



RESOLUCIÓN OIV-OENO 578-2017

MONOGRAFÍA SOBRE FIBRAS VEGETALES SELECTIVAS

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 los trabajos del Grupo de expertos “Tecnología” en relación con la práctica enológica “Uso de fibras vegetales selectivas en vinos”,

DECIDE completar el Codex Enológico Internacional con la siguiente monografía:

FIBRAS VEGETALES SELECTIVAS

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

Las fibras vegetales selectivas proceden de partes comestibles de algunas plantas, como los cereales. Las fibras vegetales se someten a una serie de tratamientos mecánicos y de extracción con objeto de concentrar el complejo activo sin dañar la estructura de la fibra vegetal. El objetivo es aumentar la capacidad de adsorción.

Las fibras vegetales activadas fijan la ocratoxina A y ciertos residuos de plaguicidas que pueden estar presentes en el vino. Pueden utilizarse durante la filtración de los vinos.

2. ETIQUETADO

En la etiqueta deberán constar los siguientes datos:

- el nombre o la denominación comercial del producto,
- la indicación “producto para uso enológico”,
- el número de lote y la fecha de caducidad,
- las condiciones de conservación,
- el origen y la composición de las fibras,
- el nombre o la razón social del fabricante,
- la dirección del fabricante,
- el contenido neto.

3. CARACTERÍSTICAS

El producto es un polvo muy fino e insoluble.

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

Jean-Marie AURAND

4. COMPOSICIÓN

Las fibras vegetales selectivas contienen como mínimo un 90 % (en masa) de compuestos insolubles de la pared celular (fracción NDF), medidos según el método de Van Soest descrito en el anexo 1.

5. ENSAYOS

5.1 Pérdida por desecación

Poner 5 g del producto en un desecador a 90 °C durante 15 minutos. La pérdida de peso no deberá exceder del 8 % del peso inicial.

Todos los límites que se indican a continuación se refieren al producto seco.

5.2 Cenizas

Incinerar el residuo obtenido en la determinación de la pérdida por desecación, sin sobrepasar los 550 °C.

El peso de las cenizas deberá ser inferior al 1 %.

5.3 Compuestos solubles en agua

Depositar 10 g de fibras vegetales selectivas en un recipiente de 250 mL. Verter 100 mL de agua poco a poco y agitar manualmente al mismo tiempo para obtener una suspensión homogénea. Recoger las fibras vegetales selectivas en un filtro; enjuagar el recipiente con agua destilada para recuperar los restos de fibras vegetales selectivas. Tras 48 horas a una temperatura de 45 °C, la pérdida de compuestos solubles no deberá exceder del 3 % del peso en seco inicial.

5.4 Adsorción de contaminantes

5.4.1 Plaguicidas

La fibra vegetal selectiva deberá tener una capacidad de adsorción (K_F) de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida (boscalida), medida según el método descrito en el anexo 2, de 1000 mg/kg o superior, para una concentración de 2 g/L de fibra vegetal selectiva.

5.4.2 Ocratoxina A

La fibra vegetal selectiva deberá tener una capacidad de adsorción (K_F) de ocratoxina A (OTA), medida según el método descrito en el anexo 3, de 1200 mg/kg o superior, para una concentración de 2 g/L de fibra vegetal selectiva.

5.5 Hierro

Cuantificación por espectrometría de absorción atómica de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

La concentración de hierro deberá ser inferior a 100 mg/kg.

5.6 Cobre

Cuantificación por espectrometría de absorción atómica de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

La concentración de cobre deberá ser inferior a 25 mg/kg.

5.7 Plomo

Cuantificación por espectrometría de absorción atómica de acuerdo con el método que figura en el

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

Jean-Marie AURAND

capítulo II del Codex Enológico Internacional.
La concentración de plomo deberá ser inferior a 5 mg/kg.

5.8 Mercurio

Cuantificación por espectrometría de absorción atómica de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
La concentración de mercurio deberá ser inferior a 1 mg/kg.

5.9 Arsénico

Cuantificación por espectrometría de absorción atómica de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
La concentración de arsénico deberá ser inferior a 1 mg/kg.

