



RESOLUCIÓN OIV-OENO 572-2017

MONOGRAFÍA SOBRE EL POLIASPARTATO DE POTASIO

LA ASAMBLEA GENERAL,

VISTO el artículo 2, párrafo 2 iv del Acuerdo del 3 de abril de 2001 por el que se crea la Organización Internacional de la Viña y el Vino,

CONSIDERANDO los trabajos del Grupo de expertos “Especificación de los Productos Enológicos”,

CONSIDERANDO la resolución de la OIV OENO-TECHNO 14-543, “Tratamiento con poliaspartato de potasio”,

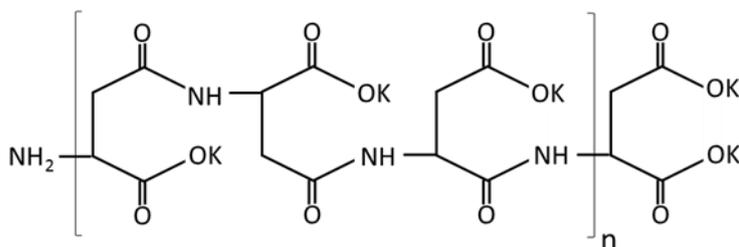
DECIDE completar el Codex Enológico Internacional con la siguiente monografía:

POLIASPARTATO DE POTASIO

Nombre químico: Homopolímero de L-aspartato de potasio o poliaspartato de potasio

Fórmula química: $[C_4H_5NO_3K]_n$

Fórmula estructural:



donde $n \approx 30$

N.º CAS: 64723-18-8

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El poliaspartato de potasio para uso enológico se obtiene exclusivamente a partir de ácido L-aspartico. El ácido L-aspartico, monómero utilizado en el proceso de síntesis, se obtiene por fermentación. Un proceso térmico transforma el ácido L-aspartico monomérico en polisuccinimida, que es un compuesto insoluble. La polisuccinimida se trata con hidróxido de potasio en condiciones controladas para obtener poliaspartato de potasio, que actúa como un coloide protector e impide la

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

precipitación tartárica. El poliaspartato de potasio es eficaz para la estabilización tartárica de los vinos.

2. SINÓNIMOS

Poliaspartato de potasio, A-5D K/SD, A-5D K SD, A-5DK/SD, A-5DK, KPA.

3. ETIQUETADO

En la etiqueta del producto deben constar los siguientes datos:

- el nombre o denominación comercial del producto,
- la mención "Producto para uso enológico, uso restringido",
- los posibles aditivos,
- las instrucciones de uso,
- el número de lote, la concentración de poliaspartato de potasio (pureza), la fecha de caducidad y las condiciones de conservación (temperatura, humedad y aireación),
- el nombre o razón social y la dirección del fabricante, envasador o vendedor,
- el contenido neto,
- la indicación de que el ácido aspártico procede de organismos modificados genéticamente y, dado el caso, el carácter modificado.

4. CARACTERIZACIÓN

4.1 Descripción

Polvo marrón claro, inodoro y con un 90 % de extracto seco. Es muy soluble en agua (> 1000 g/L), pero no en disolventes orgánicos (< 5 g/L). Se conserva durante cuatro años a temperatura ambiente.

4.2 Fórmula química

El poliaspartato de potasio es un polímero formado por unidades de ácido L-aspártico. Su fórmula general es la siguiente: $[C_4H_5NO_3K]_n$, donde n representa el grado medio de polimerización ($n \approx 30$).

4.3 Grado de sustitución

El grado de sustitución de la sal de potasio debe ser, como mínimo, del 91,5 % (referido a la sustancia anhidra) para que la solubilidad sea óptima.

Evaluar el grado de sustitución con el método descrito en el anexo 1.

4.4 Masa molecular

Su masa molecular media, determinada por cromatografía de permeación en gel, es de 5000 g/mol, valor óptimo para la eficacia del producto.

4.5 Composición

La pureza del producto se comprueba comparando la concentración de ácido L-aspártico tras la hidrólisis total del polímero con la concentración teórica de monómero del poliaspartato de

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

potasio, calculada a partir de su fórmula molecular. Consultar la descripción del método en el anexo 2.

