



RESOLUCIÓN OIV-OENO 574-2017

MONOGRAFÍA SOBRE LOS TANINOS: REVISIÓN DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE LOS POLIFENOLES

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,

A propuesta del Grupo de expertos “Especificación de los Productos Enológicos”,

DECIDE reemplazar el apartado 6.9, “Estimación de los fenoles totales”, de la ficha COEI-1-TANINS del Codex Enológico Internacional por el siguiente apartado:

6.9 Estimación de la riqueza en fenoles totales

Para estimar el contenido total de fenoles se utiliza el método descrito en el anexo.

Para los fenoles totales, el resultado debe ser superior al 65 %.

MÉTODO DE ESTIMACIÓN DEL PORCENTAJE DE POLIFENOLES TOTALES

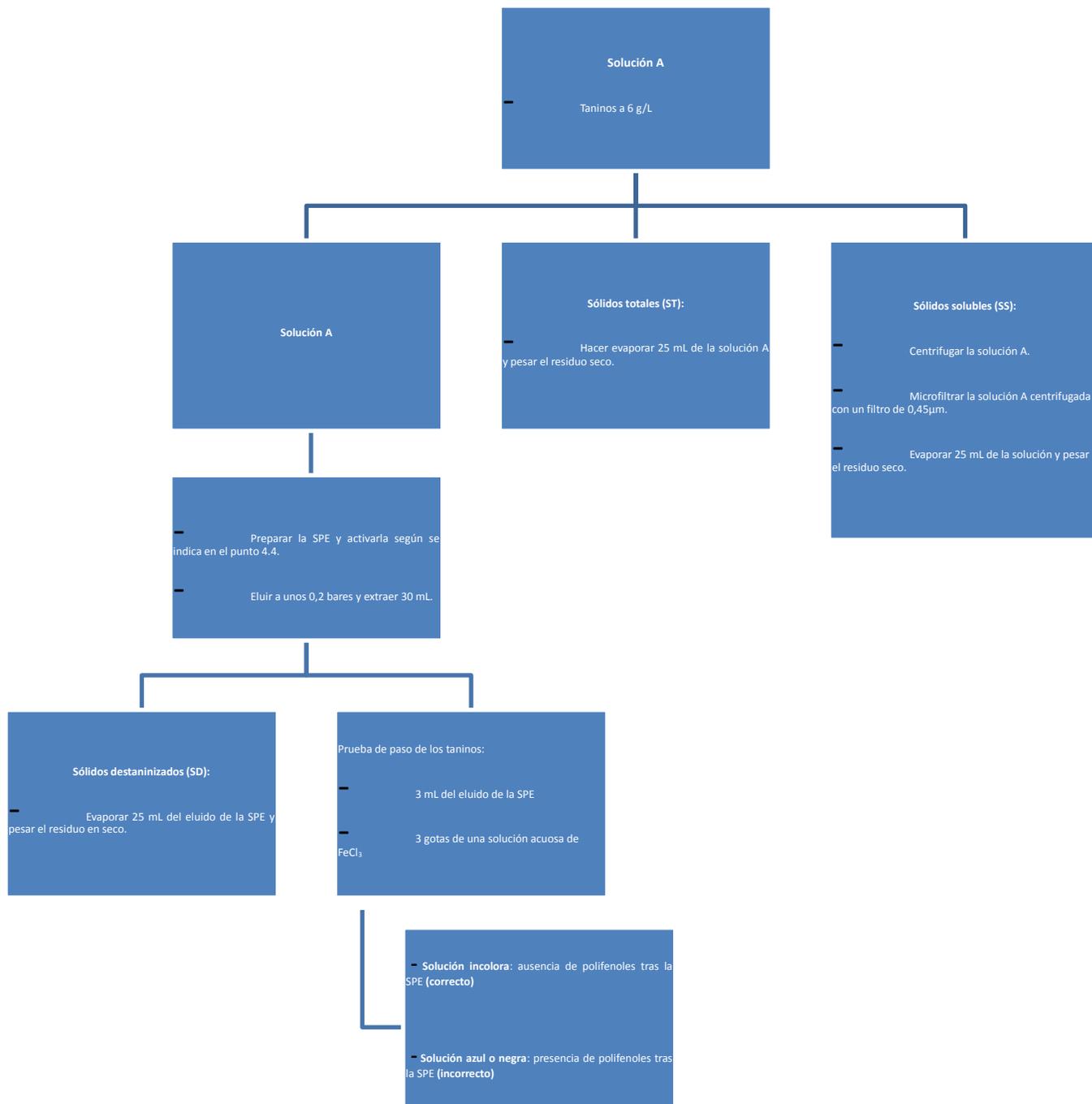
1. FUNDAMENTO

Este método, basado en un análisis gravimétrico mediante extracción en fase sólida o SPE, mide la concentración de polifenoles de las preparaciones de taninos enológicos. Los taninos, en solución acuosa, se adsorben en uno de los polímeros de una columna SPE, en este caso, la polivinilpolipirrolidona, capaz de retener a los polifenoles. Las sustancias que la PVPP no retiene son los compuestos no fenólicos que estaban presentes en la muestra original.

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

Jean-Marie AURAND

A continuación, se recoge el diagrama completo del método:



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

Jean-Marie AURAND

2. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPO

2.1 Reactivos

- 2.1.1 PVPP (polivinilpolipirrolidona, CAS 9003-39-8)
- 2.1.2 Solución acuosa de FeCl₃ (1g/L)
- 2.1.3 Agua bidestilada
- 2.1.4 Etanol (20 % v/v)

2.2 Materiales

- 2.2.1 Platillos de aluminio (70 mL)
- 2.2.2 Tubos desechables de fondo cónico con tapón (50 mL)
- 2.2.3 Columnas SPE (depósito de 70 mL; 150 × 29,75 mm)
- 2.2.4. Filtros para la columna SPE (diámetro de 27 mm – 20µm [PE])
- 2.2.5 Matraz aforado Pyrex® de 1000 mL
- 2.2.6 Probetas de 50 mL de clase A
- 2.2.7 Filtro de membrana de acetato de celulosa de porosidad 0,45 µm; y diámetro de 47 mm
- 2.2.8 Jeringa de plástico de 50 mL