5.10 Cadmio

Cuantificación por espectrometría de absorción atómica de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
La concentración de cadmio deberá ser inferior a 1 mg/kg.

5.11 Salmonelas

Se deberá comprobar la ausencia de salmonelas en 25 g de fibras vegetales selectivas.
Proceder al recuento de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

5.12 Control microbiológico

Proceder al recuento de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El contenido de microorganismos viables totales deberá ser inferior a $3 \cdot 10^4$ UFC/g.

5.13 *Escherichia coli*

Proceder al recuento de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
Se deberá comprobar la ausencia en una muestra de 1 g.

5.14 Levaduras

Proceder al recuento de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
Contenido máximo: 10^3 UFC/g de preparación.

5.15 Mohos

Proceder al recuento de acuerdo con el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
Contenido máximo: 10^3 UFC/g de preparación.

*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. Método de análisis de compuestos insolubles de la pared celular (fracción NDF) según el llamado método del crisol (Van Soest)

1.1 Fundamento

Análisis de los componentes de las paredes celulares vegetales (hemicelulosa, celulosa y lignina), previa solubilización de las proteínas y almidones con detergente neutro (ND).

1.2 Material

- 1.2.1 Balanza de precisión con una sensibilidad de 0,001 g
- 1.2.2 Estufa
- 1.2.3 Horno
- 1.2.4 Desecador
- 1.2.5 Crisoles filtrantes (porosidad: 40-100 μm)
- 1.2.6 Equipo Fibertec (o similar), un sistema cerrado semiautomático o automático que permite tratar hasta 6 crisoles al mismo tiempo y automatizar la adición de reactivos y las extracciones con sus correspondientes etapas de ebullición, aclarado y filtración.

1.3 Reactivos

- 1.3.1 α -Amilasa termoestable, por ej.: ref. A3306, Sigma Chemical Co.
- 1.3.2 Solución de detergente neutro (NDS). Para 5 L de solución:
 - laurilsulfato de sodio [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$, peso molecular: 288,4] - 150 g,
 - etilendiaminotetracetato de disodio dihidratado [$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, peso molecular: 372,23] - 93,05 g,
 - tetraborato de disodio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, peso molecular: 381,37) - 34,05 g,
 - hidrogenofosfato de disodio dihidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, peso molecular: 177,99) - 22,8 g,
 - trietilenglicol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$, peso molecular: 150,17) - 50 mL.

1.4 Procedimiento

1.4.1 Fibras insolubles en el detergente neutro

- Preparar los crisoles

Preparar 2 crisoles por cada muestra de fibras vegetales:

(A) Crisol para aislar los componentes insolubles (FND)

Pesar 2 g de fibras vegetales en un crisol limpio y seco.

Anotar el peso con una precisión de 0,001 g (W = peso de la muestra).

(B) Crisol para determinar el contenido de cenizas de la muestra

Pesar 1 g de fibras vegetales en un crisol limpio y seco.

Anotar el peso con una precisión de 0,001 g (W = peso de la muestra).

- Introducir los crisoles en el sistema de tipo Fibertec

Añadir 100 mL de la solución NDS (1.3.2) a cada muestra a temperatura ambiente.

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

Jean-Marie AURAND

Añadir 50 µL de α-amilasa (1.3.1).

Calentar y mantener en ebullición del siguiente modo:

Calentar durante 5-10 minutos hasta la ebullición. En cuanto entre en ebullición, reducir la temperatura y añadir antiespumante (por ej.: ácido octanoico). Regular la temperatura para mantener en ebullición durante 60 minutos.

Pasado este tiempo de extracción, apagar el calefactor y retirar la solución NDS mediante un sistema de aspiración.

- Aclarar y filtrar

Añadir 40 mL de agua caliente (90-100 °C) a cada crisol, agitar/mezclar las muestras y dejar en infusión durante 2 minutos.

Filtrar al vacío.

Repetir la operación 4 veces.

Añadir acetona en todos los crisoles y dejar en infusión durante 2 minutos. Filtrar al vacío.

Repetir la operación 2 veces.

