

Tratamientos postfermentativos del vinagre: conservación en botella, envejecimiento acelerado y eliminación de plomo

Mariela Labbé Pino

TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN DE PLOMO

Facultad de Enología
Departamento de Bioquímica y Biotecnología
Universidad Rovira i Virgili

Memoria de la tesis presentada
Para optar al título de
Doctor por la Universidad Rovira i Virgili



Mariela Labbé Pino
Tesis dirigida por el Dr. Francisco López

Tarragona, Diciembre de 2007

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN
DEL PLOMO
Mariela Alejandra Labbé Pino
ISBN:978-84-691-1555-8 /DL:T.39-2008

El Dr. Francisco López Bonillo, Catedrático de Escuela Universitaria del Departament d' Enginyeria Química de la Universitat Rovira i Virgili, director del trabajo de investigación realizado por la Sra. Mariela Labbé Pino titulado:

**Tratamientos postfermentativos del vinagre:
conservación en botella, envejecimiento acelerado y
eliminación de plomo**

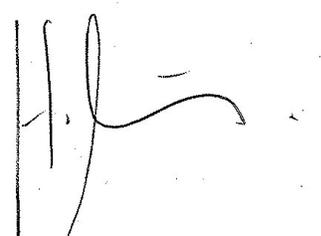
para optar al grado de Doctor por la Universidad Rovira i Virgili,

HACE CONSTAR:

Que el citado trabajo es original y que todos los resultados presentados y los análisis realizados son fruto de su investigación.

Y para vuestro conocimiento y los efectos que correspondan, firma este documento.

Tarragona, 30 de Octubre de 2007



Francisco López Bonillo

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN
DEL PLOMO
Mariela Alejandra Labbé Pino
ISBN:978-84-691-1555-8 /DL:T.39-2008

TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN DE PLOMO

Tribunal de la Tesis

Dr. Albert Ibarz Ribas

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària, Universitat de Lleida, España

Dr. Albert Mas Baron

Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, España

Dr. Francisco Medina Cabello

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Química, Universitat Rovira i Virgili,
España

Dr. Isidoro García García

Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, España

Dr. Bernard Medina

Laboratoire SCL de Bordeaux/Pessac, Ministère de l'Économie, des Finances
et de l'Emploi, Ministère du Budget, des Comptes Publics et de l'administration,
Francia

Suplentes

Dr. Marin Pródanov Pródanov

Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, España

Dra. Maria Isabel Achaerandio Puente

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona, Universitat Politècnica de
Catalunya, España

Evaluadores Externos

Dra. Martine Mietton-Peuchot

Faculté d'Oenologie, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Francia

Dr. François Barja Cifuentes

Faculté des Sciences, Université de Genève, Suiza

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN
DEL PLOMO
Mariela Alejandra Labbé Pino
ISBN:978-84-691-1555-8 /DL:T.39-2008

Agradecimientos

Me gustaría ofrecer mi agradecimiento a todas las personas y entidades que me han ayudado con el desarrollo del presente trabajo.

En primer lugar, al presidente y a los otros miembros del tribunal por aceptar ser miembros de éste.

Quisiera expresar mi entera gratitud a mi director de tesis Dr. Francisco López, por el esfuerzo y la dedicación que ha puesto día a día, por su paciencia y comprensión, por creer en mí y darme la oportunidad de poder desarrollar este trabajo de investigación satisfactoriamente.

A todos aquellos que de alguna u otra manera han colaborado con el desarrollo de esta tesis, en especial a José Calviño “Pepe”, quien ha aportado no solo con su trabajo al desarrollo de esta tesis, sino que también me ha entregado importantes sugerencias y consejos durante mis primeros pasos en la investigación. Al Dr. Bernard Medina y el Sr. Jacques Gaye de la Direction Générale de la Concurrence de la Consommation et de la Répression des Fraudes, Bordeaux, Francia, por su amistad y facilitarme las herramientas necesarias para desarrollar una importante parte de mi trabajo experimental durante mi estancia pre-doctoral.

También quisiera agradecer enormemente al Dr. Vladan Milisic y a la Dra. Martine Mietton-Peuchot de la Faculté d’Oenologie, Université Victor Segalen Bordeaux II, Francia, por guiar mi investigación durante mi estancia pre-doctoral.

A la empresa Badia Vinagres S.L. y en especial al Sr. Agustí Badia por la cesión de los vinagres para el estudio de conservación de vinagres.

A los miembros del Grupo de Investigación en Tecnología de Alimentos (GITA) por su apoyo y amistad.

Al Departament d’Enginyeria Química de la Universitat Rovira i Virgili, por poner en mi disposición sus instalaciones.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN
DEL PLOMO
Mariela Alejandra Labbé Pino
ISBN:978-84-691-1555-8 /DL:T.39-2008

INDICE DE CONTENIDOS

Agradecimientos	vii	
Resumen	xi	
Resumen (versión en inglés)	xv	
Lista de figuras	xvii	
Lista de tablas	xix	
Capítulo 1	Introducción	1
1.1	Historia del vinagre	3
1.2	Compuestos fenólicos	5
1.3	Conservación del vinagre	9
1.4	Envejecimiento del vinagre	10
1.5	Eliminación de defectos en vinagres: reducción del contenido de plomo	13
Capítulo 2	Materiales y métodos	21
2.1	Conservación del vinagre	23
2.1.1	Muestras de vinagres	23
2.1.2	Condiciones de conservación	23
2.2	Envejecimiento de vinagres utilizando virutas de madera	24
2.2.1	Muestras de vinagre sintético y de vino	24
2.2.2	Virutas de madera	25
2.2.3	Proceso de envejecimiento	25
2.3	Eliminación de plomo	26
2.3.1	Resina	26
2.3.2	Eliminación de plomo en sistema <i>batch</i>	27
2.3.2.1	Muestras de vinagres	27
2.3.2.1	Cinética e isoterma de adsorción de plomo	27
2.3.2.3	Reducción de plomo en vinagres comerciales	29
2.3.3	Eliminación de plomo en sistema continuo	29
2.3.3.1	Muestras de vinagres	29
2.3.3.2	Proceso de eliminación de plomo	30
2.4	Métodos de análisis	31

2.4.1	Análisis físico-químicos	31
2.4.2	Determinación de la concentración de glucosa, fructosa, ácido acético, compuestos fenólicos y furánicos	33
2.4.3	Determinación de la concentración de plomo	38
2.5	Tratamiento estadístico	39
Capítulo 3	Resultados y discusiones	41
3.1	Identificación y cuantificación de compuestos mediante HPLC	43
3.1.1	Compuestos fenólicos y furánicos	43
3.1.2	Glucosa, fructosa y ácido acético	45
3.2	Conservación del vinagre	45
3.2.1	Evolución de los parámetros físico-químicos	45
3.2.2	Composición fenólica y furánica de los vinagres	58
3.2.3	Influencia de la temperatura de almacenamiento: 15 °C, 24 °C y 33 °C, sobre los compuestos fenólicos y furánicos presentes en vinagres	66
3.2.4	Influencia de la luz y el oxígeno sobre los compuestos fenólicos y furánicos presentes en vinagres	73
3.3	Envejecimiento de vinagres sintéticos y de vino mediante el uso de virutas de madera	78
3.3.1	Características cromáticas	78
3.3.2	Contenido de polifenoles totales	80
3.3.3	Perfil polifenólico	82
3.4	Eliminación defectos: plomo	94
3.4.1	Eliminación de plomo en sistema <i>batch</i>	94
3.4.2	Eliminación de plomo en sistema continuo	98
Capítulo 4	Conclusiones	106
Referencias		113

Resumen

La presente investigación se ha dividido en tres temas, el primero de ellos se ha enfocado en el estudio de los efectos de diferentes condiciones de almacenamiento sobre las características de vinagres comerciales durante un año. En el segundo, se ha estudiado el envejecimiento de vinagres sintéticos y de vino con virutas de roble, con el objeto de conocer la evolución del color y la extracción de polifenoles. Finalmente, se ha estudiado la reducción de plomo en vinagres sintéticos y comerciales a nivel trazas mediante el uso de una resina de intercambio catiónico en sistema *batch* y continuo.

En el estudio de conservación, se han empleado tres vinagres de vino *chardonnay*, *cabernet sauvignon* y moscatel y uno de manzana. Las condiciones de almacenamiento elegidas tratan de simular cinco situaciones habituales del producto. Durante un año se han determinado diversos parámetros físico-químicos y sólo al inicio y al final del estudio se ha cuantificado el contenido de compuestos fenólicos y furánicos. Los resultados han mostrado que la temperatura afecta el aspecto visual de los vinagres de moscatel y manzana, con mayor contenido de compuestos con tendencia al pardeamiento. Los polifenoles totales se mantienen estables, excepto para los vinagres conservados a la mayor temperatura, que muestran en general un aumento con el tiempo, lo que es debido principalmente al incremento de los compuesto furánicos.

Para el estudio de envejecimiento de vinagres se utilizaron virutas de roble americano y roble francés y dos tipos de vinagres sintéticos, dulce (con adición de azúcares en forma de mosto concentrado rectificado) y otro seco (sin adición de azúcares) y dos tipos de vinagres de vino a partir de cava (sin adición de azúcares) y de vino blanco (con adición de azúcares). El tiempo de envejecimiento para vinagres sintéticos ha sido de 448 días y para vinagres de vino de

192 días. Se ha estudiado la variación con el tiempo de los polifenoles totales, el perfil polifenólico y el color mediante las coordenadas CIELab. La evolución de las características cromáticas en vinagres sintéticos y de vino es similar y la presencia de azúcares no afecta estos parámetros. La extracción de polifenoles totales en vinagres sintéticos es mayor con virutas de roble francés y no parece estar influenciada por la presencia de azúcares. En vinagres de cava se logra una extracción similar a su homólogo sintético en cambio para vinagre de vino blanco, esta extracción representa el 40 % de su homólogo. Se han identificado nueve compuestos fenólicos provenientes de la madera en todos los vinagres. La máxima extracción de polifenoles ha sido al cabo de un mes en todos los casos, luego la extracción sólo sigue siendo significativa para un par de compuestos fenólicos en ambos vinagres de vino.

Para el estudio de eliminación de plomo en vinagres se ha determinado la cinética de adsorción en un sistema *batch* con agitación continua, manteniendo una concentración constante de resina Lewatit TP 207 para dos concentraciones de ácido acético y dos concentraciones iniciales de plomo. Luego se ha determinado la isoterma de adsorción del plomo en un vinagre sintético. Además, se ha comprobado la capacidad de adsorción para cuatro tipos de vinagres comerciales: balsámico de Módena, de Jerez, de vino envejecido en barrica y de sidra. Los resultados de la cinética de adsorción indican que 24 horas es un tiempo de contacto suficiente para alcanzar el equilibrio, y que el grado acético no influye sobre la adsorción de plomo. La isoterma de adsorción del plomo sobre la resina se ha ajustado correctamente a la ecuación de Freundlich. La reducción de plomo en los vinagres sintéticos ha sido mayor que la alcanzada en vinagres comerciales, entre los cuáles la mayor reducción ha sido para los vinagres de sidra.

También se ha estudiado la aplicación de esta resina en sistema continuo, utilizando para ello una columna de relleno empacada con resina y dos tiempos de residencia. En los vinagres sintéticos se alcanza una mayor reducción que en los vinagres comerciales, nosotros creemos que esto es debido a la complejidad de las matrices de los vinagre de vino. Además, han sido evaluados algunos parámetros físico-químicos y los resultados indican que éstos no se ven afectados por el tratamiento con la resina.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN
DEL PLOMO
Mariela Alejandra Labbé Pino
ISBN:978-84-691-1555-8 /DL:T.39-2008

Summary

This thesis has been divided into three main subjects. The first focuses on how different storage conditions over a year affect the physical and chemical properties of commercial vinegars. The second deals with the aging of model vinegar solutions and wine vinegars by oak chips, with the purpose of understanding the evolution of color and the extraction of polyphenols from wood. The third studies lead reduction at trace levels in model vinegar solutions and commercial wine vinegars using a batch and continuous cation exchange resin.

Three wine vinegars—Chardonnay, Cabernet Sauvignon and Muscat—and one apple vinegar were chosen to study the effect of different storage conditions. For one year various physical and chemical parameters were studied and only at the beginning and the end of this period were the phenolic and furanic compounds quantified. The Muscat wine and apple vinegars showed significant browning when temperature was increased. The total polyphenol content remained stable, except in those vinegars stored at high temperature, largely because of the increase in furanic compounds.

American and French oak chips were used to study the aging of two model vinegar solutions (with and without added sugar), one sparkling-wine vinegar (without sugar addition) and one white-wine vinegar (with added sugar). The model vinegar solutions were aged for 448 days and the wine vinegars for 192 days. The total polyphenol content, phenolic profile and color were studied by CIELab coordinates. The evolution of the chromatic characteristics in model solutions and wine vinegars were not affected by the sugar concentration and all the vinegars showed similar behavior over time. The total polyphenol extraction in model vinegar solutions was higher when French oak chips

were used and were not affected by the sugar concentration either. The total phenol extraction of the sparkling-wine vinegar was similar to that of the model vinegar with no added sugar. However, the total polyphenol extraction in white-wine vinegar was 40 % of that obtained in a model vinegar solution with added sugar. Nine phenolic compounds from wood were identified. The extraction of phenolic compounds was maximum during the first month, after which the extraction was only significant for a couple of compounds in both of wine vinegars.

To study lead reduction in vinegar the absorption kinetics was determined in a batch system with continuous stirring and a constant amount of resin (Lewatit TP 207). Two concentrations of acetic acid and two initial concentrations of lead were used in this case. The adsorption capacity of the resin was also evaluated using four commercial vinegars: balsamic vinegar, sherry vinegar, barrel-aged wine vinegar and apple-cider vinegar. The kinetic results of the lead adsorption from model vinegars showed that the adsorption equilibrium was reached within 24 hours, that the acetic degree did not affect the capacity of the resin to adsorb lead, and that the adsorption isotherm was fitted correctly by the Freundlich equation. The lead reduction in model vinegar solutions was higher than in commercial vinegars, in which the reduction was highest in apple-cider vinegar.

The application of this resin in a continuous system using a packed column at two retention times was also studied. The lead reduction is higher in the model vinegar solutions than in the commercial vinegars. We believe that this greater adsorption may be related to the complexity of the matrix. The physical and chemical parameters were not affected by the resin treatment.

Lista de Figuras

Figura		
2.1.	Sistema <i>batch</i> para la eliminación de plomo mediante resina de intercambio iónico Lewatit TP 207	28
2.2.	Esquema del sistema continuo utilizado para la eliminación de plomo mediante resina de intercambio iónico empacada en columna	30
2.3.	Compuestos furánicos	35
2.4.	Ácidos fenólicos: ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados	36
2.5.	Ácidos fenólicos: ácidos hidroxicinámicos y sus derivados	37
2.6.	Flavonoides	38
3.1.	Evolución de las características cromáticas en vinagres sintéticos (a) Coordenada L* (Luminosidad), (b) Coordenada C* (Croma), (c) Coordenada h* (Tono).	79
3.2.	Evolución de los polifenoles totales extraídos en vinagres sintéticos.	81
3.3.	Evolución de compuestos fenólicos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) ácido gálico y (b) ácido siríngico.	83
3.4.	Evolución de compuestos fenólicos de la familia de los furanos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) 5-HMF, (b) furfural y (c) 5-Met-F.	85
3.5.	Evolución de los aldehídos aromáticos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) coniferaldehído y (b) sinapaldehído.	86
3.6.	Evolución de los aldehídos aromáticos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) siringaldehído y (b) aldehído <i>p</i> -vainíllico.	87
3.7.	Cinética de eliminación de plomo en vinagres sintéticos con 0,2 mg/L de plomo inicial.	94
3.8.	Cinética de eliminación de plomo en vinagres sintéticos con 1 mg/L de plomo inicial.	95

3.9.	Isoterma de adsorción de plomo en vinagre sintético de 6º acéticos.	96
3.10.	Reducción de plomo en vinagre sintético mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV).	98
3.11.	Reducción de plomo en vinagre balsámico mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV).	100
3.12.	Reducción de plomo en vinagres de vino tinto mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV).	101
3.13.	Reducción de plomo en vinagres de vino blanco mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV).	102

Lista de Tablas

Tabla		
2.1.	Descripción general y propiedades de la resina empleada	26
2.2.	Programa de elución usado para el análisis de compuestos fenólicos y furánicos mediante HPLC	35
2.3.	Condiciones de operación para la determinación de plomo en vinagre mediante GF-AAS	39
3.1.	Tiempo de retención, curva de calibrado y coeficiente de correlación de los compuestos estándares	44
3.2.	Tiempo de retención y curvas de calibrados para glucosa, fructosa y ácido acético	45
3.3.	Parámetros físico-químicos del vinagre de manzana para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento	46
3.4.	Parámetros físico-químicos del vinagre de <i>chardonnay</i> para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento	48
3.5.	Parámetros físico-químicos del vinagre de <i>cabernet sauvignon</i> para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento	50
3.6.	Parámetros físico-químicos del vinagre de moscatel para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento	52
3.7.	Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de manzana al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación	59
3.8.	Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de <i>chardonnay</i> al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación	60
3.9.	Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de <i>cabernet sauvignon</i> al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación	61

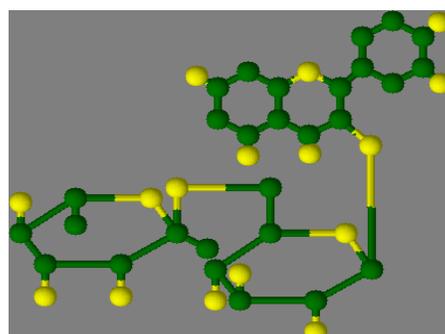
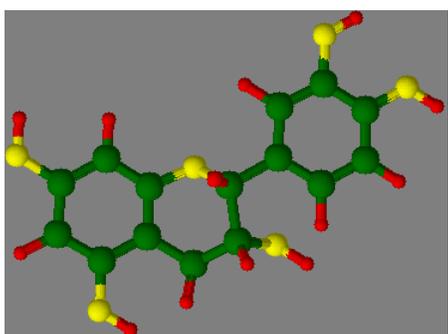
3.10.	Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de moscatel al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación	62
3.11.	Parámetros CiELab para vinagres de vino	80
3.12.	Evolución de la extracción de polifenoles totales (GAE mg/L), en vinagres de vino	82
3.13.	Evolución de la extracción de los ácidos aromáticos (mg/L) en vinagres de vino	89
3.14.	Evolución de la extracción de los furanos (mg/L) en vinagres de cava	90
3.15.	Evolución de la extracción de los furanos (mg/L) en vinagres de vino blanco	91
3.16.	Evolución de la extracción de los aldehídos aromáticos (mg/L) en vinagres de vino blanco	92
3.17.	Evolución de la extracción de los aldehídos aromáticos (mg/L) en vinagres de cava	93
3.18.	Concentración de plomo inicial y eliminación de plomo durante el proceso de adsorción en vinagres comerciales	97
3.19.	Parámetros físico-químicos de vinagre balsámico y vinagre de vino tinto antes y después del tratamiento con la resina Lewatit TP 207 en sistema continuo	105
3.20.	Parámetros físico-químicos de vinagres de vino blanco antes y después del tratamiento con la resina Lewatit TP 207 en sistema continuo	105

Capítulo 1

Introducción



Este capítulo revisa los fundamentos teóricos y antecedentes bibliográficos de los principales tópicos que han sido abordados en este estudio.



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
TRATAMIENTOS POSTFERMENTATIVOS DEL VINAGRE: CONSERVACIÓN EN BOTELLA, ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y ELIMINACIÓN
DEL PLOMO
Mariela Alejandra Labbé Pino
ISBN:978-84-691-1555-8 /DL:T.39-2008

La palabra vinagre proviene etimológicamente del latín “vinum acre” de la que deriva la locución francesa “vin aigre” equivalente al vino agrio, pero en esta acepción su procedencia no queda relegada al vino, sino a cualquier sustrato amiláceo susceptible de ser utilizado como materia prima.

Según la FAO/OMS (1982), el vinagre es “un líquido apto para el consumo humano, que es producido exclusivamente a partir de materias primas de origen agrícola, que contengan almidones y/o azúcares, por un doble proceso de fermentación, alcohólica y acética”. Puede contener cantidades determinadas de ácido acético, y otros ingredientes opcionales (hierbas, especias, sal), lo que será regulado por la Comisión del Codex Alimentarius, según el tipo de ingrediente, a objeto de obtener un aroma peculiar y característico de cada tipo de vinagre.

La Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración y comercialización de los vinagres (RD 2070/1993), en su artículo 2 lo define: “Vinagre es el líquido apto para el consumo humano resultante de la doble fermentación alcohólica y acética de productos de origen agrario que contengan azúcares o sustancias amiláceas. El contenido en acidez total de los vinagres, expresado en ácido acético, no será inferior a 50 gramos/litro, excepto para el vinagre de vino, que será, al menos, de 60 gramos/litro. Se entiende por grado de acidez de los vinagres su acidez total expresada en gramos de ácido acético por 100 mililitros, a 20 Grad. C.”

1.1 Historia del vinagre

El vinagre ha formado parte de la alimentación humana desde la antigüedad más remota como condimento y conservador de alimentos. De hecho la amplia variedad de vinagres hoy en día disponibles no es

nada nuevo. Hasta el siglo seis antes de Cristo, los babilonios, estuvieron haciendo y vendiendo vinagres saborizados con frutas, miel, malta, etc., para los cocineros de ese tiempo. Además en el antiguo testamento y también Hipócrates recordaron el uso del vinagre con propósitos medicinales (Keher, 1921; Conner y Allgeier, 1976)

Existen otros reportes históricos acerca del vinagre. Albucases en el año 1100 hace la declaración de que el vinagre incoloro debe de ser destilado sobre fuego lento. Basilius Venentinus, un monje, en el siglo XV encontró que mediante destilación de un vinagre débil, era posible obtener un producto más fuerte. El Geber en el siglo XVII descubrió el incremento de la intensidad de vinagre de vino mediante la destilación. El químico Stahl en la primera mitad del siglo XVIII descubrió que el principal responsable del sabor agrio del vinagre era el ácido acético. En el año 1790 Loewitz, reportó que mediante carbón vegetal un ácido acético débil puede intensificarse. Durande en el año 1778 hace un producto más concentrado y lo llama ácido acético glacial. El primer análisis completo del ácido acético ha sido realizado por Berzelios en el año 1814. Dobereiner demostró que el alcohol era oxidado a expensas del oxígeno y producía ácido acético y agua. En el año 1823 Schützenbatch introduce el proceso rápido de manufactura del vinagre basado sobre la teoría de Dobereiner de la formación de ácido acético a partir de alcohol (Kehener, 1921) y en el año 1955 Joslyn reporta que Hromatka desarrolló un nuevo método para hacer vinagre llamado acetificación sumergida (Cruess, 1958).

Actualmente el vinagre de vino se elabora principalmente por dos procedimientos: en cultivo superficial o cultivo sumergido. El primero se realiza en toneles de madera de diferente capacidad, mientras que el segundo se lleva a cabo en bioreactores. Existe una variante intermedia entre los métodos anteriormente mencionados denominado método de

Schützenbach, este método emplea materia inerte (virutas de madera de haya) como medio de soporte para las bacterias acéticas, las que se encuentran adheridas al soporte de virutas y sobre las que percola el líquido a acetificar, que se recircula hasta alcanzar el grado acético deseado, consiguiéndose así un aumento de la velocidad de acetificación.

Estos métodos de acetificación, dan lugar a productos muy diferentes desde el punto de vista químico y organoléptico (Gerbi y col., 1996; Guerrero y col., 1997; Natera y col., 2003).

El vinagre es un producto cuyo valor y apreciación por parte del consumidor está experimentando un importante incremento en los últimos años. La diversidad de los vinagres en el mercado y el incremento de su demanda requieren su caracterización para establecer parámetros de control de calidad. Los compuestos fenólicos han demostrado ser buenos indicadores del origen y calidad de los vinagres. En el estudio de 92 muestras de vinagres realizado por García-Parrilla y col, 1997 la composición fenólica resultó ser útil para establecer relaciones entre las muestras de acuerdo al método aplicado para la elaboración u origen geográfico del vino empleado como sustrato. También los compuestos de bajo peso molecular han sido empleados para diferenciar entre vinagres envejecidos y sin envejecer, así como vinagres de Jerez y aquellos que pertenecían a otras zonas de España (Gálvez y col., 1995).

1.2 Compuestos fenólicos

Los compuesto fenólicos son extremadamente diversos y forman una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas con un gran número de estructuras y funciones, pero generalmente

poseen un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo (Waterhouse, 2002).

Esta definición no es enteramente satisfactoria, ya que basado en ello es posible incluir compuestos tales como el estrógeno (hormona sexual) que corresponde a un terpeno, por esta razón es preferible una definición basada en el origen metabólico. Los fenoles entonces pueden ser considerados como sustancias derivadas de la vía del ácido sikímico y del metabolismo fenilpropanoide (Robards y col., 1999).

La composición fenólica de las frutas está determinada por factores genéticos y ambientales, pero puede ser modificada por reacciones oxidativas durante el procesado y almacenamiento (Heinonen y col., 1998; Van der Sluis y col., 2001; Alonso y col., 2003; Marlowski y Plochanski, 2006; Villaños y col., 2006).

El contenido de compuestos fenólicos en uvas ha sido ampliamente estudiado, más que cualquier otra fruta quizás con la posible excepción de la manzana (Robards y col., 1999) y pueden ser clasificados en ácidos fenólicos o no-flavonoides y flavonoides. En el vinagre (de vino y manzana) encontramos estos compuestos debido a su contenido natural en la fruta o como resultado del contacto con la madera durante el envejecimiento.

Entre los ácidos fenólicos podemos distinguir ácidos hidroxicinámicos, hidroxibenzoicos y sus derivados, los que se diferencian por la sustitución de su anillo bencénico.

En uvas y manzanas es posible encontrar una pequeña cantidad de ácidos hidroxicinámicos libres, ya que es más común encontrarlos esterificados. En el caso de la uva los ácidos hidroxicinámicos están esterificados con ácido tartárico más que con ácido quínico, para dar derivados como el caftárico, cutárico y fertático. Estos compuestos presentes en el zumo de uva, son altamente oxidables y son

responsables del pardeamiento en el vino blanco (Ribéreau-Gayon, 2000). En cambio en las manzanas la esterificación es principalmente con ácido quínico, entre los hidroxicinámicos derivados el que está presente en mayor cuantía es por lo general el ácido clorogénico (Haslam, 1998; Podsdek y col., 2000). La universal distribución y alta concentración de ácidos hidroxicinámicos en frutas puede ser debida en parte a que ellos juegan un rol importante en la biosíntesis de otros fenoles más complejos (Robards y col., 1999).

Las cumarinas pueden ser consideradas derivadas de ácidos hidroxicinámicos, formadas por la esterificación intramolecular de un fenol OH hacia el carbono α de la cadena. Estas moléculas son componentes del roble ya sea en forma glicosilada en madera verde (escopolino) o en forma aglicona (escopoletino) en madera secada naturalmente.

Los ácidos hidroxibenzoicos son considerados componentes minoritarios en vinos, y tal vez el más destacado sea el ácido gálico, que está siempre presente en el vino y vinagre envejecido con madera, ya que proviene tanto de pieles y semillas de la uva, como de la hidrólisis de taninos hidrolizables provenientes del roble, ya que este tipo de taninos en uvas de *V. Vinifera* no ha sido encontrado, pero si en otras frutas como la frambuesa o la uva muscadina (Waterhouse, 2002).

Otros compuestos encontrados en vinos o vinagres envejecidos son los aldehídos fenólicos, que están presentes en madera de roble y que se originan después de que ésta es tostada, aquí se incluyen a los aldehídos hidroxibenzoicos (vainillina y siringaldehído) y aldehídos hidroxicinámicos (coniferaldehído y sinapaldehído)

El tirosol o *p*-hidroxi-fenil-etil alcohol puede ser incluido en este grupo de ácidos fenólicos, el que es formado durante la fermentación alcohólica a partir de la tirosina (*p*-hidroxifenil alanina) sintetizado

mediante levaduras. Este compuesto permanece en concentraciones constantes durante el envejecimientos de vinos (Ribéreau-Gayon, 2000).

Los ácidos fenólicos son incoloros en solución alcohólica diluida, pero ellos podrían volverse amarillos debido a la oxidación. Desde el punto de vista organoléptico estos compuestos no tienen olor o sabor particular. Sin embargo, ellos son precursores de fenoles volátiles producidos por acción de ciertos microorganismos o cuando son utilizados barriles de roble nuevos, también el tostado de la madera involucrado en la confección del barril produce compuestos de la misma familia.

Los flavonoides son todos compuestos polifenólicos, teniendo múltiples anillos aromáticos que poseen grupos hidroxilos. Un sistema específico de tres anillos define a los flavonoides. Los diferentes estados de oxidación y de sustitución del anillo central definen las diferentes clases de flavonoides, así encontramos flavanoles, flavonoles y antocianinos.

Los flavanoles son la clase más abundante de flavonoides en uvas, vino y derivados. En la uva se han encontrados en pieles y semillas, a menudo son específicamente llamados flavan-3-ol para identificar la posición del grupo alcohólico. En uva los isómeros encontrados corresponden a (+) catequina y (-) epicatequina.

Los flavonoles se encuentran siempre en forma glicosidada en las plantas incluyendo a las uvas, donde es encontrada en la piel de las mismas. Existen sólo 3 formas de flavonoides simples, quercitina, miricetina y kaempferol.

Los antocianos son polifenoles coloreados, responsables del color de uva y sus derivados así como de otras plantas.

Una técnica muy útil para el estudio de la composición fenólica de vinos o vinagres es la cromatografía líquida de alta resolución, mediante la cual ha sido posible identificar diferentes grupos de fenoles, ácidos fenólicos, hidroxycinamatos y flavonoides (Betés-Saura y col., 1996; García-Parrilla y col., 1999; Ibern-Gómez y col.; 2002, Chamkha y col., 2003; Careri y col., 2003; Gambelli y Santaroni, 2004).

1.3 Conservación del vinagre

El vinagre es un producto en el que no es necesario indicar la fecha de caducidad según la legislación vigente (RD 1334/1999). El Instituto Americano del Vinagre, indica que el vinagre al ser un producto ácido se preserva a sí mismo, y se considera estable en el tiempo, salvo variaciones de color y la aparición de sedimentos.

En la literatura existe poca información de la evolución de vinagres durante el almacenamiento, sin embargo existen varias publicaciones de vinos sometidos a diferentes condiciones de almacenamiento que investigan la evolución de diversos compuestos fenólicos y cómo se ven éstos afectados por la temperatura, tiempo, aire, etc. (Somers y Evans, 1986; Tulyanthan y col., 1989; Zafrilla y col., 2003; Shwartz y col., 2003).

Llaguno y Polo, 1991 estudiaron durante 6 meses la estabilidad del vinagre de vino en diferentes tipos de envases, a temperaturas de 25-30 °C, con y sin presencia de luz. Dicho estudio no reveló cambios significativos en la composición química de los vinagres, pero sí un cambio en el color. La presencia de luz favoreció los cambios de color a tonos más oscuros, siendo los más afectados los vinagres de vino tinto en los cuales aparecieron tonos amarillo-pardos y precipitación de materia colorante lo cual generó enturbiamiento.

