muestras carentes de caramelo es superior a la unidad, lo que indicaría el origen del 5-hidroximetilfurfural como consecuencia de la degradación térmica de la celulosa, mientras que esa misma relación en las muestras comerciales es inferior a la unidad, teniendo en este caso su origen, en la adición de caramelo.
- 14.- Es posible ajustar la presencia de aldehídos furánicos en los aguardientes envejecidos por cualquier sistema, a una ecuación no lineal.
- 15.- No se puede tomar a los aldehídos furánicos como marcadores de envejecimiento de los aguardientes envejecidos, debido a la influencia que sobre su presencia en los aguardientes tienen factores tales como el agotamiento del barril, especie de madera empleada en la fabricación del barril, tecnología de fabricación, sistema de envejecimiento empleado, presencia de caramelo en los brandies, etc.

BIBLIOGRAFIA

V. BIBLIOGRAFIA

- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. AOAC. Arlington, 1990.
- AKHMEZDOV, D.A., SHAKHSHAEV, K.G. 1978. Nature of some luminiscent components of brandy spirits. *Biokhim. Vinograd. Vin.*, 2: 78-90.
- ALEXANDRE, J.L., SERRANO, P. 1989. Influencia del grado de madurez en el contenido de hidroximetilfurfural en zumo de manzana. *Aliment. Equip. Tecnol.* 5: 83-86.
- ALFONSO, F.C., MARTIN, G.E. & DYER, R.H. 1980. Flavors and nonalcoholic beverages HPLC determination of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in caramel solution. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63 Nº 6: 1310-13.
- ALONSO, R., ESTRELLA, M^a I., REVILLA, E. 1986. Compuestos polifenólicos en elaboración y envejecimiento del vino. *Alimentación. Equip. Tecnol.* 5: 163-68.
- AMRINE, M.A., BERG, H.W., CRUSS, W.V. 1972. The technology of wine making. 3er ed., The AVI Publishing Company, Inc., Westport.
- AMRINE, M.A., OUGH, C.S. 1980. Wine and must analysis. John Wiley and Sons, New York.
- ARANGUREN, P. 1991. Licor de Dioses. En prensa.
- ARTAJONA SERRANO, J. 1991. Caracterización del roble según su origen y grado de tostado, mediante la utilización de GC y HPLC. *Viticultura y Enología Profesional.* Nº 14: 61-72.
- AYUSO, J., FERNANDEZ, J.A., GARCIA, F., GRADO, E., PLAZA, J.L. Anuario del mercado español 1991. Ed. Banco Español de Crédito. Madrid.
- BADUI DARGAL, S. 1981. Química de los Alimentos. Ed. Alhambra Mexicana. 1ª Edición. México D.F.
- BARABASZ, W., BRZOZKA, L., KRZECZEK, J., TOMASIK, P. 1990. Studies on mutagenicity of caramel. *Starch/Staerke.* 42 (2): 69-71.
- BARBANCHO, A. 1992. Estadística teórica básica. Probabilidad y modelos probabilísticos. Ed. Ariel. 1ª Edición. Barcelona.
- BARNARD, A. 1969. The whisky distilleries of the United Kingdom. *Harper's Weekly Gazette.* London.
- BARNIER, G., STOLL, S. 1965. Study and characterization of hydroxymethylfurfural in vanilla sugars and identification of the components of vanillin and ethylvanillin by paper and thin-layer chromatography. *Ann. Pols. Expert. Chim.* 57 (664): 131-43.
- BARNOUD, F. 1980. La cellulose in les polymeres vegetaux, polymeres parietaux et alimentaires non azotés. Ed. Bordas. Paris. 66-86.
- BARROSO, C.G., PEREZ BUSTAMANTE. 1987. Estudio de la separación cromatográfica de mezclas de ácidos y aldehidos fenólicos y análisis cualitativo en muestras complejas de vino. *Afinidad.* XLIV: 409, 243-51.
- BAUMES, R., CORDONNIER, R., NITZ, S. & DRAWERT, F. 1986. Identification and determination of volatile constituents in wines from different vine cultivars. *J. Sci. Food. Agric.* 37: 927-943.
- BERMAN, C.P. 1987. Improved efficiency for colorimetric determination of furfural in citrus juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 70 (3): 601-602.
- BELCHIOR, A.P., CARVALHO, C.P. 1984. Estudo comparativo de métodos de determinação do furfural en aguardentes. *Sciencia Tec. Vitic.* 3 (1): 37-42.
- BELCHIOR, A.P., PUECH, J.L. 1983. Caracteristiques de la composition phenolique du bois de chêne portugais et de quelques eaux-de-vie du vin. *Ciencia y Tec. Vitic.* 2 (2): 57-65.
- BELLANATO, J., BRAVO-ABAD, F. 1988. Análisis de componentes del brandy por espectrofotometría infrarroja. *Agroquim. Tecnol. Aliment.* 28, Nº 3: 379-94.
- BERNARD, A.M. DE RUSSIS, R., NORMAND, J.C., LAUWERYS, R.R. 1989. Evaluation of the subacute nephrotoxicity of cyclohexane and other industrial solvents in the female sprague-Dawley rat. *Toxicology letters.* 45: 271-280.
- BERTRAND, A. 1989. Role of the continuous distillation process on the quality of Armagnac. *Distill. Beverage Flavour.* 97-115.
- BERTRAND, A., SALAGOITY-AUGUSTE, M.H. 1981. Dosage des acides phenoliques dans les vins par chromatographie liquide a haute-pression. *Ann. Fais Exp. Chim.* 74, Nº 793: 17-28.
- BERTRAND, A., SEGUR, M.C. & JADEAU, PH. 1988. Comparaison analytique des eaux de vie d'armagnac obtenues par distillation continue et double chauffe. *Connaissance Vigne Vin.* 22, Nº 1: 89-92.
- BERTUCCIOLI, M., VIANI, R. 1976. Red wine aroma: Identification of headspace constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 27: 1035-38.
- BICCHI, C., FRATTINI, C., BELLIARDO, F., NANO, G.M. 1983. Considerations and remarks about honey volatile components. *Recogido C.a.* 52004x, 98.
- BIRSMANN, G.J., MCGINNIS, D.G., SCHULTZ, T.P. 1987. Scanning electron microscopy of mixed hardwoods subjected to various pretreatment processes. *J. Agric. Food Chem.* 35: 716-720.
- BOIDRON, J.N., CHATONNET, P., PONS, M. 1988. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaiss. Vigne Vin.* 22(4): 275-94.
- BOSCH, J., SERRA, J. 1986. Evolución del contenido de hidroximetilfurfural en las mieles procesadas y situadas en el mercado español. *Alimentaria.* 175: 59-61.
- BOURGOIS, J., GUYONNET, R. 1988. Characterization and analysis of torrefied wood. *Wood Sci. Technol.* 22: 143-55.
- BOZHINOV, A., BALKANSKI, V. 1990. Comparative study of oak woods. *Khranit. Prom-St.* 39(3): 25-7. *Recogido C.A.* 224175, 114, 1991.
- BOZHINOV, A., BEKALOV, M. 1983. Oak extract in the aging of wine distillates. *Lozar. Vinar.* 32(2): 21-4.