- Sacar los crisoles

Crisol A: aclarar dos veces con agua caliente (90-100 °C) y dejar 12 horas a 105 °C.

Crisol B: dejar 12 horas a 105 °C, enfriar en el desecador y pesar.

[W1 = crisol + fracción FND + cenizas totales (TA)].

Dejar 3 horas a 500 °C, enfriar en el desecador y pesar.

[W4 = crisol + cenizas totales (TA)].

1.4.2 Determinar el contenido de extracto seco (ES)

Pesar un vidrio de reloj con una precisión de 0,001 g (W_{DM})

Pesar con la misma precisión 2 g de fibras vegetales en un vidrio de reloj limpio y seco (W_2 = peso antes del secado)

Colocar el vidrio de reloj a 105 °C durante 16 horas, dejar enfriar en el desecador y pesar (W_3 = peso tras el desecado)

1.5 Cálculos

1.5.1 Determinar el extracto seco (ES)

$$ES (\%) = \frac{W_3 - W_{DM}}{W_2} \times 100$$

1.5.2 Determinar la fracción de las fibras insoluble en el detergente neutro (FND)

$$FND (\%) = \frac{(W_1 - W_4)}{W \times \frac{\% ES}{100}} \times 100$$

*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 capacidad de adsorción de plaguicidas de las fibras vegetales

2.1 Fundamento

Se trata de determinar la capacidad de adsorción de las fibras vegetales selectivas para un fungicida de uso vitícola conocido comercialmente como “Boscalid”.

Nombre químico (IUPAC): 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida

Fórmula química: C₁₈H₁₂Cl₂N₂O

N.º CAS: 188425-85-6

El método propuesto se basa en la isoterma de Freundlich.

2.2 Medidas de precaución

Los plaguicidas pueden ser tóxicos y su manipulación exige tomar medidas de precaución que garanticen la seguridad de los analistas, en particular, cuando prepararen las soluciones madre a partir de los patrones analíticos puros. Los operarios deben protegerse las manos, los ojos y manipular los productos en una campana de extracción.

2.3 Material

2.3.1 Material de vidrio de laboratorio (matraces aforados, pipetas y frascos)

2.3.2 Balanza de precisión con una sensibilidad de 0,001 g

2.3.3 Agitador magnético

2.3.4 Centrífuga

2.4 Reactivos

2.4.1 Patrón analítico de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida, en polvo, pureza > 99 %

2.4.2 Acetona para análisis de residuos

2.4.3 Preparación de las soluciones patrón de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida:

2.4.3.1 - Solución madre de 1000 mg/L de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida en acetona: disolver exactamente 50 mg de patrón analítico puro en polvo en 50 mL de acetona. Se puede conservar la solución madre a -20 °C durante un año como máximo.

2.4.3.2 - Soluciones de trabajo de 100, 10 y 1 mg/L de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida en acetona: hacer diluciones sucesivas de la solución madre con acetona. Se pueden conservar las soluciones de trabajo a -20 °C durante seis meses como máximo.

2.5 Procedimiento

Las condiciones de preparación de los vinos testigo y de los vinos de ensayo aparecen resumidas en el cuadro 1, que figura a continuación.

2.5.1 Preparación de los vinos testigo

Los vinos testigo se preparan con un vino sin plaguicidas al que se añaden nueve concentraciones

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

Jean-Marie AURAND

crecientes de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida para obtener, por ejemplo, 500 mL de cada vino enriquecido (v. cuadro 1). Para las adiciones se utilizan las soluciones patrón de trabajo (2.4.3.2). Realizar por duplicado. A continuación, se analizan los nueve vinos testigo para medir las concentraciones iniciales de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida.

2.5.2 Preparación de los vinos de ensayo

Se ponen en contacto los nueve vinos enriquecidos con plaguicida (2.5.1) y las fibras vegetales selectivas.

Procedimiento:

Añadir 0,4 g de fibras vegetales selectivas a una pequeña cantidad de vino testigo enriquecido con 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida, verter la mezcla en un matraz aforado de 200 mL y enrasar a 200 mL con el mismo vino (la concentración de fibra vegetal es de 2 g/L).