En la investigación realizada por Casale y col., 2006, han sido estudiadas 95 muestras de vinagres de diferentes orígenes, sometidas a una temperatura de 4 °C por un periodo de tiempo de 8 a 20 meses, el seguimiento del estudio ha sido llevado a cabo a través de espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) y los autores concluyen que el vinagre almacenado en botellas puede sufrir cambios físico-químicos y organolépticos debido a la evolución, oxidación y envejecimiento de ciertos compuestos específicos del vinagre, tales como azúcares reductores, ácido cítrico, dióxido de sulfuro, gomas, pectinas y mucílagos. La presencia de oxígeno normalmente desencadena una serie de reacciones químicas y enzimáticas en el vinagre de diferentes orígenes. Algunos de estos efectos son (a) oscurecimiento del color; (b) presencia de precipitados marrón; (c) pérdida de densidad y cuerpo; (d) pérdida de aromas. Estos cambios dependen del tipo de vinagre, de la materia prima, el proceso de elaboración y las condiciones de almacenaje.

Aunque el vinagre sea un producto considerado no perecedero es conveniente garantizar unas condiciones de conservación que permitan mantener las características organolépticas.

1.4 Envejecimiento del vinagre

El vinagre una vez elaborado puede someterse a un proceso de envejecimiento en barricas de madera (normalmente de roble), de forma que el vinagre adquiera características sensoriales particulares, generadas mediante procesos físicos, químicos y físico-químicos, donde la composición fenólica de la madera juega un rol importante (García-Parrilla y col., 1997, Tesfaye y col., 2002).

Entre las 250 especies del género *Quercus*, dos especies europeas y una especie americana, han sido usadas en el pasado y continúan siendo ampliamente empleadas en tonelería.

El roble americano usado más a menudo para la confección de barriles es el llamado roble blanco *Quercus alba*, aunque dentro de roble blanco también están las especies *Q. macrocarpa*, *Q. montana*, *Q. garryana* y *Q. prinus* las que podrían tener capacidad para envejecer vinos, pero de momento no ha sido sistemáticamente estudiado su uso (Towey y Waterhouse, 1996). El roble rojo (*Q. rubra* o *boreales*) es algunas veces usado para grandes contenedores, pero nunca para barriles.

Entre los diversos tipos de roble europeo, las dos especies más ampliamente utilizadas para envejecer vino y destilados son roble sessile (*Q. petraea* o *Q. sessilis*) y roble pedunculate (*Q. robur* o *Q. pedunculata*), en Francia a menudo estas dos especies crecen juntas.

La composición química del roble es influenciada por diferentes factores, tales como la especie, el origen geográfico o el procesamiento en tonelería, ya sea el método para obtener las duelas y el grado de tostado durante el sistema de manufactura (Rous y Alderson, 1983; Puech, 1987; Miller y col., 1992; Marco y col., 1994; Del Alamo y col., 2000).

La madera de roble está principalmente compuesta por tres grandes polímeros insolubles, celulosa, hemicelulosa y lignina, pero también contiene diferentes compuestos de bajo peso molecular, como son ácidos volátiles y no volátiles, azúcares, esteroides, terpenos, fenoles volátiles, lactosas, etc.

Algunos de ellos están originalmente presentes en la madera en cantidades significativas, pero según Cadahía y col., 2003 muchos de ellos pueden ser intensificados durante el proceso de secado y tostado

de barricas. La contribución del secado, en relación con el proceso de tostado, parece ser limitada, pero no insignificante.

Durante el tostado, se intensifican las concentraciones de las lactonas de roble y también el nivel de fenoles volátiles tales como eugenol y aldehídos fenólicos (aldehídos vanílicos, siríngico, coniferílico y sinápico). Durante este proceso, una variedad de reacciones de hidrotermolisis y pirólisis toman lugar produciendo la degradación de biopolímeros, tales como lignina, polifenoles y lípidos. La termo degradación de lignina, principalmente conduce a la formación de fenoles volátiles y aldehídos volátiles, algunos alcoholes fenólicos y fenilcetonas. Mientras que la madera de roble sin tostar tiene sólo una pequeña cantidad de fenoles volátiles, principalmente eugenol y trazas de aldehídos fenólicos, la madera tostada tiene una variedad de fenoles mono y dimetoxilatos y altos niveles de aldehídos benzoicos y cinámicos. La degradación de hexosas, tal como la glucosa de la celulosa, produce 5 hidroximetil furfural (5-HMF) y 5 metil furfural (5-Met-F), mientras que las pentosas, principalmente constituyentes de hemicelulosa, producen furfural a través de reacciones catalizadas por ácido acético.

De acuerdo a Nykänen, 1986, estos compuestos presentes en la madera de roble pueden ser extraídos por vino o soluciones hidroalcohólicas.

Los compuestos fenólicos presentes en la madera están involucrados especialmente en procesos de oxidación durante el envejecimiento, lo cual está relacionado directamente con el color y las propiedades organolépticas (Gómez y González, 1995, Del Alamo y col., 2000, Morales y col., 2002, Fernández de Simón y col., 2003).

Pérez-Coello y col. 2000, observaron que con el uso de virutas de roble durante la fermentación de vino blanco, ha sido posible aumentar

el rendimiento del proceso mediante la producción de mayor cantidad de compuestos volátiles, evitándose la pérdida de aromas y cambios de color.

Principalmente por razones económicas, las virutas de roble se están estudiando en el envejecimiento de vino y vinagre, como alternativa al uso de las barricas de roble (Tesfaye y col., 2004, Morales y col., 2004, Arapitsas y col., 2004). Dichos estudios demuestran que el uso de virutas de roble, puede ser útil para lograr un proceso de envejecimiento acelerado del vinagre, consiguiendo una extracción de compuestos fenólicos similar a la alcanzada con el envejecimiento en barrica, pudiendo representar una importante disminución en los costes de producción.

1.5 Eliminación de defectos en vinagres: reducción del contenido de plomo

El plomo es un componente minoritario, pero ampliamente difundido, de la corteza terrestre donde forma parte de numerosas sales. Se encuentra concentrado fundamentalmente en la galena (PbS) y la cerusita ($PbCO_3$) (Fonseca, 2003), utilizándose estos depósitos como fuente de obtención de este elemento, el cual se puede mezclar con otros metales para formar aleaciones útiles. Debido a sus especiales características, sobre todo su ductilidad y bajo punto de fusión, ha sido posible utilizar el plomo durante siglos para la fabricación de tuberías, recipientes y objetos ornamentales (Somogyi y col., 1994).

El plomo existente en el medio ambiente puede provenir de fuentes naturales y antropogénicas. Las fuentes naturales de plomo atmosférico comprenden el desgaste geológico y las emisiones volcánicas, y se han estimado en 19.000 toneladas por año, frente a un vertido al aire de 126.000 toneladas por año como resultado de la

minería, la fundición y el consumo anual de más de 3 millones de toneladas de plomo (Fonseca, 2003).

El plomo es un metal de interés de salud pública, debido a los efectos dañinos que puede causar en seres humanos, producto de su toxicidad cuando es acumulado en múltiples órganos del cuerpo humano.

La adsorción gastrointestinal del plomo puede verse favorecida por ciertas circunstancias como el ayuno o la falta de hierro o calcio en la dieta. Una vez en el organismo, el plomo puede circular y depositarse prácticamente en cualquier órgano, existiendo un paso en ambos sentidos (tejido-sangre, sangre-tejido), eliminándose por heces, orina y sudor.

Los efectos del plomo sobre el organismo humano varían en función de la concentración de éste y de la edad de los afectados, siendo de forma general, más severo en niños y mujeres embarazadas.

La dieta es la principal fuente de contaminación por plomo para el público en general, es por ello que el comité mixto de la FAO/OMS (2001) ha establecido una ingesta tolerable de 25 µg por kilogramo de peso del individuo a la semana, lo que es equivalente a 214 µg diarios para un individuo de 60 kg

El contenido de plomo en vinos puede ser atribuido a fuentes naturales (transferencia del metal desde el suelo vía las raíces a la uva y finalmente al vino) y a la contaminación durante el proceso de vinificación, el equipamiento de bodegas hechos con latón (válvulas, tuberías y bombas) podrían ser potenciales fuentes de plomo.

Angelova y col., 1999, encontraron que el contenido de plomo en uvas muestra una dependencia significativa con el suelo de viñedos localizados en una región industrialmente contaminada. Almeida y

Vascocelos, 2003, encontraron que una drástica reducción del nivel de plomo en el vino podría ser posible a través de un estricto control de las fuentes de plomo en los dispositivos usados en el sistema de vinificación, particularmente en las aleaciones usadas en el proceso de soldaduras en pequeños accesorios, como tapas.

No se han publicado estudios sobre las fuentes de contaminación de plomo en vinagres, pero se cree podría atribuirse a las mismas fuentes de contaminación de uva y vino (Henick-Klin y Stoewsand, 1993; Angelova y col., 1999; Kristl y col., 2002) y además presumiblemente al contacto con superficies contaminadas con plomo durante la producción y almacenamiento, posiblemente accesorios de metal de seguridad en los barriles usados para envejecer los vinagres (Ndung'u y col., 2004).

La legislación Española (RD 2070/93), fija el nivel permitido de plomo en vinagres a un máximo de 500 $\mu\text{g/L}$. De acuerdo a la literatura científica la concentración de plomo en vinagres es variada, en el *Aceto Balsamico Tradizionale di Modena* varían entre 90 y 730 $\mu\text{g/kg}$ (Cocchi, y col., 2004). Oliveira y col., 2006 para diferentes tipos de vinagres han determinado valores entre 2,8 y 32,4 $\mu\text{g/L}$. Ndung'u y col., 2004 han encontrado valores de 15 a 307 $\mu\text{g/L}$ en vinagres balsámicos y de 36 a 50 $\mu\text{g/L}$ en vinagres de vino; sin embargo en la década pasada Acosta y col., 1993 reportaron concentraciones bastante más elevadas, en vinagres de vino 670 $\mu\text{g/L}$, vinagre de malta 600 $\mu\text{g/L}$, vinagre de alcohol 520 $\mu\text{g/L}$ y vinagre de manzana 440 $\mu\text{g/L}$.

Durante los últimos años, los requerimientos en seguridad alimentaria han ido tendiendo a entregar una clara información a los consumidores, por lo tanto la actual legislación ha fijado un límite mínimo a partir del cual es obligatorio detallar en la etiqueta del alimento "este producto contiene plomo". De hecho, en el estado de California,

USA, el contenido de plomo en vinagres está sujeto a la *Proposition 65*, la cual fija la concentración límite de plomo en 35 µg/L. Sin embargo, una persona para exponerse al límite de riesgo de 15 µg diarios debería de consumir entre 250-650 mL de vinagre diariamente. No obstante, es muy importante proponer un tratamiento para disminuir el contenido de plomo con el fin de evitar la necesidad de indicarlo en la etiqueta del producto, lo cual representaría una pérdida importante en la imagen del mismo.

El intercambio iónico es un proceso por medio del cual un sólido insoluble remueve iones de cargas positivas o negativas de una solución electrolítica y transfiere otros iones de carga similar a la solución en una cantidad equivalente. El proceso ocurre sin que existan cambios estructurales en el sólido. Si los sólidos intercambian iones positivos (cationes) se denominan intercambiadores catiónicos e intercambiadores aniónicos si intercambian iones negativos (aniones).

En la literatura, existen investigaciones que han estudiado la remoción de iones metálicos inorgánicos, incluyendo al plomo desde soluciones acuosas, a través del uso de diferentes resinas (Malla y col., 2002; Pelhivan y Altum, 2007), también utilizando bentonitas (Barbier y col., 2000; Tahir y Rauf, 2004), biosorbentes (Saeed y col., 2005; Bahadir y col., 2007), etc. Sin embargo, la concentración de plomo en estos estudios era entre 1 a 800 mg/L, concentraciones altamente superiores a las encontradas para vinagres (Acosta y col., 1993; Cocchi, y col., 2004; Ndung'u y col., 2004; Oliveira y col., 2006)

Las resinas quelantes empleadas en intercambio iónico, en general son selectivas y tienen afinidad por iones de metales pesados. Además de las resinas comúnmente usadas iminodiacetato y amonofosfónicas, las resinas selectivas de picolieamina, polietilenimina, amidoxina, están también comercialmente disponibles para remover

metales. Las resinas quelantes tienen ligandos que se pueden vincular selectivamente con cierto tipo de metales catiónicos. Los siguientes criterios determinan la afinidad de la resina quelante por el metal: carga iónica, radio iónico hidratado y vínculo ligante con pares de electrones expuestos sobre nitrógeno y oxígeno.

Estas resinas en general son usadas para la remoción de iones de metales pesados desde soluciones acuosas. Su rango de pH es bajo para muchos iones de metales pesados y la desventaja del bajo rango de pH es que los metales no precipitan como óxidos o hidróxidos. La utilización de la resina Lewatit TP 207 es beneficiosa por ser simple, efectiva y ser un medio económico para tratar aguas residuales conteniendo metales pesados, también esta resina posee varias características que la hacen ser un medio efectivo para la remoción de iones de metales desde el vino (Palacios y col., 2001).

La cantidad de adsorbato que puede retener un adsorbente es función de las características y de la concentración del adsorbato y de la temperatura. En general, la cantidad de materia adsorbida se determina como función de la concentración a temperatura constante y la función resultante se conoce con el nombre de isoterma de adsorción. Los modelos más frecuentemente empleados para el tratamiento de los datos experimentales de las isotermas son el de Langmuir (1915) y el de Freundlich (1939) (Metcalf, 1995).

El modelo de Langmuir se desarrolló originariamente para representar la adsorción gas-sólido con carbón activo. En este modelo la atracción entre los iones de metal y la superficie del sorbente se basa principalmente en fuerzas físicas y no tiene en cuenta las agrupaciones moleculares ni las variaciones de energía de la interacción con el material, la principal hipótesis del modelo es que la superficie de adsorción es uniforme.

El modelo de Freundlich tiene un origen empírico y, al igual que la isoterma de Langmuir, la sorción es función de la concentración de equilibrio, sin tener en cuenta la presencia de otros iones en disolución o variaciones del pH. En este caso, la superficie se supone heterogénea.

Considerando que las concentraciones de plomo permitidas corresponden a niveles trazas, las técnicas utilizadas para la determinación de la concentración deben ser muy sensibles y exactas, ya que una alta variabilidad en los resultados podría provocar una desestimación o sobreestimación de los resultados obtenidos por simples ensayos analíticos de laboratorio.

Las técnicas idóneas en este caso consisten en la aplicación de espectrofotometría de absorción atómica de llama (F-AAS) y espectrofotometría de absorción atómica de cámara de grafito (GF-AAS).

Existen estudios específicos de determinación de plomo en sangre humana, agua potable, agua de mar, bebidas y vinagres, en los cuales dichas técnicas prestan una gran utilidad (Yebrá y col., 1995; Horng y col., 1997; Viksna y Lendgren, 1997; Palacios y col., 2001; Grinberg y De Campos, 2001; Ndung'u y col., 2004; Demibars y col., 2005).

Los objetivos generales de este trabajo han sido:

Estudiar la evolución de los parámetros físico-químicos y el contenido fenólico y furánico de vinagres sometidos a diferentes condiciones de almacenamiento en botella, con la finalidad de determinar si diferentes condiciones de conservación pueden afectar la calidad del producto.

Estudiar la extracción de compuestos fenólicos de virutas de madera de roble en vinagres sintéticos y de vino, con la finalidad de determinar que condiciones pueden ser adecuadas para el envejecimiento acelerado de vinagres.

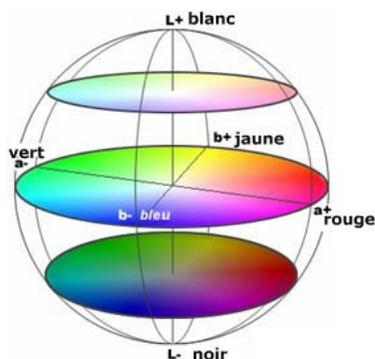
Reducir el contenido de plomo en vinagres sintéticos y comerciales, aplicando una resina de intercambio iónico, que permitan adaptar el contenido de plomo en vinagre a nuevas reglamentaciones alimentarias mucho más restrictivas respecto a este metal pesado.

Capítulo 2

Materiales y métodos



Este capítulo ha sido subdividido considerando los tres principales estudios realizados, conservación de vinagres, envejecimiento de vinagres mediante el uso de virutas de madera y eliminación de plomo mediante una resina de intercambio iónico.



Además por existir análisis en común para los estudios anteriormente mencionados, es que éstos se detallan en conjunto en otros apartados al igual que el tratamiento estadístico de los datos de cada estudio.

2.1 Conservación del vinagre

2.1.1 Muestras de vinagres

Para estudiar la evolución del vinagre en botella, bajo diferentes condiciones de almacenamiento, han sido empleados tres vinagres de vino monovarietal de *chardonnay*, *cabernet sauvignon* y moscatel y un vinagre de manzana.

Todos los vinagres han sido elaborados por el método Schützenbach por la empresa Badia Vinagres S. L. (Mollerussa, España) en el año 2003.

2.1.2 Condiciones de conservación

El producto se ha recibido en cajas de cartón conteniendo 6 botellas de medio litro, taponadas con tapón de rosca y cápsula protectora, de las que se separaron tres botellas para realizar la caracterización inicial de los vinagres, y el resto se dividió en cinco lotes, que se conservaron en las condiciones:

- (1) sin luz, 15 °C y botella sin abrir,
- (2) con luz, 24 °C y botella sin abrir (24-L),
- (3) sin luz, 24 °C y botella abierta (24-O),
- (4) sin luz, 24 °C y botella sin abrir, y
- (5) sin luz, 33 °C y botella sin abrir.

Estas condiciones fueron elegidas para emular diferentes situaciones en que el producto se puede encontrar una vez adquirido

por el consumidor y/o diferentes condiciones en la red de distribución del mismo.

La evolución de los parámetros estudiados considera compuestos fenólicos, furánicos y parámetros físico-químicos tales como: acidez total, acidez fija, pH, densidad, extracto seco, sulfatos, cloruros, cenizas, anhídrido sulfuroso total y libre, polifenoles totales, índice de polifenoles totales y características cromáticas. También se han analizado el contenido inicial de glucosa y fructosa de los diferentes vinagres. Los métodos de análisis son detallados en los puntos 2.4.1 y 2.4.2.

Para controlar la evolución del producto, se han tomado dos botellas de cada vinagre a los 30, 90, 180 y 360 días para los análisis físico-químicos. También se ha analizado una muestra de cada vinagre a los 15 días del inicio del estudio. Los compuestos fenólicos y furánicos han sido controlados al inicio y al final del estudio.

2.2 Envejecimiento de vinagres utilizando virutas de madera

2.2.1 Muestras de vinagre sintético y de vino

Se han utilizado 2 tipos de vinagre sintético, uno dulce al que se le ha adicionado 250 g/L de azúcares en forma de mosto concentrado rectificado y otro seco sin adición de azúcares. La acidez total y el alcohol residual han sido ajustados a 5º acéticos y 2º alcohólicos.

Los vinagres de vino empleados han sido de dos tipos, uno obtenido a partir de cava (*desgorge*) y otro a partir de vino blanco de la variedad *Riesling*, a éste último se le han adicionado 250 g/L de azúcares en forma de mosto concentrado rectificado. La acidez total y el alcohol residual para estos vinagres ha sido ajustada a 4º acéticos y 2º

alcohólicos. Los vinagres de cava han sido de dos clases, de 3 (C3) y 4 años (C4) de envejecimiento en botella, a su vez los vinagres de vino blanco han sido de la Denominación de Origen Somontano, España (B1) y de la Denominación de Origen Costers del Segre, España (B2), ambos de la cosecha 2002.

2.2.2 Virutas de madera

Las virutas de madera utilizadas con cada tipo de vinagre sintético han sido de roble americano (*Quercus alba*, Missouri & Kentucky, Estados Unidos) y roble francés (*Quercus petraea*, Allier & Vosges, Francia), ambos suministrados por Tonelería Nacional (Santiago, Chile). Las virutas de madera utilizadas en vinagres de vino han sido sólo de roble francés (*Q. petraea*), dejando una muestra control de cada vinagre de vino sin adición de virutas.

La dosis empleada de virutas para todos los vinagres (sintéticos y de vino) ha sido de 3 g/L, con una granulometría de 2-10 mm y un tostado medio (190-200 °C).

2.2.3 Proceso de envejecimiento

El envejecimiento de los vinagres sintéticos, de vino blanco y de cava, se ha realizado en duplicado y ha sido llevado a cabo en recipientes de 25, 1,5 y 1,0 L, respectivamente a temperatura ambiente (sol y serena) y con una agitación semanal durante un periodo de quince meses para los vinagres sintéticos y de seis meses para los vinagres de vino.

La toma de muestra para los vinagres sintéticos ha sido realizada el día en que se puso en contacto el vinagre con las virutas y luego de los 21, 121, 193, 345 y 448 días, con una toma adicional de muestra a

los 30 días para los vinagres sintéticos secos. Para los vinagres de vino la toma de muestra ha sido al cabo de 27 y 192 días de haber sido agregadas las virutas de roble.

Durante el periodo de envejecimiento tanto a los vinagres sintéticos como a los vinagres de vino, se les han analizado las características cromáticas, el índice de polifenoles totales y el perfil polifenólico, detallado en los puntos 2.4.1 y 2.4.2.

2.3 Eliminación de plomo

2.3.1 Resina

La resina de intercambio iónico utilizada para la eliminación de plomo en sistema *batch* y continuo, ha sido Lewatit TP 207 (Bayer, USA), de tipo quelante, con un grupo funcional ácido iminodiacético y una matriz funcional de estireno. Las propiedades y especificaciones entregadas por el proveedor están detalladas en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Descripción general y propiedades de la resina empleada

Datos	Lewatit TP 207
Matriz	Poliestireno
Estructura	Macroporosa
Grupo funcional	Ácido iminodiacético
Tamaño	0,4–1,25 mm
Densidad	750–850 g/L
Rango de pH	1,5–9
Temperatura máxima	80 °C

Después de cada proceso de adsorción, la resina es regenerada según recomendaciones del fabricante con ácido clorhídrico al 10 % y posterior enjuague con agua mili-Q.

2.3.2 Eliminación de plomo en sistema *batch*

2.3.2.1 Muestras de vinagres

Se han utilizados vinagres sintéticos de 6 y 10^o acéticos con concentraciones iniciales de plomo entre 0,05 y 1,0 mg/L.

También se han utilizado cuatro tipos de vinagres comerciales, cada uno de dos marcas diferentes, de 5 y 6^o acéticos: balsámico de Módena, de Jerez, de vino envejecido en barrica y de sidra. Estos vinagres han sido adquiridos en el comercio local.

2.3.2.2 Cinética e isoterma de adsorción de plomo

Para la cinética de adsorción de plomo se han empleado los dos vinagres sintéticos, de 6 y 10^o acéticos y concentraciones de plomo de 0,2 y 1,0 mg/L. La dosis de resina (Lewatit TP 207) empleada ha sido de 10 g/L en un sistema discontinuo con agitación constante a temperatura ambiente de 20 ± 2 °C (Figura 2.1). Cada experiencia ha sido realizada en duplicado.

El tiempo total de proceso ha sido de 72 horas. El seguimiento del proceso se realizó a las 1, 2, 6, 24, 48 y 72 horas de entrar en contacto el vinagre con la resina, dejando una muestra inicial como control.

Con la construcción de la cinética de adsorción se persiguen dos propósitos, por un lado determinar el tiempo de máxima adsorción y por

otro lado saber si el grado acético influye sobre la capacidad de la resina, teniendo esto en cuenta saber si es posible trabajar sólo con un tiempo de contacto y por otra parte solo con un vinagre sintético, si es que la adsorción no se ve afectada por la concentración de ácido acético.

Una vez que han sido determinados los parámetros anteriormente mencionados, se ha realizado la isoterma de adsorción en sistema *batch*, para lo cual se ha utilizado un vinagre sintético a diferentes concentraciones iniciales de plomo: 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 mg/L.



Figura 2.1. Sistema *batch* para la eliminación de plomo mediante resina de intercambio iónico Lewatit TP 207

La isoterma de adsorción ha sido determinada de acuerdo al balance de masa de la muestra, ecuación 2.1:

$$q = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m} \quad (2.1)$$

donde q es la capacidad de adsorción en estado estacionario (mg Pb/g de resina), V es el volumen de muestra (L), m es la cantidad de resina

(g), C_0 es la concentración inicial de plomo en la solución y C_e es la concentración de plomo en estado estacionario (mg/L).

La determinación de la concentración de plomo en vinagres sintéticos utilizados para la cinética e isoterma de adsorción está detallada en el punto 2.4.3.

2.3.2.3 Reducción de plomo en vinagres comerciales

Las mismas condiciones de operación utilizadas para la isoterma de adsorción han sido utilizadas para la reducción de plomo en los diferentes vinagres comerciales.

El porcentaje de adsorción (R), es definido como la relación de disminución del metal después de la adsorción ($C_0 - C_e$) y la concentración inicial en la solución de vinagre (C_0), la que ha sido calculada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$R = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} \times 100 \quad (2.2)$$

La concentración de plomo inicial de plomo en la solución y la concentración de plomo en estado estacionario han sido determinadas como se detalla en el punto 2.4.3.

2.3.3 Eliminación de plomo en sistema continuo

2.3.3.1 Muestras de vinagres

Se ha utilizado vinagre sintético de 6º acéticos, con una concentración inicial de plomo de 100 µg/L. También han sido utilizados

tres tipos de vinagres comerciales de 6^º acéticos: balsámico, de vino blanco y de vino tinto, todos adquiridos en el supermercado.

2.3.3.2 Proceso de eliminación de plomo

El proceso de adsorción ha sido llevado a cabo en una columna de relleno de 145 mm de alto y 20 mm de diámetro interno, empacada con 35 mL de resina Lewatit TP 207 (Figura 2.2). El vinagre ha sido bombeado con flujo ascendente a través de la columna mediante una bomba peristáltica (Watson Marlow 101 U/R, Inglaterra).

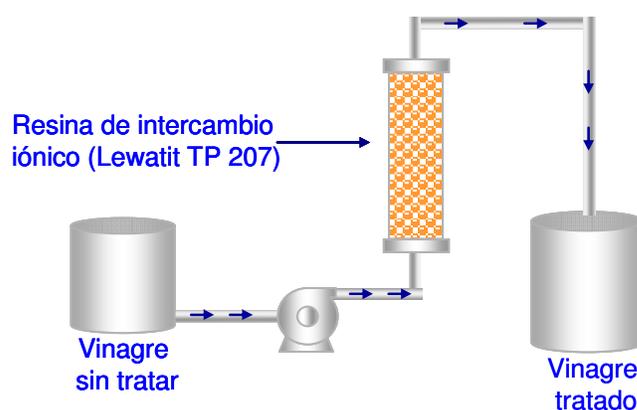


Figura 2.2. Esquema del sistema continuo utilizado para la eliminación de plomo mediante resina de intercambio iónico empacada en columna.

Se han considerado dos tiempos de residencia, 5 y 10 minutos, para tratar un volumen de vinagre sintético equivalente a 80 veces el volumen de lecho de resina empacada (80 BV), luego de la elección del mejor tiempo de residencia, se ha tratado el doble de volumen de vinagre sintético, para conocer la capacidad de adsorción de la resina bajo esas condiciones.

Los diferentes vinagres comerciales (uno balsámico, tres de vino tinto y dos de vino blanco) han sido tratados con el tiempo de residencia elegido en la etapa anterior, y se ha utilizado un volumen de vinagre equivalente a 120 BV.

Dos vinagres de vino blanco, han sido tratados dos veces consecutivas para conocer cual es el efecto de la concentración inicial de plomo sobre la capacidad de adsorción de la resina.

La concentración de plomo presente antes (C_0) y después (C_e) del tratamiento de adsorción ha sido determinada como se detalla en el punto 2.4.3.

La cantidad de plomo adsorbido por la resina en sistema continuo, en porcentaje de adsorción (R), ha sido calculado de acuerdo a la ecuación (2.2)

También han sido analizados los parámetros físico-químicos de los vinagres comerciales tales como, extracto seco, cenizas, pH, y características cromáticas, como se detalla en el punto 2.4.1 y glucosa, fructosa y ácido acético, como se detalla en el punto 2.4.2 antes y después de cada tratamiento de adsorción.

2.4 Métodos de análisis

2.4.1 Análisis físico-químicos

Los parámetros analíticos controlados se han realizado mediante los Métodos Oficiales de Análisis del Vinagre (1977, 1979, 1981).

La acidez total se ha medido por volumetría con una solución de NaOH 0,5 M. La acidez fija se ha determinado mediante la evaporación

de la muestra en un baño de agua hirviendo, redisolución cinco veces, y posterior análisis mediante volumetría con una solución de NaOH 0,1 M.

El pH se ha medido con un electrodo Crison de referencia Basic20 (Barcelona, España).

La densidad se ha determinado por aerometría.

El extracto seco se ha determinado por evaporación de una muestra en un baño de agua hirviendo seguida de desecación en una estufa termostatizada a 105 °C durante 2,5 horas.

Los sulfatos se han cuantificado por precipitación con cloruro de bario en una muestra acidificada hirviendo. La solución es filtrada y lavada hasta que no son detectados iones del cloruro con nitrato de plata, entonces el precipitado es calcinado a 800 °C.

Los cloruros son medidos potenciométricamente en una solución ácida de ácido nítrico con un pHmetro y electrodo de referencia de Ag/AgCl (Modelo 52-60, Crison) y usando como electrolito una solución saturada de nitrato de plata.

Las cenizas se han determinado tras sucesivas evaporaciones, calcinación a 525 °C y redisoluciones repetidas cinco veces para eliminar componentes carbonatados.

El anhídrido sulfuroso total y libre se ha analizado por el método Ripper doble.

El pardeamiento del vinagre en el estudio de conservación se ha determinado mediante la absorbancia a 420 nm (1-cm de paso) con un espectrofotómetro Cecil CE-2021.

En los estudio de conservación de vinagres y envejecimiento mediante el uso de virutas, los polifenoles totales (PT) se ha determinado mediante el método de Folin-Singleton (Barceló, 1990), los

resultados son expresados como “equivalentes de ácido gálico” (GAE) en mg/L, por medio de una curva de calibrado preparada con ácido gálico. Además, sólo para el estudio de conservación de vinagres se determinó el índice de polifenoles totales (IPT), mediante la absorbancia de la muestra a 280 nm (Ribéreau-Gayon, 1970).

Las características cromáticas de los vinagres empleados en el estudio de conservación y eliminación de plomo en sistema continuo se han determinado de acuerdo al Diario Oficial de la Comunidad Europea, 1990. A través de la lectura de la absorbancia en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso se puede calcular la intensidad colorante (I.C.), que corresponde a la suma de la absorbancia a 420, 520 y 620 nm y tonalidad (M) que corresponde a la relación entre la absorbancia a 420 y 520 nm.

Las características cromáticas de los vinagres envejecidos con virutas de roble se han analizado mediante las coordenadas CIELab. Usando un espectrofotómetro Genesys 10 UV y cubetas de cuarzo de 2 mm de camino óptico, se ha medido la absorbancia a 450, 520, 570 y 630 nm. Tanto las coordenadas triestímulo (X, Y, Z), como las coordenadas L* (luminosidad), h* (tono), C* (croma), a* (valores rojo/verde) y b*(valores amarillo/azul) han sido determinadas mediante el programa informático MSCV “método sencillo para el color del vino” (Grupo de color, Universidad de La Rioja-Universidad de Zaragoza, 2001).

2.4.2 Determinación de la concentración de glucosa, fructosa, ácido acético, compuestos fenólicos y furánicos

La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos y furánicos, así como de glucosa, fructosa y ácido acético se han llevado a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un

equipo Agilent modelo 1100 con inyector automático, índice de refracción (modelo RID G1362A) y detector foto diodo array (modelo DAD G1315B). La adquisición y tratamiento de datos ha sido llevada a cabo utilizando el software HP Chemstation (Agilent, Waldbron, Alemania).