- BRAVO ABAD, F. & PEREZ RODRIGUEZ, L. 1985. Alcoholes superiores y espectro de absorción ultravioleta de muestras comerciales de brandy y coñac. *Alimentaria.* 22 (6): 89-100.
- BRAVO ABAD, F., PEREZ RODRIGUEZ, L. 1987. Maturation of pot still brandy in oaks casks. *Alimentaria.* 24(187): 57-60.
- BRENAJER, M.W., KHAN, A.A. 1976. Furfural and beer color as indices of beer flavor deterioration. *J. Amer. Soc. Brewing Chemists.* 34: 14-19.

- BRICOUT, J. 1971. Analyse de quelques constituants dérivés du chêne dans les vieilles eau-de-vie d'Armagnac. Ann. Technol. Agric. 20: 217-223.
- BUCHERT, J., PULS, J., POUTANEN, K. 1989. The use of steamed hemicellulose as substrate in microbial conversions. Appl. Biochem. Biotechnol. 20(21): 309-18.
- BUGYI, B., LEPOLD, J. 1951. Intoxication with furfural. Cited in AMA Arch. Industr. Hyg. 4: 512. Citado por Castellino, N., Elmino, D., Rozeva, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. Arch. Environ. Health. 7: 574.
- CABEZUDO, M.D., ALMYM J. 1988. Enrichment of aldehydes and ketones in sherry. J. Food Science. 53 (6): 1900-1.
- CACERES, I., BARAHONA, F., POLO, C. 1986. El análisis íntegro de los vinos IV. Cromatografía de líquidos de alta eficacia. Aliment. Equip. Tecnol. 3: 141-152.
- CANTAGREL, R. 1989. A scientific approach to quality control for cognac spirits. Distill. Beverage Flavour, 117-132.
- CANTAGREL, R., VIDAL, J.P., MAZEROLLES, G. 1992. Comparaison de méthodes de dosage de quelques éléments du non alcool dans les spiritueux aldehydes, esters et furfural. O.I.V. F.V. N° 869. 1758/050790.
- CARRASCO, F. 1991a. Aspectos químicos, tecnológicos e industriales de la producción de furfural. Ingeniería Química. Noviembre.
- CARRASCO, F. 1991b. Fundamentos de la producción de furfural. Afinidad, XLVIII, 433.
- CARRASCO, F. 1993. Production of furfural by dilute-acid hydrolysis of wood: methods for calculating furfural yield. Wood and Fiber Science, 25 (1), 000-0.
- CASAGRANDE, S. 1980. Dosaggio dei distillate per gascromatografia. Rev. Soc. Ital. Sci. Aliment. 9(2): 109-20.
- CASARES, R., CASARES, E. 1952. Constantes analíticas de los brandys de la zona Montilla-Moriles. Anales de Bromatología. IV: 397-402.
- CASARES, R., OLMEDO, R.G. 1949. Estudio analítico de algunos coñacs españoles. Anales de Bromatología. I: 31-56.
- CASTELLINO, N., ELMINO, D., ROZEVA, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. Arch. Environ. Health. 7: 574-82.
- COLLINO, F. & VOLPI, S. 1982. Determinazione di composti a nucleo furanico nel caramello. Boll. Chim. Farm. 121: 375-86.
- CHATONNET, P., BOIDRON, J.N., PONS, M. 1989. Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur la composition chimique. 2^a partie. Evolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. Connaiss. Vigne Vin. Journal International de Sciences de la Vigne et du vin. 23: 223-250.
- CHAUDHARY, S.S., WEBB, A.D., KEPNER, R.E. 1968. GLC investigation of the volatile compounds in extracts from sauvignon blanc wines from normal and botrytised grapes. Am. J. Enol. Vitic. 19: 6-12.
- CHEFTEL, J.C., CHEFTEL, H. 1980. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol. I. Ed. Acribia, Zaragoza, 1980.
- CHEN, C.L. 1970. Constituents of Quercus rubra. Phytochem, 9: 1149.
- DAVIDEK, J., PUDIL, F., VESLISEK, J., KUBELKA, V. 1982. Volatile constituents of elder (*Sambucus nigra* L.) Part. II. Berries. Lebensm. Wiss. Technol. 15 (3): 181-2.
- DECRETO 2484/1974, de 9 de agosto, por el que se aprueba la Reglamentación Especial para la elaboración, circulación y comercio del brandy. (B.O.E. n° 218 de 11 de septiembre de 1974).
- CORRECCION de errores al Decreto 2484/1974, de 9 de agosto, por el que se aprueba la Reglamentación Especial para la elaboración, circulación y comercio del brandy (BOE de 13 de noviembre de 1974).
- REAL DECRETO 1908/84 de la Presidencia del Gobierno, de 26 de septiembre, que modifica los artículos 49 y 50 del anterior (BOE núm. 259 de 29 de octubre de 1984).
- REAL DECRETO 723/1988, de 24 de junio, del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno que modifica el artículo 16, uno punto tres (BOE núm. 163 de 8 de julio de 1988).
- REAL DECRETO 1045/1990, de 27 de julio del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno que deroga el artículo 16, uno punto cuatro del Decreto anterior (BOE núm. 191, de 10 de agosto de 1990).
- REAL DECRETO 1347/1990 de 26 de octubre del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno que deroga el apartado 2 del artículo 61 del Reglamento anterior (BOE núm. 268, de 8 de noviembre de 1990).
- DECRETO de 1 de mayo de 1909. Publicado en el Diario Oficial de la República Francesa de 7 de mayo de 1909.
- DECRETO de 11 de septiembre de 1984. Publicado en el Diario Oficial de la República Francesa de 21 de septiembre de 1984.
- DECRETO de 15 de mayo de 1936. Publicado en el Diario Oficial de la República Francesa de 17 de mayo de 1936.
- DECRETO de 19 de agosto de 1921. publicado en el Diario Oficial de la República Francesa de 21 de agosto de 1921.
- DECRETO de 2 de octubre de 1992. publicado en el Diario Oficial de la República Francesa de 9 de octubre 1992.
- DECRETO de 31 de julio de 1973. publicado en el Diario Oficial de la República Francesa de 8 de agosto de 1973.
- DECRETO de 6 de agosto de 1936. publicado en el Diario Oficial de la República Francesa de 13 de agosto de 1936.
- DEHOVE, R.A. 1984. Reglementation des produits et services. Ed. Commerce, Paris.
- DEIBNER, L. 1976. Essai de classification internationale des eaux-de-vie d'origine vinicole. Industries alimentaires et agricoles, 11: 1346-50.
- DELGADO, C. 1987. El Libro de los licores y aguardientes. 1^a Ed. Alianza Editorial. Madrid.
- DELGADO, T. & GOMEZ-CORDOVES, C. 1987. Teneur des brandies commerciaux espagnols en aldehydes et en acides phenoliques. Cahier Scientifique, 107: 39-43.
- DELGADO, T., GOMEZ-CORDOVES, C., VILLARROYA, B. 1990. Relationships between phenolic compounds of low molecular weight as indicators of the aging conditions and quality of brandies. Am. J. Enol. Vitic. 41 (4): 342-345.
- DI STAFANO, R. 1988. Volatile compounds of wood-aged wines. Vinin Ital. 830(1): 9-18.

- DIRZ, J., CELA, R. & PÉREZ-BUSTAMANTE, J.A. 1985. Development of some sherry brandy aroma components along the solera system. *Am. J. Enol. Vitic.* 36 No 1, 86-94.
