

## IV CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

### MESA TEMÁTICA 9. Tecnología e industrialización de los productos forestales

#### COMUNICACIÓN A9-7

## CONTENIDO DE ELAGITANINOS Y POLIFENOLES EN MADERA DE ROBLE ESPAÑOL DE DISTINTAS ESPECIES Y PROCEDENCIAS

P. Poveda<sup>1</sup>, B. Fernández de Simón<sup>1</sup>, E. Cadahía<sup>1</sup>, M. Broto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Productos Forestales. Centro de Investigación Forestal CIFOR-INIA. Carretera de La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid. E-mail: [poveda@inia.es](mailto:poveda@inia.es)

<sup>2</sup>Centro de Servicios y de Promoción Forestal y de su Industria de Castilla y León. Pol. Ind. Las Casas, calle C, parcela 3, 42005 Soria.

**Resumen.** Los estudios realizados en los últimos años sobre la aptitud de la madera de roble del País Vasco para su uso en la crianza de vinos, pusieron de manifiesto que, considerando las características estructurales y químicas, su evolución durante los procesos de fabricación de las barricas, y su influencia en las características del vino, la madera de *Quercus robur*, *Q. petraea* y *Q. pyrenaica* puede considerarse apta para la fabricación de barricas para envejecimiento de vinos de calidad. Estos resultados abrieron la posibilidad de utilizar la madera de roble español en la industria de la tonelería. Para ello es necesario conocer las características enológicas de esta madera, de otras zonas geográficas, ya que la estructura y concentración de los componentes de la madera de roble vienen condicionadas por la especie, y otros factores como el origen geográfico, las condiciones de tratamiento o los tratamientos selvícolas. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en los análisis de elagitaninos y polifenoles de la madera en verde de *Q. petraea* procedente de Navarra (zona de Garaioa), y de *Q. pyrenaica* de seis regiones de procedencia localizadas en la Comunidad Autónoma de Castilla y León. El análisis de estos compuestos se ha realizado mediante valoraciones globales con métodos espectrofotométricos, con el fin de poder realizar una estimación del contenido de estos compuestos de un modo fácil y rápido.

**Palabras clave:** *Quercus petraea*, *Quercus pyrenaica*, elagitaninos, polifenoles

## INTRODUCCIÓN

Las tendencias de los últimos años en las prácticas enológicas han supuesto un cambio gradual de los hábitos en la crianza de los vinos, de tal forma que la crianza en barricas nuevas ha ido sustituyendo a la utilización generalizada de barricas viejas. De hecho, la mayor parte de las bodegas españolas disponen de un gran número de barricas nuevas de roble para la crianza de vinos, y, en los últimos años, también para la fermentación de vinos blancos. La tendencia de utilización de barricas nuevas ha ido ligada en gran parte al aumento en el uso de barrica de roble francés. Como consecuencia de la generalización de éste fenómeno, se ha detectado en Francia un desequilibrio entre la madera de roble disponible y el número de barricas fabricadas. Así, en Francia, el suministro anual de madera de roble de buena calidad es constante, y se sitúa en los 460.000 m<sup>3</sup>/año entre 1994 y 1997, según su Oficina Nacional de Bosques (ONF). En ese mismo periodo de tiempo, la producción de barricas se ha doblado, aumentando la exportación en un 100%. La diferencia puede ser explicada por un aumento en la importación de madera, especialmente de Europa del Este ya que, ante el aumento de la demanda, se ha puesto en el mercado de la madera para duelas, otras de diferentes procedencias europeas (Hungría, Polonia, Rusia, Rumania, etc.), aunque la madera de los bosques franceses sigue siendo por el momento la más valorada (datos de encuestas).