Todas las muestras de vinagres y los eluyentes utilizados como fase móvil han sido filtrados antes del análisis, utilizando filtros de acetato de celulosa (Teknokroma, Barcelona, España) con un tamaño de poro de 0,45 μm . Todos los análisis se han realizado en duplicado.

Glucosa, fructosa y ácido acético

La columna empleada ha sido Transgenomic ICSep ICE COREGEL 87H3 (Transgenomic, Omaha, Estados Unidos). La fase móvil ha sido una solución de H_2SO_4 (95-97 %) ajustada hasta pH 2,2 con agua Milli-Q, a un flujo de 0,6 mL/min. El volumen de inyección de la muestra ha sido de 20 μL y la temperatura del horno ha sido mantenida a 50 $^\circ\text{C}$.

Compuestos fenólicos y furánicos

La columna utilizada ha sido Supelcosil LC18 (Teknokroma, Sant Cugat del Vallès, España), de 25 cm x 4,6 mm con un tamaño de partícula de 5 μm . Las condiciones de operación son las descritas en el método publicado por Betés-Saura y col., 1996 adaptado a vinagres.

La fase móvil está constituida por dos solventes: solvente A, ácido acético en agua a pH 2,65; solvente B, 20 % de solvente A mezclado con 80 % de acetonitrilo, el programa de elución es mostrado en la Tabla 2.2, el flujo ha sido de 1,5 mL/min. El volumen de inyección de la muestra ha sido de 100 μL y la temperatura del horno ha sido

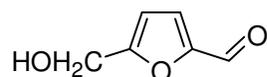
mantenida a 40 °C. Los cromatogramas han sido monitoreados simultáneamente a cinco longitudes de onda, 280,4; 313,4; 320,4; 355,4 y 365,4 nm.

La concentración de glucosa, fructosa, ácido acético y de los compuestos fenólicos y furánicos identificados ha sido determinada mediante curvas de calibrado (área del estándar versus concentración en mg/L) obtenidas previamente a partir de compuestos estándares.

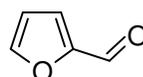
Tabla 2.2. Programa de elución usado para el análisis de compuestos fenólicos y furánicos mediante HPLC

Tiempo (minutos)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	100	0
5	98	2
10	96	4
15	90	10
30	80	20
35	70	30
40	0	100
45	100	0

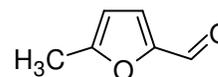
En las Figuras 2.3-2.6 se muestran las fórmulas químicas de los compuestos fenólicos y furánicos (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania) utilizados como estándares en este estudio.



5 - Hidroximetilfurfural



Furfural



5 - metilfurfural

Figura 2.3. Compuestos furánicos

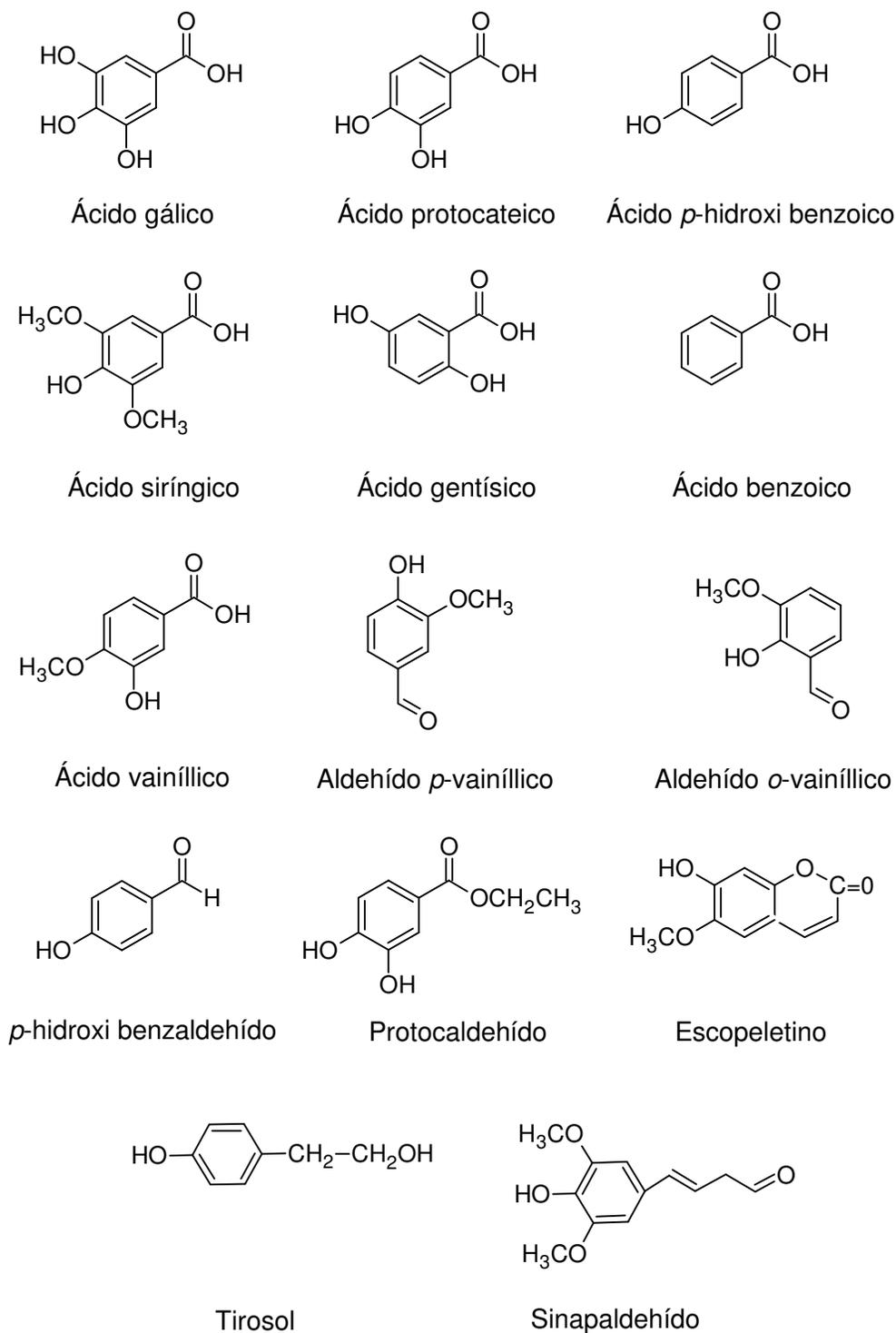
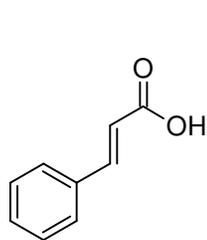
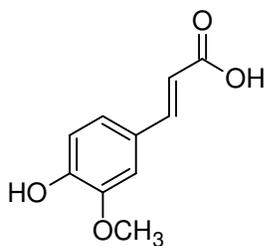


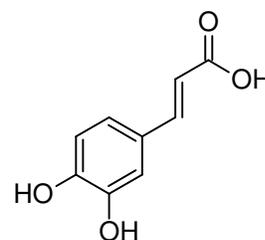
Figura 2.4. Ácidos fenólicos: ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados



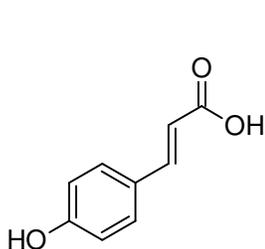
Ácido cinámico



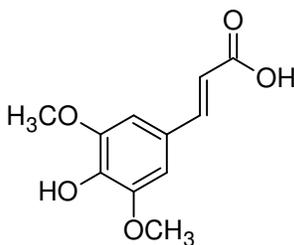
Ácido ferúlico



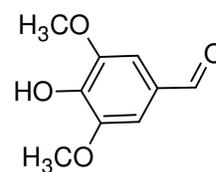
Ácido cafeico



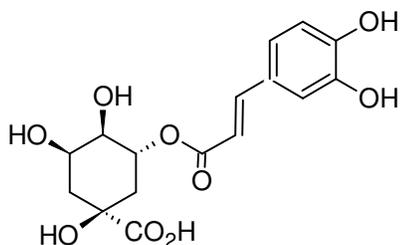
Ácido *p*-cumárico



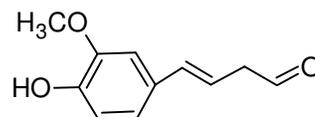
Ácido sinápico



Siringaldehído



Ácido clorogénico



Coniferaldehído

Figura 2.5. Ácidos fenólicos: ácidos hidroxicinámicos y sus derivados

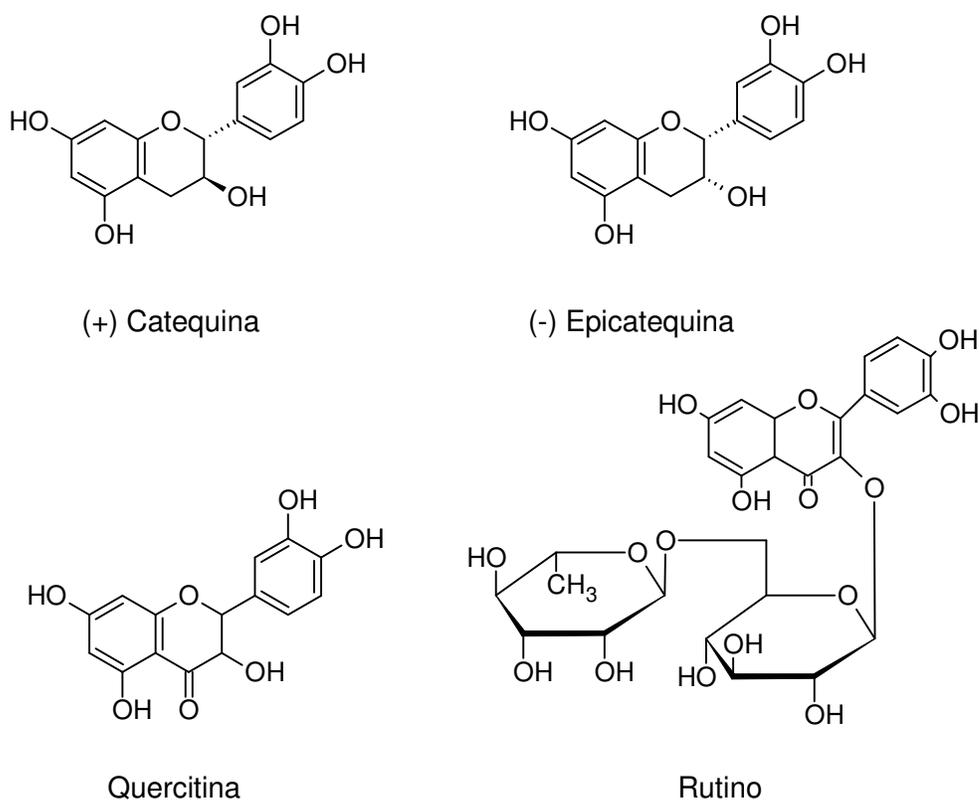


Figura 2.6. Flavonoides

2.4.3 Determinación de la concentración de plomo

La determinación de plomo para concentraciones menores a 0,5 mg/L ha sido realizada mediante espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito (GF-AAS). El equipo utilizado ha sido un Thermo Elemental (serie M 602166 v1.20), con una corrección de fondo Zeeman, necesaria para eliminar la interferencia de la matriz del vinagre, a una longitud de onda de 283,3 nm y $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ al 6 % y $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ al 0,5 % como modificantes de matriz. En la Tabla 2.3 se muestran las condiciones de operación del análisis.

Cuando las concentraciones de plomo eran superiores a 0,5 mg/L, el análisis se realizó mediante espectrofotometría de absorción

atómica de flama (F-AAS) utilizando un equipo Thermo elemental, operado con un flujo de aire-acetileno de 0,9 L/min a una longitud de onda de 217 nm.

Los vinagres han sido filtrados a través de una membrana de 0,45 μm de tamaño de poro antes de cada análisis. Todas las mediciones de concentración de plomo, ya sea por GF-AAS o F-AAS han sido realizadas por duplicado.

Tabla 2.3. Condiciones de operación para la determinación de plomo en vinagre mediante GF-AAS

Temperatura (°C)	Rampa de tiempo (s)	Gradiente de temperatura (°C/s)	Tipo de gas	Flujo de gas (L/min)
130	10	10	argón	0,2
350	5	25	argón	0,2
500	5	50	argón	0,2
750	10	100	argón	0,2
1800	3	0	argón	0
2250	3	0	argón	0,2

2.5 Tratamiento estadístico

Los datos son mostrados como el promedio de las replicas \pm la desviación estándar.

El análisis estadístico de los datos de conservación de vinagres, envejecimiento de vinagres con el uso de virutas y los datos de tratamientos de adsorción de plomo ha sido llevado a cabo usando análisis de varianza (ANOVA). La prueba de diferencias significativa mínima ha sido con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$. Todos los análisis han sido realizados usando el programa estadístico SPSS 14.0 para Windows.

Capítulo 3

Resultados y discusiones



Este capítulo recopila los principales resultados y discusiones agrupados según los tres estudios realizados. Por haber sido una herramienta importante para el correcto desarrollo de los mismos, se considerará primero el resultado de la puesta a punto de los métodos que permiten identificar y cuantificar glucosa, fructosa, ácido acético y compuestos fenólicos mediante HPLC.



3.1 Identificación y cuantificación de compuestos mediante HPLC

3.1.1 Compuestos fenólicos y furánicos

La identificación de compuestos fenólicos y furánicos es llevada a cabo tomando en cuenta el tiempo de retención y superposición de su espectro con el del estándar.

Para mejorar la selectividad de cada grupo de compuestos, estos han sido cuantificados a su máxima longitud de onda (280,4; 320,4; 313,4, 355,4 y 365,4 nm). En la Tabla 3.1 se muestra el tiempo de retención (T_r) para cada estándar, así como la curva de calibrado que permite determinar la concentración de cada compuesto.

Los ésteres de ácidos hidroxicinámicos (ácido *cis* y *trans*-caftárico, ácido *cis* y *trans*-cumárico, 2-S glutationilcaftárico y ácido fertárico) han sido identificados de acuerdo a los tiempos de retención publicados por Bétes-Saura y col., 1996 y su cuantificación es realizada mediante la curva de calibrado del estándar del ácido libre. Los derivados no identificados del cafeico, cumárico y rutino han sido cuantificados por el compuesto libre correspondiente.

La linealidad de las curvas de los estándares ha sido también estudiada (Tabla 3.1) y es expresada en términos de coeficiente de correlación (r^2), el cual es obtenido a partir de los gráficos del área de los picos versus la concentración de cada uno de los estándares, siendo en todos los casos el $r^2 > 0,9990$ excepto para rutino el cual ha sido de 0,9960.

Tabla 3.1. Tiempo de retención, curva de calibrado y coeficiente de correlación de los compuestos estándares

Compuesto	Tr (min)	λ (nm)	Curva de calibrado y =	r^2
Ácido gálico	3,053 ± 0,004	280,4	0,0077x-0,1554	0,9996
5-Hidroxi metil furfural	6,679 ± 0,005	280,4	0,0022x-0,0945	1,0000
Ácido protocateico	7,313 ± 0,127	280,4	0,0095x+0,0084	1,0000
Furfural	7,976 ± 0,017	280,4	0,0017x-0,0489	0,9998
Protocaldehído	10,527 ± 0,431	280,4	0,0043x+0,0010	1,0000
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	11,489 ± 0,038	280,4	0,0110x+0,0029	1,0000
Tirosol	13,543 ± 0,184	280,4	0,0249x-0,0023	1,0000
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído	15,418 ± 0,007	280,4	0,0023x-0,0086	1,0000
(+) Catequina	15,593 ± 0,233	280,4	0,0216x+0,1300	0,9997
5-Metil furfural	16,370 ± 0,031	280,4	0,0027x-0,1668	0,9990
Ácido vainílico	16,240 ± 0,355	280,4	0,0030x-0,0134	0,9995
Ácido siríngico	19,280 ± 0,123	280,4	0,0053x-0,0068	1,0000
Aldehído <i>p</i> -vainílico	19,966 ± 0,330	280,4	0,0317x+0,0744	0,9994
(-) Epicatequina	20,728 ± 0,197	280,4	0,0221x+0,1816	0,9995
Ácido benzoico	26,196 ± 0,314	280,4	0,0396x-0,0125	0,9999
Aldehído <i>o</i> -vainílico	27,426 ± 0,372	280,4	0,0020x+0,0105	0,9993
Ácido <i>trans</i> -cinámico	38,367 ± 0,064	280,4	0,0095x+0,0084	1,0000
Ácido ferúlico	22,248 ± 0,164	313,4	0,0027x-0,0183	1,0000
Siringaldehído	23,350 ± 0,036	313,4	0,0055x-0,0008	0,9990
Ácido gentísico	10,616 ± 0,015	320,4	0,0200x+0,0105	0,9993
Ácido clorogénico	16,935 ± 0,010	320,4	0,0093x+0,0354	1,0000
Ácido <i>trans</i> -cafeico	17,210 ± 0,149	320,4	0,0048x+0,0384	1,0000
Ácido <i>p</i> -cúmarico	25,934 ± 0,156	320,4	0,0047x-0,0114	0,9999
Ácido sinápico	27,150 ± 0,008	320,4	0,0069x+0,0429	0,9999
Escofetino	25,251 ± 0,032	355,4	0,0055x-0,0100	0,9999
Coniferaldehído	29,307 ± 0,041	355,4	0,0030x-0,0134	0,9995
Rutino	30,280 ± 0,147	355,4	0,0139x+0,0193	0,9960
Sinapaldehído	30,854 ± 0,289	355,4	0,0036x-0,0383	1,0000
Quercitina	38,050 ± 0,022	365,4	0,0103x+0,3871	0,9979

λ , longitud de onda; y =, concentración en mg/L; x, área del pico.

3.1.2 Glucosa, fructosa y ácido acético

En la Tabla 3.2 se muestran los tiempos de retención (Tr) necesarios para la correcta identificación de la glucosa, fructosa y el ácido acético, su cuantificación ha sido realizada por medio de curvas de calibrado externas (área del pico versus concentración en mg/L).

Tabla 3.2. Tiempo de retención y curvas de calibrados para glucosa, fructosa y ácido acético

Compuesto	Tr (min)	Curva de calibrado y =	r ²
Glucosa	8,828 ± 0,006	3,7E ⁻⁶ x - 0,1028	1,0000
Fructosa	9,657 ± 0,010	3,7E ⁻⁶ x - 0,0809	1,0000
Ácido acético	14,733 ± 0,033	9,9E ⁻⁴ x - 0,6571	0,9994

y =, concentración en mg/L; x, área.

3.2 Conservación del vinagre

3.2.1 Evolución de los parámetros físico-químicos

En las tablas 3.3, 3.4, 3.5 y 3.6 se presentan los resultados obtenidos de los parámetros físico-químicos de los vinagres de manzana, *chardonnay*, *cabernet sauvignon* y moscatel, respectivamente.

Tabla 3.3. Parámetros físico-químicos del vinagre de manzana para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento

	Tiempo (días)	Acidez total (g/L)	Acidez fija (g/L)	pH	Extracto seco (g/L)	Cenizas (g/L)	Cloruros (g/L)	Sulfatos (g/L)	Densidad (g/L)
15 °C	0	53,1±0,2	0,82±0,09	2,77±0,13	13,7±0,1	2,61±0,13	0,031±0,003	0,57±0,01	1,012±0,001
	15	53,0	0,80	2,90	19,4	2,80	0,029	0,59	1,011
	30	53,0±0,0	0,80±0,00	2,97±0,01	12,2±0,0	2,89±0,10	0,028±0,001	0,70±0,01	1,012±0,001
	90	53,0±0,0	0,80±0,09	3,00±0,01	12,8±0,0	2,52±0,08	0,028±0,000	0,66±0,01	1,011±0,000
	180	54,0±1,0	0,80±0,09	2,74±0,01	14,2±0,1	2,97±0,16	0,030±0,001	0,74±0,10	1,010±0,000
	360	53,0±0,0	1,00±0,04	2,72±0,02	15,8±0,0	2,17±0,02	0,028±0,001	0,76±0,01	1,011±0,000
24 °C	0	53,0±0,0	0,82±0,09	2,77±0,13	13,7±0,1	2,61±0,13	0,031±0,003	0,57±0,01	1,012±0,001
	15	53,0	0,70	2,92	13,6	2,75	0,029	0,70	1,011
	30	53,0±0,0	0,80±0,00	2,93±0,01	12,9±0,0	2,75±0,20	0,030±0,001	0,68±0,01	1,011±0,000
	90	54,0±0,0	0,90±0,04	2,93±0,02	12,8±0,0	2,59±0,01	0,029±0,001	0,67±0,05	1,010±0,000
	180	54,0±0,0	0,90±0,04	2,73±0,01	14,5±0,0	3,13±0,02	0,028±0,001	0,85±0,00	1,010±0,000
	360	53,0±0,0	1,10±0,04	2,69±0,01	15,9±0,0	2,39±0,05	0,029±0,003	0,79±0,01	1,011±0,000
33 °C	0	53,1±0,2	0,82±0,09	2,77±0,13	13,7±0,1	2,61±0,13	0,031±0,003	0,57±0,01	1,012±0,001
	15	53,0	0,70	2,93	16,6	2,37	0,029	0,65	1,012
	30	54,0±0,0	0,80±0,00	2,91±0,04	16,1±0,9	2,67±0,17	0,029±0,000	0,77±0,00	1,011±0,001
	90	53,0±0,0	0,90±0,04	2,92±0,01	12,8±0,0	2,65±0,08	0,029±0,001	0,76±0,04	1,010±0,000
	180	54,0±0,0	0,90±0,09	2,75±0,02	14,7±0,2	3,15±0,06	0,029±0,000	0,79±0,02	1,010±0,000
	360	53,0±0,0	1,00±0,04	2,70±0,01	15,5±0,2	2,32±0,05	0,027±0,003	0,77±0,04	1,011±0,000
24-O	0	53,1±0,2	0,82±0,09	2,77±0,13	13,7±0,1	2,61±0,13	0,031±0,003	0,57±0,01	1,012±0,001
	15	53,0	0,80	2,90	13,3	2,45	0,030	0,66	1,012
	30	53,0±0,0	0,90±0,04	2,92±0,01	12,7±0,1	2,83±0,14	0,029±0,001	0,73±0,01	1,012±0,001
	90	53,0±0,0	0,90±0,04	2,98±0,01	12,9±0,0	2,59±0,01	0,029±0,000	0,78±0,00	1,010±0,000
	180	54,0±0,0	0,90±0,04	2,73±0,01	14,4±0,0	2,83±0,34	0,029±0,000	0,84±0,01	1,010±0,000
	360	53,0±0,0	1,10±0,04	2,69±0,00	14,9±1,1	2,32±0,03	0,029±0,000	0,79±0,02	1,011±0,000
24-L	0	53,1±0,2	0,82±0,09	2,77±0,13	13,7±0,1	2,61±0,13	0,031±0,003	0,57±0,01	1,012±0,001
	15	53,0	0,60	2,93	13,78	2,48	0,030	0,63	1,012
	30	54,0±0,0	0,80±0,00	2,93±0,01	12,5±0,2	2,92±0,14	0,029±0,000	0,67±0,02	1,011±0,000
	90	54,0±0,0	0,90±0,04	2,99±0,01	12,5±0,1	2,62±0,05	0,029±0,000	0,81±0,02	1,012±0,000
	180	54,0±0,0	0,90±0,00	2,74±0,02	14,5±0,3	2,83±0,14	0,027±0,003	0,75±0,08	1,010±0,000
	360	53,0±0,0	1,10±0,04	2,70±0,01	16,0±0,1	2,34±0,11	0,029±0,001	0,81±0,02	1,011±0,001

Tabla 3.3. Parámetros físico-químicos del vinagre de manzana para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento (continuación)

	Tiempo (días)	SO ₂ libre (mg/L)	SO ₂ total (mg/L)	IPT (mg GAE/L)	IPT (A280)	A420	Intesidad colorante	Tonalidad
15 °C	0	8,0±0,0	81,7±8,4	6,2±0,4	7,51±0,08	0,110±0,005	0,134±0,010	5,317±0,580
	15	5,0	69,0	5,4	7,33	0,124	0,153	5,167
	30	8,0±4,0	60,0±4,0	5,9±0,0	7,54±0,25	0,129±0,008	0,161±0,011	4,770±0,212
	90	5,0±1,0	63,0±14,0	5,5±0,1	7,41±0,24	0,141±0,008	0,174±0,015	5,452±0,590
	180	5,0±4,0	45,0±19,0	6,1±0,6	7,58±0,43	0,161±0,027	0,205±0,039	4,541±0,502
	360	1,1±1,1	18,0±6,0	5,4±0,2	7,70±0,13	0,219±0,016	0,293±0,031	3,682±0,423
24 °C	0	8,0±0,0	81,7±8,4	6,2±0,4	7,51±0,08	0,110±0,005	0,134±0,010	5,317±0,580
	15	5,0	61,0	5,0	7,47	0,133	0,170	4,586
	30	6,0±1,0	64,0±6,0	5,3±0,2	7,62±0,19	0,132±0,004	0,163±0,010	5,325±0,762
	90	3,0±1,0	43,0±1,0	5,1±0,2	7,67±0,25	0,172±0,011	0,224±0,017	4,167±0,236
	180	2,0±0,0	15,0±1,0	5,7±1,0	7,56±0,01	0,236±0,006	0,318±0,008	3,604±0,030
	360	2,0±0,0	7,0±0,0	5,3±0,2	8,57±0,05	0,296±0,019	0,398±0,033	3,687±0,249
33 °C	0	8,0±0,0	81,7±8,4	6,2±0,4	7,51±0,08	0,110±0,005	0,134±0,010	5,317±0,580
	15	6,0	60,0	5,4	8,22	0,149	0,200	3,386
	30	5,0±2,0	54,0±11,0	5,3±0,1	8,65±0,10	0,164±0,004	0,209±0,008	4,683±0,277
	90	9,0±1,0	55,0±9,0	6,1±0,4	10,16±0,23	0,218±0,012	0,293±0,020	3,964±0,189
	180	14,0±1,0	43,0±6,0	6,2±0,1	10,99±0,13	0,271±0,006	0,366±0,013	3,761±0,133
	360	5,0±6,0	9,0±1,0	6,2±0,9	12,68±1,90	0,484±0,198	0,683±0,300	3,367±0,414
24-O	0	8,0±0,0	81,7±8,4	6,2±0,4	7,51±0,08	0,110±0,005	0,134±0,010	5,317±0,580
	15	5,0	63,0	5,4	7,37	0,128	0,158	5,120
	30	3,0±0,0	47,0±6,0	4,9±0,1	7,37±0,01	0,139±0,005	0,175±0,010	4,790±0,297
	90	2,0±0,0	28,0±1,0	5,1±0,2	7,40±0,06	0,177±0,010	0,223±0,016	4,388±0,292
	180	2,0±0,0	15,0±0,0	5,1±0,0	7,68±0,02	0,235±0,014	0,318±0,026	3,493±0,193
	360	1,0±0,0	6,0±0,0	4,9±0,1	8,14±0,03	0,390±0,008	0,567±0,010	2,833±0,013
24-L	0	8,0±0,0	81,7±8,4	6,2±0,4	7,51±0,08	0,110±0,005	0,134±0,010	5,317±0,580
	15	6,0	69,0	5,1	7,49	0,117	0,147	4,875
	30	7,0±1,0	61,0±6,0	5,4±0,4	7,57±0,25	0,119±0,011	0,148±0,016	5,198±0,498
	90	2,0±0,0	27,0±5,0	4,8±0,1	7,40±0,01	0,177±0,002	0,237±0,003	3,716±0,011
	180	5,0±4,0	39,0±40,0			0,206±0,075	0,275±0,115	3,957±0,960
	360	2,0±0,0	8,0±1,0	4,6±0,3	8,18±0,07	0,458±0,104	0,653±0,148	3,045±0,039

Tabla 3.4. Parámetros físico-químicos del vinagre de *chardonnay* para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento

	Tiempo (días)	Acidez total (g/L)	Acidez fija (g/L)	pH	Extracto seco (g/L)	Cenizas (g/L)	Cloruros (g/L)	Sulfatos (g/L)	Densidad (g/L)
15 °C	0	63,0±0,0	1,6±0,0	2,68±0,02	1,2±0,0	2,04±0,08	0,083±0,001	0,79±0,01	1,012±0,001
	15	64,0	1,6	2,67	1,4	2,19	0,076	0,87	1,013
	30	63,0±0,0	1,5±0,0	2,76±0,02	1,1±0,0	2,21±0,15	0,082±0,000	0,80±0,02	1,012±0,001
	90	63,0±0,0	1,7±0,0	2,81±0,00	1,0±0,0	2,03±0,05	0,084±0,000	0,80±0,05	1,012±0,000
	180	64,0±0,0	1,9±0,0	2,76±0,02	1,2±0,0	2,03±0,05	0,084±0,002	0,82±0,00	1,012±0,001
	360	64,0±0,0	1,8±0,0	2,49±0,01	1,2±0,1	1,98±0,02	0,082±0,000	0,79±0,02	1,011±0,001
24 °C	0	63,0±0,0	1,6±0,0	2,68±0,02	1,2±0,0	2,04±0,08	0,083±0,001	0,79±0,01	1,012±0,001
	15	64,0	1,4	2,74	1,4	1,85	0,084	0,86	1,012
	30	63,0±1,0	1,5±0,0	2,75±0,03	1,1±0,0	2,24±0,04	0,084±0,002	0,81±0,01	1,012±0,001
	90	64,0±0,0	1,6±0,0	2,81±0,01	1,1±0,0	2,28±0,01	0,084	0,79±0,00	1,012±0,001
	180	63,0±0,0	1,8±0,0	2,70±0,01	1,2±0,0	1,89±0,12	0,082±0,000	0,84±0,01	1,010±0,000
	360	63,0±0,0	1,8±0,0	2,51±0,01	1,2±0,0	1,97±0,09	0,082±0,000	0,78±0,00	1,011±0,000
33 °C	0	63,0±0,0	1,6±0,0	2,68±0,02	1,2±0,0	2,04±0,08	0,083±0,001	0,79±0,01	1,012±0,001
	15	64,0	1,6	2,68	1,7	2,02	0,083	0,82	1,012
	30	62,0±0,0	1,5±0,0	2,76±0,04	1,1±0,0	2,22±0,22	0,083±0,001	0,82±0,01	1,012±0,001
	90	64,0±0,0	1,7±0,0	2,77±0,00	1,1±0,0	2,22±0,07	0,085±0,000	0,80±0,02	1,012±0,000
	180	63,0±0,0	1,8±0,0	2,70±0,00	1,2±0,0	1,88±0,05	0,083±0,001	0,84±0,02	1,010±0,000
	360	63,0±0,0	1,8±0,0	2,50±0,00	1,2±0,0	1,99±0,07	0,083±0,000	0,82±0,01	1,011±0,000
24-O	0	63,0±0,0	1,6±0,0	2,68±0,02	1,2±0,0	2,04±0,08	0,083±0,001	0,79±0,01	1,012±0,001
	15	64,0	1,4	2,74	1,2	1,75	0,085	0,86	1,012
	30	65,0±0,2	1,6±0,0	2,75±0,01	1,1±0,1	2,27±0,23	0,082±0,000	0,80±0,03	1,012±0,001
	90	64,0±0,0	1,7±0,0	2,81±0,01	1,1±0,0	1,94±0,02	0,086±0,001	0,83±0,01	1,011±0,000
	180	64,0±0,0	1,8±0,0	2,71±0,01	1,2±0,0	1,92±0,02	0,085±0,003	0,83±0,04	1,010±0,000
	360	64,0±0,0	1,8±0,0	2,48±0,00	1,3±0,0	2,04±0,02	0,083±0,000	0,81±0,02	1,010±0,000
24-L	0	63,0±0,0	1,6±0,0	2,68±0,02	1,2±0,0	2,04±0,08	0,083±0,001	0,79±0,01	1,012±0,001
	15	63,0	1,5	2,73	1,2	1,97	0,086	0,82	1,012
	30	64,0±0,0	1,6±0,0	2,76±0,01	1,0±0,0	2,35±0,13	0,085±0,005	0,79±0,01	1,012±0,001
	90	64,0±0,0	1,6±0,0	2,82±0,01	1,0±0,1	2,03±0,01	0,084±0,001	0,85±0,00	1,012±0,001
	180	64,0±0,0	1,9±0,0	2,72±0,01	1,2±0,0	1,90±0,01	0,084±0,005	0,80±0,00	1,011±0,000
	360	64,0±0,0	1,8±0,0	2,50±0,00	1,2±0,0	1,97±0,02	0,083±0,002	0,82±0,01	1,011±0,001