- DIRETTIVA DEL CONSIGLIO, de 21 de diciembre de 1988 (89/107/CEE), relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los aditivos alimentarios destinados al consumo humano (DOCE, nº L 40, de 11 de febrero de 1989).
- DIRETTIVA DEL CONSIGLIO, de 22 de junio de 1988 (88/388/CEE), relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en el ámbito de los aromas que se utilizan en los productos alimenticios y de los materiales de base para su producción (DOCE, nº L 184/61, de 15 de julio de 1988).
- DROSS, A., BALTES, W. 1989. The fractionation of caramel ingredients according to their molecular weights. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 188 (6): 540-44.
- DROSS, A., HARDI, R., BALTES, W. 1987. Detection and identification of caramel colors in some liquid foods. *Presenius Z. and Chim.* 328(6): 495-8.
- EGOROV, I.A., PISARNITSKII, A.F., EGOPAROVA, R.KH., MNDZHOYAN, E.L. 1981. Production of an accelerating agent for aging brandy spirits from oakwood. *Recogido C.A.* 190324V, 94.
- EVANS, J.G., BUTTERWORTH, K.R., GAUNT, I.F., GRASSO, P. 1977. Long-term toxicity study in the rat on a caramel produced by the "half open-half closed pan ammonia process". *Food. Cosmet. Toxicol.* 15: 523-531.
- FAO/OMS. 29º Informe del Comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios. Informe FAO sobre la evaluación de ciertos aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos. Ginebra, 1986.
- FRATHER, M.S.; HARRIS, D.W.; NICHOLS, S.B. 1983. *J. Org. Chem.* 37(10), 1606-8. Citado por CARRASCO, F. 1991. fundamentos de la producción de furfural. *Afinidad.* XLVIII, 433.
- FENGL, D., WEGENER, G. 1984. Influence of temperature. In: *Wood-Chemistry, ultrastructure, reactions.* Walter de Gruyter, Berlin, NY. 319-44.
- FERRING, C. 1985. Some considerations on caramelization. *Edesipar.* 36(1): 1-9. *Recogido C.A.* 52757S, 103, 1985.
- FEZZI, E. y col. 1987. Production of brandy by the charantais process. *Vini Ital.* 29 (3): 38-44.
- FIDALGO, F. 1991. *La Memoria del tiempo. Cognac.* En prensa.
- FRANCIS, J.L., SEPTON, M.A., WILLIAMS, P.J. 1992. A study by sensory descriptive analysis of the effects of oak origin, seasoning and heating on the aromas of oak model wine extracts. *Am. J. Enol. Vitic.* 43(1): 23-9.
- FRATTINI, C., BICCHI, C., BARRETTINI, C., MAND, G.M. 1977. Volatile flavor components of livorice. *J. Agric. Food Chem.*, 25 (6): 1238-41.
- GANDER, G. 1932. Histologische Befunde an mit furfural vergifteten Kaninchen. *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 167: 681. Citado por Castellino, N., Elmino, D., Rozeva, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. *Arch. Environ. Health.* 7: 574.
- GARCIA BREIJO, F.J., PRIMO YUFERA, E. 1989. Alcohol de biomasa III. Hidrólisis de la fracción lignocelulósica obtenida de residuos agrícolas y cosechas de sorgo. *Agroquím. Tecnol. Aliment.* 29, 4: 501-9.
- GAUNT, I.F., LLOYD, A.G., GRASSO, P., GANGOLLI, S.D., BUTTERWORTH, K.R. 1977. Short-term study in the rat on two caramels produced by variations of the "ammonia process". *Food Cosmet. Toxicol.* 15: 509-521.
- GEORGE, H. 1989. *Elaboración artesanal de licores.* Ed. Acribia, Zaragoza.
- GLONTI, T.A., KVANTALIANI, N., DEMORDZMIKIA, N., TIKMOMIROVA, I.P., NIMVLICHEVA, S., YRUBNIKOV, V. 1988. Content of phenolic acids in oak barrels used during aging of cognac. *Sadovod. Vinograd.* (6), 38-9. *Recogido C.A.* 1479261, 109, 1988.
- GLORIES, Y. 1989. Phénomènes oxydatifs liés a la conservation sous bois. Datos no publicados.
- GOBIN, S.J.P., PAINE, A.J. 1989. Effect of oral and parenteral administration of B vitamins on the lymphopenia produced by feeding ammonia caramel or 2-acetyl-4(5)-(1,2,3,4-tetrahydroxy)butylimidazole to rats. *Food Chem. Toxicol.* 27 (10): 627-30.
- GORANOV, N., SIMEONOVA, E. 1982. Changes in composition and aroma complexes during aging of wine distillates. *Lozar. Vinar.* 31 (2): 36-40.
- GORETTI, G., LIBERTI, A., DI PALO, C. 1980. Gas chromatographic investigation on caramel aroma. *Annali di Chimica.* 277-84.
- GRIEBSBY, J.H., PALAMAND, S.R. 1976. Studies on the staling of beer: the use of 2-thiobarbituric acid in the measurement of beer oxidation. *J. Amer. Soc. Brewing chemists.* 34: 49-55.
- GUERRA HERNANDEZ, E., MONTILLA, J., GARCIA, R. 1990. Determinación espectrofotométrica y cromatográfica del furfural en el vino: estudio comparativo. *Afinidad.* XLVII: 430.
- GUERRA HERNANDEZ, E.J., MONTILLA GOMEZ, J., GARCIA-VILLANOVA, R. 1988. Determinación espectrofotométrica y cromatográfica de hidroximetilfurfural en vino: estudio comparativo. *Química Analítica.* 7 (1): 100-106.
- GUILLEN, D.A., VISERAS, C.G., BARROSO, C.G., CELA, R., PEREZ-BUSTAMANTE, J.A. 1986. Extracción líquido-líquido de ácidos y aldehídos del vino. *Química Analítica.* 5 (3): 312-328.
- GUYMON, J.F. & CROWELL, E.A. 1972. GC-separated brandy components derived from french and american oaks. *Am. J. Enol. Viticult.* 23 No 3: 114-120.
- GUYMON, J.F., CROWELL, L.A. 1969. Gas-chromatographic determination of ethyl esters on fatty acids in brandy on wine distillates. *Am. J. Enol. Vitic.* 20 (2): 76-85.
- GUZMAN, G., CORBALAN, A., LAENCINA, J., NUÑEZ, J.M. 1986. HMF, indicador de modificaciones indeseables en cromogénos de albaricoque. *Aliment. Equip. Tecnol.* 6: 73-77.
- HADI, S.M., SHAHABUDDIK, R. 1989. Specificity of the interaction of furfural with DNA. *Mutat. Res.* 225 (3): 81-94.
- HARDT, R. & BALTES, W. 1987. The analysis of caramel colors. Differentiation of the classes of caramel colors by curie point pyrolysis-capillary gas chromatographic-mass spectrometric. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 185: 275-280.
- HARDT, R., BALTES, W. 1989. Analysis y caramel colours. Curie-point Pyrolysis-High-Resolution Gas Chromatography/Mass spectrometry and simulation of pyrolysis-mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 15: 159-65.
- HASNIFA, A., MASAKO, I. 1987. Detection and identification of flavor compounds added to foods. *Nara-ken Eisei Kenkyusho Neupo.* 22: 84-7.