En España, según el último Inventario Forestal Nacional (1999) disponemos de una superficie de bosques de robles de 125.000 ha, incluyéndose en estos datos sin distinción el conjunto de *Q.*

*robur* y *Q. petraea*. Estas masas forestales se localizan principalmente en el tercio norte de la Península. En general, están en buen estado y en muchas zonas se está realizando su aprovechamiento forestal. Además de estas dos especies, hay otra especie de *Quercus*, *Quercus pyrenaica* Wild., conocida como rebollo o melojo, autóctona de la península ibérica, evaluándose su masa forestal arbolada en 320.000 ha. aproximadamente, distribuidas por la mayor parte de las Comunidades Autónomas, aunque centrada en el cuadrante noroccidental, y especialmente en Castilla y León. Muchas de estas masas forestales de *Q. pyrenaica* están en buen estado, pero muchas otras no han tenido en los últimos años ningún tipo de tratamiento selvícola, al quedar en desuso el aprovechamiento tradicional de su madera para traviesas de tren, barcos, y especialmente leña aprovechada en monte bajo, que ha marcado las características de muchas masas.

Hace unos años se realizaron una serie de estudios (CADAHÍA & FERNÁNDEZ DE SIMÓN, 2004) que pusieron de manifiesto que, considerando las propiedades químicas y estructurales de la madera de roble español procedente del País Vasco, su evolución durante las diferentes etapas del proceso de fabricación de barricas, y su influencia en las características del vino, esta madera es de una calidad enológica comparable a las maderas de *Q. robur* y *Q. petraea* de origen francés, de reconocida calidad para su uso en enología.

Sin embargo, antes de utilizar con garantía la madera de roble español en la producción de barricas para el envejecimiento de vinos de calidad, se hace necesaria la caracterización enológica de esta madera en verde, de las distintas zonas geográficas, ya que la estructura y concentración de los componentes de la madera de roble vienen condicionadas por la especie, y otros factores, como el origen geográfico y los tratamientos selvícolas. Así, en España se pueden distinguir hasta 16 regiones de procedencia de *Q. pyrenaica*, diez de ellas con masas forestales importantes.

Esta caracterización enológica comprende, además del estudio de propiedades físicas como porosidad, permeabilidad, anchura del anillo, densidad, etc., el análisis químico de la madera, en lo que se refiere a polifenoles, taninos, y componentes volátiles. Con estos datos se define el potencial aromático de una madera, en su interacción con el vino, de modo que si se obtuvieran diferencias significativas entre regiones de procedencia, éstas quedarán especificadas. Estos resultados se deben comparar con los datos de que se dispone en relación con la madera de otras especies y orígenes que se utilizan para la fabricación de barricas, de modo que este potencial aromático de la madera de roble español quede enmarcado en el conjunto del potencial aromático de la madera para tonelería.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en los análisis de elagitaninos y polifenoles de la madera en verde de *Q. petraea* procedente de la Comunidad Foral de Navarra (zona de Garaioa), y de *Q. pyrenaica* de seis regiones de procedencia localizadas en la Comunidad Autónoma de Castilla y León. El análisis de estos compuestos se ha realizado mediante valoraciones globales con métodos espectrofotométricos, con el fin de poder realizar una estimación del contenido de estos compuestos de un modo fácil y rápido.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Muestras.* La toma de muestras de madera verde se realizó a partir de árboles abatidos expresamente para este estudio, o a partir de rodajas obtenidas de árboles apeados con motivo de estudios realizados en otros centros. En el caso de rodajas, se tomó siempre la correspondiente a una altura de 1,30 m del suelo.

Las muestras de *Quercus pyrenaica* procedían de trece zonas diferentes de Castilla y León: Fuenteguinaldo, Peña de Francia, Riaza, Ávila, Burgos, León, Palencia, Salamanca, Segovia, Zamora, Guardo, Riello y El Royo. Estas trece zonas pertenecen a seis de las regiones de procedencia de esta especie que se localizan en la Comunidad de Castilla y León: Región 3 – Zamora; Región 4 - León - Palencia - Guardo – Riello; Región 6 - Burgos - El Royo; Región 8 - Peña de Francia -

Fuenteguinaldo – Salamanca. Región 9 – Ávila; Región 11- Riaza – Segovia. En total se han analizado sesenta y una muestra de madera de duramen de *Q. pyrenaica* en verde.