Tabla 3.4. Parámetros físico-químicos del vinagre de *chardonnay* para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento (continuación)

	Tiempo (días)	SO ₂ libre (mg/L)	SO ₂ total (mg/L)	IPT (mg GAE/L)	IPT (A280)	A420	Intensidad colorante	Tonalidad
15 °C	0	3,0±0,0	54,0±1,0	4,6±0,2	4,5±0,0	0,148±0,004	0,186±0,009	4,526±0,302
	15	4,0	54,0	4,7	4,5	0,157	0,206	4,026
	30	6,0±1,0	50,0±6,0	4,9±0,0	4,4±0,0	0,157±0,002	0,204±0,004	4,065±0,020
	90	5,0±0,0	50,0±5,0	4,5±0,1	4,5±0,0	0,157±0,004	0,202±0,008	4,252±0,392
	180	5,0±1,0	47,0±7,0	4,9±0,0	4,5±0,0	0,165±0,001	0,214±0,001	4,115±0,128
	360	3,0±0,0	34,0±1,0	4,8±0,1	4,7±0,0	0,175±0,008	0,237±0,021	3,706±0,318
24 °C	0	3,0±0,0	54,0±1,0	4,6±0,2	4,5±0,0	0,148±0,004	0,186±0,009	4,526±0,302
	15	4,0	45,0	4,6	4,5	0,175	0,238	3,723
	30	4,0±1,0	44,0±13,0	4,6±0,0	4,5±0,0	0,155±0,001	0,202±0,004	4,081±0,115
	90	5,0±0,0	44,0±11,0	4,8±0,2	4,6±0,0	0,199±0,005	0,288±0,013	3,106±0,129
	180	6,0±1,0	45,0±9,0	4,9±0,0	4,6±0,0	0,174±0,018	0,233±0,040	4,064±0,758
	360	3,0±0,0	33,0±2,0	4,9±0,0	5,4±0,7	0,175±0,001	0,223±0,001	4,474±0,018
33 °C	0	3,0±0,0	54,0±1,0	4,6±0,2	4,5±0,0	0,148±0,004	0,186±0,009	4,526±0,302
	15	4,0	42,0	4,5	4,6	0,177	0,236	3,848
	30	4,0±1,0	44,0±11,0	4,6±0,1	4,7±0,0	0,171±0,008	0,229±0,017	3,760±0,238
	90	7,0±2,0	39,0±5,0	9,0±0,1	4,9±0,0	0,196±0,001	0,269±0,003	3,556±0,079
	180	5,0±2,0	32,0±10,0	4,7±0,1	4,9±0,2	0,233±0,024	0,315±0,038	3,574±0,212
	360	3,0±0,0	18,0±4,0	4,8±0,0	5,6±0,2	0,274±0,001	0,375±0,001	3,484±0,040
24-O	0	3,0±0,0	54,0±1,0	4,6±0,2	4,5±0,0	0,148±0,004	0,186±0,009	4,526±0,302
	15	3,0	41,0	5,0	4,5	0,171	0,227	3,886
	30	3,0±0,0	43,0±1,0	4,5±0,0	4,5±0,0	0,165±0,004	0,218±0,009	3,923±0,180
	90	3,0±1,0	35,0±11,0	4,4±0,1	4,5±0,0	0,179±0,013	0,232±0,018	4,073±0,103
	180	3,0±1,0	30,0±3,0	4,6±0,1	4,6±0,0	0,190±0,004	0,254±0,012	3,820±0,347
	360	3,0±1,0	30,0±3,0	4,6±0,0	4,8±0,0	0,239±0,007	0,328±0,022	3,558±0,305
24-L	0	3,0±0,0	54,0±1,0	4,6±0,2	4,5±0,0	0,148±0,004	0,186±0,009	4,526±0,302
	15	3,0	43,0	4,9	4,6	0,152	0,198	4,108
	30	4,0±2,0	45,0±0,0	4,5±0,0	4,5±0,0	0,151±0,003	0,198±0,006	3,975±0,074
	90	4,0±0,0	43,0±6,0	4,4±0,1	4,5±0,0	0,158±0,000	0,208±0,001	3,902±0,068
	180	6,0±1,0	48,0±8,0			0,154±0,011	0,205±0,026	4,081±0,681
	360	2,0±0,0	27,0±6,0	4,7±0,0	4,7±0,0	0,196±0,012	0,267±0,025	3,707±0,268

Tabla 3.5. Parámetros físico-químicos del vinagre de *cabernet sauvignon* para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento

Tiempo (días)	Acidez total (g/L)	Acidez fija (g/L)	pH	Extracto seco (g/L)	Cenizas (g/L)	Cloruros (g/L)	Sulfatos (g/L)	Densidad (g/L)
15 °C	0	63,0±0,0	2,80±0,01	1,3±0,0	2,27±0,18	0,078±0,001	0,81±0,01	1,012±0,001
	15	62,0	2,81	1,2	2,39	0,083	0,79	1,011
	30	62,0±0,0	1,60,0	2,84±0,01	1,3±0,0	2,23±0,02	0,080±0,003	0,81±0,01
	90	62,0±0,0	1,5±0,0	2,82±0,01	1,4±0,0	2,41±0,00	0,080±0,001	0,79±0,02
	180	62,0±0,0	1,7±0,0	2,72±0,05	1,4±0,0	2,27±0,03	0,082±0,002	0,82±0,02
360	61,0±0,0	1,6±0,0	2,68±0,01	1,5±0,0	2,40±0,06	0,080±0,000	0,83±0,01	1,001±0,000
24 °C	0	63,0±0,0	2,80±0,01	1,3±0,0	2,27±0,18	0,078±0,001	0,81±0,01	1,012±0,001
	15	62,0	2,84	1,3	2,59	0,077	0,81	1,012
	30	62,0±0,0	1,6±0,0	2,83±0,00	1,4	2,23±0,07	0,082±0,000	0,79±0,00
	90	62,0±0,0	1,7±0,0	2,83±0,01	1,4±0,0	2,41±0,01	0,079±0,002	0,80±0,02
	180	62,0±0,0	1,7±0,0	2,71±0,02	1,5±0,0	2,29±0,02	0,079±0,002	0,86±0,04
360	61,0±0,0	1,7±0,0	2,66±0,01	1,7±0,1	2,24±0,01	0,076±0,000	0,83±0,00	1,012±0,001
33 °C	0	63,0±0,0	2,80±0,01	1,3±0,0	2,27±0,18	0,078±0,001	0,81±0,01	1,012±0,001
	15	62,0	2,84	1,3	2,45	0,077	0,79	1,010
	30	62,0±0,0	1,6±0,0	2,83±0,00	1,4±0,0	2,17±0,08	0,079±0,002	0,81±0,03
	90	62,0±0,0	1,7±0,0	2,83±0,01	1,4±0,0	2,43±0,01	0,080±0,000	0,81±0,00
	180	62,0±0,0	1,7±0,0	2,67±0,01	1,5±0,0	2,21±0,01	0,080±0,003	0,83±0,02
360	61,0±0,0	1,7±0,0	2,66±0,01	1,7±0,1	2,29±0,06	0,079±0,001	0,85±0,00	1,012±0,001
24-O	0	63,0±0,0	2,80±0,01	1,3±0,0	2,270±0,18	0,078±0,001	0,81±0,01	1,012±0,001
	15	62,0	2,84	1,3	2,33	0,076	0,81	1,012
	30	62,0±0,0	1,6±0,0	2,84±0,00	1,4±0,0	2,32±0,08	0,081±0,003	0,81±0,00
	90	62,0±0,0	1,7±0,0	2,83±0,01	1,4±0,0	2,44±0,01	0,081±0,000	0,78±0,02
	180	62,0±0,0	1,7±0,0	2,69±0,00	1,5±0,0	2,30±0,08	0,081±0,000	0,83±0,02
360	61,0±0,0	1,7±0,0	2,71±0,01	1,7±0,1	2,16±0,11	0,082±0,000	0,83±0,01	1,011±0,000
24-L	0	63,0±0,0	2,80±0,01	1,3±0,0	2,27±0,18	0,078±0,001	0,81±0,01	1,012±0,001
	15	62,0	2,83	1,3	2,33	0,077	0,82	1,012
	30	62,0±0,0	1,6±0,0	2,84±0,00	1,3±0,0	2,49±0,10	0,082±0,000	0,82±0,01
	90	62,0±0,0	1,6±0,0	2,83±0,01	1,4±0,0	2,44±0,03	0,079±0,003	0,78±0,02
	180	62,0±0,0	1,6±0,0	2,71	1,5±0,0	2,27±0,04	0,081±0,000	0,83±0,01
360	61,0±0,0	1,6±0,0	2,66±0,03	1,7±0,0	2,36±0,01	0,077±0,001	0,84±0,01	1,012±0,001

Tabla 3.5. Parámetros físico-químicos del vinagre de *cabernet sauvignon* para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento (continuación)

	Tiempo (días)	SO ₂ libre (mg/L)	SO ₂ total (mg/L)	IPT (mg GAE/L)	IPT (A280)	A420	Intensidad colorante	Tonalidad
15 °C	0	9,0±5,0	31,0±4,0	11,4±1,1	19,68±0,36	0,868±0,006	1,916±0,011	0,979±0,005
	15	12,0	31,0	10,9	19,85	0,86	1,884	0,987
	30	12,0±1,0	32,0±1,0	14,4±0,3	19,65	0,87±0,004	1,902±0,010	1,008±0,000
	90	13,0±1,0	38,0±7,0	15,4±0,3	20,04±0,25	0,86±0,003	1,886±0,007	1,022±0,000
	180	10,0±0,0	37,0±2,0	15,5±0,5	19,98±0,18			
	360	11,0±1,0	39,0±9,0	14,6±0,0	20,18±0,14	0,866±0,001	1,892±0,005	1,091±0,000
24 °C	0	9,0±5,0	31,0±4,0	11,4±1,1	19,68±0,36	0,868±0,006	1,916±0,011	0,979±0,005
	15	12,0	37,0	9,0	20,00	0,867	1,893	0,998
	30	13,0±0,0	37,0±3,0	12,0±0,4	19,95±0,31	0,871±0,001	1,888±0,002	1,010±0,002
	90	13,0±0,0	36,0±2,0	15,5±0,0	19,91±0,12	0,907±0,006	1,930±0,017	1,049±0,000
	180	11,0±0,0	33,0±1,0	14,9±0,1	20,33±0,04	0,947±0,008	1,970±0,019	1,097±0,001
	360	4,0±1,0	18,0±8,0	15,0±0,2	20,85±0,07	1,054±0,026	2,109±0,047	1,189±0,011
33 °C	0	9,0±5,0	31,0±4,0	11,4±1,1	19,68±0,36	0,868±0,006	1,916±0,011	0,979±0,005
	15	12,0	31,0	9,9	20,50	0,941	1,988	1,060
	30	12,0±0,0	25,0±1,0	10,8±0,6	21,30±0,12	0,984±0,006	2,001±0,009	1,141±0,006
	90	12,0±2,0	23,0±5,0	14,6±0,2	21,48±0,15	1,063±0,013	2,102±0,026	1,218±0,002
	180	6,0±0,0	17,0±1,0	14,6±0,1	22,58±0,25	1,158±0,004	2,215±0,006	1,316±0,003
	360	5,0±1,0	9,0±1,0	14,3±0,4	24,38±0,04	1,507±0,194	2,794±0,396	1,477±0,024
24-O	0	9,0±5,0	31,0±4,0	11,4±1,1	19,68±0,36	0,868±0,006	1,916±0,011	0,979±0,005
	15	10,0	39,0	9,2	20,00±	0,882	1,920	1,006
	30	7,0±1,0	30,0±3,0	10,7±0,4	20,08±0,12	0,894±0,009	1,916±0,018	1,029±0,004
	90	9,0±2,0	30,0±2,0	15,1±1,0	19,85±0,10	0,942±0,003	1,990±0,006	1,070±0,001
	180	5,0±0,0	23,0±0,0	14,6±0,1	20,50±0,00	1,000±0,004	2,055±0,006	1,130±0,007
	360	3,0±0,0	9,0±7,0	13,9±0,0	21,00±0,07	1,136±0,022	2,261±0,042	1,221±0,007
24-L	0	9,0±5,0	31,0±4,0	11,4±1,1	19,68±0,36	0,868±0,006	1,916±0,011	0,979±0,005
	15	11,0	32,0	9,1	19,80	0,866	1,891	0,998
	30	11,0±1,0	33,0±2,0	11,7±0,5	20,03±0,18	0,876	1,896±0,002	1,012±0,001
	90	12,0±1,0	36,0±4,0	15,1±0,2	20,08±0,19	0,897±0,004	1,917±0,006	1,039±0,006
	180	11,0±1,0	32,0±1,0	14,7±0,1	21,18±0,53	0,935±0,012	1,946±0,026	1,092±0,001
	360	10,0±0,0	26,0±3,0	14,5±0,4	20,88±0,04	1,035±0,006	2,088±0,012	1,173±0,003

Tabla 3.6. Parámetros físico-químicos del vinagre de moscatel para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento

	Tiempo (días)	Acidez total (g/L)	Acidez fija (g/L)	pH	Extracto seco (g/L)	Cenizas (g/L)	Cloruros (g/L)	Sulfatos (g/L)	Densidad (g/L)
15 °C	0	62,0±0,0	4,3±0,1	2,99±0,01	26,8±0,2	5,24±0,18	0,131±0,002	0,85±0,01	1,105±0,001
	15	62,0	4,8	3,00	26,3	4,6	0,128	0,91	1,105
	30	61,0±0,0	4,6±0,0	3,01±0,01	26,0±0,1	5,17±0,10	0,127±0,002	0,88±0,03	1,105±0,001
	90	62,0±0,0	4,8±0,0	3,12±0,00	25,1±0,3	5,05±0,23	0,129±0,002	0,86±0,01	1,104±0,001
	180	61,0±0,0	4,7±0,0	3,04±0,01	26,9±0,1	5,44±0,13	0,129±0,005	0,84±0,00	1,104±0,000
	360	61,0±0,0	4,6±0,0	2,87±0,02	26,4±0,1	5,53±0,07	0,129±0,002	0,82±0,00	1,105±0,000
24 °C	0	62,0±0,0	4,3±0,1	2,99±0,01	26,8±0,2	5,24±0,18	0,131±0,002	0,85±0,01	1,105±0,001
	15	62,0	4,2	2,98	26,1	4,77	0,126	0,94	1,105
	30	61,0±0,0	4,5±0,0	3,03±0,01	26,4±0,1	5,02±0,12	0,126±0,002	0,86±0,01	1,105±0,000
	90	62,0±0,0	5,0±0,0	3,12±0,01	25,7±0,2	4,96±0,01	0,129±0,000	0,84±0,02	1,104±0,000
	180	62,0±0,0	4,7±0,0	3,02±0,01	26,9±0,1	5,07±0,42	0,128±0,001	0,87±0,01	1,104±0,000
	360	61,0	4,5	2,84	26,5	5,33	0,126	0,83	1,104
33 °C	0	62,0±0,0	4,3±0,1	2,99±0,01	26,8±0,2	5,24±0,18	0,131±0,002	0,85±0,01	1,105±0,001
	15	62,0	4,8	3,02	25,7	4,78	0,129	0,87	1,105
	30	60,0±0,0	4,7±0,0	3,02±0,01	26,1±0,2	5,29±0,03	0,126±0,001	0,85±0,01	1,104±0,001
	90	62,0±0,0	4,9±0,0	3,11±0,00	25,8±0,1	4,89±0,00	0,129±0,000	0,85±0,02	1,103±0,000
	180	62,0±0,0	4,8±0,1	3,02±0,01	26,7±0,2	5,01±0,01	0,129±0,000	0,84±0,01	1,104±0,000
	360	61,0±0,0	4,6±0,0	2,84±0,01	26,2±0,4	5,29±0,20	0,130±0,005	0,84±0,02	1,103±0,000
24-O	0	62,0±0,0	4,3±0,1	2,99±0,01	26,8±0,2	5,24±0,18	0,131±0,002	0,85±0,01	1,105±0,001
	15	62,0	4,3	2,99	26,0	4,80	0,127	0,89	1,105
	30	61,0±0,0	4,7	3,03±0,01	26,4±0,0	5,11±0,15	0,127±0,001	0,85±0,01	1,105±0,001
	90	62,0±0,0	4,9±0,1	3,11±0,00	25,6±0,3	4,84±0,04	0,129±0,001	0,88±0,02	1,104±0,000
	180	61,0±0,0	4,8±0,0	3,03±0,01	26,7±0,1	5,01±0,34	0,130±0,001	0,85±0,00	1,104±0,000
	360	61,0±0,0	4,6±0,0	2,84±0,01	26,4±0,1	5,63±0,19	0,127±0,001	0,85±0,01	1,104±0,000
24-L	0	62,0±0,0	4,3±0,1	2,99±0,01	26,8±0,2	5,24±0,18	0,131±0,002	0,85±0,01	1,105±0,001
	15	61,0	4,3	2,97	26,1	5,03	0,128	0,90	1,105
	30	61,0±0,0	4,6±0,0	3,03±0,01	26,3±0,2	5,19±0,17	0,126±0,001	0,87±0,01	1,105±0,000
	90	62,0±0,0	4,9±0,0	3,13±0,01	23,5±0,4	5,24±0,53	0,130±0,000	0,87±0,01	1,104±0,000
	180	61,0±0,0	4,8±0,0	3,04±0,00	26,9±0,1	4,97±0,00	0,129±0,002	0,85±0,00	1,104±0,000
	360	61,0±0,0	4,6±0,0	2,85±0,01	26,4±0,2	5,08±0,00	0,128±0,000	0,83±0,01	1,105±0,001

Tabla 3.6. Parámetros físico-químicos del vinagre de moscatel para las diferentes condiciones de conservación y tiempo de almacenamiento (continuación)

Tiempo (días)	SO ₂ libre (mg/L)	SO ₂ total (mg/L)	IPT (mg GAE/L)	IPT (A280)	A420	Intensidad colorante	Tonalidad
15 °C	0	4,0±0,0	52,0±1,0	12,7±0,7	4,4±0,1	0,110±0,005	0,680±0,009
	15	4,0	55,0	12,4	4,5	0,124	0,767
	30	9,0±0,0	51,0±3,0	10,8±0,2	4,5±0,1	0,129±0,008	0,786±0,002
	90	8,0±1,0	45,0±7,0	11,7±0,2	4,6±0,0	0,141±0,008	0,941±0,027
	180	9,0±1,0	46,0±12,0	12,6±0,4	4,7±0,1	0,161±0,027	1,092±0,011
360	5,0±0,0	27,0±1,0	12,7±0,3	5,0±0,1	0,219±0,016	3,702±0,091	1,333±0,030
24 °C	0	4,0±0,0	52,0±1,0	12,7±0,7	4,4±0,1	0,110±0,005	0,680±0,009
	15	7,0	57,0	11,8	4,6	0,133	0,853
	30	8,0±4,0	47,0±6,0	10,9±0,5	4,5±0,0	0,132±0,004	0,820±0,001
	90	7,0±1,0	43,0±15,0	10,7±1,0	4,8±0,0	0,172±0,011	1,249±0,045
	180	9,0±2,0	32,0±8,0	13,0±0,2	5,0±0,0	0,236±0,006	1,365±0,148
360	7,0	32,0	14,3±0,0	6,0	0,296±0,019	3,855±0,104	1,731±0,034
33 °C	0	4,0±0,0	52,0±1,0	12,7±0,7	4,4±0,1	0,110±0,005	0,680±0,009
	15	7,0	52,0	13,6	4,8	0,149	1,076
	30	12,0±2,0	49,0±5,0	12,3±0,2	5,2	0,164±0,004	1,125±0,007
	90	12,0±1,0	44,0±3,0	14,5±0,2	6,6±0,1	0,218±0,012	1,789±0,043
	180	13,0±0,0	28,0±1,0	14,2±0,2	9,5±0,1	0,271±0,006	2,573±0,030
360	7,0±0,0	22,0±1,0	16,0±0,3	14,9±0,0	0,484±0,198	3,248±0,258	3,711±0,160
24-O	0	4,0±0,0	52,0±1,0	12,7±0,7	4,4±0,1	0,110±0,005	0,680±0,009
	15	4,0	42,0	12,1	4,6	0,128	0,911
	30	3,0±0,0	38,0±7,0	9,6±0,0	4,5±0,0	0,139±0,005	0,923±0,004
	90	4,0±1,0	31,0±4,0	10,3±0,2	4,7±0,0	0,177±0,010	1,149±0,014
	180	5,0±1,0	24,0±1,0	12,5±0,1	4,9±0,0	0,235±0,014	1,533±0,013
360	4,0±0,0	16,0±1,0	13,8±0,2	5,8±0,2	0,390±0,008	2,853±0,069	2,334±0,067
24-L	0	4,0±0,0	52,0±1,0	12,7±0,7	4,4±0,1	0,110±0,005	0,680±0,009
	15	6,0	54,0	12,4	4,6	0,117	0,819
	30	9,0±4,0	52,0±4,0	9,8±0,1	4,6±0,0	0,119±0,011	0,814±0,035
	90	12,0±0,0	48,0±1,0	10,4±0,6	4,7±0,0	0,177±0,002	0,999±0,021
	180	9,0±1,0	33,0±11,0	33,0±11,0	5,9±0,0	0,206±0,075	1,310±0,112
360	6,0±1,0	24,0±1,0	13,5±0,1	5,9±0,0	0,458±0,104	1,666±0,052	

Para todos los vinagres y condiciones de conservación, la tendencia general ha sido que los parámetros analíticos estudiados como acidez total, acidez fija, extracto seco, cenizas, sulfatos, cloruros, densidad y pH, no han presentado diferencias estadísticamente significativas, tanto desde un punto de vista de evolución con el tiempo, así como de las condiciones de conservación. No obstante para algún tipo de vinagre, y/o condiciones de conservación, algunos de estos parámetros han presentado variaciones que se describen a continuación.

Los sulfatos se han mantenido estables para todos los vinagres y condiciones, excepto para el vinagre de manzana que ha presentado un aumento medio en todas las condiciones de conservación del 40 % al cabo de un año, no siendo las diferencias entre las condiciones de conservación significativas. Este incremento para el vinagre de manzana puede ser debido a la oxidación del SO₂ a sulfato (Llaguno y Polo, 1991; Guzmán-Chozas, 1998; Flanzky, 2000).

En los vinagres de moscatel y *chardonnay* el extracto seco se ha mantenido estable, en cambio para los vinagres de manzana y *cabernet sauvignon*, se ha experimentado un incremento del 13,9 y 25,6 %, respectivamente al cabo de un año, el cual es independiente de las condiciones de conservación.

La acidez fija ha aumentado un 12,5, 21,4 y 25,0 % para los vinagres de *chardonnay*, *cabernet sauvignon* y manzana respectivamente, no mostrando diferencias debido a las condiciones de conservación. Para el vinagre de moscatel la variación de la acidez fija no ha sido significativa.

El anhídrido sulfuroso (SO₂) es comúnmente usado como un preservante y antiséptico en vino y vinagre. La inactividad enzimática se logra mediante la formación de puentes disulfuro con él. El anhídrido

sulfuroso total se ha reducido sustancialmente para todos los vinagres conservados en presencia de oxígeno y a temperatura elevada al cabo de un año, en un rango 10-40 % del valor inicial, mientras que para las muestras conservadas cerradas y a temperaturas inferiores, la reducción ha sido menor, manteniéndose los valores entre un 50-90 % del valor inicial, excepto para el vinagre de manzana donde la reducción ha sido más notable (20-30 % del valor inicial), lo que coincide con lo reportado por Casale y col., 2006, quienes observan que este compuesto disminuye y virtualmente desaparece en vinagres almacenados en presencia de oxígeno por veinte meses. La desaparición del SO₂ en el vinagre por presencia de oxígeno provoca la actividad peroxidasa, para actuar sobre los compuestos tánicos dando lugar a la precipitación de sustancias insolubles que modifican el color, aroma y sabor del vinagre (Casale y col., 2006).

Los niveles de anhídrido sulfuroso libre se ha mantenido constante para los vinagres de *chardonnay* y moscatel durante todas las condiciones de almacenamiento, mientras que para el vinagre de manzana al cabo de un año el valor se ha reducido a un 30 % del inicial y para el vinagre de *cabernet sauvignon* se ha reducido a un 50 %, excepto para los casos de conservación a temperaturas bajas y sin luz, en donde el nivel se ha mantenido estable.

Los polifenoles totales han mostrado un comportamiento diferente en función del tipo de vinagre respecto a la temperatura. Los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon* no presentan variaciones significativas con la temperatura, mientras que los vinagres de manzana y moscatel se han visto afectados, en especial el vinagre de moscatel.

El comportamiento de los polifenoles totales de los cuatro vinagres con el tiempo presenta algunas diferencias en función del método de análisis. La determinación mediante la absorbancia a 280 nm

muestra un aumento progresivo con el tiempo, especialmente para las condiciones de conservación a 33 °C, siendo este aumento al cabo de un año de 340, 70, 24 y 23 % para los vinagres de moscatel, manzana, *chardonnay* y *cabernet sauvignon*, respectivamente. En cambio con el método de Folin este aumento progresivo con el tiempo no es tan claro, excepto para el vinagre de moscatel.

El pardeamiento de todos los vinagres aumenta con el tiempo, el grado de aumento de este parámetro depende del sistema de conservación en el que se han mantenido. Igualmente esta variación depende del tipo de vinagre, pudiéndose atribuir esta diferencia en el pardeamiento a las diferentes composiciones de los mismos.

El mayor pardeamiento es para el vinagre de moscatel, seguido del de manzana, *chardonnay* y *cabernet sauvignon*. A temperaturas más bajas (15 y 24 °C) la evolución del pardeamiento de los vinagres de manzana y moscatel y de *chardonnay* y *cabernet sauvignon* es similar para ambas parejas, siendo notablemente superior para los vinagres de manzana y moscatel (2 y 2,5 veces superior a 15 y 24 °C, respectivamente), mientras que para los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon* este aumento es inferior al 20 % al cabo de un año.

Este efecto de la temperatura sobre el pardeamiento de los vinagres se puede relacionar con el pardeamiento no enzimático básicamente debido a la reacción de Maillard que ocurre ente los azúcares reductores y aminoácidos. Según Toribio y Lozano, 1984 la reacción de Maillard era la mayor causa del pardeamiento en zumos de manzana. Burdurlu y Karadeniz, 2003 en sus estudios con zumos de manzanas encontraron que la reactividad de las aldosas (glucosa) es mayor que la de las cetosas (fructosa). En los vinagres de moscatel y manzana la presencia de azúcares reductores es importante (187 y 5,1 g/L), frente a los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon* (1,7 y

2,2 g/L), aspecto que justifica la mayor tendencia al pardeamiento de estos vinagres.

Liu y col., 2003, observaron un pardeamiento mínimo en soluciones sólo con fructosa o glucosa, mientras que la presencia de catequinas potenciaba el pardeamiento que provocan los azúcares reductores, siendo mayor para el caso de la fructosa. El mecanismo es debido a la oxidación y condensación de taninos y las interacciones de los taninos y el hidroximetilfurfural producido a partir de la fructosa, más que de la reacción de Maillard, degradación del ácido ascórbico o la caramelización. Por ello en los vinagres de manzana, donde la presencia inicial de flavanoles, (+) catequina y (-) epicatequina, es mayor (orden de 25 mg/L, ver Tabla 3.7), el pardeamiento producido es más elevado. Mientras que para el vinagre de moscatel la presencia de azúcares reductores es notablemente superior a los otros vinagres, el pardeamiento ha de estar dominado por la reacción de Maillard.

En las condiciones de conservación con las botellas abiertas, el pardeamiento ha sido superior respecto a las botellas cerradas y mismas condiciones de temperatura y luminosidad. Los vinagres más afectados han sido el de *chardonnay* y manzana, seguidos del de moscatel y en menor intensidad el de *cabernet sauvignon*. El efecto de la luz prácticamente no ha sido importante excepto para el vinagre de manzana (55 % aumento), y en menor importancia para el de *chardonnay* (12 %).

Las mejores condiciones de conservación se han producido cuando se han mantenido las botellas a 15 °C, siendo el incremento de pardeamiento muy bajo para los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon* (18 y 9 %) y un incremento del 90 y 100 % para los vinagres de moscatel y manzana, respectivamente.

El incremento del pardeamiento durante un año y para las diferentes condiciones de conservación presenta un cierta correlación con la pérdida de SO₂ total, esta tendencia ha sido observada por Godden, 1999 y Godden y col., 2001, para vinos de *semillon*, en un estudio de conservación de vinos con diferentes cierres, determinado que a mayores niveles de SO₂ disminuyen las velocidades de pardeamiento por oxidación.

La intensidad colorante aumenta durante el tiempo de almacenamiento, para todas las condiciones y vinagres excepto para el vinagre de *cabernet sauvignon*, en el que la variación ha sido significativa solo al cabo de un año de almacenamiento. El aumento en este parámetro nos indica la evolución de estos vinagres hacia tonalidades doradas e incluso marronaceas. La temperatura de 33 °C es la que mas afecta a este parámetro.

En el caso de la tonalidad, se produce una situación similar, ya que sin excepción todos los vinagres bajo todas las condiciones de almacenamiento manifiestan variaciones estadísticamente significativas. Para el vinagre de *cabernet sauvignon* este parámetro aumenta, en especial cuando ha sido almacenado a 33 °C, lo que indica una evolución de la tonalidad hacia colores mas anaranjados, en cambio en los otros vinagres la tonalidad disminuye, indicando una evolución hacia colores amarillo pardo, que tienen una relación directa con la oxidación del producto (Zamora, 2004).

3.2.2 Composición fenólica y furánica de los vinagres

En las Tablas 3.7-3.10, se presentan los compuestos fenólicos y furánicos cuantificados inicialmente para los vinagres sometidos a este estudio, así como sus valores al cabo de un año para las diferentes condiciones de conservación.