- HESSOV, I. 1975. Toxicity of 5-HMF and furfural to *Daphnia Magna*. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 37: 94-96.

- HOUBEN, G.P., KUIJPERS, M.H.M., VAN LOVEREN, H., PENNINKS, A.H., SINKELDAM, E.J., SEINEN, W. 1989. Effects of ammonia caramel and tetrahydroxymethylimidazole on the immune system of rats. *Arch. Toxicol. Suppl.* 13: 183-187.
- HOUBEN, G.P., VAN DEN BERG, KUIJPERS, M.H.M., LAM, B.W., VAN LOVEREN, H., SEINEN, W., PENNINKS, H. 1992. Effects of the color additive caramel color III and 2-acetyl-4(5)-tetrahydroxybutylimidazole (THI) on the immune system of rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 113: 43-54.
- ISCARD, A., MACKAY, J.R., O'BRIEN, C. 1988. Lymphopenic effects on mice of a component of caramel, THI. *Immunol. Cell. Biol.* 66 (5-6): 395-402.
- JAFFE, M., COHN, R. Cited by Fabre, R., Truhaut, R. *Métabolisme des solvants*. *Ann. Med. Leg.* 30: 232, 1949. Citado por Castellino, N., Elmino, D., Rozeva, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. *Arch. Environ. Health*. 7: 574.
- JEURINGS, H.J. & KUPPERS, F.J.E.M. 1980. High Performance liquid chromatography of furfural and hydroxymethylfurfural in spirits and honey. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63(6): 1215-18.
- JIMENEZ-PEREZ, S., CORZO, N., MORALES, F.J., DELGADO, T., OLANO, A. 1992. Effect of storage temperature of lactulose and 5-HMP formation in UHT milk. *J. Food Protection*. 55: 96-91.
- JINDRA, J.A. & GALLANDER, J.F. 1987. Effect of American and French oak barrels on the phenolic composition and sensory quality of seyval blanc wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 38 NO 2: 133-137.
- JOFFROY, A., SERVEAUX, R. 1986. Mesuration de la toxicité expérimentale et de la toxicité vraie du furfural. *Arch. Exp. Anat. Path.* 8: 195. Citado por Castellino, N., Elmino, D., Rozeva, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. *Arch. Environ. Health*. 7: 574.
- JOHNSON, K.K. 1969. Curve fitting easily done with hyperbolic equations. *Chem. Eng.* 75: 122-26.
- JOHNSON, H. 1986. *El vino, Atlas mundial de vinos y licores*. Ed. Blume. Barcelona.
- KAPLUNOVA, T.S., ABDUAZIMOV, Kh.A., ISMAILOVA, P.L., SHERMATOV, B.E. 1990. Gas chromatographic study of the products of thermolysis of hydrolytic lignin. *Khim. Prir. Soedin.* 3: 420-1.
- KAZUMOV, N.B. 1963. Formation and identification of aldehydes in Madeira wines. *Tekku-Ekon. Byul.* 6 (4): 41-43.
- KONG, Z.W.B., SHINOHARA, K., MITSUKI, M., MURAKAMI, M., OMURA, M. 1989. Desmutagenicity of furan compound towards some mutagens. *Agric. Biol. Chem.* 53 (8): 2073-79.
- KOURAKOU-DRAGONAS, ST. 1988. 68^{eme} Assemblée generale de l'office international de la vigne du vin eaux-de-vie de vin et brandy. Paris.
- KOURAKOV-DRAGONAS. 1988. Study of spirits and alcohols of grape and wine origin. bulletin l'O.I.V. 683-684.
- KROLINKO, V.P., SAMAMENKO, M.I., KETRAR, P.M., RUSSU, G.I., KHILKOV, B.M., BAEV, O.M., CHERNETSKII, S.A. 1981. aging of brandy spirits. *Otkrytiya. Izobret. Prom. Obraztsy. Tovarye Zneki.* 47: 123-4. *Recogido C.A.* 241208t, 96, 1982.
- KVASNICKA, P. 1989. Determination of 4-methylimidazole in caramel by capillary-isotachophoresis. *Electrophoresis*. 10 (11): 801-802.
- KWASNIK, J., ZIOBROWSKY, J. 1984. Effect of a magnetic field, acoustic and ultrasonic waves on the maturation of a wine distillate. *Langago weoclavin.* 255: 165-79. *Recogido C.A.* 193311n, 92, 1984.
- LAPON, J. 1971. Problèmes actuels de technologie et de vieillissement du cognac et des eaux-de-vie de vin, et de marc de raisin. *Bull. Office Inter. Vigne Vin*, 482: 339.
- LAPON, S., LAPON, J., COVILLAUD, P. 1964. *Le cognac. Sa distillation*. Ed. Baillière, 4th ed. Paris.
- LAGE, M., SIMAL, J., YANEZ, T. 1989. Analisis de licor de café. III. Determinación de furfural, cafeína y sustancias tánicas. *Tec. Lab.* 12 (149): 204-210.
- LAPINE, M.R. 1987. Sur l'action du furfural. *CR. Soc. Biol. (Paris)*, 39: 437. Citado por Castellino, N., Elmino, D., Rozeva, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. *Arch. Environ. Health*. 7: 574.
- LEANDRO MONTES, A. 1981. *Bromatología II*. 2^a Ed. Ed. Universidad. Buenos Aires.
- LEHMANN, G. 1985. Sugar color-caramel: additive-colorant?. *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* 85(2): 388-9.
- LEHMANN, G., BRINKLE, B. 1987. Detection of sugar color in foods. *Lebensmittelchen Gerichh. Chem.* 41(1): 9-10.
- LEUBOLT, R., KLEIN, H. 1989. Ion-exchange HPLC in technical analytic laboratories in breweries. Part. 1. Introduction to column technology determination of HMP. *Monatsschr. Branwiss.* 42(5): 207-10.
- LINDSAY, S. 1987. *High performance liquid chromatography*. Ed. Kealy D. and ACEOL. London.
- LITCHEV, V. 1989. Influence of oxidation processes on the development of the taste and flavor of wine distillates. *Am. J. Enol. Vitic.* 40 (1): 31-35.
- LOPEZ GONZALEZ, A. 1964. Contribución al estudio analítico de los coñacs, rones y whiskys del mercado español. *Anales de Bromatología*. XVI: 125-210.
- LOPEZ ROMASANTA, P. 1990. Valores medios de once componentes de las holandas españolas, en el período 1982 a 1985. *Aliment. Equip. Tecnol.* 11: 87-90.
- LUJAN, N. 1985. *Libro del brandy y de los destilados*. 1^a Ed. Editorial Laia, S.A. Barcelona.
- LYALIKOV, Y.S., TIMOFEERA, D.A. 1963. A quantitative chromatographic assay of aldehydes in wine and brandy. *Vinodel. Vinograd.* 23 (1): 19-23.
- LYNBCHENKOV, P.P., ODARCHENKO, V., KATRYUKHIN, B.A., OLARU, K.N., PROFIS, D.M. 1988. Enrichment of cognac with tannins. *Pishch. Prom-st.* 11: 33-4.
- MAARSE, H., NOEVER DA BRAUW. 1966. Analysis of the volatile components of Jamaica rum. *J. Food Sci.* 31 (6): 951-55.