Las muestras de *Quercus petraea* procedían de la Comunidad Foral de Navarra, de la zona de Garaioa. De esta especie se han analizado 14 muestras de madera de duramen en verde.

*Metodología.* Los análisis de color del extracto (DO a 420nm) y polifenoles totales se han realizado en el extracto metanol-agua (50%) de muestras de madera molidas y tamizadas. Se determina la absorción a 420 nm que permite apreciar indirectamente el grado de oxidación de los polifenoles de la madera presentes en el extracto. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método de SINGLETON y ROSSI (1965), que se basa en la oxidación en medio básico de los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos, por el reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfowolfrámico). Dicho reactivo se reduce, produciendo una mezcla de óxido de wolframio y óxido de molibdeno, que presenta una coloración azul característica, con máximo de absorción entre 725 y 760 nm. Se midió la absorbancia del complejo azul así formado, en un espectrofotómetro JASCO UV-Visible V530, a 760 nm, y esta lectura se interpoló en una curva de calibrado realizada con ácido gálico.

La determinación de elagitaninos totales se realizó en el extracto acuoso resultante de extraer con disolventes orgánicos el extracto metanol-agua (50%) de las muestras de madera molidas y tamizadas. Una vez obtenido este extracto acuoso, se liofiliza, y partiendo del liofilizado, se determina por HPLC el ácido elágico liberado después de un proceso de metanolísis, teniendo en cuenta el ácido elágico libre presente en el extracto (CADAHÍA, 1996).

Con los datos numéricos obtenidos se realizó el análisis estadístico univariante y multivariante canónico discriminante, mediante el paquete estadístico SAS. Se calcula la media, la desviación standard y el coeficiente de variación, para cada variable, en cada región de procedencia, mediante el análisis univariante, usando un modelo de variable simple, y se comparan las medias obtenidas con el test de rango múltiple de Student-Newman-Keuls, con un intervalo de confianza del 95%. En el análisis multivariante se realizó un análisis discriminante canónico, en el que se calculan unas funciones matemáticas, llamadas funciones canónicas discriminantes, utilizando los datos de todas las variables estudiadas, en las maderas de todas las regiones de procedencia. Al proyectar los puntos correspondientes a las muestras en estas funciones canónicas, en el espacio euclídeo  $R^n$ , y representar esta proyección gráficamente en dos dimensiones, las distancias geométricas entre los puntos son idénticas a las distancias estadísticas entre las muestras.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan en la Tabla y Figuras que aparecen al final del trabajo. En la Tabla 1 se muestran los valores medios obtenidos de color, polifenoles totales (PT) y elagitaninos totales (ET), en cada uno de los grupos de procedencia, su desviación standard y el resultado del test de Student-Newman-Keuls, comparando una a una las medias obtenidas en todos los grupos. En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos en el análisis discriminante, al representar en el plano las coordenadas canónicas de las muestras en las funciones 1 y 2 (Can 1 frente a Can 2), y en las funciones 1 y 3 (Can 1 frente a Can 3).

Los valores obtenidos en polifenoles totales son similares a los obtenidos en madera verde de otras especies y procedencias, tanto de origen español como francés y americano (FERNÁNDEZ DE SIMÓN *et al.*, 1996a, 1999). En general, se observa una alta dispersividad en las concentraciones, con altas desviaciones standard respecto a los valores medios, lo que provoca que se hayan encontrado pocas diferencias estadísticamente significativas entre regiones de procedencia. Así, solo presentan estas diferencias las concentraciones de polifenoles totales de *Q. petraea* de Navarra, respecto a las de *Q. pyrenaica* de las regiones 4 (León / Palencia) y 6 (Burgos / Soria), siendo la madera de Navarra la que presenta las concentraciones medias más bajas, y las regiones 4 y 6 las más altas.