- 2.2.9 Pipetas graduadas de vidrio (2 marcas) de 25 mL de clase A

2.3 Equipo

- 2.3.1 Baño regulado a 20 °C
- 2.3.2 Balanzas técnicas con una precisión de 0,01 g
- 2.3.3 Balanzas analíticas con una precisión de 0,1 mg
- 2.3.4 Horno regulado a 105 °C
- 2.3.5 Horno regulado a 80 °C o baño de María termostático
- 2.3.6 Centrífuga
- 2.3.7 Colector de vacío
- 2.3.8 Material volumétrico de vidrio de clase A
- 2.3.8 Desecador

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

Jean-Marie AURAND

3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

La solución (ver solución A) se utiliza para medir los sólidos totales (ST), los sólidos solubles (SS) y los sólidos destaninizados (SD).

Pesar unos 6 g de taninos en la balanza analítica y anotar el peso. Disolver el tanino en unos 950 mL de agua bidestilada caliente (60-70 °C) en un matraz aforado Pyrex® de 1 litro y agitar bien. Dejar el matraz a temperatura ambiente durante 30 minutos. Enfriar la solución en un baño regulado a 20-22 °C, enrasar con agua bidestilada y mezclar bien.

4. PROCEDIMIENTO

4.1 Medición de sólidos totales (ST)

- Extraer y transferir 25 mL de la solución A a un platillo de aluminio (2.2.1),
- dejar evaporar en un horno regulado a 80 °C hasta que se seque,
- trasladar a un horno regulado a 105 °C, desecar hasta alcanzar un peso constante y pesar el residuo (enfriar los platillos en el desecador antes de pesar).

La fórmula que deberá utilizarse para hacer el cálculo de sólidos totales (ST) es:

$$\%ST = \frac{\text{residuo_sec oST}(g)}{\text{peso_tanino}(g)} \cdot \frac{1000}{(mL)solA} \cdot 100$$

4.2 Medición de sólidos solubles (SS)

- Centrifugar la solución A a 10 000 g durante 5 minutos,
- microfiltrar la solución A centrifugada con un filtro de membrana de 0,45 µm para obtener una solución transparente; a continuación, dejar evaporar 25 mL de la solución en un horno regulado a 80 °C hasta que se seque,
- trasladar a un horno regulado a 105 °C, desecar hasta alcanzar un peso constante y pesar el residuo (enfriar los platillos en el desecador antes de pesar).