- MACHRIK, J., SAPIK, J., FLEURIET, A. 1991. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Food Sci. Nutr.* 30 (4): 441-486.
- MADRIGAL-BUJAJDAR, E., CALDERON, R., DIAZ, S. 1991. Sister chromatid exchange frequencies induced in vivo. *J. Toxicol. Environ. Health.* 32 (34): 479-486.
- MAGA, J.A. 1984. Flavor contribution of wood in alcoholic beverages. In: Adda (ed.). *Progress in flavour research* Elsevier Science Publ. 409-16.
- MAGA, J.A. 1989. The contribution of wood to the flavor of alcoholic beverages. *Food Reviews International.* 5: 39-99.

- MARINI, S., RIGHI, G. 1985. Dosaggio del 5-HMF nel miele. Rapido metodo in HPLC. *Industrie alimentari*. 24(9): 693-4.
- MARINOV, M., PUBCH, J.L. 1981. Lignin in oak wood, brandy distillate and oak extract. *Vkusoba Prom-st Plovdiv*. 22(2): 55-56. Recogido C.A. 196771X, 97, 1982.
- MARSAL, F. & SARRR, CH. 1987. Etude per chromatographie en phase gazeuse de substances volatiles issues du bois de chene. *Connaissance Vigne Vin*. 21 N° 1: 71-80.
- MARSTELLER, B. 1992. *Guía del Cognac*. Ed. Centro de Información del Cognac. Barcelona.
- MARTIN, A., LUNA DEL CASTILLO, J. 1990. *Bioestadística para las ciencias de la salud*. Ed. Norma, 3ª edición. Madrid.
- MARTIN-ALVAREZ, P.J., HERRANZ, A. 1991. Application by multivariate statistical methods to the differentiation of Gin brands. *J. Sci. Food Agric*. 57: 263-72.
- MARTYNIENKO, E., HISHIEV, P., EGOROV, I.A. 1980. Fractional composition and technological properties of brandy color. *Vinodel. Vinograd. SSSR*, (2): 10-12.
- MATAS, R. 1982. Aplicaciones de la cromatografía líquida en la industria alimentaria. *Aliment. Equip. Tecnol*. 6: 111-116.
- MATSUI, S., YAMAMOTO, R., YAMADA, H. 1989. The bacillus subtilis/microsomal rec-assay for the detection of DNA damaging substances which may occur in chlorinated and ozonated waters. *Water Sci. Technol*. 21 (8-9): 875-887.
- MATTIVI, F., VERSINI, G., SARTI, S. 1989. Scopoletin in commercial wood-aged brandies. *Riv. Vitic. Enol*. 42(3): 23-30.
- MAURER, R., ZVORSCHI, E. 1990. Wooden barrels-properties and effects. Part. 4. *Weinwirtsch Tech*. 2: 23-9.
- MC DOUGALL, J., SHADA, J.D., DAKIN, P.E. 1963. Studies on furfural and 5-hydroxymethylfurfural in beer. *J. Amer. Soc. Brewing Chemists, Proc*. 48-51.
- MCGUIGAN, H. 1932. The action of furfural. *J. Pharmacol*. 167: 681. Citado por Castellino, N., Elmino, D., Rozeva, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. *Arch. Environ. Health*. 7: 574.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION. 1989. *Consumo Alimentario en España*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección General de Política Alimentaria. Madrid.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION. 1989. *El lugar de compra de los alimentos*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General de Alimentación, Madrid.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION. 1988. *Consumo Alimentario en España*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección General de Política Alimentaria. Madrid.
- MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO. 1985. *Análisis de Alimentos. Métodos oficiales y recomendados por el Centro de Investigación y Control de la Calidad*. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid.
- MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO. 1990. *Recopilación de "IDAS" y otros datos complementarios de los aditivos alimentarios*. Secretaría General Técnica, Publicaciones, Documentación y Biblioteca. Madrid.
- MNDZHOYAN, E.L., AKOPYAN, E.L., AZARYAN, R.A., SAAKYAN, A.S., MINASYAN, G.A., AKHNAZARYAN, F.A., GERORKYAN, A.S., PETROSYAN, M.A. 1990. Treatment of wood and its effect on brandy quality. *Pishch. Prom-st*. 11: 53-4.
- MNDZHOYAN, E.L., AKOPYAN, E.L., AKHNAZARYAN, F.A., AREVSHATYAN, A.A., GEVORKYAN, A.S., SAAKYAN, A.S. 1989. Method of producing from oakwood and accelerating agent for maturing brandy spirits. *Otkrytiya, Izobret*. 14: 115.
- MNDZHOYAN, E.L., DZHANAZYAN, R.S. 1963. Factors influencing the composition of cognac and related spirits. *Min. Sel'sk Khoz. Arm*. 5: 97-115.
- MNDZHOYAN, E.L., EGOROV, I.A., RODOPULO, A.K., PISARNISTKI, A.F., SKRIPNIK, A.Y., AKHNAZARYA, A.F. 1978. Influence of oak wood treatment on the chemical composition of brandy alcohols. *Prikladn. Mikrobiol*. 14: 289-294.
- MONTIES, B. 1987. Composition chimique des bois de chene: Composés phenoliques relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux de vie. *Connaissance Vigne Vin*. 21 N° 3: 169-190.
- MONTILLA GOMEZ, J., OLEA SERRANO, F., GARCIA-VILLANOVA, R. 1988. Determinación espectrofotométrica de furfural y 5-hidroximetilfurfural al estado de tiosemicarbazonas en vinos tipo "Málaga". *Química Analítica*. 7 (1): 77-88.
- MORALES, F.J., ROMERO, C., JIMENEZ-PEREZ, S. 1992. An enhanced liquid chromatographic method for 5-HMF determination in UHT milk. *Chromatographia*. Vol. 33, N° 112.
- MOROZOV, E.P., SMISAKOV, E.P., SHKUT, V.M., TSYKUNOVA, T.V. 1988a. Effect of the catalysts of furfural stage of two-phase wood hydrolysis on the biological quality of the hydrolyzates. 2: 76-9.
- MOROZOV, E.P., TSEDRIK, T.P., ZAKLEPNAYA, M.S. 1988b. Conversion of birchwood polysaccharides during thermocatalytic treatment in the presence of diluted sulfuric acid. *Khim. Khim. Tekhnol*. 2: 82-6.
- MOUJOUNET, M., RABIER, Ph., PUBCH, J.L., VERETTE, E., BARILLERE, M. 1989. Analysis by HPLC of extractable substances of oak wood-application to a chardonnay wine. *Sciences des aliments*, 9: 35-51.
- NABETA, K. 1990. Aging of brandy and chemical compounds of barrel. *Kagaku to Seibutsu*. 28(5): 304-6.
- NABETA, K., YONEKUBO, J., MIYANE, M. 1986. Analysis of volatile constituents of european and japanese oaks. *Mokuzai Gakkaishi*, 32 (11): 921-27.
- NABETA, K., YONEKUBO, J., MIYAKE, M. 1987. Phenolic compounds from the heartwood of european wood (*Quercus robur*) and brandy. *Mokuzai Gakkaishi*. 33: 408-15.