La concentración de sustancia anhidra del poliaspartato de potasio debe ser, como mínimo, del 98 %.

5. ENSAYOS

5.1 Concentración de ácido L-aspártico libre en el poliaspartato de potasio

La concentración de ácido L-aspártico libre debe ser $\leq 2,0$ %.

La determinación se realiza según el método descrito en el anexo 3.

5.2 Humedad - Pérdida por desecación

Determinar la pérdida de masa de un gramo de producto seco desecado en una estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12-24 horas. La masa no debe variar (pérdida de masa inferior al 10 %).

5.3 Concentración de metales

Antes de determinar los metales, someter la muestra a una mineralización por digestión ácida (HNO_3 , H_2O_2 y HCl). La mineralización se lleva a cabo en un horno de microondas. No hay que triturar ni desecar la muestra antes de la mineralización.

Los reactivos empleados en la mineralización son los siguientes: HNO_3 (65 %) (Suprapur o similar), HCl (37 %) (Suprapur o similar) y H_2O_2 (35 %).

Poner la muestra de poliaspartato (entre 0,5 g y 2 g) en un matraz aforado de 100 mL y añadir 25 mL de HNO_3 , 2 mL de HCl y 3 mL de H_2O_2 . Someter a digestión en un horno de microondas con una potencia máxima de 1200 W: 1 min a una potencia del 60 %, 10 min al 30 %, 3 min al 15 % y 15 min al 40 %. Por último, enrasar con agua bidestilada. Para determinar los metales se analiza la solución resultante.

5.3.1. Hierro

Determinar el hierro según el método descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

La concentración de hierro deberá ser inferior a 10 mg/kg.

5.3.2. Arsénico

Determinar el arsénico según el método descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. La concentración de arsénico deberá ser inferior a 3 mg/kg.

5.3.3. Plomo

Determinar el plomo según el método descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

La concentración de plomo deberá ser inferior a 2 mg/kg.

5.3.4. Mercurio

Determinar el mercurio según el método descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. La concentración de mercurio deberá ser inferior a 1 mg/kg.

5.3.5. Cadmio

Determinar el cadmio según el método descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. La concentración de cadmio deberá ser inferior a 1 mg/kg.

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

ANEXO 1

1. Determinación del grado de sustitución

1.1 Fundamento

Para determinar el grado de sustitución del poliaspartato de potasio comercial se mide la concentración de potasio por ICP-OES.

Para determinar la concentración de potasio se utiliza una curva de calibración obtenida inyectando cinco soluciones con concentraciones distintas de un patrón de referencia.

Para calcular el grado de sustitución, comparar la concentración de potasio medida y la concentración teórica para un 100 % de sustitución.

1.2 Material

- 1.2.1 Matracas aforados de 100 mL (clase A)
- 1.2.2 Cámara de atomización ciclónica, antorcha normal de cuarzo
- 1.2.3 Baño de ultrasonidos
- 1.2.4 Dispositivo de filtración por membrana con un tamaño de poro de 0,45 µm

1.3 Reactivos

- 1.3.1 Ácido nítrico (HNO₃) al 65 %
- 1.3.2 Solución patrón de potasio (K) con una concentración de 10 000 mg/L (solución patrón de potasio ICP/DCP con una concentración de 10 000 µg/mL de HNO₃ al 5 %)
- 1.3.3 Agua bidestilada con una resistividad superior a 10 MΩ·cm
- 1.3.4 Solución acuosa acidificada al 0,5 % de HNO₃ (blanco de calibración) para preparar las soluciones patrón
- 1.3.5 Soluciones patrón preparadas por dilución de la solución madre (apartado 1.3.2).
En el siguiente cuadro se muestran los valores de referencia:

	SP1	SP2	SP3	SP4	SP5
Potasio (mg/L)	200	400	600	1000	2000

1.4 Procedimiento

Disolver el producto objeto de análisis (KPA) en agua destilada.

