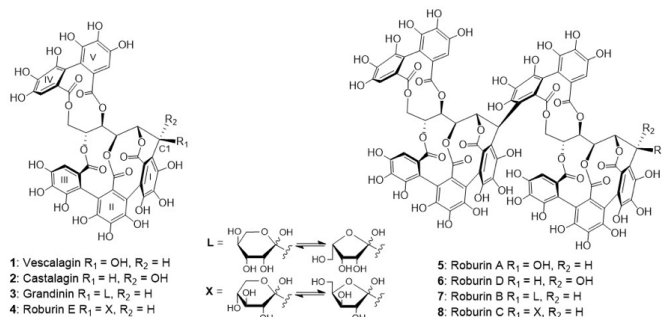


# Cuantificación de elagitaninos en madera de roble y el aguardiente coñac

Información extraída del artículo: "Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitannins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels." (Food Chem., 2020)<sup>1</sup>.

>>> Los elagitaninos son los principales compuestos fenólicos extraídos del roble. Estos compuestos son los responsables de la alta durabilidad de la madera y pueden contribuir a la calidad organoléptica de vinos y espirituosos (color, astringencia y amargura). Pese a su importancia, no se sabe mucho sobre su presencia y formas en las bebidas destiladas. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo desarrollar y validar una metodología de medición y cuantificación de los elagitaninos de la madera de roble en el coñac. <<<



**Figura 1.** Estructuras químicas de los elagitaninos 1-8. L y X corresponden a Lixosa y Xilosa, respectivamente (adaptado de Gadrat *et al.*)<sup>1</sup>.

Debido a sus propiedades, las barricas de roble han sido una parte integral de la producción de vinos y espirituosos durante un largo tiempo. Estas proveen un buen aislamiento térmico, poseen una impermeabilidad notable, y principalmente contribuyen a la calidad organoléptica de los vinos y espirituosos. Durante la crianza en barricas de roble, la composición de los vinos y espirituosos cambia debido a la liberación de compuestos de la madera, los cuales afectan sus propiedades organolépticas, tales como el aroma y el color, e incluso sensación y sabor, como la astringencia y la amargura<sup>2</sup>. Entre estos compuestos, los elagitaninos (taninos hidrolizables) son responsables de la alta durabilidad de la madera<sup>3</sup>, presentan actividad antioxidante<sup>4</sup> y tienen un impacto en la amargura y sensación de astringencia<sup>5</sup>. Hasta ahora, se han identificado ocho elagitaninos (Figura 1). Estos compuestos han sido ampliamente estudiados en el vino tinto<sup>6</sup>, pero muy escasamente en espirituosos, especialmente en el aguardiente coñac. Debido a su alta reactividad y a sus similitudes estructurales, es difícil detectar y cuantificar los elagitaninos en espirituosos. Por consiguiente, el objetivo de nuestro estudio fue identificar y cuantificar estos compuestos en la madera de roble y bebidas destiladas, usando y validándolo un método rápido.

## ■ Método de cuantificación de elagitaninos

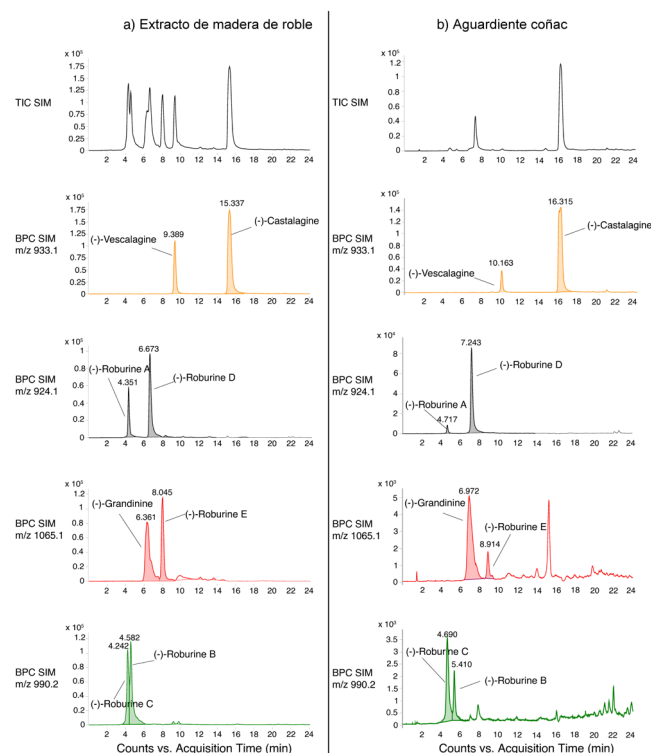
El reto de este trabajo consistió en desarrollar un método simple y reproducible para cuantificar elagitaninos individuales en la madera de roble y aguardientes con alta selectividad. La combinación cromatografía líquida de alto rendimiento – triple cuadrupolo LC-QQQ resultó ser una técnica poderosa para compuestos fenólicos<sup>1</sup>. Para caracterizar elagitaninos en madera de roble y el aguardiente coñac, se estableció un método de espectrometría de masa. El análisis de la madera de roble fue llevado a cabo en muestras de duelas almacenadas al exterior por 36 meses. Para el análisis del aguardiente coñac, se usaron 20 muestras de aguardiente que habían sido criadas por 6 meses en barricas de roble. Todas las concentraciones fueron expresadas en equivalentes de vescalagina. La cuantificación de elagitaninos individuales fue llevada a cabo en modo negativo y fueron identificados por las masas siguientes:

(-)-vescalagina y (-)-castalagina, monómeros e isómeros con una relación m/z de 933,0634 (C<sub>41</sub>H<sub>25</sub>O<sub>26</sub>); (-)-grandinina y (-)-roburina E, monómeros glicosilados con estructuras similares y una relación m/z idéntica de 1065,1057 (C<sub>46</sub>H<sub>33</sub>O<sub>30</sub>); asimismo, roburina A y D, dos dímeros con una relación m/z idéntica de 1849,1241 (C<sub>82</sub>H<sub>49</sub>O<sub>51</sub>), pero siendo moléculas de doble carga son más fácilmente observables en espectrometría de masas a una relación m/z de 924,5620; finalmente, roburina B y C, dos dímeros glicosilados con una relación m/z idéntica de 1981,1664 (C<sub>87</sub>H<sub>57</sub>O<sub>55</sub>), pero tal como la roburina A y D, son moléculas de doble carga, por lo tanto son más observables a una relación m/z de 990,5831. Se hicieron observaciones para los ocho elagitaninos de la madera en todas las muestras, y todas las concentraciones fueron medidas usando la curva de calibración de vescalagina. La Figura 2 muestra los cromatogramas de los ocho elagitaninos según su forma y su tiempo de retención medido en extractos de madera (Figura 2a) y en el aguardiente coñac (Figure 2b) analizados. El método de cuantificación fue validado<sup>1</sup> en términos de LOD, LOQ, sensibilidad, linealidad en el rango, repetibilidad intradía y precisión intradía. Para determinar la precisión intradía, se inyectaron sucesivamente cinco réplicas de dos concentraciones intermedias (2 mg/L y 20 mg/L) de la curva de calibración. La repetibilidad intradía (RSD) fue < 2 % a 2 mg/L y < 1 % a 20 mg/L, asegurando así una buena repetibilidad del método.

## ■ Determinación de elagitaninos en muestras de madera de roble

Para ensayar los elagitaninos en madera de roble, se estudiaron 9 duelas de diferentes posiciones en un palé de madera: 3 muestras de la cara inferior, 3 del medio y 3 de la cara superior del palé<sup>1</sup>. Todas las concentraciones fueron expresadas como miligramos equivalentes de vescalagina por gramo de madera en base al factor de dilución. Las concentraciones totales de elagitaninos individuales fueron de un rango de 10,37 a 18,77 mg/g equivalente de vescalagina. Un análisis estadístico ANOVA mostró que el contenido de elagitaninos depende de la posición de la madera en el palé. A p < 0,05, el contenido de elagitaninos totales es significativamente diferente según la posición

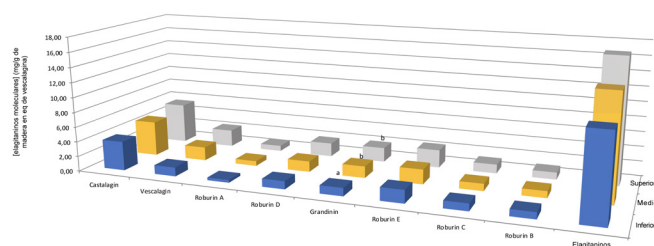
de la duela dentro del palé: el contenido aumenta desde cara superior (11,27 mg/g de madera en equivalente de vescalagina) a la cara inferior del palé (16,72 mg/g de madera en equivalente de vescalagina) (Figura 3). El caso fue el mismo para la castalagina y la roburina D. Para los otros elagitaninos individuales las diferencias observadas fueron ya sea menores o no significativas. Este estudio preliminar ayudó a optimizar el muestreo de las piezas de madera para alcanzar una buena representatividad de las concentraciones de elagitaninos en madera de roble.



**Figura 2.** LC-QQQ negativa de a) extracto de madera de roble y b) el aguardiente coñac correspondiente a iones  $[M - H]^-$  de elagitaninos (adaptado de Gadrat *et al.* 2020<sup>1</sup>).