- NAKAHARI, W., MORI, K. 1941. Experimental production of liver cirrhosis by furfural feeding. *Gann*, 35: 208. Citado por Castellino, N., Elmino, D., Rozeva, M.D. 1963. Experimental research of toxicity of furfural. *Arch. Environ. Health*. 7: 574.
- NAUDIN, R. 1986. Elevage des vins de Bourgogne en fûts de chène; cas des vins blancs et rouges de garde. C.S.T. Session I.T.V. Institut Technique du vin publication, 17 pages.
- NISHI, Y., MIYAKAWA, Y., KATO, K. 1989. Chromosome aberrations induced by pyrolysates of carbohydrates in chinese hamster V79 cells. *Mutat. Res*. 227(2): 117-23.
- NOMDEDEU, L., LEAUTE, R., GRANDCHAMP, B., BONNICHON, C., LAURICHESSE, D., TRICHET, P. 1988a. Brûlage des barriques de chène et qualité des vins du Médoc. *Progres Agricole et viticole*, 105: 505-14.
- NOMDEDEU, L., LEAUTE, R., GRANDCHAMP, B., BONNICHON, C., LAURICHESSE, D., TRICHET, P. 1988b. Brûlage des barriques de chène et qualité des vins du Médoc (2ème partie). *Progres Agricole et viticole*, 105: 552-56.

- NYKANEN, M., SYOMALAINEN, H. 1983. Arome of beer, wine and distilled alcoholic beverages. Ed. Reidd Publishing Company. Dordrecht. (Pays-Bas).
- O'BRIEN, J., MORRISSEY, P.A. 1988. Nutritional and toxicological aspects of the maillard browning reaction in foods. *Food Sci. Nutr.* 28 (3): 211-248.
- OGANEZOVA, I.L. 1978. Effect of the treatment of oak wood on the quality of brandy spirits. *Biokhim. Vinograde Vine*. 2: 76-77.
- ONISHI, M., CROWELL, E.A. & GUYMON, J.F. 1978. Comparative composition of brandies from thompson seedless and three white wine grape varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* 29: No 1: 54-59.
- ONISHI, M., GUYMON, J.F. & CROWELL, E.A. 1977. Changes in some volatile constituents of brandy during aging. *Am. J. Enol. Vitic.* 28 No 3: 152-158.
- ORDEN de 26 de abril de 1989 de la Junta de Andalucía, por la que se aprueba el Reglamento de la denominación específica de Brandy de Jerez. (BOJA, nº 35, de 5 de mayo de 1989).
- PEREZ RODRIGUEZ, L. 1979. Formación y evolución de alcoholes superiores y otros compuestos volátiles. Composición de destilados vinicos. Tesis doctoral, universidad de Sevilla, Mayo.
- PETROSYAN, T.S., DZHANPOLADYAN, L.M., DZHANAZYAN, R.S. 1980. Aging of brandy spirits in the presence of sugar syrup and color. *Vinodel. Vinograd. SSSR*, 1: 24-6.
- PETROSYAN, T.S., DZHANPOLADYAN, L.M. 1981. Mechanism of oxidative processes during the aging of cognac. *Vinodel. Vinograd. SSSR*. 5: 27-8.
- PISARNITSKII, A.F., EGOROV, I., EGOPAROVA, R.K. 1979a. Formation of volatile phenols in Cognac alcohols. *Priklad. Biokhim. Mikrobiol.* 15: 132-39.
- PISARNITSKII, A.F., EGOROV, I.A., EGOPAROVA, R.K., ERYGIN, G.D. 1979b. Study of degradation products of carbohydrates as aroma-forming substances in cognacs. *Prikl. biokhim. Mikrobiol.* 15(6): 902-8.
- PISARNITSKII, A.F., RODOPULO, A.K., EGOROV, I.A., EGOPAROVA, R. 1980. Substances responsible for the characteristic aroma of wines and brandies. *Vinodel. Vinograd. SSSR*. 3: 30-2.
- PLUNKETT, R.R. 1968. Manual de toxicologic industrial. Ed. Uzmo, Bilbao.
- POMPEI, C. ROSSI, M. & BAROZZI, E. 1986. Rectified concentrated grape must: HPLC analysis of phenolic substances and hydroxymethylfurfural. *J. Food Science*. 51 No 6: 1498-1500.
- PONS, I., GARRAULT, C., JAUBERT, J.N., MOREL, J. 1991. Analysis of aromatic caramel. *Food Chemistry*. 39: 311-320.
- PONTALLIER, P., SALAGOITY-AUGUSTE, M.H., RIBEREAU-GAYON, P. 1982. Intervention du bois de chêne dans l'évolution des rouges élevés en barriques. *Connaissance Vigne Vin*, 16: 45-61.
- PORRITTA, S., SANDEI, L. 1991. Determination of 5-HMF in tomato products: Proposed of a rapid HPLC method and its comparison with the colorimetric method. *Food Chemistry*. 39: 51-57.
- POSTEL, W., ADAM, L. 1980. Gas chromatographic characterization of brandy, cognac, and armagnac. II. Content of volatile substances. *Brautweinwirtschaft*. 120(10): 154-64.
- POSTEL, W., ADAM, L. 1986a. Analytical characterization of spanish brandies. II. Products of the spanish market. *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* 82(2): 47-50.
- POSTEL, W., ADAM, L. 1986b. Analytical characterization of Spanish brandies products of the German market. *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* 82(1): 4-10.
- PROFUMO, A., RIOLO, C., PEEAVENTO, M., FRANCOLI, A. 1988. Evolution of the italian distillate "grappa" during aging in wood: a Gas Chromatographic and High Performance Liquid Chromatographic study. *Am. J. Enol. Vitic.* 39 No 4, 273-78.
- PUECH, J.L. & GOFFINET, B. 1987a. Adjustment of nonlinear models for lignin and its degradation products during the aging of Armagnac. *J. Food Science*. 52 No 5: 1280-82.
- PUECH, J.L. 1984. Characteristics of oak wood and biochemical aspects of armagnac aging. *Am. J. Enol. Vitic.* 35 No 2: 77-81.
- PUECH, J.L. 1987. Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels. *Am. J. Enol. Vitic.* 38(3): 236-8.
- PUECH, J.L. 1988a. Phenolic compounds in oak wood extracts used in the aging of brandies. *J. Sci. Food Agric.* 42(2): 165-72.
- PUECH, J.L. 1988b. Phenolic compounds in oak wood extracts used in the aging of brandies. *J. Sci. Food Agric.* 42: 165-72.
- PUECH, J.L. 1988c. Apport du bois de chene au cours du vieillissement des eaux-de-vie. Datos no publicados.
- PUECH, J.L., DIMOV, S., FURTSOV, K., MARINOV, M. 1987b. Changes in the chemical composition of wine spirits during aging in oak barrels. *Khranitel'no-prom. Nauka*. 3(8): 80-4. Recogido C.A. 1851941, 108, 1988.
- PUECH, J.L. 1988d. Etude des eaux de vin d'armagnac de type V.S.O.P. Datos no publicados.
- PUECH, J.L., JOURET, C., GOFFINET, B., MONDIES, H. 1985. Evolution des composés phénoliques du bois de chene au cours du vieillissement de l'armagnac. *Science des aliments*, 5(3): 379-391.
- PUECH, J.L., LEAUTE, R., CLOT, G., NOMDEDEU, L., MONDIES, H. 1982. Etude de la lignine et de ses produits de dégradation dans les eaux-de-vie de cognac. *Bull. Groupe Polyphenol*, 11: 605-11.