- 1.4.1 Solución de KPA de 5000 mg/L (a): en un matraz aforado de 100 mL, pesar directamente unos 500 mg (anotar el peso exacto), enrasar con agua bidestilada (1.3.3) y homogeneizar en el baño de ultrasonidos (1.2.3) durante 10 minutos como mínimo. Filtrar con una membrana con un tamaño de poro de 0,45 µm.
- 1.4.2 Preparar una curva de calibración de 5 puntos con las soluciones patrón del apartado 1.3.5.

Para cada solución patrón, medir por triplicado y calcular la media.

Si la concentración excediera del intervalo de la curva de calibración, se debe diluir la muestra para que esté dentro de dicho intervalo.

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

Para calcular el grado de sustitución, comparar la concentración de potasio medida y la concentración teórica para un 100 % de sustitución (v. apartado 1.5).

1.5 Cálculos

El *software* de adquisición de datos calcula la concentración de potasio según la fórmula (a):

$$A = A' \times n \quad (a)$$

donde:

A es la concentración en mg/L de la muestra

A' es la concentración en mg/L de la muestra diluida

n es el factor de dilución

La proporción de potasio de la muestra de KPA, en peso seco, se calcula según la fórmula (b):

$$\% K_{(poidssec)} = A \cdot \frac{100}{w} \cdot \frac{100}{(100 - h\%)} \quad (b)$$

donde:

A es el resultado de la ecuación (a),

w es la cantidad de poliaspartato de potasio en mg/L

h% es el porcentaje de humedad de la muestra

El grado de sustitución (DS_K) se calcula según la fórmula (c):

$$\% DS_K = \frac{\% K_{(poidssec)}}{\frac{MA_K}{MM_{monomèreKPA}} \cdot 100} \quad (c)$$

donde:

MA_K es la masa atómica del potasio

$MM_{monomèreKPA}$ es la masa molecular calculada del monómero de poliaspartato

Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Jean-Marie AURAND

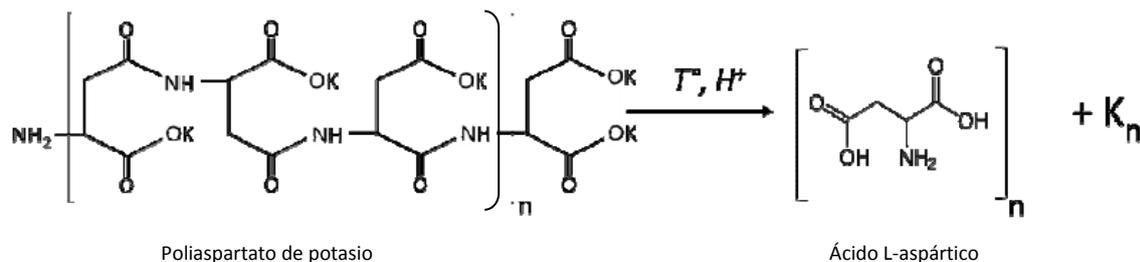
ANEXO 2

2. Determinación de la pureza del poliaspartato de potasio

2.1 FUNDAMENTO

Determinación por HPLC-FLD de la concentración de ácido aspártico libre tras hidrólisis ácida.

Consiste en medir por HPLC la concentración de ácido aspártico libre tras la hidrólisis ácida del KPA. La hidrólisis ácida se lleva a cabo en condiciones que favorezcan la despolimerización total del KPA:



2.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 2.2.1 Placa calefactora, para la hidrólisis ácida
- 2.2.2 Viales de vidrio de 4 mL, de color ámbar y con tapón de rosca
- 2.2.3 Balanza de precisión con una sensibilidad de 0,1 mg
- 2.2.4 Matraces aforados
- 2.2.5 Equipo de HPLC con bomba cuaternaria, muestreador automático, termostato y detector FLD
- 2.2.6 Columna C18, por ej.: Sincronis aQ C18, 4,6 × 250 mm, 5 μ m (Thermo)
- 2.2.7 Dispositivo de filtración por membrana con un tamaño de poro de 0,2 μ m