Poner en un frasco cerrado y dejar el vino en contacto con las fibras vegetales durante 45 minutos con agitación magnética. Centrifugar durante 5 minutos a 4500 rpm (3600 g). Separar el sobrenadante del sedimento y analizar el sobrenadante para determinar la concentración de residuos de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida. Repetir esta operación con los nueve vinos testigo enriquecidos con 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida (2.5.1). Realizar por duplicado.

*Cuadro 1. Resumen de las condiciones para la determinación de la capacidad de adsorción de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida*

| | |
|---|---|
| Tiempo de contacto | 45 minutos |
| Vino empleado en los ensayos | Vino sin plaguicidas (análisis previo) |
| Fibras vegetales selectivas | A razón de 2 g/L en los vinos de ensayo Ausentes en los vinos testigo |
| Molécula de plaguicida analizada | 2-cloro- <i>N</i> -(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida (nombre común: boscalid) |
| Concentraciones de 2-cloro- <i>N</i> -(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida añadidas | 5 µg/L 15 µg/L 30 µg/L 60 µg/L 120 µg/L 240 µg/L 480 µg/L 960 µg/L 1500 µg/L |
| Número de repeticiones | 2 |
| Centrifugación - parámetros | Temperatura ambiente 5 minutos a 4500 rpm (aprox. 3600 g) |
| Método de análisis de los residuos de 2-cloro- <i>N</i> -(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida | Determinación de los residuos de plaguicidas en el vino mediante el método de extracción QuEChERS (OIV-MA-AS323-08, método de tipo II) y análisis de los extractos por UPLC/MS/MS |

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

Jean-Marie AURAND

2.6 Cálculos

La capacidad de adsorción de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida se calcula mediante la siguiente ecuación de Freundlich:

$$C_{Ads} = K_F \times C_{Res}^{1/n}$$

O con la forma lineal de la misma ecuación: $\text{Log } C_{Ads} = 1/n \text{ Log } C_{Res} + \text{Log } K_F$

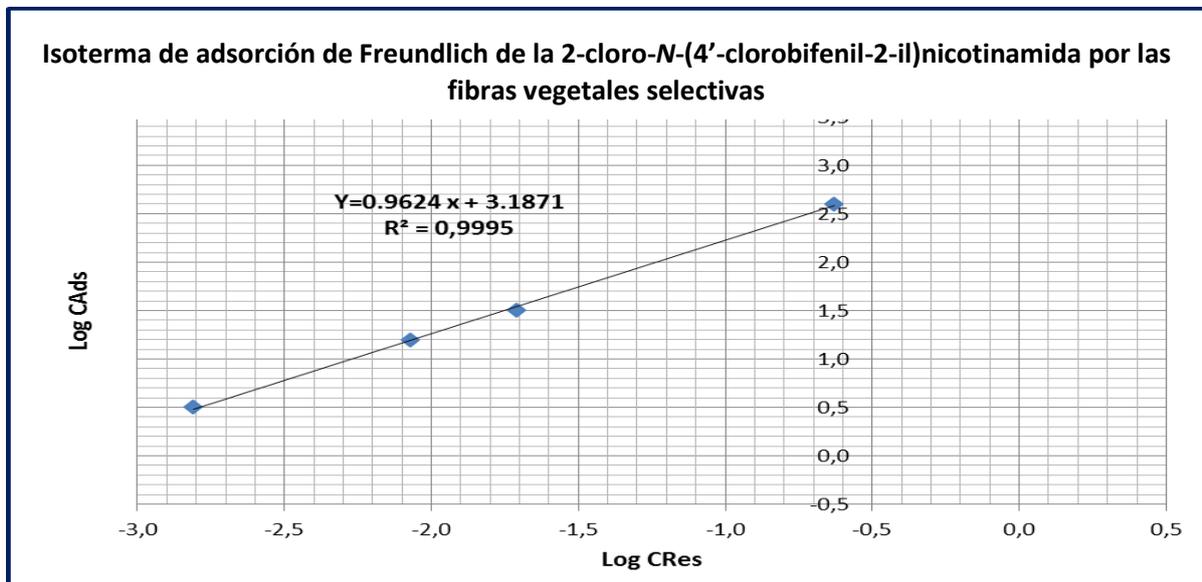
siendo K_F = capacidad de adsorción de la molécula por la fibra vegetal selectiva, en $\mu\text{g/g}$ de fibra
 n = la afinidad de la fibra vegetal selectiva por la molécula
y donde:

- **CRes = concentración residual en $\mu\text{g/mL}$** de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida, medida en el vino tras el contacto con las fibras vegetales selectivas
- **CAds = concentración adsorbida en $\mu\text{g/g}$** de fibras vegetales selectivas
 - o CAds en $\mu\text{g/g}$ = CAds en $\mu\text{g/L}$ / 2 [puesto que la concentración de adsorbente (fibras) es de 2 g por litro de vino]
 - o **CAds en $\mu\text{g/L}$ = concentración inicial en $\mu\text{g/L}$** medida en el vino testigo enriquecido antes del contacto con las fibras vegetales selectivas – **CRes en $\mu\text{g/L}$**

A partir de las concentraciones residuales medidas ($\mu\text{g/L}$), se calculan las concentraciones adsorbidas ($\mu\text{g/L}$) de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida para cada concentración inicial y se representa la recta de regresión **$\text{Log } C_{Ads} = 1/n \text{ Log } C_{Res} + \text{Log } K_F$** .

A partir de la isoterma de adsorción de Freundlich de plaguicida por la fibra vegetal selectiva se pueden calcular las dos constantes de Freundlich: la capacidad de adsorción en $\mu\text{g/g}$ (K_F) y la afinidad de la fibra por el plaguicida (n). Con la ecuación de la recta $y = ax + b$ se obtienen la pendiente $a = 1/n$ y $b = \text{Log } K_F$.

*Ejemplo: isoterma de Freundlich para la 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida*



En el ejemplo anterior:

$b = \text{Log } K_F = 3,1871$, por lo tanto $K_F = 10^b = 1538,54$

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

Jean-Marie AURAND

$a = 1/n = 0,9624$, por lo tanto $n = 1/a = 1,04$

La afinidad (n) de la fibra vegetal selectiva por la 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida es de 1,04; la capacidad de adsorción (KF) de 2-cloro-*N*-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida por la fibra vegetal selectiva es de 1538,54 $\mu\text{g/g}$ o mg/kg de fibra.

ANEXO 3

3. Determinación de la capacidad de adsorción de ocratoxina A por las fibras vegetales

3.1 Fundamento

Se trata de determinar la capacidad de adsorción que presentan las fibras vegetales selectivas para una micotoxina:

Nombre comercial: Ocratoxina A (OTA)

Nombre químico (IUPAC): *N*-{[(3*R*)-5-cloro-8-hidroxi-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1*H*-isocromen-7-il]carbonil}-*L*-fenilalanina

Fórmula química: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClNO}_6$

N.º CAS: 303-47-9

El método propuesto se basa en la isoterma de Freundlich.

3.2 Medidas de precaución

La ocratoxina A es una toxina catalogada por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) como posiblemente cancerígena para el ser humano (grupo 2B). Su manipulación exige tomar medidas de precaución que garanticen la seguridad de los analistas, en particular, cuando preparen las soluciones madre a partir de los patrones analíticos puros. Los operarios deben protegerse las manos, los ojos y manipular los productos en una campana de extracción.

3.3 Material

- 3.3.1 Material de vidrio de laboratorio (matraces aforados, pipetas, frascos)
- 3.3.2 Balanza de precisión con una sensibilidad de 0,001 g
- 3.3.3 Agitador magnético
- 3.3.4 Centrifuga

3.4 Reactivos

- 3.4.1 Patrón analítico de ocratoxina A (OTA), en polvo, pureza > 99 %
- 3.4.2 Tolueno, metanol y etanol puros para HPLC
- 3.4.3 Amortiguador acetato de sodio pH 5,2, 0,1 mol/L: disolver 13,061 g de acetato de sodio trihidratado con 900 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 5,2 con ácido acético y enrasar a 1000 mL con agua destilada.
- 3.4.4 Preparación de las soluciones patrón de ocratoxina A:

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

Jean-Marie AURAND

3.4.4.1- Solución madre de 50 mg/L en la mezcla de tolueno y ácido acético: disolver exactamente 5 mg de ocratoxina pura (3.4.1) en 100 mL de la mezcla de tolueno y ácido acético (99:1, v/v). Se puede conservar la solución madre a –20 °C durante un año como máximo.