- PUECH, J.L., LEAUTE, R., CLOT, G., NOMDEDEU, L., MONDIES, H. 1984. Evolution des divers constituants volatils et phénoliques des eaux de vie de cognac au cours de leur vieillissement. *Sciences des aliments*, 4(1): 65-80.
- PUECH, J.L., MOUTOUNET, M. 1988a. Liquid chromatography determination of scopoletin in hydroalcoholic extract of oak wood and in matured distilled alcoholic beverages. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 71 (3).
- PUECH, J.L., MOUTOUNET, M. 1992. Phenolic compounds in a ethanol-water extract of oak wood and in a brandy. *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 25: 350-52.
- PUECH, J.L., RABIER, PH., MARTIN, J.L., MONDIES, H. 1988b. Caracteristiques chimiques des eaux-de-vie d'Armagnac de type V.S.O.P. Datos no publicados.
- PUECH, J.L., RABIER, P., MOUTOUNET, M. 1988c. Preparative separation by high-performance liquid chromatography of an extract of oak wood and determination of the composition of each fraction. *Journal of Chromatography*. 457: 431-36.

- PUECH, J.L., RHBIER, P., BORIES-AZBAK, J., SARNI, F., MOUTOUNET, A. 1990a. Determination of ellagitannins in extracts of oak wood and in distilled beverages matured in oak barrels. *J. Assoc. of Anal. Chem.* 73(4): 498-501.
- PUECH, J.L., ROBERT, A., MOUTTET, B. 1989. Evolution of oak wood lignin subjected to flash hydrolysis. *Holzforschung*. 43: 235-38.
- PUECH, J.L., ROBERT, A., RABIER, Ph., MOUTOUNET, M. 1988d. Caracteristiques et degradation physico-chimique de la lignine du bois de chène. *Bulletin de Liaison n° 14 du Groupe polyphenols*. Narbonne. France.
- PUECH, J.L., SARNI, F. 1990b. Delignification of oak wood an ethanol-water solution in a flow-through reactor. *Holzforschung*. 44(5): 367-72.
- PUECH, J.L., VISOCKIS, R.J. 1986. Extraction et évolution de composés phénoliques du bois de chène an cours du vieillissement des whiskies. *Lebensm. Wiss. Technol.* 19: 469-71.
- REGLAMENTO (CEE) n° 1576/1989 del Consejo de 29 de mayo de 1989, por el que se establecen las normas generales relativas a la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas (DOCE n° L 160, de 12 de junio de 1989, pág. 1).
- RECTIFICACION por la que de acuerdo con el apartado 2 del artículo 3 del Reglamento (CEE) n° 1576/89, se publica la lista de bebidas espirituosas enumeradas en el Anexo II del citado Reglamento ("DOCE" n° C 1, de 4 de enero de 1990, pág. 14).
- REGLAMENTO (CEE) n° 3773/1989 de la Comisión de 14 de diciembre de 1989, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas. ("DOCE" n° L 365, de 15 de diciembre de 1989, pág. 48).
- REGLAMENTO (CEE) n° 1759/90 de la Comisión, de 27 de junio de 1990, por el que se modifica el Reglamento (CEE) n° 3773/89, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas. ("DOCE" n° L 162, de 28 de junio de 1990, pág. 23).
- REGLAMENTO (CEE) n° 3207/90 de la Comisión, de 6 de noviembre de 1990, por el que se modifica el Reglamento (CEE) n° 3773/89, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas. ("DOCE" n° L 307, de 7 de noviembre de 1990, pág. 11).
- REGLAMENTO (CEE) n° 3750/90 de la Comisión de 19 de diciembre de 1990, por el que se modifica por tercera vez el Reglamento (CEE) n° 3773/89, por el que se establecen disposiciones transitorias relativas a las bebidas espirituosas ("DOCE" n° L 360, de 22 de diciembre de 1990, pág. 40).
- REGLAMENTO (CEE) n° 1014/1990 de la Comisión de 24 de abril de 1990, por el que se establecen las disposiciones de aplicación para la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas ("DOCE" n° L 105, de 25 de abril de 1990, pág. 9).
- REGLAMENTO (CEE) n° 1180/91 de la Comisión de 6 de mayo de 1991 por el que se modifica por segunda vez (1) el Reglamento (CEE) n° 1014/90 por el que se establecen las disposiciones de aplicación para la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas ("DOCE" n° L 115, de 8 de mayo de 1991, pág. 5).
- REGLAMENTO (CEE) n° 1781/91 de la Comisión de 19 de junio de 1991 por el que se modifica el Reglamento (CEE) n° 1014/90 por el que se establecen las disposiciones de aplicación para la definición, designación y presentación de las bebidas espirituosas ("DOCE" n° L 160, de 25 de junio de 1991, pág. 5).
- REGLAMENTO (CEE) n° 822/1987, del Consejo de 16 de marzo de 1987 por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola ("DOCE", n° L 84, de 27 de marzo de 1987, pág. 1).
- REGLAMENTO (CEE) n° 4250/1988, del Consejo de 21 de diciembre de 1988 que modifica el Reglamento (CEE) n° 822/1987, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola. ("DOCE" n° L 373, de 31 de diciembre de 1988, pág. 55).
- RESOLUCION DE LA DIRECCION GENERAL DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS Y DIVERSAS, por la que se autoriza el empleo de infusiones o extractos hidroalcohólicos de materias naturales en la elaboración de brandy. (B.O.E. de 11 de marzo de 1977).
- RIVERA, N., TABCHE, L., MELENDEZ, E. 1987. Effect of caramel coloring (ammonia caramel) on the metabolism of aniline in vitro by extracts from rats. *Acta Mex. Cienc. Technol.* 5(7): 11-19.
- RODRIGUEZ, G.D., SAPLER, G.D., SIMS, C.A., BRADDOCK, R.J. 1991. Chemical changes during storage of an alcoholic orange juice beverage. *J. Food Science*. 56 (2): 475-479.
- RONKAINEN, P. 1967a. Chromatographic identification of carbonyl compounds. II. Thin-layer chromatography of bishydrazones of dicarbonyl compounds. *J. Chromatogr.*, 27: 380-83.
- RONKAINEN, P. 1967b. Chromatographic identification of carbonyl compounds III. Paper chromatographic resolution of aldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone mixtures. *J. Chromatogr.*, 27: 384-87.
- RONKAINEN, P. 1967c. Chromatographic identification of carbonyl compounds VI. Thin-layer chromatographic resolution of mixtures of keto acid 2,4-dinitrophenylhydrazones. *J. Chromatogr.* 28: 263-69.
- ROUS, C. ALDERSON, B. 1983. Phenolic extraction curves for white wine aged in French and America oak barrels. *Am. J. Technol. Vific.* 34(4): 51-55.
- RUIZ HERNANDEZ, M. 1980. Sobre el roble y las barricas en la técnica del vino (2ª parte). *Viticultura y Enología Profesional*, N° 4: 45-51.
- SACHAVO, M.S., NALIMOVA, A.A., POZDNYAKOVA, L.I. 1982. Evaporation dynamics in the distillation of volatile impurities and their effect on the composition and quality of brandy. *Vinodel. Vinograd. SSSR.* 3: 16-20.