Tabla 3.7. Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de manzana al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación

Compuesto	Inicial	15 °C	24 °C	33 °C	24-L	24-O
Ácidos hidroxicinámicos						
	18,2	14,2	14,3	15,6	9,9	14,1
Ácido <i>trans</i> -cafeico	0,9±0,0	2,2±0,0	1,9±0,1	0,8±0,0	1,4±0,0	2,0±0,0
Ácido clorogénico	15,3±0,6	10,2±0,0	10,5±0,1	13,1±0,0	7,0±0,0	10,1±0,1
Ácido <i>trans</i> -cumárico	1,1±0,1	1,0±0,0	1,1±0,0	1,1±0,0	0,9±0,0	1,2±0,0
Derivado cafeico (n.i.)	1,0±0,1	0,8±0,0	0,8±0,0	0,6±0,0	0,6±0,0	0,8±0,0
Derivado cumárico (n.i.)	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Tirosol	5,9±0,1	5,7±0,0	5,9±0,1	6,7±0,1	5,5±0,0	6,9±0,3
Ácidos y aldehídos hidroxibenzoicos						
	22,8	19,8	23,4	24,1	14,1	17,5
Ácido gálico	9,4±0,8	8,4±0,2	13,3±0,3	13,5±0,4	6,1±0,1	6,3±0,1
Ácido protocateico	1,0±0,1	1,2±0,0	1,3±0,0	1,2±0,0	1,5±0,0	1,6±0,3
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	1,6±0,1	1,5±0,0	1,7±0,0	2,3±0,0	1,1±0,0	1,8±0,0
Protocatecaldehído	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0	0,7±0,0
Siringaldehído	5,4±0,3	4,8±0,1	4,4±0,1	3,9±0,1	3,4±0,0	4,7±0,0
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído	0,1±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0
Ácido benzoico	5,0±0,4	3,3±0,0	2,0±0,0	2,6±0,1	1,3±0,0	2,2±0,1
Flavanoles						
	24,7	25,0	24,1	28,3	5,9	21,8
(+) Catequina	20,6±0,9	21,4±0,0	20,1±0,0	24,3±1,5	2,7±0,0	16,8±1,5
(-) Epicatequina	4,1±0,0	3,6±0,0	4,0±0,0	4,0±0,0	3,2±0,0	5,0±0,1
Flavonoles						
	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2
Rutino	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Quercitina	0,3±0,0	0,3±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0
Derivado rutino (n.i.)	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Furanos						
	0,6	1,4	2,5	4,2	2,1	2,0
5-Hidroximetilfurfural	0,2±0,0	0,4±0,0	1,0±0,0	3,0±0,1	1,6±0,0	1,5±0,1
Furfural	0,4±0,1	0,9±0,0	1,5±0,0	0,8±0,0	0,5±0,0	0,4±0,0
5-Metil furfural	tr	0,10,0	nd	0,4±0,1	nd	0,1±0,0

(n.i.) compuesto no identificado; tr, trazas; nd, compuesto no detectado

Tabla 3.8. Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de chardonnay al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación

Compuesto	Inicial	15 °C	24 °C	33 °C	24-L	24-O
Ácidos hidroxicinámicos	7,7	6,40	9,60	5,30	6,80	9,60
Ácido <i>cis</i> -caftárico	nd	nd	0,1±0,0	nd	nd	0,1±0,0
Ácido <i>trans</i> -caftárico	1,9±0,1	1,4±0,0	2,3±0,1	1,1±0,0	1,6±0,0	2,2±0,0
2-Sglutacionilcaftárico	0,2±0,0	nd	nd	0,2±0,0	0,2±0,0	nd
Ácido <i>cis</i> -cutárico	0,7±0,1	0,4±0,0	0,8±0,0	0,2±0,0	0,3±0,1	0,8±0,0
Ácido <i>trans</i> -cutárico	1,6±0,1	1,4±0,1	2,3±0,0	1,1±0,0	2,0±0,1	2,3±0,0
Ácido <i>cis</i> -cafeico	0,5±0,0	0,4±0,0	0,3±0,0	0,2±0,0	0,4±0,0	0,6±0,0
Ácido <i>trans</i> -cafeico	1,0±0,0	0,8±0,0	1,4±0,0	0,9±0,0	1,0±0,0	1,3±0,0
Ácido <i>trans</i> -cumárico	1,2±0,1	1,4±0,0	1,4±0,0	1,1±0,0	0,9±0,0	1,2±0,0
Ácido fertárico	0,1±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0
Ácido ferúlico	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Derivado cafeico (n.i.)	0,3±0,0	0,3±0,0	0,4±0,0	0,2±0,0	0,3±0,0	0,4±0,0
Derivado cumárico (n.i.)	0,2±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0
Tirosol	8,8±0,6	7,7±0,6	10,7±0,4	7,9±0,1	9,1±1,4	10,7±0,1
Ácidos y aldehídos hidroxibenzoicos	17,6	15,4	18,0	16,0	19,8	21,1
Ácido gálico	14,8±0,1	13,6±0,2	15,2±0,0	13,1±0,0	17,7±1,8	18,1±1,2
Ácido protocateico	1,9±0,0	0,8±0,0	1,5±0,0	1,9±0,0	1,1±0,2	1,5±0,0
Ácido vainílico	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0
Ácido siríngico	0,1±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0
Ácido gentísico	0,7±0,0	0,6±0,0	0,9±0,0	0,6±0,0	0,6±0,0	1,1±0,0
Ácido <i>trans</i> -cinámico	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Flavanoles	5,5	3,5	6,2	3,7	4,9	6,1
(+) Catequina	5,5±0,0	3,5±0,0	6,2±0,0	3,7±0,0	4,9±0,7	6,1±0,0
(-) Epicatequina	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Flavonoles	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Rutino	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Quercitina	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Derivado rutino (n.i.)	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Furanos	1,7	1,8	3,3	7,6	2,9	3,3
5-Hidroximetilfurfural	1,2±0,0	1,2±0,0	2,7±0,1	3,4±0,0	1,9±0,4	2,7±0,0
Furfural	0,5±0,0	0,6±0,0	0,4±0,0	4,1±0,0	0,9±0,0	0,4±0,0
5-Metil furfural	nd	tr	0,2±0,1	0,2±0,0	0,1±0,1	0,2±0,0

(n.i.) compuesto no identificado; tr, trazas; nd, compuesto no detectado

Tabla 3.9. Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de *cabernet sauvignon* al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación

Compuesto	Inicial	15 °C	24 °C	33 °C	24-L	24-O
Ácidos						
hidroxicinámicos	22,7	21,9	21,2	17,1	18,6	20,9
Ácido <i>cis</i> -caftárico	0,7±0,2	0,4±0,0	0,5±0,0	0,9±0,0	0,4±0,0	0,4±0,0
Ácido <i>trans</i> -caftárico	6,5±0,3	6,3±0,0	5,7±0,0	3,6±0,0	5,1±0,0	5,6±0,0
Ácido <i>cis</i> -cutárico	1,3±0,1	1,2±0,0	1,1±0,0	0,5±0,0	0,9±0,0	1,1±0,0
Ácido <i>trans</i> -cutárico	4,5±0,3	4,4±0,0	4,1±0,0	2,9±0,0	3,8±0,0	4,1±0,0
Ácido <i>cis</i> -cafeico	0,6±0,0	0,6±0,1	0,5±0,0	0,6±0,0	0,4±0,1	0,5±0,0
Ácido <i>trans</i> -cafeico	3,2±0,2	3,3±0,0	3,4±0,0	3,1±0,0	3,0±0,0	3,3±0,0
Ácido <i>trans</i> -cumárico	2,4±0,1	2,7±0,0	2,9±0,0	3,4±0,0	2,5±0,0	2,9±0,0
Ácido fertárico	0,7±0,0	0,7±0,0	0,7±0,0	0,7±0,0	0,6±0,0	0,7±0,0
Ácido ferúlico	0,9±0,1	0,9±0,0	0,9±0,0	0,9±0,0	0,8±0,0	0,9±0,0
Ácido <i>trans</i> -cinámico	1,3±0,2	0,5±0,0	0,4±0,0	0,5±0,0	0,4±0,0	0,5±0,0
Derivado cafeico (n.i.)	0,4±0,0	0,4±0,0	0,4±0,0	0,1±0,0	0,3±0,0	0,4±0,0
Derivado cumárico (n.i.)	0,5±0,1	0,5±0,0	0,5±0,0	0,1±0,0	0,4±0,0	0,5±0,0
Tirosol	11,5±0,5	9,9±0,0	9,9±0,8	11,5±0,0	11,5±0,0	11,3±0,1
Ácidos y aldehídos						
hidrobenzoicos	56,2	61,6	62,8	54,1	61,1	61,0
Ácido gálico	35,4±2,3	39,2±0,2	39,8±0,0	34,8±0,0	40,9±0,0	39,3±0,1
Ácido protocateico	4,8±0,4	3,4±0,0	3,5±0,0	4,5±0,0	3,1±0,0	3,4±0,0
Ácido vainílico	0,8±0,1	0,9±0,0	0,9±0,0	1,1±0,0	0,8±0,0	0,8±0,0
Ácido siríngico	3,0±0,2	4,1±0,0	4,1±0,0	4,4±0,0	3,7±0,0	4,0±0,0
Siringaldehído	1,1±0,3	1,5±0,1	1,5±0,0	1,4±0,0	1,3±0,0	1,4±0,0
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído	0,5±0,0	0,6±0,1	0,9±0,0	0,5±0,0	0,7±0,0	1,0±0,0
Aldehído <i>p</i> -vainílico	10,1±0,7	11,0±0,1	10,9±0,1	7,0±0,0	9,7±0,0	10,0±0,1
Ácido gentísico	0,6±0,0	1,0±0,0	1,1±0,0	0,4±0,0	0,9±0,0	1,1±0,0
Flavanoles	6,0	6,5	6,9	4,6	5,9	6,1
(+) Catequina	3,0±0,2	3,3±0,3	3,4±0,0	2,1±0,0	3,0±0,0	3,1±0,0
(-) Epicatequina	3,1±0,7	3,2±0,4	3,5±0,1	2,5±0,0	2,9±0,0	3,0±0,0
Flavonoles	3,2	2,4	2,1	1,2	2,0	1,9
Rutino	2,6±0,2	2,3±0,0	2,0±0,5	1,2±0,0	1,9±0,0	1,8±0,5
Quercitina	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	tr	0,1±0,0	0,1±0,0
Derivado rutino (n.i.)	0,5±0,0	nd	nd	nd	nd	nd
Furanos	1,7	2,6	4,1	12,4	3,5	3,7
5-Hidroximetilfurfural	1,2±0,1	1,5±0,0	2,2±0,0	6,1±0,0	2,0±0,0	2,2±0,0
Furfural	0,5±0,0	1,1±0,0	1,9±0,0	5,2±0,0	1,5±0,0	1,5±0,0
5-Metil furfural	nd	tr	tr	1,1±0,0	tr	tr

(n.i.) compuesto no identificado; tr, trazas; nd, compuesto no detectado

Tabla 3.10. Compuestos fenólicos (mg/L) presentes en el vinagre de moscatel al inicio y después de 360 días para todas las condiciones de conservación

Compuesto	Inicial	15 °C	24 °C	33 °C	24-L	24-O
Ácidos hidroxicinámicos	23,6	22,4	21,6	26,9	22,9	20,8
Ácido <i>cis</i> -caftárico	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ácido <i>trans</i> -caftárico	5,4±0,1	5,6±0,1	4,5±0,1	4,4±0,1	5,5±0,0	5,2±0,1
Ácido <i>cis</i> -cutárico	3,9±0,1	3,2±0,1	3,0±0,1	2,0±0,2	2,8±0,0	2,5±0,0
Ácido <i>trans</i> -cutárico	8,8±0,2	8,5±0,2	8,3±0,1	10,6±0,1	9,0±0,1	7,7±0,1
Ácido <i>cis</i> -cafeico	1,6±0,0	1,6±0,1	1,7±0,1	1,5±0,0	1,6±0,0	1,6±0,0
Ácido <i>trans</i> -cafeico	2,7±0,0	2,1±0,0	2,4±0,1	4,8±0,1	2,4±0,1	2,2±0,0
Ácido <i>trans</i> -cumárico	1,2±0,1	1,4±0,1	1,7±0,1	3,6±0,9	1,6±0,2	1,6±0,0
Ácido fertárico	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Ácido ferúlico	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Derivado cafeico (n.i.)	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Derivado cumárico (n.i.)	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Tirosol	4,5±0,3	6,9±0,2	7,1±0,2	7,4±0,1	7,6±0,5	7,1±0,3
Ácidos y aldehídos hidroxibenzoicos	35,5	29,8	31,5	37,3	33,1	35,7
Ácido gálico	24,3±0,2	17,1±0,1	18,4±0,1	22,6±0,0	18,9±0,0	22,4±0,3
Ácido protocateico	8,4±0,2	9,2±0,1	9,2±0,4	10,4±0,1	10,1±0,5	9,8±0,8
Siringaldehído	0,3±0,0	0,4±0,0	0,2±0,1	0,3±0,0	0,2±0,1	0,2±0,1
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído	2,6±0,1	3,1±0,0	3,7±0,0	4,0±0,0	3,9±0,0	3,3±0,7
Flavanoles	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(+) Catequina	nd	nd	nd	nd	nd	nd
(-) Epicatequina	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Flavonoles	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Rutino	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Quercitina	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Derivado rutino (n.i.)	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Furanos	13,2	27,7	64,3	111,5	64,3	64,4
5-Hidroximetilfurfural	9,6±0,4	22,4±0,4	57,5±0,5	106,0±1,3	57,4±0,2	57,7±0,2
Furfural	1,0±0,1	1,9±0,0	3,7±0,1	2,7±0,1	3,8±0,0	3,7±0,1
5-Metil furfural	2,7±0,1	3,4±0,2	3,1±0,0	2,8±0,2	3,1±0,0	3,0±0,1

(n.i.) compuesto no identificado; tr, trazas; nd, compuesto no detectado

En los tres vinagres de vino estudiados, el compuesto fenólico que se encuentra en mayor cantidad es el ácido gálico, con concentraciones de $35,4 \pm 2,3$; $24,3 \pm 0,2$; $14,8 \pm 0,1$ mg/L para vinagres de *cabernet sauvignon*, moscatel y *chardonnay*, respectivamente. En cambio para vinagre de manzana el compuesto identificado en mayor cantidad corresponde a la (+) catequina, en una concentración de $20,6 \pm 0,9$ mg/L. Otros autores (Alonso y col., 2004) han encontrado que las mayores concentraciones de compuestos fenólicos en vinagres de Jerez corresponden a ácido gálico y tirosol, pero en nuestro caso, solo para vinagres de *cabernet sauvignon* y *chardonnay*, el tirosol es el segundo compuesto más abundante, ya que en vinagres de moscatel y manzana se han encontrado mayores concentraciones de ácido *trans*-cutárico y ácido clorogénico, respectivamente.

En el vinagre de moscatel, solo se ha identificado el ácido protocateico del grupo de ácidos hidroxibenzoicos además del ácido gálico. En los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon*, además de los ácidos gálico y protocateico, se han identificado los ácidos vanílicico, siríngico y gentísico. El ácido *trans*-cinámico sólo se ha identificado en el vinagre de *cabernet sauvignon*. En el vinagre de manzana, aparte de los dos ácidos presentes en los otros vinagres, ácidos gálico y protocateico, se ha encontrado ácido benzoico y ácido *p*-hidroxibenzoico.

Entre los derivados de ácidos hidroxibenzoicos, el siringaldehído y el *p*-hidroxibenzaldehído, están presentes en los vinagres de *cabernet sauvignon*, moscatel y manzana. Además en vinagre de *cabernet sauvignon* se ha encontrado aldehído *p*-vainílicico, el que junto a los otros aldehídos aromáticos se relacionan al contacto con madera, ya que se trata de un compuesto fenólico producido por alcoholólisis de la

madera. (García-Parrilla, 1999; Ribéreau-Gayon, 2000; Ortega y col., 2003; Alonso, 2004, Ortega-Heras y col., 2004). Como los vinagres no han sido envejecidos en barrica, estos compuestos pueden haber estado presentes en la materia prima utilizada para la elaboración de dichos vinagres.

En cuanto a las formas simples de los ácidos hidroxicinámicos, en los vinagres de vino, el ácido cafeico sumando sus formas *cis* y *trans* es el mayoritario. En el vinagre de manzana el ácido mayoritario es el cumárico, encontrado sólo en forma *trans* con una concentración de $1,1 \pm 0,1$ mg/L. El ácido *trans*-cumárico se ha encontrado en los cuatro tipos de vinagres, mientras que el ácido ferúlico solo se ha encontrado en los vinagres de vino a nivel de trazas, excepto en el vinagre de *cabernet sauvignon* con una concentración de 0,9 mg/L.

Dentro de los derivados de ácidos hidroxicinámicos, los más abundantes son los ésteres del ácido cafeico, bajo la formas de ácido *trans*-caftárico, para los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon*, mientras que el ácido clorogénico lo es para el vinagre de manzana. De acuerdo a otros autores en diferentes variedades de manzanas, el ácido clorogénico ha sido encontrado en mayor concentración (Podsdek y col., 2000; Marlowski y Porchaski, 2006). Sin embargo, para el vinagre de moscatel, el ácido *trans*-cutárico ha sido el mayoritario.

El ácido fertárico se ha encontrado en los vinagres de vino con una concentración de 0,7 mg/L, 0,1 mg/L y trazas para los vinagres de *cabernet sauvignon*, *chardonnay* y moscatel, respectivamente. Además, y sólo en el vinagre de *chardonnay* se ha encontrado el ácido 2-S-glutationilcaftárico (2-SGC) en una baja concentración de 0,2 mg/L.

Los compuestos flavonoides identificados corresponden a (+) catequina, (-) epicatequina, quercitina, rutino y un derivado de rutino no identificado. Este último se ha considerado como tal por presentar un

espectro DAD de absorción similar al rutino. Sólo ha sido posible identificar todos los flavonoides anteriormente citados en el vinagre de *cabernet sauvignon*, mientras que en los vinagres de manzana encontramos ambos flavan 3-ol, además de rutino y quercitina. En el vinagre de *chardonnay* sólo se han hallado (+) catequina y trazas del derivado de rutino. En el vinagre de moscatel sólo se ha detectado trazas de rutino, quercitina y del derivado de rutino.

Según otros estudios los flavonoides mas importantes en manzanas son (-) epicatequina, (+) catequina (Podsdek y col., 2000; Marlowski y Plochanski, 2006). Es más, según Mosel y Herrmann, 1974 y Burda y col., 1990, la (-) epicatequina es el compuesto fenólico más abundante en manzanas, sin embargo en nuestro estudio para vinagre de manzana, la concentración de la (-) epicatequina ha resultado ser inferior a la de (+) catequina, incluso la concentración es menor que la del ácido clorogénico.

En los cuatro vinagres se ha encontrado 5 hidroximetil furfural (5-HMF). Las concentraciones encontradas de este compuesto están dentro del rango reportado por otros autores para los tipos de vinagres utilizados en este estudio (Theobald y col., 1998).

Otro compuesto furánico encontrado en todos los vinagres es el furfural. Además en vinagres de manzana y moscatel se ha encontrado 5 metil furfural (5-Met-F).

Otros autores (Kermasha y col., 1995) han reportado la presencia de compuestos furánicos tales como furfural y 5-HMF en zumos de manzanas concentrados y no concentrados. No obstante, Spanos y col., 1990 reportaron la presencia de 5-HMF sólo en zumo concentrado de manzana.

El 5-HMF no está presente en uva fresca y puede ser formado durante la producción de mosto concentrado, especialmente por el

resultado de estrés térmico durante el proceso de calentamiento al cual el mosto es sometido (Lee y Nagay, 1988; Burdulu y Karadeniz, 2003). También su presencia es indicativa de la edad del vinagre (Theobald y col., 1998) y de las condiciones de conservación, ya que según Muratore y col., 2006 en mosto concentrado de uvas la presencia de 5-HMF depende entre otras cosas del contenido de azúcar y la temperatura. Por lo tanto, la presencia de 5-HMF en los vinagres puede ser asociado al mosto concentrado que es empleado como ingrediente en el proceso de elaboración de vinagres dulces (Regulation CE 1493/1999, García-Parrilla y col., 1996).

3.2.3 Influencia de la temperatura de almacenamiento: 15 °C, 24 °C y 33 °C, sobre los compuestos fenólicos y furánicos presentes en vinagres

A los cuatro vinagres sometidos a diferentes condiciones de almacenamiento, luego de transcurridos 360 días se les ha determinado la concentración de compuestos fenólicos y furánicos, lo que se ha recopilado en las Tablas 3.7-3.10.

Para facilitar el análisis de la evolución de estos compuestos se han agrupado de acuerdo a la siguiente clasificación, ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados, ácidos hidroxicinámicos y sus derivados, flavonoides (flavanoles y flavonoles) y compuestos furánicos. El tirosol no ha sido incluido en esta clasificación.

El tirosol (alcohol fenol) se forma durante la fermentación alcohólica por las levaduras a partir de la tirosina (3,4-hidroxifenil alanina). La concentración inicial de tirosol depende de la variedad de uva empleada. Según Ribéreau-Gayon, 2000, la concentración de tirosol permanece relativamente constante durante envejecimiento de vinos en botella. No obstante Monagas y col., 2005 en un estudio realizado durante el envejecimiento de vinos de las variedades

tempranillo, graciano y *cabernet sauvignon* a 13 °C durante 26 meses, determinaron que la concentración de este compuesto presentó una disminución durante los 12 primeros meses, observándose un aumento de los doce a los veinte meses para volver a disminuir su concentración hasta los veintiseis meses de su estudio. Salinas y col., 2005 en un estudio para un vino rosado de la variedad monastrell también han observado en general una disminución de la concentración del tirosol a los tres y seis meses en botella. La tendencia observada para los vinagres conservados a 15 °C (temperatura similar a la de los vinos en el estudio de Monagas y col., 2005) es una disminución de la concentración de tirosol al cabo de un año, excepto para el vinagre de moscatel, en el que la concentración de tirosol ha aumentado. Tomando como referencia el valor de la concentración de tirosol a 15 °C, si se analiza el efecto de la temperatura se puede observar que en general (ver Tablas 3.7-10), hay una mayor concentración de tirosol a las condiciones de conservación de 33 °C, excepto para el vinagre de *chardonnay* donde se obtiene la mayor concentración a 24 °C en lugar de 33 °C.

Ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados

Los ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados en conjunto muestran una disminución al cabo de un año, si se compara el contenido inicial y el de los vinagres conservados a 15 °C, excepto para el vinagre de *cabernet sauvignon* en el que se produce un aumento. El mayor responsable de esta diferencia es el ácido gálico, ya que disminuye su concentración, lo que coincide con otros autores en estudios realizados en envejecimiento de vino tinto en botella (Monagas y col., 2006).

El efecto de la temperatura muestra una tendencia de aumento en la concentración total de los ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados, excepto para el vinagre de *cabernet sauvignon* que disminuye a 33 °C. Si se analiza la evolución de los diferentes compuestos identificados y cuantificados se puede observar que para el vinagre de *cabernet sauvignon* el contenido de los ácidos protocateico, vainílico y siríngico aumenta con la temperatura, en cambio los ácidos gálico y gentísico aumentan su concentración a las condiciones de conservación de 24 °C respecto a la de 15 °C, pero disminuyen en las condiciones de conservación de 33 °C. Entre los derivados de los ácidos hidroxicinámicos, se produce una importante disminución del aldehído *p*-vainílico en la conservación a 15 °C y 33 °C desde 11,0 a 7,0 mg/L.

En el vinagre de moscatel se observa un aumento de los ácidos hidroxibenzoicos encontrados, gálico y protocateico, con la temperatura de conservación. Los derivados de los ácidos hidroxibenzoicos encontrados no se comportan de la misma forma, el siringaldehído muestra una tendencia a disminuir con la temperatura, en cambio el *p*-hidroxibenzaldehído aumenta con la temperatura de conservación.

En el vinagre de *chardonnay*, donde la concentración total de ácidos hidroxibenzoicos y derivados es menor, el ácido gálico aumenta su concentración a 24 °C respecto la conservación a 15 °C, pero es, menor a 33 °C respecto a la de 15 °C. La concentración del ácido protocateico aumenta con la temperatura de conservación, en cambio los ácidos siríngico, vainílico y gentísico no varían con la temperatura, excepto el gentísico que presenta la mayor concentración a condiciones de conservación de 24 °C, pero no sigue esta tendencia a 33 °C.

Para el vinagre de manzana el ácido gálico aumenta su concentración para la temperatura de conservación a 24 °C, y se obtiene el mismo nivel para la de 33 °C. El ácido *p*-hidroxibenzoico

aumenta con la temperatura de conservación, mientras que el ácido protocateico no varía en función de la temperatura. Entre los derivados identificados el protocatecaldehído y el *p*-hidroxibenzaldehído no se ven afectados por la temperatura, mientras que el siringaldehído disminuye con el aumento de la temperatura de conservación.

Ácidos hidroxicinámicos y sus derivados

Los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados en conjunto muestran una disminución al cabo de un año, comparando el contenido inicial y el de los vinagres conservados a 15 °C. El mayor responsable de esta diferencia es el ácido clorogénico para el vinagre de manzana, ya que disminuye su concentración de 15,3 mg/L (inicial) a 10,2 mg/L (después un año a 15 °C). En este vinagre esta disminución está asociada con un aumento del ácido *trans*-cafeico que pasa de 0,9 a 2,2 mg/L. Para los otros vinagres la disminución no es tan importante, observándose una variabilidad en función del compuesto.

El efecto de la temperatura para el vinagre de manzana muestra que el nivel de ácido clorogénico es mayor para una temperatura de conservación del vinagre más elevada, sin llegar a mantener la concentración inicial. Se observa una disminución del ácido *trans*-cafeico con la temperatura de conservación, mientras que el ácido *trans*-cumárico no se ve afectado por la temperatura.

Los ácidos hidroxicinámicos y derivados para el vinagre de *chardonnay* muestran en general una tendencia a aumentar la concentración a 24 °C respecto la conservación a 15 °C, para volver a disminuir a valores inferiores del compuesto a 33 °C respecto la conservación a 15 °C.

Para el vinagre de moscatel los ácidos *cis*-cutárico y *trans*-caftárico muestran una tendencia a disminuir a temperaturas más altas de conservación, mientras que el comportamiento de los ácidos *trans*-cutárico, *trans*-cafeico y *trans*-cumárico es el contrario. El ácido *cis*-cafeico prácticamente no varía con la temperatura de conservación.

Finalmente, par el vinagre de *cabernet sauvignon* los ácidos *trans*-caftárico, *cis*-cutárico y *trans*-cutárico, así como los derivados no identificados de cafeico y cumárico disminuyen con el aumento de la temperatura de conservación. Los ácidos *cis*-cafeico, *trans*-cafeico, fertárico, ferúlico y *trans*-cinámico prácticamente no varían con la temperatura de conservación. El ácido *trans*-cumárico es el único que aumenta de forma significativa con la temperatura de conservación.

Flavonoides

Para los flavanoles identificados (+) catequina y (-) epicatequina, la evolución con el tiempo si comparáramos el valor inicial con el valor obtenido al cabo de un año en la condición más favorable de conservación (15 °C) solo se han observado unas disminuciones significativas para la (+) catequina en el vinagre de *chardonnay*, que ha pasado de 5,5 a 3,5 mg/L y la (-) epicatequina en el vinagre de manzana, que ha pasado de 4,1 a 3,6 mg/L.

El vinagre de manzana muestra una tendencia a mantener valores más altos de (+) catequina y (-) epicatequina, mientras que el vinagre de *cabernet sauvignon* tiene una tendencia a disminuir su concentración a temperaturas más elevadas. El vinagre de *chardonnay* presenta un valor muy superior de (+) catequina a la temperatura de 24 °C (6,9 mg/L), mientras que ha 33 °C la concentración es menor (3,7 mg/L) pero similar a la de 15 °C (3,5 mg/L). Como ya se ha comentado, la (-) epicatequina no se ha detectado en el vinagre de *chardonnay*.

Para el vinagre de moscatel no se ha detectado la presencia de estos compuestos. En general no se puede establecer una correlación de la concentración de (+) catequina y (-) epicatequina con la temperatura. Estudios de Gómez-Plaza y col., 1999 y 2000, en vinos tintos jóvenes de la variedad monastrell almacenados a temperaturas de entre 10-35 °C por doce meses, observaron que la (+) catequina no sufría cambios significativos con la temperatura, en cambio la (-) epicatequina mostraba una tendencia a disminuir a temperaturas más elevadas.

La tendencia de la quercitina si comparamos el valor inicial con el valor al cabo de un año a 15 °C, es a mantenerse estable, mientras que en el rutino y en el derivado de rutino no identificado es disminuir.

El efecto de la temperatura de conservación sobre los vinagres estudiados, se traduce en una disminución de los flavonoides, especialmente del rutino y el derivado de rutino en el vinagre de *cabernet sauvignon*. Para la quercitina la tendencia es similar.

Compuestos furánicos

Para todos los vinagres se ha observado un aumento de estos compuestos con el tiempo, especialmente del 5-hidroximetilfurfural para el vinagre de moscatel tomando como referencia la variación entre la concentración inicial de estos compuestos y el valor al cabo de un año en condiciones de conservación de 15 °C.

En el vinagre de *cabernet sauvignon* este tipo de compuestos experimentan un elevado aumento a las tres temperaturas de almacenamiento, siendo mayor este aumento a 33 °C.

El vinagre de moscatel sometido a las tres temperaturas de almacenamiento experimenta un importante aumento en la concentración de este tipo de compuestos, y al igual que en el caso del

vinagre de *cabernet sauvignon*, con la mayor temperatura este aumento es más evidente.

A la temperatura de 15 °C, los compuestos furánicos en el vinagre de *chardonnay*, prácticamente no sufren cambios, pese a que se han detectado trazas de 5-Met-F, que no estaba presente inicialmente. Este compuesto, también es detectado a las temperaturas de 24 y 33 °C, en concentraciones similares. A la temperatura de 33 °C, es donde se produce el mayor aumento de este tipo de compuestos, debido al marcado incremento en la concentración de 5-HMF.

Al igual que en el vinagre de *chardonnay*, en el vinagre de manzana ha sido posible identificar 5-Met-F después de 360 días en casi todas las condiciones de almacenamiento. A las tres temperaturas se origina un aumento en los compuestos furánicos y tal como ha sucedido en los otros vinagres, a 33 °C, es donde se produce el mayor incremento, coincidiendo con Burdurlu y Karadeniz, 2003 quienes durante el almacenamiento de zumo concentrado de manzana a 5, 20 y 37 °C, encontraron un importante incremento en 5-HMF excepto para la temperatura mas baja.

Para los cuatro vinagres, con el aumento de la temperatura se ha producido un mayor desarrollo de compuestos furánicos, siendo el 5-HMF el que más incrementa su concentración. Por otra parte, en los vinagres que se experimentan los mayores incrementos son el vinagre de moscatel, seguido del vinagre de *cabernet sauvignon*, *chardonnay* y manzana.

Hay que recordar que en el vinagre de moscatel, inicialmente ya se ha encontrado una concentración de 5-HMF superior a la encontrada en los otros vinagres, esto sumado a que se trata de un vinagre con una concentración de azúcar superior a los otros, favorece el desarrollo de este tipo de compuestos (Lee y Nagy, 1988b).

3.2.4 Influencia de la luz y el oxígeno sobre los compuestos fenólicos y furánicos presentes en vinagres

Los cuatro vinagres utilizados en este estudio han sido almacenados a la temperatura de 24 °C en botellas cerradas y en oscuridad (24-N), también han sido expuestas a la luz (24-L) y también al contacto con el oxígeno (24-O). Los datos de la evolución de los compuestos fenólicos bajo estas condiciones de almacenamiento se muestran en las Tablas 3.7-3.10.

La concentración de tirosol en los diferentes vinagres sometidos a estas tres condiciones de almacenamiento no han presentado variaciones debido al efecto de la conservación con luz y la presencia de oxígeno, excepto para el vinagre de manzana en el que se ha producido un incremento por la presencia de oxígeno.

Ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados

En el vinagre de manzana los ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico y benzoico, así como el siringaldehído disminuyen su concentración en presencia de luz, mientras que el protocaldehído y el *p*-hidroxibenzaldehído no se ven afectados, y el ácido protocateico aumenta ligeramente.

Para el vinagre de *chardonnay* el efecto de la luz sobre el ácido gálico implica un ligero aumento, mientras que los ácidos protocateico y gentísico disminuyen su concentración. Otros ácidos como el vanílico y el siríngico no se ven afectados por la luz.

El vinagre de *cabernet sauvignon*, más rico en ácidos hidroxibenzoicos, globalmente no se ve afectado por la presencia de luz, sólo algunos de estos compuestos presentan ligeras disminuciones que no se analizarán en detalle.

Finalmente, el vinagre de moscatel presenta un ligero aumento global como el vinagre de *chardonnay*, pero las variaciones debidas a la luz han sido mínimas, con ligeros aumentos o disminuciones en los diferentes compuestos.

El efecto de oxígeno en el vinagre de manzana ha representado una disminución de estos compuestos, especialmente del ácido gálico, el resto de compuestos identificados permanecen prácticamente estables y/o muestran pequeñas variaciones. Para el vinagre de *chardonnay* se produce un aumento de ácido gálico como factor más destacado, mientras el resto de compuestos no se ven afectados. El vinagre de *cabernet sauvignon* no se ha visto afectado por la presencia de oxígeno, y el vinagre de moscatel ha tenido un comportamiento similar al vinagre de *chardonnay*, con un aumento del ácido gálico.

Ácidos hidroxicinámicos y sus derivados

En cuanto a la evolución de este tipo de compuestos por la presencia de luz, los vinagres de manzana y de *chardonnay* han sufrido una disminución global de los mismos, mientras que los vinagres de *cabernet sauvignon* y moscatel no se han visto afectados de forma significativa. La presencia de oxígeno no ha afectado el contenido total de estos compuestos para todos los vinagres estudiados.

En los compuestos hidroxicinámicos con concentraciones bajas como los ácidos *cis*-caftárico, *cis*-cumárico, fertárico, ferúlico y *trans*-cinámico, y los derivados del cafeico y cumárico las variaciones han sido nulas o mínimas por la presencia de luz o oxígeno.

Otros compuestos como el ácido *trans*-caftárico ha disminuído su concentración debido a la presencia de luz en los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon*, en cambio no se han visto afectados

por el oxígeno en estos dos vinagres. En cambio para el vinagre de moscatel se ha observado un aumento del ácido *trans*-caftárico tanto por la luz como por el oxígeno.

El ácido *cis*-cutárico ha mostrado una tendencia a disminuir por la presencia de luz en los tres vinagres de vino. En cambio la presencia de oxígeno solo ha afectado al vinagre de moscatel, bajando su concentración, en cambio los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon* no han sido afectados por el oxígeno.

El ácido *trans*-cutárico para los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon* ha disminuido por la presencia de la luz, y no ha sido afectado por la presencia del oxígeno. Para el vinagre de moscatel ha aumentado por la presencia de luz, y disminuido por la presencia del oxígeno.

El ácido *cis*-cafeico en general se ha visto poco afectado por la presencia de luz y oxígeno en los vinagres de vino, excepto un aumento por la presencia de oxígeno en el vinagre de *chardonnay*. Para el ácido *trans*-cafeico la tendencia ha sido disminuir con la presencia de luz, excepto el vinagre de moscatel, que no varía. El efecto del oxígeno sobre el ácido *trans*-cafeico ha sido mínimo.

El ácido clorogénico, unicamente encontrado en el vinagre de manzana, ha disminuido por efecto de la luz, y ha sido poco afectado por el oxígeno.

Finalmente, el ácido *trans*-cumárico ha mostrado una tendencia a disminuir por la presencia de la luz, especialmente los vinagres de *chardonnay* y *cabernet sauvignon*, mientras que el oxígeno prácticamente no ha afectado este ácido.

Varios autores (Zafrilla y col., 2003; Monagas y col., 2005 y Benítez y col., 2006), han encontrado una disminución de los ésteres de

los ácidos hidroxicinámicos junto a un correspondiente aumento de las formas libres durante el almacenamiento de vinos. Además Benítez y col., 2006 indican que reacciones como la hidrólisis ácida de ésteres hacia sus respectivos ácidos y conversiones *cis/trans* son facilitadas mediante la radiación UV-Vis y una alta temperatura. En nuestro caso, la disminución de los ésteres no ha implicado necesariamente un incremento de las formas libres, nosotros creemos que este hecho puede ser explicado a través de la teoría de Schwarz y col., 2003, quien dice que los ácidos hidroxicinámicos pueden también reaccionar con antocianos, para producir pigmentos del tipo piroantocianos.

Flavonoides

El efecto de la luz y del oxígeno sobre la (+) catequina es una disminución de su concentración en ambos casos, siendo mayor el efecto de la presencia de luz. El vinagre más afectado ha sido el de manzana, seguido del *chardonnay* y el *cabernet sauvignon*. La tendencia a disminuir por efecto de la luz y del oxígeno en el caso de la (-) epicatequina es similar para el vinagre de *cabernet sauvignon*, mientras que para el vinagre de manzana también se ha producido una disminución por efecto de la luz, pero una aumento con la presencia de oxígeno.

El rutino en el vinagre de *cabernet sauvignon*, único flavonol cuantificado, no se ha visto afectado por la luz y el oxígeno.

Compuestos furánicos

Para los vinagres de *chardonnay*, *cabernet sauvignon* y moscatel no se ha observado en general un efecto de la luz (24-L) y del oxígeno

(24-O) en los los niveles de 5-HMF, furfural y 5-Met-F al cabo de un año respecto las muestras conservadas a 24 °C y oscuridad (24-N).

En el vinagre de manzana si se ha producido un aumento de la concentración de 5-HMF en los vinagres conservados en presencia de luz y de oxígeno (ver Tabla 3.7) y una disminución del furfural. Por otra parte, el 5-Met-F no ha sido detectado al cabo de un año conservado a 24 °C, al igual que al vinagre conservado en presencia de luz, encontrándose una concentración muy baja en el vinagre de manzana conservado en presencia de oxígeno.

3.3 Envejecimiento de vinagres sintéticos y de vino mediante el uso de virutas de madera

El envejecimiento del vinagre en barricas de madera es un procedimiento mediante el cual se producen una serie de transformaciones en el mismo, que en general representan una mejora. Esta evolución del vinagre incide en aspectos como el color y su contenido fenólico debido a la extracción de estos compuestos de la madera y el paso del tiempo, así como procesos por la oxidación debido a la transferencia de oxígeno desde el exterior de la barrica.

El empleo de virutas de madera es una técnica recientemente autorizada en Europa para el vino (Reglamento (CE) nº 1507/2006). Por ello es interesante estudiar el efecto que producen las mismas en el envejecimiento del vinagre. En aspectos como el color y composición fenólica.

3.3.1 Características cromáticas

Para estudiar la evolución del color en este trabajo se ha empleado el espacio CIELab, que se define por las tres coordenadas denominadas luminosidad o claridad (L^*), la saturación o croma (C^*) y el tono (h^*). En los vinagres sintéticos, la evolución de la luminosidad con el envejecimiento permanece constante durante los 12 primeros meses, decayendo a partir de ese tiempo, especialmente en el vinagre tratado con virutas de roble americano (Figura 3.1).

En los vinagres de vino estudiados, la coordenada L^* se comporta de forma similar a los vinagres sintéticos, permaneciendo constante en el periodo de tiempo estudiado (seis meses), aunque en magnitud es ligeramente menor debido al sustrato empleado para cada vinagre (Tabla 3.15). No se han observado diferencias en la luminosidad

entre los vinagres de vinos dulces y secos, lo que implica que la presencia de azúcar no afecta este parámetro en el periodo estudiado.

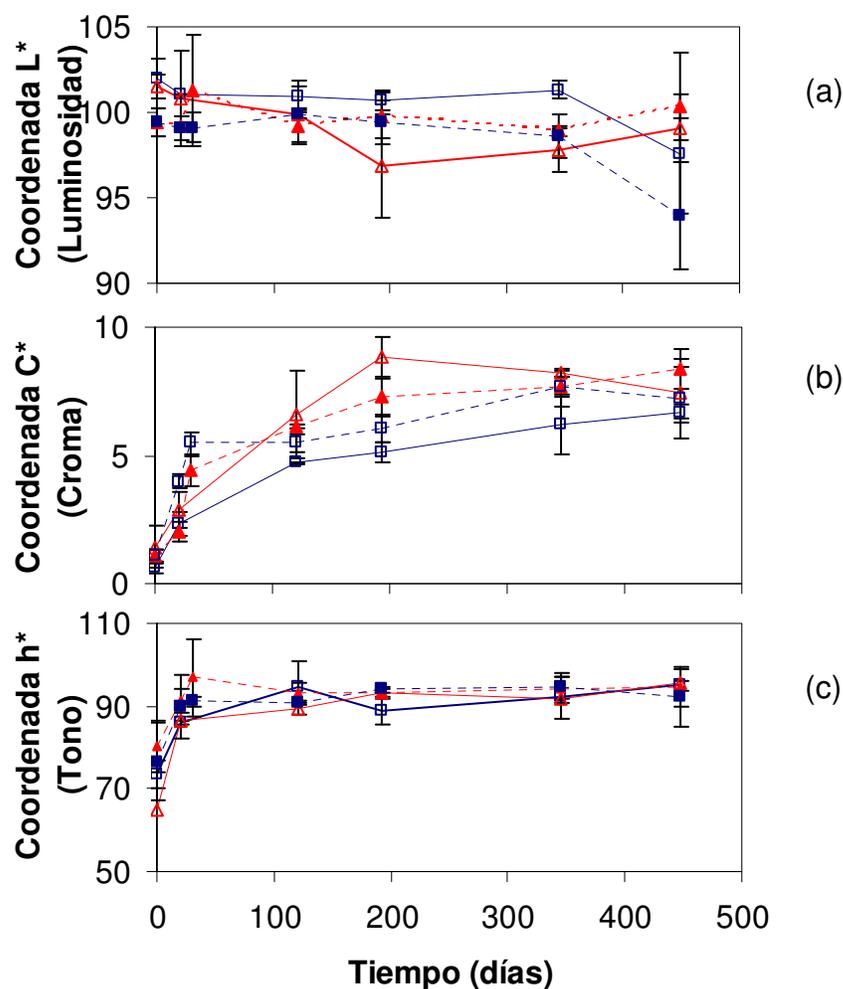


Figura 3.1. Evolución de las características cromáticas en vinagres sintéticos (a) Coordenada L* (Luminosidad), (b) Coordenada C* (Croma), (c) Coordenada h* (Tono). (-□- viruta de roble americano y vinagre con adición de azúcar; --■-- viruta de roble americano y vinagre sin adición de azúcar; -△- viruta de roble francés y vinagre con adición de azúcar; --▲-- viruta de roble francés y vinagre sin adición de azúcar)

El croma (C^*), en los vinagres sintéticos aumenta rápidamente los primeros cinco meses (Figura 3.1), permaneciendo prácticamente estable hasta los quince meses, siendo este aumento mayor para los vinagres envejecidos con roble francés. Los vinagres de vino obtenidos con cava (C3 y C4) y vino blanco (B1 y B2) han presentado un aumento del orden del 100 % a los seis meses (ver Tabla 3.11).

El tono (h^*), ha aumentado en el primer control para los vinagres sintéticos y se ha mantenido prácticamente constante (Figura 3.1). Para los vinagres de vino el tono ha permanecido constante e igual al valor inicial de los mismos (Tabla 3.11).

Tabla 3.11. Parámetros CiELab para vinagres de vino

Vinagre	Tiempo (días)	L* (luminosidad)	C* (croma)	h* (tono)
B1	0	95,800 ± 0,781	13,193 ± 0,252	92,243 ± 1,404
	27	95,900 ± 0,100	15,630 ± 0,257	93,587 ± 1,678
	192	93,567 ± 0,404	19,677 ± 0,081	91,523 ± 1,216
B2	0	96,267 ± 0,208	11,090 ± 0,139	92,910 ± 1,697
	27	96,033 ± 0,058	14,100 ± 0,125	94,057 ± 1,954
	192	93,700 ± 0,100	19,597 ± 0,236	93,063 ± 0,756
C3	0	96,900 ± 0,100	13,543 ± 0,167	92,850 ± 1,504
	27	94,350 ± 0,367	21,715 ± 0,928	93,767 ± 0,625
	192	92,383 ± 0,462	24,515 ± 0,637	92,078 ± 0,884
C4	0	96,667 ± 0,289	13,817 ± 0,319	93,073 ± 2,469
	27	95,717 ± 0,605	17,643 ± 1,277	94,317 ± 0,809
	192	93,283 ± 0,462	22,982 ± 0,696	92,613 ± 1,009

B1, vinagre dulce a partir de vino blanco DO Somontano; B2, vinagre dulce a partir de vino blanco DO Costers del Segre; C3, vinagre a partir de cava de 3 años; C4, vinagre a partir de cava de 4 años.

3.3.2 Contenido de polifenoles totales

En la Figura 3.2 se puede ver la evolución de la extracción de polifenoles totales para los vinagres sintéticos. La extracción máxima de polifenoles proveniente de la madera se produce entre los 4 y 5 meses,

luego de este tiempo la concentración total de polifenoles se mantiene constante. Estos resultados obtenidos demuestran que para llegar a la extracción máxima de los polifenoles de la madera, son necesarios tiempos de contacto mayores cuando se simula un proceso industrial (temperatura ambiente, menor agitación, mayor volumen) que cuando se realiza el estudio a nivel laboratorio como el de Tesfaye, 2004. El perfil de extracción de polifenoles es similar al obtenido en barricas por Tesfaye y col., 2002, que emplearon barricas de 16 L.

Los polifenoles extraídos de las virutas de roble francés son mayores que en las de roble americano, aspecto que concuerda con la mayor extracción obtenida en la crianza de vinos tintos con barricas de roble francés (Del Alamo y col., 2000) y durante la fermentación en barricas de vinos de moscatel (Aleixandre y col., 2003). La extracción total de polifenoles no parece estar influenciada por la presencia de azúcares en los vinagres sintéticos.

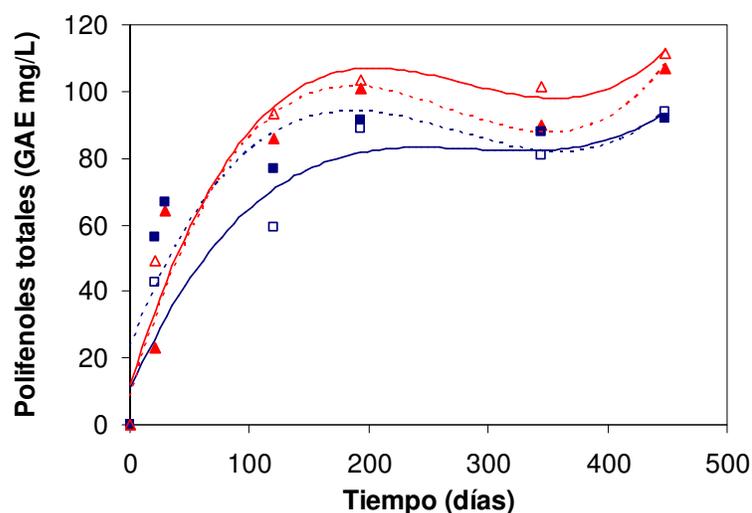


Figura 3.2. Evolución de los polifenoles totales extraídos en vinagres sintéticos. (—□—viruta de roble americano y vinagre con adición de azúcar; --■-- viruta de roble americano y vinagre sin adición de azúcar; -△- viruta de roble francés y vinagre con adición de azúcar; --▲-- viruta de roble francés y vinagre sin adición de azúcar)

Para los vinagres de cava la extracción de polifenoles totales en seis meses ha representado un incremento del orden de 80 mg/L expresados en ácido gálico (Tabla 3.12), que concuerda con la extracción obtenida con el vinagre sintético sin adición de azúcares a los seis meses (Figura 3.2), por el contrario para los vinagres de vino blanco a los seis meses el incremento de polifenoles totales es del orden de 40 mg/L, prácticamente el 40 % obtenido con el vinagre sintético dulce (Figura 3.2).

Tabla 3.12. Evolución de la extracción de polifenoles totales (GAE mg/L), en vinagres de vino

Tiempo (días)	Vinagres cava		Vinagres vino blanco	
	C3	C4	B1	B2
0	182,7 ±2,0	194,5 ±4,6	248,4 ±3,4	244,6 ±1,2
27	241,3 ±10,5	232,7 ±9,4	276,7 ±3,8	266,6 ±0,8
192	264,2 ±5,7	278,8 ±2,5	284,5 ±2,0	290,9 ±2,4

C3, vinagre de cava de 3 años; C4, vinagre de cava de 4 años; B1, vinagre dulce de vino blanco DO Somontano; B2, vinagre dulce de vino blanco DO Costers del Segre.

3.3.3 Perfil polifenólico

Vinagres sintéticos

Los compuestos identificados extraídos de la madera para ambos tipos de roble han sido: ácido gálico, ácido siríngico, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), furfural, 5-metilfurfural (5-Met-F), aldehído *p*-vainílico, coniferaldehído, sinapaldehído y siringaldehído.

La evolución de la extracción del ácido gálico ha mostrado que ya en el primer mes se alcanza prácticamente la concentración máxima,

luego de ese tiempo la extracción ha sido mínima y estadísticamente no significativa (Figura 3.3). El tipo de roble no ha influido en la extracción de este compuesto, si ha influido el tipo de vinagre (dulce o seco), siendo mayor la extracción en vinagres dulces. Dado que la madera del roble contiene sólo una pequeña cantidad de ácido gálico libre (0,9-2,0 mg/g, Viriot y col., 1993), se considera que la extracción que se obtiene está dentro de valores esperados.

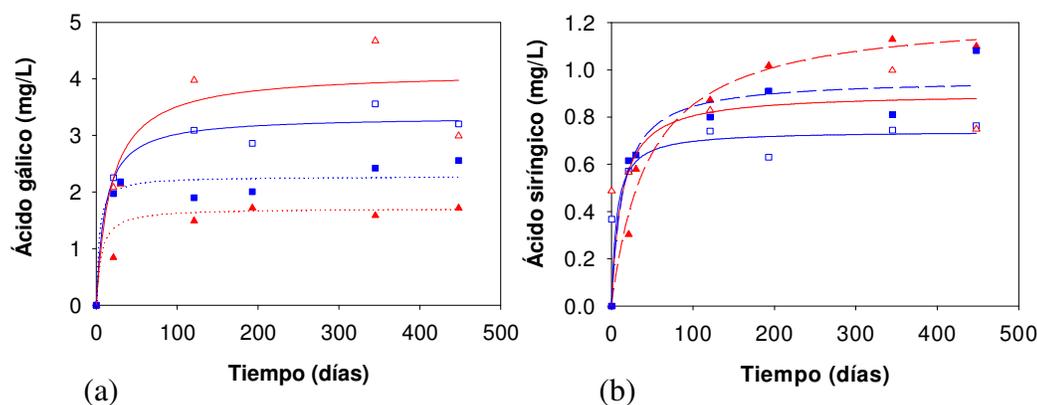


Figura 3.3. Evolución de compuestos fenólicos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) ácido gálico y (b) ácido siríngico. (—□—viruta de roble americano y vinagre con adición de azúcar; —■— viruta de roble americano y vinagre sin adición de azúcar; —△— viruta de roble francés y vinagre con adición de azúcar;—▲— viruta de roble francés y vinagre sin adición de azúcar)

Con respecto al otro ácido aromático identificado, el ácido siríngico, hay que mencionar que en los vinagres sintéticos dulces se ha observado la presencia de este fenol desde el inicio (0,368 y 0,487 mg/L para el roble americano y francés, respectivamente), ya que los azúcares incorporados han sido a través de mosto concentrado de uva rectificado. Independientemente de este hecho, el ácido siríngico aumenta rápidamente durante el primer mes, permaneciendo

prácticamente constante hasta los quince meses en los vinagres sintéticos dulces, mientras que en los vinagres sintéticos secos aumenta progresivamente hasta los quince meses. La concentración de este fenol no ha dependido del tipo de roble, no obstante la presencia de azúcar ha afectado la extracción del mismo, ya que para los vinagres dulces la concentración final de ácido siríngico ha sido de 0,764 y 0,749 mg/L para el roble americano y francés respectivamente, mientras que para los vinagres secos la concentración final ha sido de 1,080 y 1,100 mg/L para el roble americano y francés, respectivamente.

El furfural y los derivados furanos son formados durante el tostado de la madera a través de la degradación de los carbohidratos. La glucosa de la celulosa, origina 5-Met-F y 5-HMF, y el furfural se genera cuando las pentosas son degradadas, así se observa una importante formación de estos aldehídos aromáticos en bebidas alcohólicas (Guymon y Crowell, 1972). Los vinagres sintéticos dulces, presentaban una concentración inicial de 5-HMF proveniente del mosto de uva concentrado rectificado. La influencia de si el envejecimiento era sobre vinagre dulce o seco, ha sido importante para el caso del 5-HMF, ya que los vinagres dulces han presentado concentraciones notablemente superiores. La extracción máxima de compuestos de la familia de los furanos identificados (5-HMF, furfural y 5-Met-F) se realiza durante el primer mes tanto para los vinagres secos como dulces, excepto para el 5-HMF en el vinagre dulce, donde la evolución de la formación del 5-HMF a partir de las hexosas presentes en el mosto se puede distinguir a partir del primer y cuarto mes, y entre los meses 5 y 15 donde la formación de este compuesto se ha triplicado (Figura 3.4).

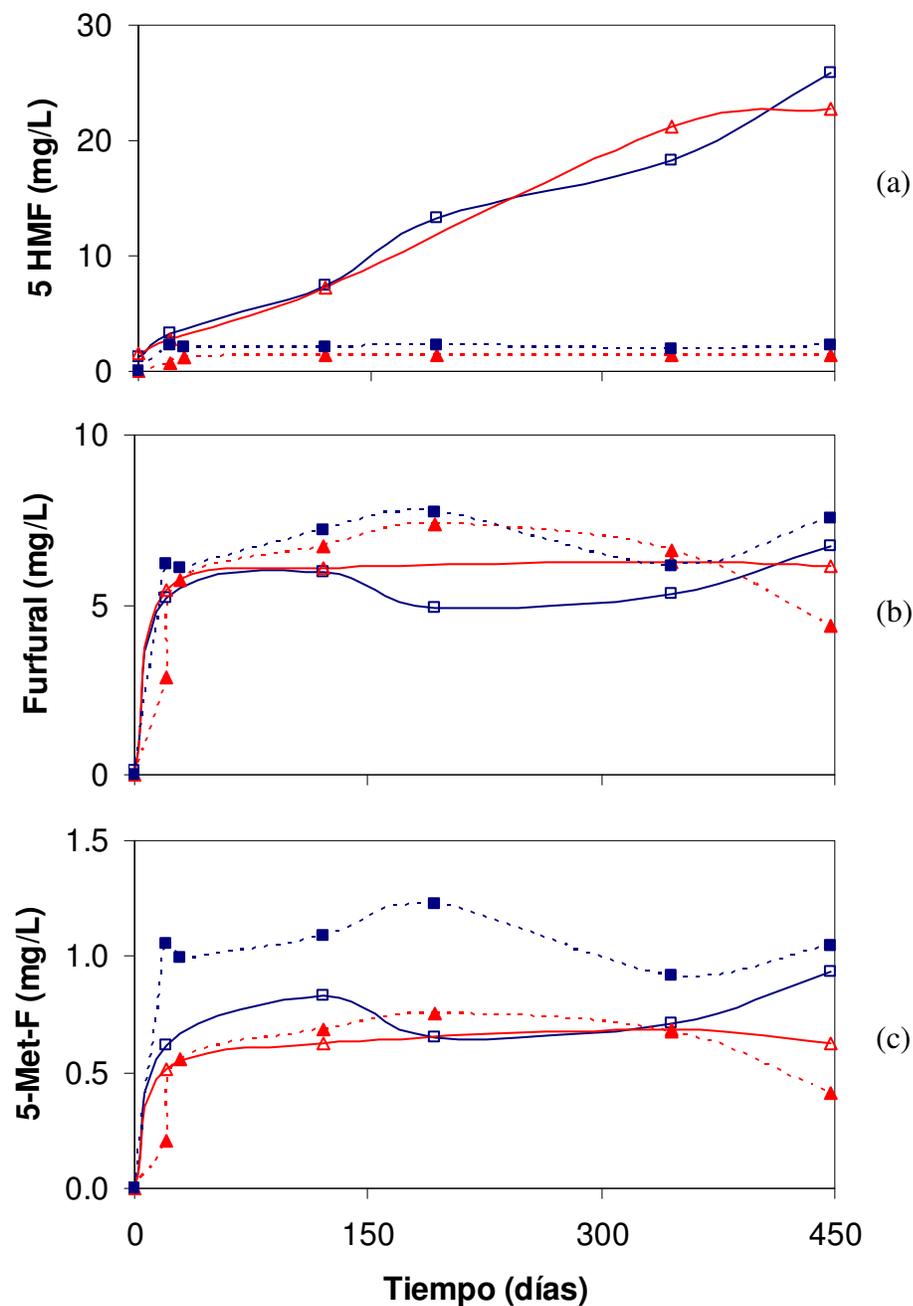


Figura 3.4. Evolución de compuestos fenólicos de la familia de los furanos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) 5-HMF, (b) furfural y (c) 5-Met-F. (—□—viruta de roble americano y vinagre con adición de azúcar; --■-- viruta de roble americano y vinagre sin adición de azúcar; —△— viruta de roble francés y vinagre con adición de azúcar; --▲-- viruta de roble francés y vinagre sin adición de azúcar)

La extracción del 5-HMF y el 5-Met-F ha sido mayor con las virutas de roble americano para los vinagres sintéticos secos, mientras que la extracción de furfural no ha mostrado diferencias debidas al tipo de madera tanto en vinagres secos como dulces (Figura 3.4). La extracción de furfural es notablemente superior para ambos tipos de roble respecto el 5-Met-F y el 5-HFM, que se forman en menor cuantía, lo que coincide con lo reportado por Boidron y col., 1988.

La evolución de la extracción de los aldehídos aromáticos identificados: coniferaldehído, sinapaldehído, siringaldehído y aldehído *p*-vainílico están representadas en las Figuras 3.5 y 3.6.

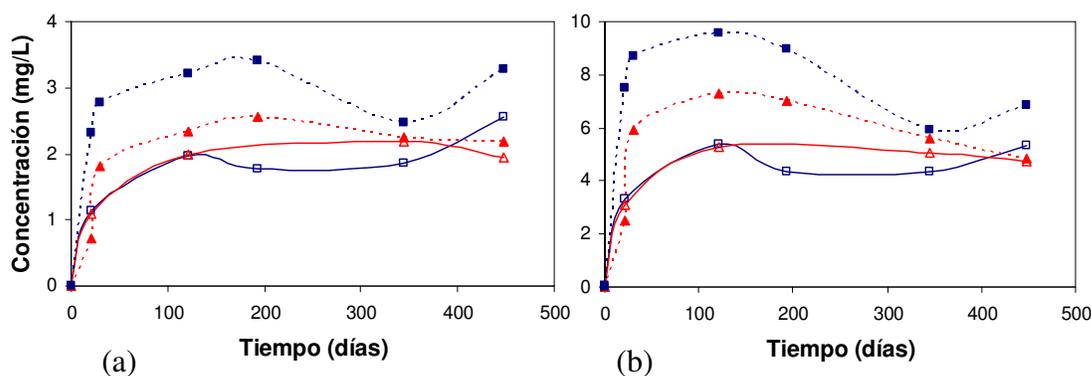


Figura 3.5. Evolución de los aldehídos aromáticos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) coniferaldehído y (b) sinapaldehído. (—□—viruta de roble americano y vinagre con adición de azúcar; --■-- viruta de roble americano y vinagre sin adición de azúcar; —△— viruta de roble francés y vinagre con adición de azúcar;--▲-- viruta de roble francés y vinagre sin adición de azúcar)

Para estos compuestos ya en el primer mes se alcanzan concentraciones elevadas. El coniferaldehído en el primer mes alcanza prácticamente la concentración máxima en todos los casos, permaneciendo así hasta los quince meses. El sinapaldehído

igualmente en el primer alcanza concentraciones elevadas, pero a partir de los seis meses experimenta una disminución coincidiendo con lo reportado por Tesfaye y col., 2004 para un vinagre sintético al cabo de dos meses envejecido con virutas de roble. Resultados similares obtuvieron Monedero y col., 1999 en vinos de Jerez tratados con virutas de roble al cabo de diez meses.

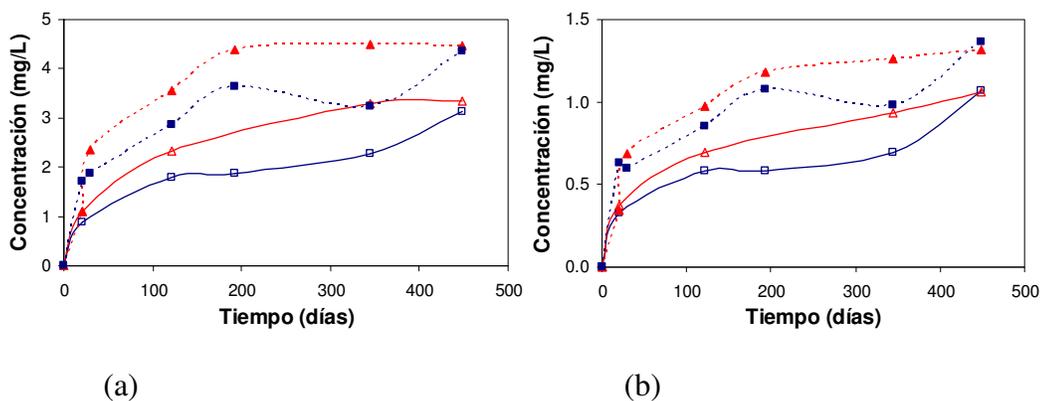


Figura 3.6. Evolución de los aldehídos aromáticos extraídos de virutas de roble en vinagres sintéticos (a) siringaldehído y (b) aldehído *p*-vainílico. (—□—viruta de roble americano y vinagre con adición de azúcar; --■--viruta de roble americano y vinagre sin adición de azúcar; —△— viruta de roble francés y vinagre con adición de azúcar; --▲-- viruta de roble francés y vinagre sin adición de azúcar)

El perfil de la extracción de siringaldehído y de aldehído *p*-vainílico es similar como se puede observar en la Figura 3.6, y se produce durante todo el periodo estudiado, especialmente durante los seis primeros meses.

La influencia de la presencia o no de azúcares en la extracción de los diferentes aldehídos, es mayor para lo vinagres secos,

especialmente en los seis primeros meses tal como se puede observar en las Figuras 3.5 y 3.6. No obstante al final del estudio la diferencia se minimiza, especialmente para el coniferaldehído y el sinapaldehído.

El tipo de roble no ha influido en la concentración final del siringaldehído y del aldehído *p*-vainílico (ver Figura 3.6), no obstante a tiempos más cortos si que se observa diferencias en función del tipo de roble para estos dos compuestos. Para el coniferaldehído y el sinapaldehído si que se observa una diferencia de concentración al final del periodo de extracción (ver Figura 3.6), especialmente para los vinagres sintéticos sin presencia de azúcar, ya que con el roble americano se obtienen mayores concentraciones.

Vinagres de vino

Los compuestos fenólicos identificados extraídos de la madera con los vinagres de vino han sido los mismos que los identificados en los vinagres sintéticos.