2.3 REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para la hidrólisis ácida

- 2.3.1 Solución de metabisulfito de potasio ($Na_2S_2O_5$) (n.º CAS 16731-55-8) con una concentración de 10 g/L
- 2.3.2 Ácido clorhídrico (HCl) 6 M
- 2.3.3 Hidróxido de sodio (NaOH) 5 M
- 2.3.4 Agua bidestilada con una resistividad superior a 10 $m\Omega \cdot cm$
- 2.3.5 Poliaspartato de potasio

Para la preparación de la muestra

- 2.3.6 Ácido aminocaproico ($C_6H_{13}NO_2$, n.º CAS: 60-32-2)

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

2.4 PROCEDIMIENTO

El procedimiento consta de tres etapas:

- hidrólisis ácida en caliente de la muestra de poliaspartato de potasio,
- preparación de las muestras para su análisis por HPLC-FLD con soluciones patrón para determinar la concentración de ácido L-aspártico,
- análisis por HPLC del ácido L-aspártico libre tras la hidrólisis (v. anexo 3).

2.4.1 Etapa 1: Hidrólisis ácida

2.4.1.1 En un matraz de 4 mL (2.2.2):

poner 0,2 mL de la solución de metabisulfito de sodio de 10 g/L (2.3.1),
añadir 0,5 g de poliaspartato de potasio, pesados con una precisión de miligramos,
añadir 2 mL de HCl 6 N (2.3.2).

2.4.1.2 Calentar a $108\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 72 horas (2.2.1).

2.4.1.3 Transferir a un matraz aforado de 10 mL, añadir 2,4 mL de NaOH 5 M (2.3.3) y enrasar con agua bidestilada (2.3.4).

2.4.2 Etapa 2: Preparación de la muestra para su análisis por HPLC

2.4.2.1 En un matraz aforado de 20 mL, microfiltrar a $0,20\ \mu\text{m}$ (2.2.7) 5 mL de la mezcla del apartado 2.4.1.3.

2.4.2.2 Añadir 0,2 mL de patrón interno (ácido aminocaproico) (2.3.6)

2.4.2.3 Enrasar con agua bidestilada.

2.4.3 Etapa 3: Análisis de las muestras por HPLC (v. anexo 3)

CÁLCULOS

La concentración de poliaspartato (KPA) se calcula de la siguiente forma:

$\text{KPA (mg/L)} = (\text{ácido L-aspártico hidrolizado} - \text{ácido L-aspártico libre antes de la hidrólisis}) \times f_{\text{KPA}}$

donde f_{KPA} (= 1,15) es el factor de conversión del KPA en ácido aspártico, calculado como el cociente entre la masa molecular del monómero de KPA (masa molecular media de los monómeros de KPA ASDK SD = 154) y la masa molecular del ácido L-aspártico (133,1), según la siguiente ecuación:

$$f_{\text{KPA}} = \frac{MM_{\text{monómero KPA}}}{MM_{\text{ácido aspártico}}} = 1,15$$

donde el ácido L-aspártico libre se determina según el anexo 3.

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

ANEXO 3

3. Determinación del ácido L-aspártico libre

3.1 FUNDAMENTO

La determinación del ácido L-aspártico del poliaspartato de potasio comercial se realiza por HPLC con detector fluorimétrico (FLD), previa derivatización del ácido L-aspártico con *orto*-ftalaldehído (OPA). Para la determinación del potasio se utiliza una curva de calibración que se obtiene inyectando las soluciones patrón de referencia.

3.2 MATERIAL Y EQUIPO

3.2.1 Matracas aforados

3.2.2 Equipo de HPLC con bomba cuaternaria, muestreador automático, termostato y detector FLD

3.2.3 Columna C18, por ej.: Synchronis aQ C18, 4,6 × 250 mm, 5 µm

3.3 REACTIVOS

3.3.1 Ácido aspártico (ácido D,L-aspártico, C₄H₇NO₄ ≥ 99 %, n.º CAS: 617-45-8)

3.3.2 Solución 1: ácido aspártico en agua bidestilada (8000 mg/L)

3.3.3 Solución 2: ácido aspártico en agua bidestilada (200 mg/L)

3.3.4 Ácido aminocaproico (C₆H₁₃NO₂, n.º CAS: 60-32-2)