- SACHRYTO, J.P. ARMANE', J.M., ROMAN, A., JOHANSSON, A. 1987. The fractionation of lignocellulosics for the production of chemicals. *Commun. Eur. Communities (Rep) EUR 1987. EUR 11084. Degrad. Lignocellul. Ruminants Ind. Processes*, 89-96.
- SALAGOITY, M.H. 1987. La scopoletine, una marqueur de la conservation en fûts de chène. *Connaiss. Vigne Vin.* 21 (2): 101-112.
- SALAGOITY-AUGUSTE, M.H., TRICARD, L., SUDRAUD, P. 1987. Dosage simultané des aldéhydes aromatiques et des coumarines par chromatographie liquide haute performance. *Journal of Chromatography*, 392: 379-87.
- SARNI, F., MOUTOUNET, M., PUECH, J.L., RABIER, P. 1990. Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds. *Holzforschung*. 44(6): 461-66.
- SCHREIDER, P. & REINER, L. 1979. Characterisation and differentiation of grapes brandies by multiple discriminant analysis. *J. Sci. Food. Agric.* 30: 319-327.
- SHMENENKO, N.T., BALANUTSE, A.P., RUSSU, G.I. 1986. Duration of the aging period for brandy after blending. *Sadovod. Vinograd. Mold.* 161: 43-5.

- SEMNENKO, N.T., PROLOVA, A.N., KROLENKO, V.F. 1982. Improvement of the brandy maturing process. *Sadovod. Vinograd. Vinodel. Mold.* 37(10): 29-31.
- SEMNENKO, N.T., PROLOVA, A.N. 1979. Addition of oxygen into brandy spirits during cask aging. *Vinodel. Mold.* 34(2): 40-3.
- SHATIRISHVILI, I., DZHAPARIDZE, V.D., IORDANISHVILI, Z.A. 1989. Determination of phenolcarboxylic acids in Georgian wines and column efficiency for their separation by HPLC. *Goobshch Akad. Nauk. Gruz. SSR.* 134(2): 321-4.
- SHIMIZU, A., HARADA, M., INONE, T., KANISAWA, M. 1988. Observation of the time course of experimental liver cirrhosis in rats induced by long term oral administration of furfural. *Kanzo.* 29(11): 1476-82.
- SHIMIZU, A., NAKAMURA, Y., HARADA, M., ONE, T., SATO, K., INOUE, T., KANISAWA, M. 1989. Positive foci of glutathione-s-transferase placental form in the liver of rats given furfural by oral administration. *Jpn. J. Cancer Res.* 80(7): 608-11.
- SIMAL LOZANO, J. 1965. Aplicación de la cromatografía en fase gaseosa al análisis de aguardientes y licores. *Anales de Bromatología.* XVII: 5-69.
- SIMPSON, R.F. 1965. Aroma composition of bottle aged white wine. *Vitis.* 18 (2): 148-54.
- SINKELDAM, R.J., DE GROOT, A.P., VAN DER BERG, H., CHAFEL, C.I. 1988. The effect of pyridoxine on the number of lymphocytes in the blood of rats fed caramel colour (III). *Food Chem. Toxicol.* 26 (3): 195-203.
- SKURIKHIN, I.M., IRAZIKHANOV, A.B. 1986. Treatment of oak wood for the barril aging of cognac. *Vinodel. Vinograd. SSSR* 1: 48-50.
- SMOLNIK, H.D. 1987. Production and application of caramel color from starch products. *Starch/Staercke.* 39(1): 28-32.
- STEINMULLER, H., STEINER, T., AFIGNON, G., JAEGGLE, W. 1988. Process for combined thermal and chemical treatment of lignocellulosic materials in furfural production. (Vuest-Alpine A.G) *Austrian AT.* 387: 247-54.
- STERN, D.U., GUADAGNI, D. & STEVENS, K.L. 1975. Aging of wine: qualitative changes in the volatile of zinfandel wine during two years. *Am. J. enol. Vitic.* 26 No 4: 208-13.
- STOPPELSMAN, J., SIPMA, C., KETTENES, D.K., PYPKER, J. 1968. New volatile compounds of roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* 16 (6): 1000-4.
- TANAHASHI, M., KARINA, M., TAMABUCHI, K., HIGUCHI, T. 1989. Degradation mechanism of lignin accompanying steam explosions. I. Degradation products of lignin and β -0-4 lignin substructure model dimers. *Mokuzai Gakkaishi.* 35(2): 135-43.
- TATUM, J.H., SHAW, P.E., BERRY, R.E. 1967. Some compounds formed during nonenzymic browning of orange powder. *J. Agric. Food Chem.* 15 (5): 773-75.
- TREASE, G.E., EVANS, W.C. 1986. *Tratado de Farmacognosia.* Ed. Interamericana, 12a Ed. Madrid.
- TRONCOSO GONZALEZ, A., GUZMAN, M. 1988. Studies on Andalusian vinegars: pH, tartaric, grade alcoholic and caramel. *Alim. Equip. Tecnol.* 7(5): 103-7.
- TSCHIBERSKY, H., BALTES, W. 1989. Investigations of caramel curiepoint pyrolysis of caramel syrups and other investigations of structure. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 189(2): 132-7.
- UJSZASZI, J. 1980. Chromatographic study of caramel I. *Szeszipan.* 28(2): 46-51.
- VAN DER SCHIEB, H., KENNEFY, W., ROUWKNIGHT, J.P., HITTENHAUSEN, R. 1989. A case of cognac adulteration. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 188 (1): 11-15.
- YAZQUEZ, D., LAGE, M.A., PARAJO, J.C. 1989. Transformación de materiales lignocelulósicos: composición, fraccionamiento y aprovechamiento. *Agroquim. Tecnol. Aliment.* 31, 2: 143-51.
- VILLALON MIR, M., MONTILLA GOMEZ, J., GARCIA-VILLANOVA, R. 1987. Determinación espectrofotométrica de aldehídos furánicos y fenólicos en ron. *Anales de Bromatología.* 39 (2), 281-9.
- VOLSKAY, V.T., GRANDY, L., LESLIE, C.P. 1988. Toxicity of selected RCRA compounds to activated sludge microorganisms. *J. Water Pollut. Control Fed.* 60 (10): 1850-1856.
- VOSTRIKOVA, E.J., YATSYNA, A.N. 1972. Thin layer chromatographic study of aldehydes of brandy spirits. *Vinodel. Vinograd.* 2: 87-88, 1972.
- WAHHAB, A. 1948. Deterioration of dried fruits II. Identification of furfurals. *J. Am. Chem. Soc.* 70: 3580-82.
- WAN, WUSHENG. 1989. Gas chromatography determination of aldehydes in alcoholic beverages. *Zhoughina Yuganes Yixue Zashi.* 23(1): 29-30.
- XIANG, D., DING, MAGIERA, D.J., MAZZEO, J.R., EDMAR, K., KAULL, I.S. 1991. Determination of 2-acetyl-4(5)-(tetrahydroxylbutyl) imidazole in Ammonia caramel color by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1954-57.
- ZHITAR, N.P., GITENSHEIN, B.M., BURAVCHIKOVA, L.N. 1986. Accelerated method for the determination of aldehydes in wines. *Sadovod. Vinograd. Mold.* 3: 33-4.