Los dos tipos de vinagres de vino estudiados han presentado una concentración inicial de ácido gálico y 5-HMF. Las concentraciones iniciales de ácido gálico en los dos vinagres de cava han sido superiores a las encontradas en los dos vinagres de vino blanco (Tabla 3.13).

Estas concentraciones han permanecido constantes en el tiempo, a diferencia de los vinagres sintéticos donde sí ha sido posible observar una evolución en la extracción de este compuesto. Sartini y col., 2007 observaron que la presencia de virutas de roble francés no afecta la concentración de ácido gálico en vino tinto, permaneciendo constante la concentración inicial hasta los 90 días que duró el estudio. No obstante, en el caso de los vinagres de vino queda la duda de que se haya extraído este compuesto y por ser muy reactivo se haya combinado

para formar derivados de galotaninos ya que según otros autores (Perez-Magariño y González-SanJosé, 2004) la formación de estos compuestos aumentan durante el envejecimiento.

Tabla 3.13. Evolución de la extracción de los ácidos aromáticos (mg/L) en vinagres de vino

Compuesto fenólico		Tiempo (días)		
		0	27	192
Ácido gálico	B1	2,81 ^a ± 0,00	3,97 ^b ± 0,02	2,49 ^b ± 0,00
	B2	5,67 ^a ± 0,69	5,68 ^a ± 0,11	5,75 ^a ± 0,05
	C3	11,87 ^a ± 0,02	12,62 ^b ± 0,07	12,69 ^b ± 0,24
	C4	13,33 ^a ± 0,65	13,40 ^a ± 0,21	13,29 ^a ± 0,35
Ácido siríntrico	B1	n.d. ^a	0,47 ^b ± 0,04	0,88 ^c ± 0,01
	B2	n.d. ^a	0,53 ^b ± 0,00	1,06 ^c ± 0,01
	C3	n.d. ^a	1,08 ^b ± 0,04	1,33 ^c ± 0,17
	C4	n.d. ^a	1,08 ^b ± 0,05	1,42 ^a ± 0,12

B1, vinagre dulce de vino blanco DO Somontano; B2, vinagre dulce de vino blanco DO Costers del Segre; C3, vinagre de cava de 3 años; C4, vinagre de cava de 4 años; n.d., compuesto no detectado; ^{a,b,c}, letras diferentes en una misma hilera son estadísticamente diferentes en el tiempo a un nivel de significancia $p \leq 0,05$

La extracción del ácido siríntrico en ambos vinagres es importante durante el primer mes y sigue aumentando significativamente hasta los seis meses (Tabla 3.13). La concentración final a los seis meses y la velocidad de extracción es mayor para los vinagres de cava que para los vinagres de vino blanco, esta tendencia es similar a la obtenida con los vinagres sintéticos secos y dulces, respectivamente.

El grupo de la familia de los furanos, tiene una evolución similar en ambos tipos de vinagres de vino (Tablas 3.14 y 3.15). Al cabo del primer mes la extracción del 5-HMF es máxima en el caso de los vinagres de cava de forma similar a lo que ocurre con el vinagre sintético seco. En cambio para los vinagres de vino blanco la concentración de 5-HMF continúa aumentando significativamente hasta los seis meses de forma notable y comparable al vinagre sintético dulce, debido a la transformación de las hexosas presentes en este vinagre. Para el furfural y el 5-Met-F la máxima extracción se logra al cabo del primer mes y ha sido posible extraer mayores concentraciones en el vinagre de cava. Para la extracción de esta familia de compuestos, los vinagres de vino han mostrado una tendencia similar a sus homólogos sintéticos.

Tabla 3.14. Evolución de la extracción de los furanos (mg/L) en vinagres de cava

Compuesto furánico		Tiempo (días)		
		0	27	192
5-HMF	C3	1,19 ^a ± 0,00	3,72 ^b ± 0,23	4,35 ^c ± 0,39
	C4	1,89 ^a ± 0,09	6,93 ^b ± 3,59	7,53 ^b ± 3,53
Furfural	C3	n.d. ^a	6,98 ^b ± 0,17	6,38 ^b ± 2,02
	C4	n.d. ^a	5,43 ^b ± 2,58	5,82 ^b ± 2,49
5-Met-F	C3	n.d. ^a	1,11 ^b ± 0,08	1,13 ^b ± 0,41
	C4	n.d. ^a	1,15 ^b ± 0,03	1,34 ^b ± 0,09

C3, vinagre de cava de 3 años; C4, vinagre de cava de 4 años; n.d., compuesto no detectado; ^{a,b,c}, letras diferentes en una misma hilera son estadísticamente diferentes en el tiempo a un nivel de significancia $p \leq 0,05$

Tabla 3.15. Evolución de la extracción de los furanos (mg/L) en vinagres de vino blanco

Compuesto furánico		Tiempo (días)		
		0	27	192
5-HMF	B1	5,78 ^a ± 0,00	7,28 ^b ± 0,00	11,03 ^c ± 0,00
	B2	6,18 ^a ± 0,00	6,54 ^b ± 0,01	11,17 ^c ± 0,01
Furfural	B1	n.d. ^a	5,08 ^b ± 0,00	5,42 ^c ± 0,03
	B2	n.d. ^a	2,98 ^b ± 0,01	3,53 ^c ± 0,00
5-Met-F	B1	n.d. ^a	0,71 ^b ± 0,01	0,84 ^c ± 0,01
	B2	n.d. ^a	0,38 ^b ± 0,00	0,58 ^c ± 0,01

B1, vinagre dulce de vino blanco DO Somontano; B2, vinagre dulce de vino blanco DO Costers del Segre; n.d., compuesto no detectado; ^{a,b,c}, letras diferentes en una misma hilera son estadísticamente diferentes en el tiempo a un nivel de significancia $p \leq 0,05$

El mecanismo de extracción de los aldehídos fenólicos (aldehído vainílico, siringaldehído y coniferaldehído), ocurre de acuerdo a lo señalado por Nishimura y col., 1983 (citado por Garden-Cerda y col., 2002) en tres diferentes vías; a través de degradación térmica de la lignina durante el tostado, a través de la extracción de monómeros libres presentes en la lignina y a través de etanólisis de lignina, y de ellos el más importante es sin lugar a dudas el aldehído *p*-vainílico, que por su volatilidad contribuye al aroma de vinagres. Aunque la vainillina esté en menor concentración que el resto de los aldehídos, al ser su umbral de detección menor, su contribución a las características sensoriales es notable. En los vinagres de vino se ha seguido la misma tendencia que en vinagres sintéticos para la extracción del aldehído *p*-vainílico (Tablas 3.16 y 3.17), presentando una importante extracción al primer mes de contacto y luego aumento paulatino, que sigue siendo estadísticamente significativo, tal y como sucedió con los vinagres sintéticos. Igualmente

la extracción con el vino blanco dulce ha sido mayor que con el vinagre de cava seco.

Tabla 3.16. Evolución de la extracción de los aldehídos aromáticos (mg/L) en vinagres de vino blanco

Compuesto fenólico		Tiempo (días)		
		0	27	192
Coniferaldehído	B1	n.d. ^a	0,79 ^b ± 0,00	0,91 ^b ± 0,00
	B2	n.d. ^a	0,92 ^b ± 0,01	1,19 ^b ± 0,00
Siringaldehído	B1	n.d. ^a	0,92 ^b ± 0,00	1,51 ^c ± 0,00
	B2	n.d. ^a	1,02 ^b ± 0,00	1,65 ^c ± 0,00
Sinapaldehído	B1	n.d. ^a	2,68 ^b ± 0,00	2,38 ^b ± 0,00
	B2	n.d. ^a	2,79 ^b ± 0,00	2,86 ^b ± 0,00
Aldehído	B1	n.d. ^a	0,60 ^b ± 0,08	0,84 ^c ± 0,06
<i>p</i> -vainillico	B2	n.d. ^a	0,59 ^b ± 0,00	0,83 ^c ± 0,00

B1, vinagre de vino blanco DO Somontano; B2, vinagre de vino blanco DO Costers del Segre; n.d., compuesto no detectado; ^{a,b,c}, letras diferentes en una misma hilera son estadísticamente diferentes en el tiempo a un nivel de significancia $p \leq 0,05$

La extracción de coniferaldehído, sinapaldehído y siringaldehído (Tablas 3.16 y 3.17) es máxima durante el primer mes y luego su aumento no es significativo para ambos tipos de vinagres de vino, excepto para el siringaldehído en vinagres de vino blanco que continúa aumentando en forma estadísticamente significativa.

Tabla 3.17. Evolución de la extracción de los aldehídos aromáticos (mg/L) en vinagres de cava

Compuesto fenólico		Tiempo (días)		
		0	27	192
Coniferaldehído	C3	n.d. ^a	2,17 ^b ± 0,12	2,12 ^b ± 0,05
	C4	n.d. ^a	2,13 ^b ± 0,16	2,07 ^b ± 0,20
Siringaldehído	C3	n.d. ^a	2,13 ^b ± 0,09	2,77 ^c ± 0,23
	C4	n.d. ^a	2,21 ^b ± 0,05	3,01 ^c ± 0,26
Sinapaldehído	C3	n.d. ^a	7,30 ^b ± 0,16	7,10 ^b ± 0,22
	C4	n.d. ^a	7,22 ^b ± 0,29	6,92 ^b ± 0,34
Aldehído	C3	n.d. ^a	1,24 ^b ± 0,06	1,79 ^c ± 0,26
<i>p</i> -vainillico	C4	n.d. ^a	1,18 ^b ± 0,08	1,82 ^b ± 0,20

C3, vinagre de cava de 3 años, C4, vinagre de cava de 4 años, n.d., compuesto no detectado; ^{a,b,c}, letras diferentes en una misma hilera son estadísticamente diferentes en el tiempo a un nivel de significancia $p \leq 0,05$

3.4 Eliminación de defectos: plomo

3.4.1 Eliminación de plomo en sistema *batch*

La cinética de adsorción de plomo se ha determinado para dos vinagres sintéticos de 6 y 10 ° acéticos y concentraciones iniciales de plomo de 0,2 y 1,0 mg/L. Como se puede ver en las Figuras 3.7 y 3.8 no existe diferencia significativa en la adsorción de plomo debido al grado acético, alcanzándose en ambos vinagres similares porcentajes de reducción de $87 \% \pm 3$ y $89 \% \pm 2$ para una concentración inicial de plomo de 0,2 y 1,0 mg/L, respectivamente.

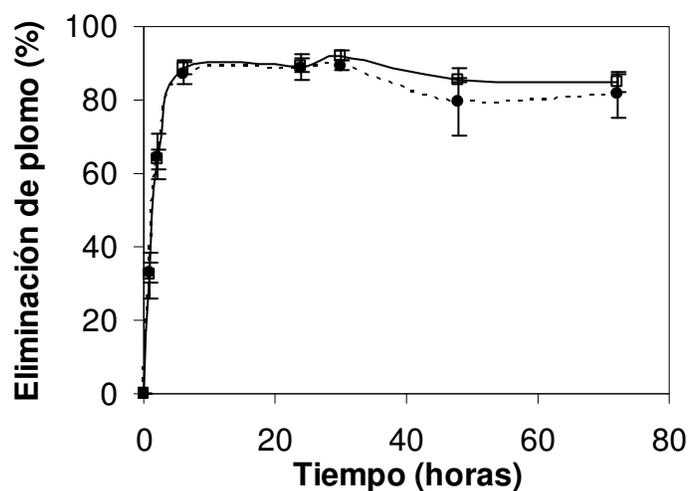


Figura 3.7. Cinética de eliminación de plomo en vinagres sintéticos con 0,2 mg/L de plomo inicial. (□, 6º acéticos; ●, 10º acéticos)

A través de estas cinéticas se ha establecido un tiempo de contacto mínimo de 24 horas para alcanzar el punto de equilibrio de la adsorción de plomo en sistema *batch*. Este tiempo de contacto elegido

es el que se ha utilizado para la determinación de la isoterma de adsorción y como tiempo de proceso mínimo para el tratamiento de los diferentes vinagres comerciales en sistema *batch*.

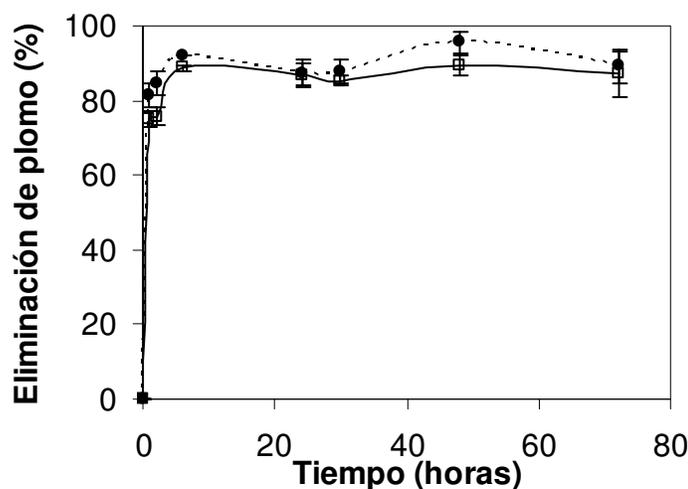


Figura 3.8. Cinética de eliminación de plomo en vinagres sintéticos con 1 mg/L de plomo inicial. (□, 6º acéticos; ●, 10º acéticos)

Como no se han encontrado diferencias al trabajar con vinagres sintéticos de diferentes grados acéticos, se ha determinado la isoterma de adsorción en un vinagre sintético de 6º acéticos con diferentes contracciones iniciales de plomo para un tiempo de contacto de 24 h.

La Figura 3.9 muestra la isoterma de adsorción, la cual se ha ajustado correctamente a la ecuación de Freundlich (3.1), donde q corresponde a la cantidad adsorbida (mg de plomo/g de resina), x la concentración de equilibrio (mg/L), y los parámetros k y n constantes.

$$q = k \cdot x^{1/n} \quad (3.1)$$

Los valores de las constantes k y $\frac{1}{n}$ son igual 0,6945 y 0,8143 respectivamente, con un coeficiente de correlación $r = 0,9983$. El valor de $\frac{1}{n}$ es menor que la unidad lo que indica que la mayor adsorción de plomo es posible a bajas concentraciones de resina Lewatit TP 207 cuando se está trabajando en un sistema *batch*.

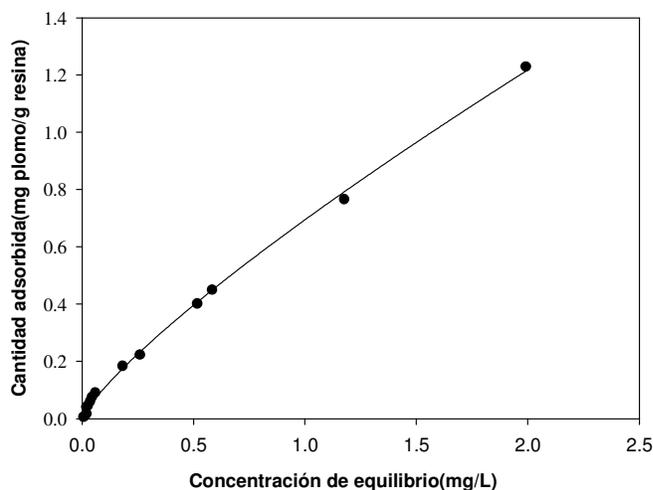


Figura 3.9. Isoterma de adsorción de plomo en vinagre sintético de 6º acéticos. (●, punto experimental; -, ajuste ecuación de Freundlich)

En la Tabla 3.18 se muestran los vinagres comerciales utilizados para el tratamiento en sistema *batch* con la resina Lewatit TP 207 y sus concentraciones iniciales de plomo, así como el porcentaje de plomo eliminado con una dosis de 10 g de resina por litro de vinagre tratado. Todos los vinagres comerciales estudiados presentaron concentraciones de plomo por debajo del límite legal establecido por la comunidad europea, no así por la legislación del Estado de California, USA.

Tabla 3.18. Concentración de plomo inicial y eliminación de plomo después del proceso de adsorción en vinagres comerciales

Vinagre		Concentración inicial de plomo (mg/L)	Eliminación de plomo (%)
Balsámico de Módena	1	0,146 ± 0,006	61,4 ± 2,0
	2	0,156 ± 0,004	49,5 ± 0,5
Vino envejecido	1	0,156 ± 0,005	27,1 ± 4,8
	2	0,184 ± 0,015	21,4 ± 2,5
Jerez	1	0,206 ± 0,006	65,2 ± 12,9
	2	0,106 ± 0,014	76,1 ± 5,7
Sidra	1	0,256 ± 0,003	86,3 ± 0,4
	2	0,206 ± 0,038	75,5 ± 2,4

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar que la mayor reducción de plomo ha sido para los vinagres de sidra, seguido de los vinagres de Jerez, vinagres balsámicos de Módena y finalmente los vinagres de vino envejecido en madera. La menor adsorción de plomo en vinagres de vino envejecido puede estar influenciada por la presencia de otros metales que compiten con el plomo y/o por la complejidad de la matriz de este tipo de vinagres. Resultados similares han sido obtenidos por Bornet y Teissedre, 2007 al utilizar quitosán, quitin-glucan y quitin para reducir el contenido de metales como el hierro, cadmio y plomo en vino tinto, blanco y dulce. Estos autores atribuyen la presencia de azúcares a la menor eliminación de plomo en el vino dulce, tal como ocurre con el vinagre de Módena en nuestro estudio. Igualmente es menor la reducción del contenido en plomo para el vino tinto que para el blanco, de forma similar a lo que ocurre con los vinagres de nuestro estudio.

3.4.2 Eliminación de plomo en sistema continuo

Una vez vista la viabilidad de reducir el contenido de plomo en diferentes tipos de vinagres de vino se ha realizado el estudio de llevar a cabo experimentos en un sistema continuo mediante una columna empacada con la resina Lewatit TP 207 para dos tiempos de residencia de 5 y 10 minutos.

En la Figura 3.10 están representados los resultados obtenidos de la reducción en el contenido de plomo para un volumen de vinagre sintético tratado equivalente a 80 BV, 6º acéticos y una concentración inicial de plomo de 100 µg/L.

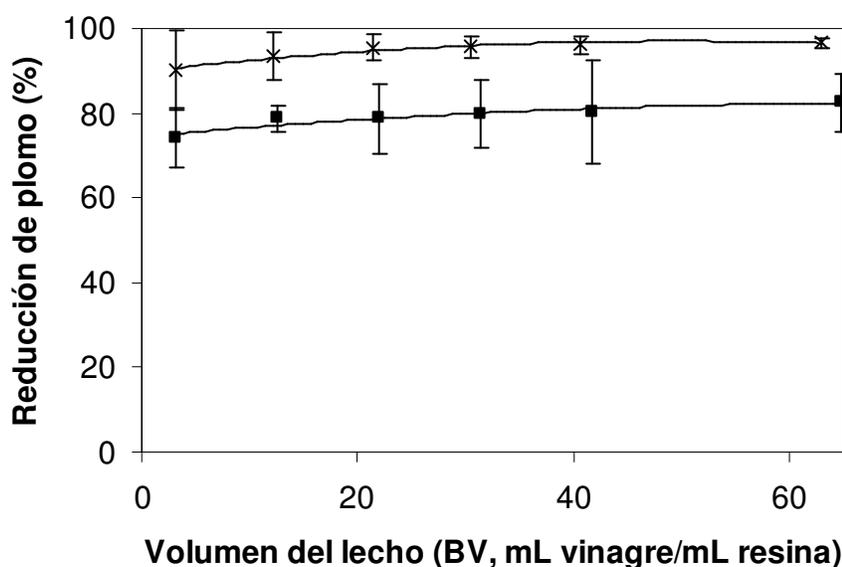


Figura 3.10. Reducción de plomo en vinagre sintético mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV). (-, línea de tendencia; ■, tiempo de residencia de 5 min; ×, tiempo de residencia de 10 min)

Los perfiles mostrados en la Figura 3.10 van desde una reducción del $74,4 \% \pm 7,0$ y $90,1 \% \pm 9,5$ al inicio del tratamiento, para los tiempos de residencia de 5 y 10 minutos, respectivamente, hasta valores de reducción de plomo del $82,5 \% \pm 6,7$ y $96,7 \% \pm 1,2$ para los tiempos de residencia de 5 y 10 minutos, al final del tratamiento. De acuerdo a estos resultados, se ha decidido elegir el tiempo de residencia de 10 minutos, para alcanzar la máxima reducción de plomo en los vinagres sintéticos y comerciales de los experimentos posteriores que se han realizado.

Además para evaluar la capacidad de adsorción de la resina al tiempo de residencia de 10 minutos, se ha tratado el doble de volumen de un vinagre sintético en las mismas condiciones descritas anteriormente, equivalente a 160 BV. En este caso la eliminación de plomo ha sido similar que cuando se han tratado 80 BV, alcanzándose rápidamente una reducción de $97,5 \% \pm 0,3$ en un corto periodo de tiempo, lo que también coincide con los resultados obtenidos para la eliminación de plomo en vinagres sintéticos en sistema *batch*, donde al tratar un vinagre con concentración inicial de plomo de $200 \mu\text{g/L}$ se alcanza un reducción de alrededor de 90 %.

Los experimentos de adsorción de plomo en sistema continuo para vinagres comerciales fueron llevados a cabo con un volumen equivalente de 120 BV.

La Figura 3.11 muestra la eliminación de plomo en un vinagre balsámico con una concentración de plomo de $69 \mu\text{g/L} \pm 14$, donde se puede observar que inicialmente la reducción de plomo es máxima ($41,5 \% \pm 8,6$). La capacidad de eliminación de plomo de la resina disminuye con el volumen de vinagre tratado. Esta menor capacidad de eliminación de plomo observada con este vinagre respecto el vinagre

sintético se puede explicar por la posible competencia de la materia colorante del vinagre y/o el ensuciamiento que pueda sufrir la resina.

La reducción media de plomo de los 120 BV de vinagre balsámico tratados ha sido del $24,8 \% \pm 0,0$ y una concentración final de $52 \mu\text{g/L} \pm 7$.

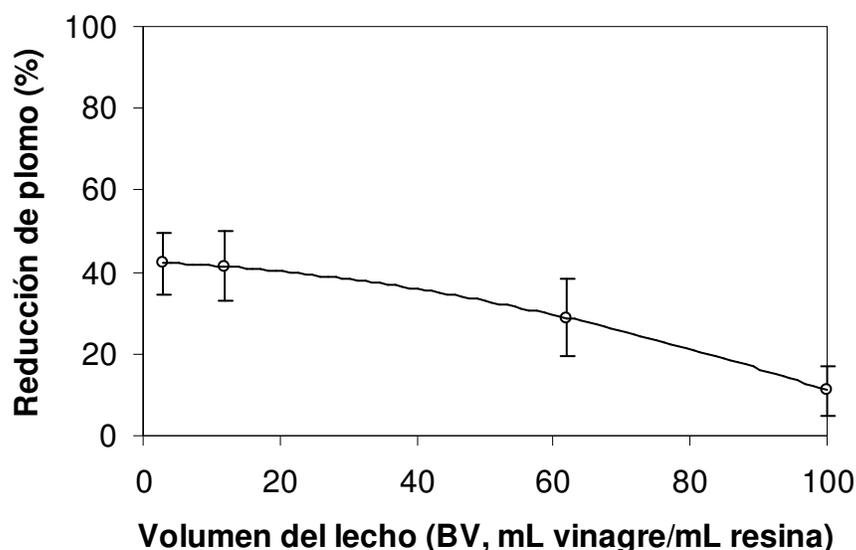


Figura 3.11. Reducción de plomo en vinagre balsámico mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV). (-, línea de tendencia)

Se han tratado tres vinagres de vino tinto con concentraciones de plomo bastante similares (160, 150, 130 $\mu\text{g/L}$). El perfil de eliminación para el vinagre de vino tinto de concentración inicial de plomo de 160 $\mu\text{g/L}$ se muestra en la Figura 3.12. La reducción de plomo al inicio del tratamiento es similar a la obtenida para el vinagre balsámico, alrededor de 40 %. No obstante el perfil obtenido es convexo, mostrando que el vinagre de vino tinto disminuye más rápidamente su eficacia,

posiblemente debido al ensuciamiento y/o competencia en el intercambio de componentes del vinagre con la resina.

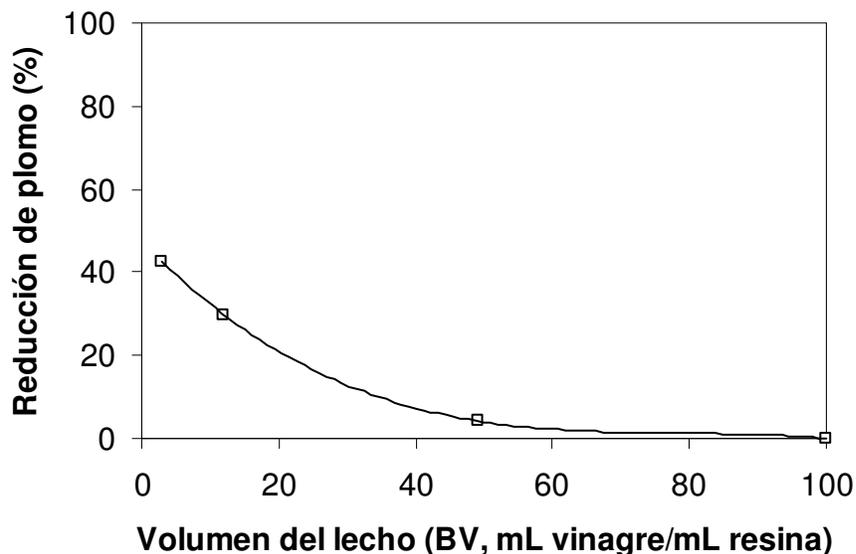


Figura 3.12. Reducción de plomo en vinagres de vino tinto mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV). (-, línea de tendencia; □, vinagre de vino tinto 1, concentración inicial de plomo 160 $\mu\text{g/L}$)

La reducción media para los tres vinagres tintos de concentración inicial de plomo de 160, 150, 130 $\mu\text{g/L}$ ha sido del 7,3, 24,2 y 21,0 %, respectivamente.

Los resultados para el tratamiento en sistema continuo para un vinagre de vino blanco con una concentración inicial de plomo de 71 $\mu\text{g/L} \pm 8$ son presentados en la Figura 3.13. El perfil muestra que al inicio del tratamiento la eliminación de plomo es del 43,9 % $\pm 2,6$, manteniéndose bastante estable hasta el final del mismo, donde es del 32,4 % $\pm 11,8$. La concentración final de todo el vinagre tratado ha sido de

44 $\mu\text{g/L} \pm 5$, que representa una reducción media del 36 % $\pm 12,1$ del contenido inicial de plomo.

Para un segundo vinagre con un contenido de plomo de 24 $\mu\text{g/L} \pm 5$, una vez tratado 120 BV se ha reducido a 14 $\mu\text{g/L} \pm 2$, que representa una reducción media del 38,7 % $\pm 13,6$.

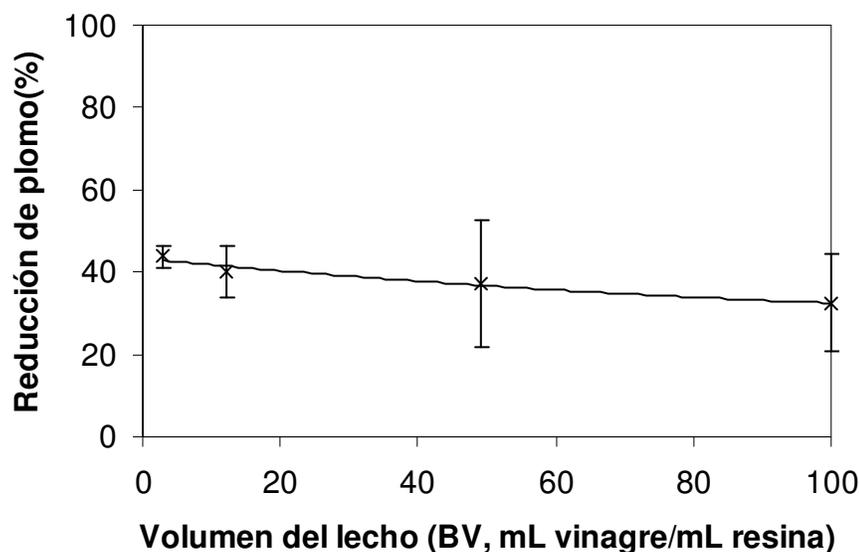


Figura 3.13. Reducción de plomo en vinagres de vino blanco mediante resina de intercambio iónico en función del volumen de vinagre tratado (BV). (-, línea de tendencia; x, vinagre de vino blanco 2, concentración inicial de plomo 71 $\mu\text{g/L}$)

Al tratar de reducir la concentración de plomo con resina Lewatit TP 207 en sistema continuo, ha sido posible observar una diferencia en los resultados al tratar vinagres sintéticos y diferentes vinagres de vino comerciales, este hecho podría ser atribuido a la complejidad de la matriz de los vinagres comerciales, ya que el plomo presente en vinos y sub-productos está a menudo unido con macromoléculas tales como

taninos, polisacáridos y fragmentos de proteínas (Almeida y Vasconcelos, 2003).

Si comparamos la matriz de los vinagres comerciales utilizados para este estudio, la matriz de un vinagre de vino tinto podría ser la más compleja. Además este hecho podría respaldar la mayor reducción de plomo obtenida en vinagre de vino blanco, asumiendo que en este caso la matriz es menos compleja que la de los otros vinagres empleados.

Por otra parte, Bornet y Teissedre, 2007 atribuyen la disminución de la eficiencia de chitin para reducir plomo en vinos dulces al alto contenido de azúcar en los mismos. En nuestro estudio el vinagre balsámico es el que tiene un mayor contenido de azúcares reductores (89,12 g/L). Por lo tanto nosotros creemos que en el caso de vinagres de vino tinto la disminución de la capacidad de la resina puede verse afectada por la complejidad de la matriz (mayor contenido de macromoléculas) y en el caso de vinagres balsámicos por el mayor contenido de azúcar.

Asimismo y con el propósito de conocer el efecto de la concentración inicial de plomo sobre la capacidad de la resina Lewatit TP 207 en vinagres comerciales en sistema continuo, se han tratado dos vinagres de vino blanco 2 veces, con concentraciones iniciales de plomo de 111 y 71 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. De acuerdo a los resultados presentados anteriormente, se sabe que con un primer tratamiento de adsorción se ha alcanzado una reducción de plomo de alrededor de un 40 %. Efectivamente, las reducciones finales de plomo alcanzadas en estos vinagres de vino blanco después de dos tratamientos han sido de $69,3 \% \pm 8,0$ y $80,5 \% \pm 3,1$, respectivamente. Podemos observar que la concentración inicial de plomo, pese a ser muy baja, no afecta de forma muy significativa la capacidad de la resina. El vinagre blanco con la concentración inicial de 111 $\mu\text{g/L}$ después de dos tratamientos ha

pasado ha tener un contenido en plomo de 34 $\mu\text{g/L}$, mientras que el vinagre de concentración inicial de 71 $\mu\text{g/L}$ ha pasado a un contenido de plomo de 14 $\mu\text{g/L}$. Podemos observar que con un segundo tratamiento mediante la resina Lewatit TP 207 podemos reducir el contenido de plomo a valores inferiores a 35 $\mu\text{g/L}$.