## ■ Determinación de elagitaninos en muestras de aguardiente

El método desarrollado en este estudio también fue aplicado para cuantificar elagitaninos en coñac. Veinte muestras del aguardiente coñac joven criado en barricas fueron analizadas usando cuatro réplicas para cada aguardiente. Se detectaron elagitaninos en todas las muestras. Los resultados mostraron que todos los aguardientes jóvenes contenían los ocho elagitaninos. Sin embargo, cada elagitanino individual tuvo su propio patrón de extracción. La castalagina constituyó alrededor del 40 al 70 % de los elagitaninos totales extraídos. Este monómero es el elagitanino mayoritario en la madera de roble y es más estable que su isómero, la vescalagina, debido a la posición del hidroxilo en el carbono 1. El dímero roburina D y el monómero grandinine glicosilada son los elagitaninos más extraíbles después de la castalagina. En general, la concentración de elagitaninos totales estuvo en un rango de 1,9 a 9,3 mg/L en equivalentes de vescalagina. Como las concentraciones de elagitaninos individuales en el coñac nunca habían sido analizadas antes de este estudio, los valores observados aquí son los primeros en ser reportados para los espirituosos coñac. En brandis, la suma de vescalagina y castalagina ha sido reportada como entre 9 a 12 mg/L de elagitaninos en equivalentes de ácido gálico<sup>7</sup>. En un vino tinto Cabernet Sauvignon francés, la suma de las concentraciones de elagitaninos individuales fue de un rango de 0,6 a



**Figura 3.** Contenido de los ocho principales elagitaninos de madera tomados de duelas a tres niveles diferentes (superior, medio, inferior) en el palé: a-c muestra las diferencias significativas entre las diferentes posiciones ( $p < 0.05$ ) (adaptado de Gadrat *et al.*, 2020<sup>1</sup>).

15,5 mg/L en equivalentes de castalagina para seis a doce meses de crianza en barricas de roble, respectivamente. Vinos Cabernet Sauvignon italianos y estadounidenses presentaron una suma de 0,5 a 5,76 mg/L y 0,6 a 12,4 mg/L en equivalentes de castalagina después de seis y doce meses de crianza, respectivamente. Al igual que en el vino tinto, la castalagina es el componente más abundante en los aguardientes y representa del 68 al 79% de la fracción de elagitaninos totales<sup>8</sup>.

## ■ Conclusión

Se han identificado por primera vez elagitaninos de roble en coñac con precisión usando un método de espectrometría rápida y exacto. Este método validado fue aplicado exitosamente para la detección y cuantificación de los ocho principales elagitaninos de la madera en diferentes muestras de madera de roble y aguardiente. ■

Mathilde Gadrat<sup>1,2</sup>, Joel Lavergne<sup>2</sup>, Catherine Emo<sup>2</sup>, Pierre-Louis Teissedre<sup>1</sup>, Kleopatra Chira<sup>1</sup>

1 Unité de recherche CEnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, F33882 Villenave d'Ornon France  
2 Courvoisier SAS, 2 places du château, 16200 Jarnac, France

**1** Gadrat, M.; Lavergne, J.; Emo, C.; Teissedre, P.-L.; Chira, K. Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitannins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels. *Food Chem.* 2020, 128223. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128223>.

**2** Li, S.-Y.; Duan, C.-Q. Astringency, Bitterness and Color Changes in Dry Red Wines before and during Oak Barrel Aging: An Updated Phenolic Perspective Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019, 59 (12), 1840–1867. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1431762>.

**3** Scalbert, A.; Monties, B.; Dupouey, J. L.; Becker, M. Polyphénols Extractibles Du Bois de Chêne : Variabilité Interspécifique, Interindividuelle et Effet de La Duraminisation. *Bull. Liaison Groupe Polyphenol* 1986, No. 13, 617–619.

**4** Alañón, M. E.; Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M. C.; Gordon, M. H.; Pérez-Coello, M. S. A Study of the Antioxidant Capacity of Oak Wood Used in Wine Ageing and the Correlation with Polyphenol Composition. *Food Chem.* 2011, 128 (4), 997–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.005>.

**5** Chira, K.; Teissedre, P.-L. Chemical and Sensory Evaluation of Wine Matured in Oak Barrel: Effect of Oak Species Involved and Toasting Process. *Eur. Food Res. Technol.* 2015, 240 (3), 533–547. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2352-3>.

**6** González-Centeno, M. R.; Chira, K.; Teissedre, P.-L. Comparison between Malolactic Fermentation Container and Barrel Toasting Effects on Phenolic, Volatile, and Sensory Profiles of Red Wines. *J. Agric. Food Chem.* 2017, 65 (16), 3320–3329. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05497>.

**7** Canas, S.; Casanova, V.; Pedro Belchior, A. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Portuguese Wine Aged Brandies. *J. Food Compos. Anal.* 2008, 21 (8), 626–633. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.07.001>.

**8** González-Centeno, M. R.; Chira, K.; Teissedre, P.-L. Ellagitannin Content, Volatile Composition and Sensory Profile of Wines from Different Countries Matured in Oak Barrels Subjected to Different Toasting Methods. *Food Chem.* 2016, 210, 500–511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.139>.