La fórmula que deberá utilizarse para hacer el cálculo de sólidos solubles (SS) es:

$$\%SS = \frac{\text{residuo_sec oSS}(g)}{\text{peso_tanino}(g)} \cdot \frac{1000}{(mL)solA} \cdot 100$$

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

Jean-Marie AURAND

4.3 Medición de sólidos indisolubles (SI)

Para calcular la diferencia entre los sólidos totales y los sólidos solubles se utilizará la siguiente fórmula:

$$\%SI = \%ST - \%SS$$

4.4 Medición de sólidos destaninizados (SD)

- Preparar las columnas SPE: introducir el primer filtro, $7,0 \pm 0,1$ g de PVPP, rehidratado con una solución hidroalcohólica al 20 % durante 15 minutos, y el segundo filtro. A continuación, compactar bien la fase estacionaria,
- colocar la columna SPE encima del colector de vacío (ver ejemplo en la figura 1),
- activar la columna con tres lavados (no dejar secar la PVPP y aplicar un vacío de unos 0,2 bares para evitar la compactación del polímero): en primer lugar, lavar con 50 mL de etanol (20 % v/v); a continuación, lavar con 50 mL de agua bidestilada; por último, lavar con 20 mL de la solución A para eliminar los restos de agua de la PVPP,
- añadir 30 mL de la solución A por la parte superior de la columna y transferir 30 mL del eluido (SD, sólidos destaninizados) a un tubo de tipo Falcon de 50 mL; detener la elución cuando el líquido alcance el filtro superior,
- extraer 25 mL del eluido y transferir a un platillo de aluminio,
- dejar evaporar en un horno regulado a 80 °C hasta que se seque,
- trasladar a un horno regulado a 105 °C, desecar hasta alcanzar un peso constante y pesar el residuo (enfriar los platillos en el desecador antes de pesar).

La fórmula que deberá utilizarse para hacer el cálculo de sólidos destaninizados (SD) es:

$$\%SD = \frac{\text{residuo_sec } oSD(g) - B(g)}{\text{peso_tanino}(g)} \cdot \frac{1000}{(mL)solA} \cdot 100$$

donde B es el valor del blanco medido tras la SPE (v. 4.5).

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

Jean-Marie AURAND



Figura 1: Ejemplo de extracción por SPE

Para garantizar la ausencia de polifenoles en el eluido tras pasar por la columna, añadir tres gotas de la solución acuosa de FeCl_3 a 3 mL de la solución de sólidos destaninizados (SD). Si la solución adquiere una tonalidad entre azulada y negra, quiere decir que los polifenoles han pasado por el polímero, por lo que será necesario repetir el análisis y reducir el peso inicial del producto. Si la solución permanece incolora tras el tratamiento, proceder con el análisis gravimétrico.

4.5 Análisis del blanco (B)

Se deberá hacer un análisis del blanco antes de llevar a cabo la elución SPE, a fin de evaluar las posibles interferencias derivadas del proceso analítico. Proceder según se indica a continuación.

- Preparar la columna SPE: introducir el primer filtro, $7,0 \pm 0,1$ g de PVPP, rehidratado con una solución hidroalcohólica al 20 % durante 15 minutos, y el segundo filtro. A continuación, compactar bien,
- colocar la columna SPE encima del colector de vacío (ver ejemplo en la figura 1),
- activar la columna con dos lavados (no dejar secar la PVPP y aplicar un vacío de unos 0,2 bares para evitar la compactación del polímero): en primer lugar, lavar con 50 mL de etanol (20 % v/v); a continuación, lavar con 70 mL de agua bidestilada,
- añadir 30 mL de agua bidestilada por la parte superior de la columna y transferir 30 mL del eluido (blanco para los sólidos destaninizados) a un tubo de tipo Falcon de 50 mL; detener la elución cuando el líquido alcance el filtro superior,

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

Jean-Marie AURAND

- extraer 25 mL del eluido y transferirlos a un platillo de aluminio; a continuación, dejar evaporar en un horno regulado a 80 °C hasta que se seque,
- trasladar a un horno regulado a 105 °C, desecar hasta alcanzar un peso constante y pesar el residuo (enfriar los platillos en el desecador antes de pesar).

5. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Medición del porcentaje de polifenoles totales (% polifenoles):

La fórmula que deberá utilizarse para calcular el porcentaje de taninos es:

$$\% \text{ polifenoles} = \frac{\%SS - \%SD}{\%ST} \cdot 100$$

- Determinación de la idoneidad de la PVPP: CONSULTAR OENO 11/2002 - COEI-1-PVPP: 2007, APARTADO 6.

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

Jean-Marie AURAND