La evaluación de los parámetros físico-químicos de los vinagres de vino comerciales tratados en sistema continuo puede ser considerada con un aspecto de calidad importante para determinar el uso de esta técnica de intercambio iónico. Es por ello, que se han comparado los parámetros físico-químicos de todos los vinagres comerciales estudiados, antes y después de cada tratamiento en continuo. En las Tablas 3.19 y 3.20 se muestran los resultados obtenidos para el vinagre balsámico, el vinagre de vino tinto de contenido inicial de plomo de 160 $\mu\text{g/L}$, para el vinagre de vino blanco de contenido inicial de plomo de 71 $\mu\text{g/L}$ tratado una vez y para el vinagre de vino blanco de contenido inicial de plomo de 111 $\mu\text{g/L}$ tratado dos veces consecutivas.

Los parámetros físico-químicos de los vinagres comerciales tratados en sistema continuo con la resina Lewatit TP 207 no presentan diferencias estadísticamente significativas con el vinagre antes del tratamiento, mediante ANOVA de un factor para $p \leq 0,05$, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Palacios y col., 2001 quienes han usado la misma resina pero en vinos de Jerez.

Tabla 3.19. Parámetros físico-químicos de vinagre balsámico y vinagre de vino tinto antes y después del tratamiento con la resina Lewatit TP 207 en sistema continuo

Parámetros	Balsámico		Vino tinto	
	Sin tratar	Tratado ^a	Sin tratar	Tratado ^a
Pb (µg/L)	69 ± 14	52 ± 7	160 ± 15	145 ± 0
pH	2,92 ± 0,07	2,96 ± 0,02	2,74 ± 0,01	2,76 ± 0,01
I. C.	55,85 ± 1,33	54,73 ± 3,191	2,078 ± 0,002	2,065 ± 0,023
Tonalidad	2,781 ± 0,018	2,760 ± 0,022	1,429 ± 0,004	1,410 ± 0,015
Cenizas (g/L)	5,16 ± 0,33	5,34 ± 0,17	2,76 ± 0,14	3,06 ± 0,01
Extracto seco (%)	23,83 ± 0,25	24,06 ± 0,27	1,48 ± 0,03	1,34 ± 0,26
Ácido acético (g/L)	57,57 ± 0,37	57,48 ± 0,54	40,28 ± 0,10	40,68 ± 0,71
Glucosa (g/L)	54,21 ± 0,50	54,66 ± 0,37	0,049 ± 0,011	0,055 ± ,007
Fructosa (g/L)	34,91 ± 0,24	35,51 ± 0,58	0,068 ± 0,005	0,066 ± ,004

^a Corresponden a un volumen de vinagre tratado equivalente 120 BV

Tabla 3.20 Parámetros físico-químicos de vinagres de vino blanco antes y después del tratamiento con la resina Lewatit TP 207 en sistema continuo

Parámetros	Vino Blanco		Vino Blanco	
	Sin tratar	Tratado ^a	Sin tratar	Tratado ^a
Pb (µg/L)	71 ± 8	44 ± 5	111 ± 7	34 ± 7
pH	2,81 ± 0,01	2,80 ± 0,02	2,77 ± 0,01	2,78 ± 0,00
I. C.	0,237 ± ,0002	0,233 ± 0,004	0,218 ± 0,001	0,206 ± 0,004
Tonalidad	3,646 ± 0,040	3,794 ± 0,121	3,817 ± 0,095	3,740 ± 0,092
cenizas (g/L)	1,67 ± 0,26	2,05 ± 0,14	2,08 ± 0,13	1,98 ± 0,08
Extracto seco (%)	1,63 ± 0,03	1,59 ± 0,05	1,67 ± 0,00	1,68 ± 0,00
Ácido acético (g/L)	63,55 ± 0,52	63,88 ± 0,13	63,83 ± 0,37	63,85 ± 0,11
Glucosa (g/L)	1,84 ± 0,05	1,89 ± 0,05	1,88 ± 0,01	1,83 ± 0,00
Fructosa (g/L)	2,61 ± 0,05	2,65 ± 0,11	2,63 ± 0,01	2,66 ± 0,02

^a Corresponden a un volumen de vinagre tratado equivalente 120 BV

Capítulo 4

Conclusiones

Las conclusiones obtenidas en esta tesis doctoral para los tres estudios de aspectos postfermentativos en la elaboración de vinagres se presentan a continuación:

Estudio de conservación de vinagres en botella

Para todos los vinagres y condiciones de conservación la acidez total, densidad, pH, cloruros y cenizas, no han presentado diferencias estadísticamente significativas durante todo el período de conservación. Mientras que la acidez fija se ha incrementado en vinagres de manzana, *chardonnay* y *cabernet sauvignon*. Se ha observado un incremento en el extracto seco en los vinagres de *cabernet sauvignon* y manzana independiente de las condiciones de almacenamiento. Los sulfatos muestran un ligero incremento en todas las condiciones para el vinagre de manzana

La influencia de la temperatura y la presencia de aireación han sido importantes en la variación de los siguientes parámetros. En todos los vinagres se ha observado una disminución del SO₂ total y una disminución del SO₂ libre sólo en los vinagres de *cabernet sauvignon* y manzana. Los polifenoles totales aumentan en los vinagres, lo que tiene especial relación con el aumento de los compuesto furánicos.

En el pardeamiento, especialmente en los vinagres de manzana y moscatel, la intensidad colorante y la tonalidad muestran una evolución relacionada directamente con la oxidación.

Para todos los vinagres se observa un aumento en la concentración de tirosol por el efecto de la temperatura, excepto para el vinagre de *chardonnay*. También se observa una tendencia de aumento en la concentración total de los ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados, excepto para el vinagre de *cabernet sauvignon* que disminuye a 33 °C. En general no se puede establecer una correlación de la concentración

de (+) catequina y (-) epicatequina con la temperatura. No obstante se observa una disminución del rutino, derivado de rutino y quercitina. Para los cuatro vinagres, con el aumento de la temperatura se ha producido un mayor desarrollo de compuestos furánicos, siendo el 5-HMF el que más incrementa su concentración.

Al comparar el contenido inicial y el de los vinagres conservados a 15 °C al cabo de un año, se observa que los ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados, los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados en conjunto muestran una disminución para todos los vinagres. También disminuyen los flavanoles en el vinagre de *chardonnay* y manzana. En cambio, se ha observado un aumento de los compuestos furánicos con el tiempo, en especial del 5-HMF para el vinagre de moscatel.

La concentración de tirosol no ha presentado variaciones debido al efecto de la conservación con luz y la presencia de oxígeno, excepto para el vinagre de manzana en el que se ha producido un incremento por la presencia de oxígeno. En cuanto a la evolución de los ácidos hidroxicinámicos por la presencia de luz, los vinagres de manzana y de *chardonnay* han sufrido una disminución global de los mismos, mientras que los vinagres de *cabernet sauvignon* y moscatel no se han visto afectados de forma significativa. La presencia de oxígeno no ha afectado el contenido total de estos compuestos para todos los vinagres estudiados. Para los vinagres de *chardonnay*, *cabernet sauvignon* y moscatel no se ha observado en general un efecto de la luz y del oxígeno en los niveles de furanos.

Desde el punto de vista del pardeamiento la mejor forma de mantener la calidad del vinagre es conservarlo a temperatura baja y protegido de la luz.

Estudio del envejecimiento acelerado de vinagres

En los vinagres sintéticos, la evolución del color representado en las coordenadas L^* , C^* , y h^* del espacio CIELab y la extracción de polifenoles totales no se han visto afectados por la presencia de azúcar.

La luminosidad se ha mantenido constante hasta los doce meses, a partir de entonces se observa un descenso en especial con virutas de roble americano. El croma aumenta los primeros cinco meses particularmente con el uso de virutas de roble francés, luego de lo cual permanece constante. El tono prácticamente se mantiene constante y no se ve afectado por el tipo de viruta. La extracción de polifenoles totales en vinagres sintéticos es mayor con virutas de roble francés.

En los vinagres de vino la presencia de azúcar no ha afectado las coordenadas del espacio CIELab estudiadas. La luminosidad y el tono permanecen constantes durante todo periodo de estudio. El croma aumenta del orden del 100 % hasta los seis meses.

En los vinagres de vino sin adición de azúcar la extracción de polifenoles totales es similar a la obtenida al vinagre sintético seco, en cambio para vinagre de vino blanco (dulce), esta extracción representa el 40 % de su homólogo.

Los compuestos identificados provenientes de ambas virutas de maderas en los vinagres sintéticos han sido ácido gálico, ácido sirínico, 5-hidroximetilfurfural, furfural, 5-metilfurfural, aldehído *p*-vainílico, coniferaldehído, sinapaldehído y siringaldehído. La máxima extracción de estos compuestos se logra ya en el primer mes.

El tipo de roble no ha influido en la extracción del furfural y los ácidos gálico y sirínico. Sin embargo con las virutas de roble americano se logra una mayor extracción de 5-HMF, 5-Met-F, coniferaldehído y sinapaldehído y sólo para tiempos breves el roble

afecta la extracción del aldehído *p*-vainillico y sinaplaldehído, luego de lo cual no existen diferencias.

La adición de mosto concentrado ha incorporado a los vinagres sintéticos ácido siríngico y 5-HMF. La presencia de azúcar ha favorecido la extracción de ácido gálico, coniferaldehído, sinaplaldehído y 5-HMF. No obstante la extracción de ácido siríngico es mayor en los vinagres sintéticos secos. Sólo en los primeros seis meses del estudio la extracción de aldehídos ha sido mayor en vinagres sin azúcar, luego de lo cual no se notan diferencias.

Los compuestos identificados extraídos de la madera en los vinagres de vino han sido los mismos que en los vinagres sintéticos. La extracción de estos compuestos es máxima al primer mes y el comportamiento es similar al obtenido con los vinagres sintéticos.

La utilización de virutas de madera de roble ha hecho posible incorporar compuestos fenólicos a vinagres sintéticos y de vino, permitiendo una aceleración del proceso de envejecimiento, consiguiendo al primer mes de contacto la máxima extracción de la mayoría de los polifenoles identificados.

Estudio de la eliminación de plomo en vinagres:

Los resultados de la cinética de adsorción en sistema *batch* indican que 24 horas es un tiempo de contacto suficiente para alcanzar el equilibrio y que la capacidad de adsorción de la resina no se ha visto afectada por el grado acético de los vinagres sintéticos.

La isoterma de adsorción del plomo sobre la resina se ha ajustado correctamente a la ecuación de Freundlich.

En sistema *batch*, existe una buena adsorción de plomo en vinagres comerciales a excepción de los vinagres de vino envejecido.

La aplicación de un proceso continuo de adsorción, permite alcanzar importantes disminuciones de plomo presente en vinagres sintéticos y de vino blanco, y menores reducciones, pero también significativas en otros tipos de vinagres comerciales, manteniendo sus propiedades físico-químicas.

Pese a que la concentración inicial de plomo es muy baja, no afecta de forma significativa la capacidad de la resina y por lo tanto con el uso de la resina Lewatit TP 207 en sistema *batch* y continuo podemos reducir el contenido de plomo a valores inferiores a 35 µg/L.

REFERENCIAS

- Acosta A., Díaz C., Hardisson A., González D. **1993**. Levels of Cd, Pb, and Ni in different types of vinegars. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 852-856.
- Aleixandre J. L., Padilla A. I., Navarro L. L., Suria A., García M. J., Álvarez I. **2003**. Optimization of making barrel-fermented dry Moscatel wines. *J. Agric. Food Chem.* 51, 1889-1893.
- Almeida S. M. R., Vasconcelos M. T. S. D. **1999**. Determination of lead isotope ratios in port wine by inductively coupled plasma mass spectrometry after pre-treatment by UV-irradiation. *Anal. Chim. Acta.* 396, 45-53.
- Almeida S. M. R., Vasconcelos M. T. S. D. **2003**. Lead contamination in portuguese red wines from the douro region: from the vineyard to the final product. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3012-3023.
- Alonso A. M., Zorro L., Guillén D. D., García-Barroso C. **2003**. Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *J. Chromatogr. A.* 1012, 31-38.
- Alonso A. M., Castro R., Rodríguez M. C., Guillén D. A., Barroso C. G. **2004**. Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from sherry wines and correlation with their content in polyphenols. *Food Res. Intern.* 37, 715-721.
- Angelova V. R., Ivanov A. S., Braikov D. **1999**. Heavy metals (Pb, Cu, Zn and Cd) in the system soil-grapevine-grape. *J. Sci. Food Agric.* 79, 713-721.
- Arapitsas P., Antonopoulos A., Stefanou E., Dourtoglou V. G. **2004**. Artificial aging of wines using oak chips. *Food Chem.* 86, 563-570.
- Bahadir T., Bakan G., Altas L., Buyukgungor H. **2007**. The investigation of lead removal by biosorption: an application at storage battery industry wastewater. *Enzyme Microb. Technol.* 41, 98-102.
- Barbier F., Duc G., Petit-Ramel M. **2000**. Adsorption of lead and cadmium ions from aqueous solution to the montmorillonite/water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 166, 153-159.
- Barceló, J. G. **1990**. Técnicas analíticas para vinos. GAB. Barcelona.
- Benítez P., Castro R., Natera R., García-Barroso C. **2006**. Changes in the polyphenolics and volatile content of «Fino» sherry wine exposed to high temperature and ultraviolet and visible radiation. *Eur. Food Res. Technol.* 222, 302-309.

- Bétes-Saura C., Andrés-Lacueva C., Lamuela-Raventós R. **1996**. Phenolic in white free run juices and wine from Penedès by high-performance liquid chromatography: changes during vinification. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3040-3046.
- Boidron J. N., Chattonet P., Pons M. **1988**. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Conn. Vigne Vin.* 22 (4), 275-279.
- Bornet A., Teissedre P. L. **2007**. Chitosan, chitin-glucan and chitin effects on minerals (iron, lead, cadmium) and organic (ochratoxin A) contaminants in wine. *Euro Food. Res. Technol.* DOI 10.1007/s00217-007-0577-0.
- Burda S., Oleszek W., Lee C. Y. **1990**. Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *J. Agric. Food Chem.* 38, 945-948.
- Burdurlu H. S., Karadeniz F. **2003**. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chem.* 80, 91-97.
- Cadahía E., Fernández de Simón B., Jalocho J. **2003**. Volatile compounds in Spanish, French, and American oak woods alter natural seasoning and toasting. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5923-5932.
- Careri M., Corradini C., Elviri L., Nicoletti I., Zagnoni I. **2003**. Direct HPLC analysis of quercetin and *trans*-resveratrol in red wine, grape, and winemaking by products. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5226-5231.
- Casale M., Sáiz-Abajo M. J., González-Sáiz J. M., Pizarro C., Forina M. **2006**. Study of aging and oxidation processes of vinegar samples from different origins during storage by near-infrared spectroscopy. *Anal. Chim. Acta.* 557, 360-366.
- Chamkha M., Cathala B., Cheynier V., Douillard R. **2003**. Phenolic composition of champagnes from Chardonnay and Pinot Noir vintages. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3179-3184.
- Cocchi M., Franchini G., Manzini D., Manfredini M., Marchetti A., Ulrici A. A. **2004**. Chemometric approach to the comparison of different samples treatments for metals determination by atomic adsorption spectroscopy in aceto balsámico tradizionale di modena. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4047-4056.
- Conner H. A., Allgeier R. J. **1976**. Vinegar: its history and development. *Adv. Appl. Microbiol.* 20, 81-133.
- Cruess W. V. **1958**. Commercial fruit and vegetable products: Chapter 21-vinegar manufacture. 1st ed., New York: McGraw-hill Book Company, Inc. p 658-707.
- Del Alamo M., Bernal J. L., Gómez-Cordovés C. **2000**. Behavior of monosaccharides, phenolic compounds, and color of red wines aged in used oak barrels and in the bottle. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4613-4618.

- Demirbas A., Pehlivan E., Gode F., Altum T., Aíslan G. **2005**. Adsorption of Cu (II), Zn (II), Ni(II), Pb(II), and Cd(II) from aqueous solution on amberlite IR-120 synthetic resin. *J. Colloid Interface Sci.* 282, 20-25.
- FAO/OMS. **1982**. Codex Alimentarius Comision. Draft European regional Standard for Vinegar. ALINORM 83/19, Appendix II.
- FAO/WHO. **2001**. Evaluation of certain food additives and contaminants; Technical ALINORM 01/12, Appendix XV; World Health organization: Geneva, Switzerland.
- Fernández de Simón B., Cadahía E., Jalocho J. **2003**. Volatile compounds in Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French, and American oak wood. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7671-7678.
- Flanzy, C. **2000**. Enología. Fundamentos científicos y tecnológicos. Madrid. Mundiprensa, p. 53.
- Fonseca O. **2003**. Desarrollo de un analizador automático para la determinación del ión plomo en muestras medioambientales. Tesis doctoral. Departamento de química. Universidad autónoma de Barcelona.
- Gambelli L., Santaroni G. P. **2004**. Polyphenols content in some Italian red wines of different geographical origins. *J. Food Composition Anal.* 17, 613-618.
- Gálvez M. C., Barroso C. G., Pérez-Bustamante J. A. **1995**. Influence of the origin of wine vinegars in their low molecular weight phenolic content. *Acta Horticulturae.* 388, 269-272.
- García-Parrilla C., Heredia F. J., Troncoso A. M. **1996**. Phenols HPLC analysis by direct injection of sherry wine vinegar. *J. Liq. Chrom. Relat. Technol.* 19, 247-258.
- García-Parrilla M. C., González G. A., Heredia F. J., Troncoso, A. M. **1997**. Differentiation of wine vinegars based on phenolic composition. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3487-3492.
- García-Parrilla M.C., Heredia F. J., Troncoso A. M. **1999**. Sherry wine vinegars: phenolic composition changes during aging. *Food Res. Intern.* 32, 433-440.
- Garde-Cerdán T., Rodríguez-Mozaz S., Ancín-Azpilicueta C. **2002**. Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. *Food Res. Int.* 35, 603-610.
- Gerbi V., Zeppa G., Antonelli A., Carnacini A. **1997**. Sensory characterization of wine vinegars. *Food Qual. Prefer.* 8 (1), 22-34.
- Godden, P. **1999**. AWRI trial of the technical performance of various types of wine closures. *Aust. Grapegrower Winemaker.* 425, 59-64.

- Godden P., Francis L., Field J., Gishen M., Coulter A., Valente P., Hoj P., Robison E. **2001**. Wine bottle closures: physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a semillon wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 7 (2), 64-105.
- Gómez-Cordovés C., González-SanJosé M. L. **1995**. Interpretation of color variables during the aging of red wines: relationship with families of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 43 (3), 557-561.
- Gómez-Plaza E., Gil-Muñoz R., López-Roca J. M., Martínez A. **1999**. Color and phenolic compounds of a young red wine as discriminating variables of its ageing status. *Food Res. Intern.* 39, 503-507.
- Gómez-Plaza E., Gil-Muñoz R., López-Roca J. M., Martínez A. **2000**. Color and phenolic compounds of a young red wine. Influence of wine-making techniques, storage, temperature, and length of storage time. *J. Agric. Food Chem.* 48, 736-741.
- Guerrero M. I., Herce-Pagliai C., Caméan A. M., Troncoso A. M., González A. G. **1997**. Multivariate Characterization of wine vinegars from the south of Spain according to their metallic content. *Talanta.* 45, 379-386.
- Guymon J. F., Crowell E. A. **1972**. GC-separated brandy components derived from French and American oaks. *Am. J. Enol. Vitic.* 23 (3), 114-120.
- Guzmán Chozas M. **1998** El vinagre, características, atributos y control de calidad. Madrid: Diaz de Santos Cop. p. 65.
- Hasla E. **1998**. Practical polyphenolics. From structure to molecular recognition and physiological action. 1st ed. New York: Cambridge University Press. p 255-260.
- Heinonen I. M., Lehtonen P. J., Hopia A. I. **1998**. Antioxidant activity of berry and fruit wine and liquors. *J. Agric. Food Chem.* 46, 25-31.
- Henick-Kling T., Stoewsand G. S. **1993**. Technical Brief lead in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 44 (4), 459-463.
- Hornig C., Lin S. **1997**. Determination of urinary trace elements (As, Hg, Zn, Pb, Se) in patients with Blackfoot disease. *Talanta.* 45, 75-83.
- Ibern-Gómez M., Andrés-Lacueva C., Lamuela-Reventós R. M., Waterhouse A. L. **2002**. Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 53 (3), 218-221.
- Kehrer C. L. **1921**. The chemistry of vinegar. *J. Food Prod. Am. Vinegar Ind.* 1, 5-20.

- Kermasha S., Goetghebeur M., Dumont J., Couture R. **1995**. Analyses of phenolic and furfural compounds in concentrated and no-concetrated apple juices. *Food Res. Intern.* 28 (3), 245-252.
- Kristl J., Veber, M., Slekovec M. **2002**. The application of ETAAS to the determination of Cr, Pb, and Cd in samples taken during different stages of the winemaking process. *Anal. Bioanal Chem.* 373, 200-204.
- Kristl J., Veber M., Slekovec, M., **2003**. The contents of Cu, Mn, Zn, Cd, Cr and Pb at different stages of the winemaking process. *Acta Chime. Slov.* 50, 123-136.
- Liu S. C., Chang H. M., Wu J. S. B. **2003**. A study on the mechanism of browning in mei liqueur using model solutions. *Food Res. Intern.* 36, 579–585.
- Lee H. S., Nagy S. **1988**. Quality changes and nonenzymatic browning intermediates in grapefruit juice during storage. *J. Food Sci.* 53(1), 168–172.
- Lee H. S., Nagy S. **1988b**. Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. *Food Technol.* 42, 91–97.
- Llaguno C., Polo M.C. **1991**. El vinagre de vino. Madrid. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España. p. 56-67.
- Malla M. E., Alvarez M. B., Batistoni D. A. **2002**. Evaluation of sorption and desorption characteristics of cadmiun, lead and zinc on amberlite IRC-718 iminodiacetate chelating ion exchanger. *Talanta.* 57 (2), 277-287
- Marco J., Artajona J., Larrechi M. S., Rius F. X. **1994**. Relationship between geographical origin and chemical composition of wood for oak barrels.. *Am. J. Enol. Vitic.* 45 (2), 192-200.
- Marlowski J., Plochanski W. **2006**. Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products. *J. Fruit Ornarn. Plant Res.* 14 (2), 133-142.
- Metcalf E. **1995**. Ingeniería de aguas residuales: Tratamiento, vertido y reutilización. 3ª ed. Madrid. McGrawHill. p 369-369.
- Métodos Oficiales de Análisis del Vinagre (BOE. 27-7-1977; 30-8-1979; 14-10-1981).
- Millar D. P., Howell G. S., Michaelis C. S., Dickmann D. I. **1992**. The content of phenolic acid and aldehyde flavor components of white oak as affected by site and species. *Am. J. Enol. Vitic.* 43 (4), 333-338.
- Monagas M., Bartolomé B., Gómez-Cordovés C. **2005**. Evolution of polyphenols in red wine from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle. II Non-anthocyanin phenolic compounds. *Eur. Food Res. Technol.* 220, 331-340.

- Monagas M., Gómez-Cordovés C., Bartolomé B. **2006**. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chem.* 95, 405-412.
- Monedero L., Olalla M., Martín-Lagos F., Lopez H., Lopez M. C. **1999**. Application of chemometric techniques in obtaining macerates with phenolic content similar to that of wines from the Jerez-sherry region subjected to oxidative aging. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1836-1844.
- Morales M. L., Benítez B., Troncoso A. M. **2004**. Accelerated aging of wine vinegars with oak chips: evaluation of wood flavour compounds. *Food Chem.* 38, 305-315.
- Morales M. L., Tesfaye W., García-Parilla M. C., Casas J. A., Troncoso A. M. **2002**. Evolution of the aroma profile of sherry wine vinegars during an experimental aging in wood. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3273-3178.
- Mosel H. D., Herrmann K. **1974**. The phenolics of fruits. III. The contents of catechin and hydroxycinnamic acids in pome and stone fruits. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 154, 6-11.
- Muratore G., Licciardello F., Restuccia C., Puglisi M. L., Giudici P. **2006**. Role of different factors affecting the formation of 5-Hydroxymethyl-2-furanocarboxaldehyde in heat grape must. *J. Agric. Food Chem.* 54, 860-863.
- Natera R., Castro R., García-Moreno M. V., Hernández M. J., García-Barroso C. **2003**. Chemometric studies of vinegars from different raw materials and processes of production. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3345-3351.
- Ndung'u K., Hibdon S., Russell A. **2004**. Determination of lead in vinegar by ICP-MS and GFAAS: evaluation of different sample preparation procedures. *Talanta.* 64, 258-263.
- Nykänen L. **1986**. Formation and occurrence of flavour compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *Am. J. Enol. Vitic.* 37 (1), 84-96.
- Official Newspaper of the European Communities. **1990**. Commission Regulation (EEC) No 2676/90 of 17 September 1990 determining Community methods for the analysis of wines.
- Oliveira S. R., Oliveira A.P., Neto A. G. **2007**. Tungsten permanent chemical modifier with co-injection of Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ for direct determination of Pb in vinegar by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 105, 236-241.
- Ortega A. F., Lopez-Toledano A., Mayen M., Merida J., Medina M. **2003**. Changes in color and phenolic compounds during oxidative aging of sherry white wine. *J. Food Sci.* 68 (8), 2461-24768.

Ortega-Heras M., González-Huerta C., Herrera P., González-Sanjosé M. L. **2004**. Changes in wine volatile compounds of varietal wines during ageing in wood barrels. *Anal. Chim. Acta.* 513, 341-350.

Página Web del Grupo de color. Laboratorio de color de la Rioja. Programa MSCV. <http://www.unirioja.es/dptos/dq/fa/color/color.html>

Página web del Instituto Americano del vinagre. <http://www.proluxsa.com/english/thevinegar.html>

Palacios V. M., Caro I., Pérez L. **2001**. Application of ion exchange techniques to industrial process of metal ions removal from wine. *Adsorption.* 17, 131-138.

Pelhivan E., Altun T. **2007**. Ion-exchange of Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , and Ni^{2+} ions from aqueous solution by Lewatit CNP 80. *J. Hazard. Mater.* 140, 299-307.

Pérez-Coello M. S., Sánchez M. A., García E., González-Viñas M. A., Sanz J., Cabezudo M. D. **2000**. Fermentation of white wines in the presence of wood chips of American and French oak. *J. Agric. Food Chem.* 48, 885-889.

Pérez-Magariño S., San José-González L. **2004**. Evolution of flavanols, anthocyanins, and their derivatives during the aging of red wines elaborated from grapes harvested at different stages of ripening. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1181-1189.

Podsdek A., Wilska-Jeszka J., Anders B. **2000**. Compositional characterization of some apple varieties. *Eur. Food Res. Technol.* 210, 268-272.

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), 236-238.

REGLAMENTO (CE) No 1507/2006 DE LA COMISIÓN de 11 de Octubre de 2006 por el que se modifican los Reglamentos (CE) no 1622/2000, (CE) nº 884/2001 y (CE) nº 753/2002, que establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 1493/1999 del Consejo, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola, en lo referente a la utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de vinos y a la designación y presentación de los vinos sometidos a ese tratamiento

Regulation CE 1493/1999 of the council; Bruxelles, May 17, 1999.

RD 2070/1993, de 26 de Noviembre del Ministerio de la Presidencia. Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración y el comercio de los vinagres. BOE 293 de 8 de Diciembre de 1993: 34764.

RD 1334/1999, de 31 de Julio Norma general de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios. Capítulo IV, artículo 11, punto 4f.

- Ribéreau-Gayon P. **1970**. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Anal.* 52, 627-631.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. **2000**. Handbook of Enology. Volume 2: The chemistry of wine Stabilization and treatments. England: John Wiley & Sons Ltd. P. 129-137; 353-385.
- Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. **1999**. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66, 401-436.
- Rous C., Alderson B. **1983**. Phenolic extraction for white wine aged in French and American oak barrel. *Am. J. Enol. Vitic.* 34 (4), 211-215.
- Saeed A., Iqbal M., Akhtar M. W. **2005**. Removal and recovery of lead(II) from single and multimetal (Cd, Cu, Ni, Zn) solutions by crop milling waste (black gram husk). *J. Hazard. Mater.* B17, 65-73.
- Salinas M. R., Garijo J., Pardo F., Zalacain A., Alonso G. L. **2005**. Influence of prefermentative maceration temperature on the colour and the phenolic and volatile composition of rosé wines. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1527-1536.
- Sartini E., Arfelli G., Fabiani A., Piva A. **2007**. Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. *Food Chem.* 104, 1599-1604.
- Somers T. C., Evans M. E. **1986**. Evolution of red wines. I ambient influences on colour composition during early maturation. *Vitis.* 25, 31-39.
- Somogyi A., Szalóli I., Braun M. **1999**. Investigation of lead transport effects from glazed potter to liquid medium by EDXRF and ICP-AES methods. *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 479-482.
- Spanos G. A., Wrolstad R. E., Heatherbell D. A. **1990**. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *J. Agric. Food Chem.* 38, 1572-1579.
- Spillman P. J., Pollnitz A. P., Liacopoulos D., Pardon K. H., Skouroumounis G. K., Sefton M. A. **1997**. Accumulation of vanillin during barrel-aging of white, red, and model wines. *J. Agric. Food Chem.* 45, 2584-2589.
- Schwarz M., Wabnitz T. C., Winterhalter P. **2003**. Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wine. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3682-3687.
- Tahir S.S., Rauf N. **2004**. Removal of Fe(II) from the wastewater of a galvanized pipe manufacturing industry by adsorption onto bentonite clay. *J. Environ. Manage.* 73, 285-292.

- Theobald A., Müller A., Anklam E. **1998**. Determination of 5-hydroxymethylfurfural in vinegar samples by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1850-1854.
- Tesfaye W., Morales M. L., García-Parrilla M. C., Troncoso A. M. **2002**. Evolution of phenolic compounds during an experimental aging in wood of sherry vinegar. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7053-7061.
- Tesfaye W., Morales M. L., Benítez B., García-Parrilla M. C., Troncoso, A. M. **2004**. Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging oak chips. *Anal. Chim. Acta.* 513, 239-245.
- Toribio J. L., Lozano J. E. **1984**. Nonenzymatic browning in apple juice concentrate during storage. *J. Food Sci.* 49, 889-892.
- Towey J. P., Waterhouse A. L. **1996**. The extraction of volatile compounds from French and American oak barrel in chardonnay during three successive vintages. *Am. J. Enol. Vitic.* 47(2), 163-172.
- Tulyathan V., Boulton R. B., Singleton V. L. **1989**. Oxygen uptake by gallic acid as a model for similar reactions in wine. *J. Agric. Food Chem.* 37 (4), 845-849.
- Van der Sluis A. A., Dekker M., De Jager A., Jongen W. M. F. **2001**. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3606-3613.
- Viksna A., Lindgren E. S. **1997**. Determination of lead and cadmium in whole blood of mothers and their babies. *Anal. Chim. Acta.* 353, 307-311.
- Villaños D., Fernández-Pachón M. S., Troncoso A. M., García-Parrilla M. C. **2006**. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wine. *Food Chem.* 95, 394-404.
- Viriot C., Scalbert A., Lapiere C., Moutounet M. **1993**. Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1872-1879.
- Yebra-Biurrun M. C., Bermejo-Barrera A., Bermejo-Barrera M. P., Barciela-Alonso M. C. **1995**. Determination of trace metals in natural wasters by flame atomic absorption spectrometry following on-line-ion-exchange preconcentration. *Anal. Chim. Acta.* 303, 341-345.
- Zafrilla P., Morillas J., Mulero J., Cayuela J. M., Martínez-Cachá A., Pardo F., López-Nicolás J. M. **2003**. Changes during storage in conventional and ecological wine: phenolic content and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4694-4700.
- Zamora F. **2004**. Las coordendas cromáticas CIELAB; un mejor sistema para medir el color del vino. *Enólogos.* 28, 24-27.