En cuanto al grado de oxidación de los polifenoles presentes en el extracto (Color), se obtienen valores no muy altos, aunque dentro del rango de los encontrados en la madera de otras especies y procedencias. Los mayores valores medios se han encontrado en la madera de *Quercus pyrenaica* de Ávila, que es significativamente mayor a los valores encontrados en las maderas de Salamanca, Segovia y Navarra. Especialmente bajo ha resultado ser el grado de oxidación de los polifenoles presentes en el extracto de *Q. petraea* de Navarra, significativamente diferente de la de *Q. pyrenaica* de Zamora (región 3), León / Palencia (región 4) y Burgos / Soria (región 6), además de la de Ávila.

La mayor dispersividad de los resultados se ha obtenido en la evaluación del contenido total de elagitaninos, con altas desviaciones standard respecto a los valores medios, lo que provoca que no se hayan encontrado diferencias estadísticamente significativas entre regiones de procedencia. En general, los valores obtenidos en la madera de *Q. pyrenaica* son más altos que los encontrados en la madera de esta especie de otras procedencias, pero menor que las concentraciones encontradas en algunas especies de roble francés (FERNÁNDEZ DE SIMÓN *et al.*, 1996a,b). Los valores más bajos se han encontrado en la madera de *Q. pyrenaica* de la región 9 (Ávila), y los más altos en las regiones 8 (Salamanca) y 4 (León / Palencia).

Cuando se consideran globalmente todas las variables, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre regiones de procedencia, tal y como se aprecia en la Figura 1, correspondiente al análisis discriminante. Sin embargo, si se observan detenidamente cada una de las gráficas que integran esta figura, podría deducirse que la madera de *Q. petraea* de Navarra (G), podría diferenciarse de la madera de *Q. pyrenaica* de Ávila (F), según el eje correspondiente a la función canónica 1. Esta función canónica presenta un coeficiente de correlación de 86,42% con la variable Color, lo que explica fácilmente la distribución de las muestras en el espacio estadístico, si tenemos en cuenta los resultados obtenidos para esta variable en la Tabla 1. Aún así, las distancias estadísticas no son muy grandes, tal como se aprecia en la escala de las coordenadas canónicas, donde se sitúan todas las muestras.

Las funciones canónicas 2 y 3 no permiten la diferenciación entre los diferentes orígenes y especies de madera de roble español. La función canónica 2 presenta una alta correlación con las concentraciones de elagitaninos totales y polifenoles totales, con coeficientes de 82,73 y 73,49%, respectivamente. A pesar de estos elevados coeficientes de correlación, no es posible distinguir ninguno de los grupos de muestras, respecto de los otros. La función canónica 3, se correlaciona principalmente con los valores de elagitaninos totales, con un coeficiente de 47,24%. Según esta función canónica, todas las muestras presentan valores para sus coordenadas canónicas entre 2 y -2, excepto dos muestras de Salamanca (A), y tres muestras de León / Palencia (D).

De estos resultados puede deducirse que la madera verde de *Q. pyrenaica*, de las diferentes regiones de procedencia estudiadas, tiene una composición de taninos y polifenoles muy similar entre sí, y similar a su vez a la de la madera de *Q. petraea* de Navarra. Estos resultados confirman los obtenidos en el análisis pormenorizado de los polifenoles derivados de la lignina y elagitaninos individualizados, por HPLC, presentados en este congreso (SANZ *et al.*, 2005). Según estos resultados, la madera verde de *Q. pyrenaica* de diversas regiones de procedencia de Castilla y León presenta una composición polifenólica y tánica muy similar entre sí y con la madera de otras especies y procedencias, que se usan habitualmente en la industria de la tonelería.

Estos datos, junto con los de composición en volátiles, nos permitirán conocer el potencial aromático de esta madera, en su interacción con el vino, enmarcándola en el conjunto del potencial aromático de la madera para tonelería.

**Agradecimientos.** Este trabajo ha sido financiado por el Centro de Servicios y de Promoción Forestal y de su Industria de Castilla y León (CESEFOR); por el MCYT (ahora MEC), con el Proyecto AGL2002-04559-C02-01 ALI y un contrato del Programa Ramón y Cajal.