3.3.5 Solución madre de ácido aminocaproico en agua bidestilada (1000 mg/L)

3.3.6 Soluciones patrón preparadas por dilución de la solución 1 (3.3.2) y de la solución 2 (3.3.3). En el siguiente cuadro se muestran los valores de referencia:

	SP1	SP2	SP3	SP4	SP5	SP6
H ₂ O (mL)	18,8	19,0	15,0	19,750	19,375	18,750
Solución 1 (mL)	-	-	-	0,250	0,625	1,250
Solución 2 (mL)	0,2	1,0	5,0	-	-	-
Ácido L-aspártico (mg/L)	2	10	50	100	250	500

3.3.7 Metanol para HPLC

3.3.8 Tetrahydrofurano para HPLC

3.3.9 Acetato de sodio anhidro (n.º CAS: 127-09-3)

3.3.10 Acetonitrilo (CH₃CN) para HPLC

3.3.11 Tetraborato de sodio decahidratado (Na₂B₄O₇·10H₂O, n.º CAS: 1303-96-4)

3.3.12 *o*-Ftalaldehído (OPA) (C₈H₆O₂ ≥ 99 %, n.º CAS: 643-79-8)

3.3.13 Mercaptoetanol: (C₂H₆OS ≥ 99 %, n.º CAS: 60-24-2)

3.3.14 Agua bidestilada con una resistividad superior a 10 MΩ·cm

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

3.3.15 Solución de derivatización: en un matraz aforado de 10 mL, mezclar 100 mg de OPA, 200 µL de mercaptoetanol, 1 mL de metanol y enrasar con una solución amortiguadora de tetraborato de sodio decahidratado 0,1 M (pH 10,5).

Preparar justo antes de usar, pues se echa a perder en un solo día.

3.4 FASES MÓVILES

3.4.1 [canal A]: agua ultrapura

3.4.2 [canal B]: amortiguador acetato de sodio 0,05 M/tetrahidrofurano (96:4, v/v)

3.4.3 [canal C]: metanol

3.4.4 [canal D]: acetonitrilo

3.5 PROCEDIMIENTO

El método incluye una reacción de derivatización del ácido L-aspartico con *o*-ftaldehído (OPA); la tasa de recuperación de este proceso es del 100 %.

A continuación se indican las condiciones instrumentales:

- temperatura de la columna: 40 °C,
- longitud de onda (λ): FLD Ex 340 nm, Em 450 nm,
- separación en gradiente (v. apartado 3.4, Fases móviles):

Tiempo (min)	% B	% C	% D	Caudal (mL/min)
0,00	100,0	0,0	0,0	1,1
3,00	100,0	0,0	0,0	1,1
15,00	50,0	25,0	25,0	1,1
17,00	84,0	8,0	8,0	1,1
18,00	100,0	0,0	0,0	1,1
Tiempo de desarrollo: 21 min + 2 min de parada				

3.5.1 Para preparar las soluciones patrón, mezclar 5,0 mL de la solución patrón (3.3.6) y 0,2 mL de la solución de patrón interno (3.3.5) en un matraz aforado de 20 mL y enrasar con agua bidestilada y homogeneizar.

3.5.2 Diluir 5,0 µL de la muestra (anexo 2, apartado 2.4.2) con 20 µL de metanol y derivatizar con 0,5 µL de OPA. Mezclar diez veces 10,0 µL de la solución resultante en el inyector e inyectar transcurridos 0,5 min.

3.5.3 Si los valores medidos están por encima del límite superior de la curva de calibración, diluir la mezcla y repetir el análisis.

3.6 CÁLCULOS

La concentración de ácido L-aspartico de la muestra, en mg/L, se calcula según la siguiente fórmula:

$$Y = A \cdot f \cdot d$$

donde:

Y es la concentración de ácido L-aspartico de la muestra, en mg/L

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND

A es el área del pico cromatográfico
 f es el factor de respuesta del pico cromatográfico
 d es el factor de dilución

*Certificado conforme
Sofía, 2 de junio de 2017
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Jean-Marie AURAND