3.4.4.2 - Solución de trabajo de 20 mg/L en metanol: evaporar con corriente de nitrógeno una alícuota (20 mL) de solución madre y volver a disolver en 50 mL de metanol puro. Se puede conservar la solución de trabajo a –20 °C durante seis meses como máximo.

3.4.4.3 - Soluciones de adición de 10, 5 y 2 mg/L en etanol: hacer diluciones sucesivas de la solución de trabajo con etanol puro. Se pueden conservar las soluciones de trabajo a –20 °C durante dos meses como máximo.

3.5 Procedimiento

Las condiciones de preparación de las soluciones testigo y de las soluciones de ensayo aparecen resumidas en el cuadro 2, que figura a continuación.

3.5.1 Preparación de las soluciones testigo

Las soluciones testigo se preparan con una solución amortiguadora de acetato de sodio a pH 5,2 (3.4.3) a la que se añaden nueve concentraciones crecientes de ocratoxina A para obtener, por ejemplo, 50 mL de cada solución testigo enriquecida (v. cuadro 2). Para las adiciones se utilizan las soluciones de adición (3.4.4.3). Realizar por duplicado. A continuación, se analizan las nueve soluciones testigo para medir las concentraciones iniciales de ocratoxina A.

3.5.2 Preparación de las soluciones de ensayo

Se ponen en contacto las nueve soluciones enriquecidas con OTA (3.5.1) y las fibras vegetales selectivas.

Procedimiento:

Añadir 0,05 g de fibras vegetales selectivas a una pequeña cantidad de solución amortiguadora de acetato de sodio a pH 5,2 enriquecida con OTA, verter la mezcla en un matraz aforado de 25 mL y enrasar a 25 mL con la misma solución amortiguadora (la concentración de fibra vegetal es de 2 g/L). Dejar en contacto 45 minutos con agitación. Centrifugar las suspensiones y separar el sobrenadante del sedimento de fibras. Repetir esta operación con las nueve soluciones testigo enriquecidas con ocratoxina A (3.5.1). Analizar el sobrenadante por HPLC para determinar la concentración de residuos de ocratoxina A. Realizar por duplicado.

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

Jean-Marie AURAND

Cuadro 2. Resumen de las condiciones para la determinación de la capacidad de adsorción de OTA

| | |
|--|--|
| Tiempo de contacto | 45 minutos |
| Amortiguador empleado en los ensayos | Acetato de sodio (pH 5,2) |
| Fibras vegetales selectivas | A razón de 2 g/L en las soluciones de ensayo Ausentes en las soluciones testigo |
| Concentraciones de ocratoxina A añadidas | 2 µg/L 5 µg/L 20 µg/L 125 µg/L 450 µg/L 900 µg/L 2000 µg/L 5000 µg/L 10 000 µg/L |
| Número de repeticiones | 2 |
| Centrifugación - parámetros | Temperatura ambiente 2-3 minutos a 10 000 rpm (aprox. 13 000 g) |
| Método de análisis de la ocratoxina A | Determinación de la ocratoxina A en el vino mediante columna de inmunoafinidad (OIV-MA-AS315-10) y análisis por HPLC con detección fluorimétrica |

3.6 Cálculos

La capacidad de adsorción de ocratoxina A se calcula mediante la siguiente ecuación de Freundlich:

$$C_{Ads} = K_F \times C_{Res}^{1/n}$$

O con la forma lineal de la misma ecuación: $\text{Log } C_{Ads} = 1/n \text{ Log } C_{Res} + \text{Log } K_F$

siendo K_F = capacidad de adsorción de la molécula por la fibra vegetal selectiva, en µg/g de fibra

n = la afinidad de la fibra vegetal selectiva por la molécula

y donde:

- **CRes = concentración residual en µg/mL** de ocratoxina A, medida en la solución de ensayo tras el contacto con las fibras vegetales selectivas
- **CAds = concentración adsorbida en µg/g** de fibras vegetales selectivas
 - o CAds en µg/g = CAds en µg/L / 2 [puesto que la concentración de adsorbente (fibras) es de 2 g por litro de solución amortiguadora]
 - o **CAds en µg/L = concentración inicial en µg/L** medida en la solución testigo antes del contacto con las fibras vegetales selectivas – **CRes en µg/L**

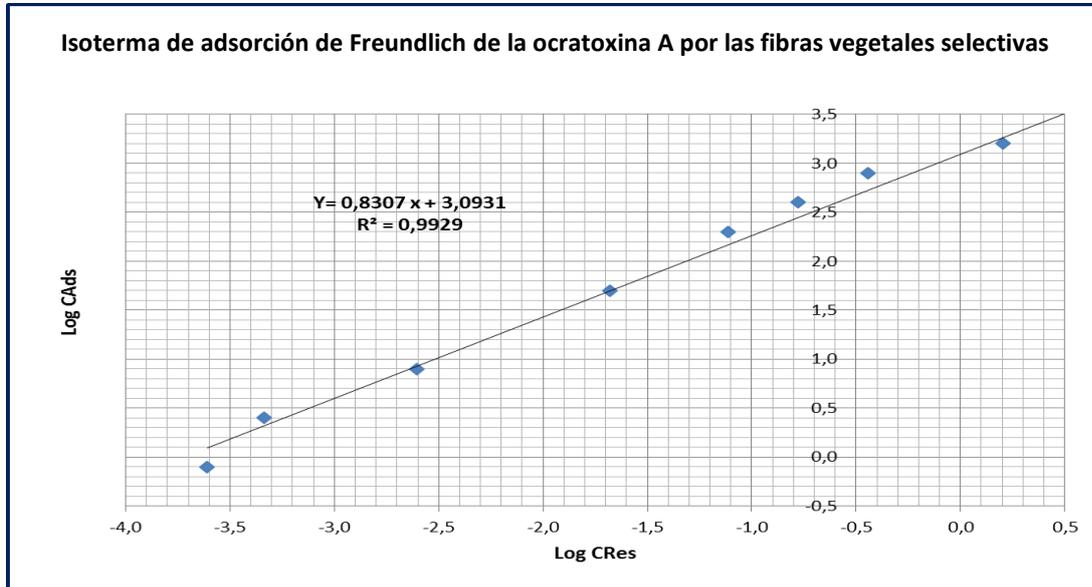
A partir de las concentraciones residuales medidas (µg/L), se calculan las concentraciones adsorbidas (µg/L) de ocratoxina A para cada concentración inicial y se representa la recta de regresión **Log CAds = 1/n Log CRes + Log Kf**. A partir de la isoterma de adsorción de Freundlich de ocratoxina A por la fibra vegetal selectiva se pueden calcular las dos constantes de Freundlich: la capacidad de adsorción

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

Jean-Marie AURAND

en $\mu\text{g/g}$ (K_F) y la afinidad de la fibra por la ocratoxina A (n). Con la ecuación de la recta $y = ax + b$ se obtienen la pendiente $a = 1/n$ y $b = \text{Log } K_F$.

Ejemplo: isoterma de Freundlich para la ocratoxina A



En el ejemplo anterior:

$b = \text{Log } K_F = 3,0931$, por lo tanto $K_F = 10^b = 1239,21$

$a = 1/n = 0,8307$, por lo tanto $n = 1/a = 1,2$

La afinidad (n) de la fibra vegetal selectiva por la ocratoxina A es de 1,2;

la capacidad de adsorción (K_F) de ocratoxina A por la fibra vegetal selectiva es de 1239,21 $\mu\text{g/g}$ o mg/kg de fibra.

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

Jean-Marie AURAND