## BIBLIOGRAFIA

- CADAHÍA, E.; 1996. Estudio de la composición tánica de madera, corteza y hojas de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* y *E. rudis*. Tesis Doctoral. UCM.
- CADAHÍA, E. & FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B.; 2004. Utilización del roble español en el envejecimiento de vinos. Comparación con roble francés y americano. Monografías INIA. Ministerio de Educación y Ciencia: Serie forestal nº 10- 2004.
- FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B.; CADAHÍA, E.; CONDE, E. & GARCÍA-VALLEJO, M. C.; 1996a. Low molecular weight phenolic compounds in Spanish oakwoods. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1507-1511.
- FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B.; CONDE, E.; CADAHÍA, E. & GARCÍA-VALLEJO, M. C.; 1996b. Low molecular weight phenolic compounds in woods of Spanish, French and American oak. *J. Sci. Tech. Tonnellerie* 2, 13-23.
- FERNÁNDEZ DE SIMÓN B; CADAHÍA E; CONDE E & GARCÍA-VALLEJO M C; 1999. Ellagitannins in woods of Spanish, French and American oaks. *Holzforschung* 53, 147-150.
- II INVENTARIO FORESTAL ESPAÑOL, 1999. Ed. DGCONA. Ministerio de Medio Ambiente.
- SANZ, M.; FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B.; BROTO, M.; CADAHÍA, E.; 2005. Caracterización química de la madera de *Quercus pyrenaica* de Castilla y León. En: IV Congreso Forestal Español. Zaragoza, 2005.
- SINGLETON, V.L. & ROSSI, J.A.; 1965. Colorimetry of total phenolics and phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144.

Tabla 1.- Polifenoles y elagitaninos (media  $\pm$  desviación standard) en madera verde de *Q. pyrenaica* de diferentes regiones de procedencia de Castilla y León, y en madera de *Q. petraea* de Navarra.

Región de procedencia	Número de muestras	Polifenoles totales	Color	Elagitaninos totales
3 - Zamora	4	46.8 $\pm$ 22.9ab	0.442 $\pm$ 0.088ab	9.32 $\pm$ 5.29a
4 - León/Palencia	14	57.0 $\pm$ 21.7a	0.424 $\pm$ 0.154ab	14.1 $\pm$ 6.68a
6 - Burgos/Soria	7	55.2 $\pm$ 20.8a	0.468 $\pm$ 0.153ab	11.5 $\pm$ 4.77a
8 - Salamanca	18	52.6 $\pm$ 15.8ab	0.304 $\pm$ 0.07bc	14.0 $\pm$ 5.8a
9 - Avila	3	34.1 $\pm$ 11.0ab	0.555 $\pm$ 0.119a	6.33 $\pm$ 4.35a
11 - Segovia	15	47.3 $\pm$ 12.8ab	0.346 $\pm$ 0.129bc	11.6 $\pm$ 2.8a
Navarra	14	29.1 $\pm$ 8.4b	0.253 $\pm$ 0.050c	8.84 $\pm$ 1.90a

Media y desviación standard ( $x \pm sd$ ) se calcularon con el número de muestras disponibles en cada región de procedencia. Letras diferentes en cada columna de datos indican diferencias significativas con un 95% de nivel de confianza. Polifenoles y Elagitaninos Totales expresados en mg/g de madera; Color= densidad óptica a 420 nm del extracto en Metanol/Agua

Figura 1.- Análisis discriminante canónico de polifenoles y elagitaninos en madera verde de *Q. pyrenaica*, de diferentes regiones de procedencia de Castilla y León (A=región 3; B=región 4; C=región 6; D=región 8; E=región 9; F=región 11) y en madera verde de *Q. petraea* procedente de Navarra (G) (Porcentaje de varianza explicada: 100%. Correlación estructura canónica total: 0.6415 - Can 1-, 0.4370 -Can 2- y 0.2040 -Can 3-. Variables correlacionadas: Can 1: color. Can 2: polifenoles totales y elagitaninos totales. Can 3: elagitaninos totales)

