

## RESOLUCIÓN OIV-OENO 624-2022

# ACTUALIZACIÓN DE LA MONOGRAFÍA SOBRE LOS TANINOS ENOLÓGICOS

*ADVERTENCIA: Esta resolución anula las siguientes resoluciones: OENO 12/2002, OENO 5/2008, OENO 6/2008, OIV/OENO 352/2009, OIV-OENO 574-2017 y OIV-OENO 554-2015*

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”,

DECIDE, a propuesta de la Comisión II “Enología”, remplazar la Monografía COEI-1-TANINS del Codex Enológico Internacional por la siguiente:

## TANINOS ENOLÓGICOS

### 1. Aspectos generales

Los taninos enológicos contienen polifenoles. Su compleja estructura se debe a que suelen estar formados por una gran variedad de unidades monoméricas, unidas por enlaces covalentes.

En general, proceden de distintas partes de especies vegetales y se extraen mediante los disolventes autorizados por la normativa vigente. Según la naturaleza de sus unidades monoméricas, se clasifican en dos grandes grupos: los taninos hidrolizables y los taninos condensados o *proantocianidínicos*. Además de taninos de ambos grupos, en los preparados de taninos pueden aparecer las propias unidades monoméricas (flavano3poles, ácido gálico y ácido elágico, por ejemplo).

Los taninos hidrolizables son una clase heterogénea en el que se distinguen dos subclases:

- los galotaninos, o taninos gálicos, están formados por unidades de glucosa o ácido quínico esterificadas con una o varias moléculas de ácido gálico o sus dépsidos,

- los elagitaninos, o taninos elágicos, están formados por unidades de glucosa esterificadas con una o varias moléculas de ácido elágico o similares, Por otra parte, las unidades glucosídicas pueden estar esterificadas con ácido gálico o sus dépsidos.

La estructura de los taninos hidrolizables varía en función del grado de esterificación y polimerización (1).

Los taninos condensados o proantocianidínicos (subclase de las procianidinas y prodelfinidinas y subclase de las profisetinidinas y prorrobinetidinas) son polímeros de flavan-3-oles. Las unidades de flavan-3-oles pueden tener distinta configuración estereoquímica, distinto grado de hidroxilación y estar o no esterificados con ácido gálico. Dada la gran variedad de unidades monoméricas, enlaces interflavánicos y grados de polimerización, la estructura de las proantocianidinas es muy variable. La reactividad de las proantocianidinas varía mucho en función de la estructura molecular.

Los taninos enológicos se presentan exclusivamente en forma de polvos, gránulos o copos de color beis o beis claro y rojo ladrillo a ocre.

Se pueden disolver en un poco de mosto o vino antes de incorporarlos a la cantidad total de mosto o vino.

## 2. Etiquado

En la etiqueta deben constar los siguientes datos:

- el origen botánico (roble, quebracho...),
- el grupo al que pertenecen (hidrolizables o condensados),
- la subclase (galotaninos, prodelfinidinas...),
- el número de lote y la fecha de caducidad,
- el contenido mínimo de polifenoles totales (de conformidad con el método del anexo 1),
- la(s) función(es) tecnológica(s),
- si el preparado de taninos es una mezcla de taninos de distintas clases o subclases de taninos, las clases o subclases de taninos y sus funciones tecnológicas,

- la dosis recomendada y las condiciones de utilización,
- las condiciones de conservación para garantizar su estabilidad,
- la eventual presencia de residuos potencialmente alergénicos,
- dado el caso, la indicación de que los taninos enológicos proceden de organismos vegetales genéticamente modificados.

### **3. Taninos enológicos admitidos**

Con arreglo a las fichas del Código de Prácticas Enológicas, se admiten los taninos enológicos descritos en el capítulo 1 que presenten propiedades demostradas y medibles, tengan un interés tecnológico debidamente probado en la práctica y cumplan todas las condiciones y criterios mencionados a continuación.

Los taninos enológicos empleados no deben:

- liberar sustancias en concentraciones que puedan implicar riesgos para la salud,
- suponer un fraude por adición de aroma o color,
- menoscabar la calidad de los productos elaborados,
- producir cambios en el perfil organoléptico conocido de los vinos (aromatización).

## **4. Funciones y propiedades de reactividad de los taninos enológicos**

### **4.1. Reactividad**

Los taninos podrían intervenir en numerosas reacciones en el vino. La reactividad de los taninos enológicos está directamente relacionada con la especificidad de su estructura química, como también depende de las operaciones técnicas de elaboración (técnicas de extracción, concentración, fraccionamiento, etc.), que influyen en el contenido de polifenoles (y, por tanto, en el grado de pureza), así como en la proporción de grupos funcionales libres. El tipo de vegetal determina la(las) clase(s) o subclase(s) a las que pertenecen.

## 4.2. Propiedades y funciones de los taninos

Las funciones de los taninos enológicos guardan una relación directa con sus propiedades. Se deben utilizar los métodos de análisis más avanzados para determinar las funciones de los taninos, preferiblemente validados según las normas internacionales pertinentes.

En el cuadro siguiente se recogen las propiedades y aplicaciones enológicas, algunas demostradas y otras por demostrar.

Propiedades teóricas	Posibles aplicaciones enológicas
Reactividad con las proteínas	Coadyuvante de clarificación
Reactividad con el oxígeno	Antioxidante
Quelación del hierro	Reducción del contenido de hierro
Polimerización	Estabilización del color
Formación de complejos	Estabilización del color
Actividad Anti-lacasa	Inhibición de la actividad lacasa
Acción microbiológica	
Efecto antibacteriano	Estabilidad microbiológica, reducción del uso de SO <sub>2</sub>

Las propiedades y sus correspondientes aplicaciones enológicas se tratarán en monografías específicas por clases y/o subclases de taninos, donde se especificarán los métodos de medición.

## 4.3. Estimación del contenido de polifenoles totales

La concentración de polifenoles totales de los preparados de taninos enológicos se mide según el método descrito en el anexo 1.

El contenido de polifenoles totales debe ser superior o igual al 65% y no se requiere una concentración máxima.

## 5. Propiedades físicas

### 5.1. Materias insolubles

Preparar una solución con 5 mg de tanino y 100 mL de agua bidestilada a temperatura ambiente. Agitar 15 min. A continuación, filtrar esta solución con una membrana de 0,8 µm previamente pesada. Evaporar y secar la membrana a 100-105 °C. Pesar la membrana. El contenido de materia insoluble no debe ser superior al 5% p/p.

Alternativamente, se podrá utilizar el procedimiento descrito en el método de estimación del contenido de polifenoles totales (apartado 4.3 del anexo 1).

### 5.2. Pérdida por desecación

Desecar una porción de ensayo de 2 g en una estufa a 100-105 °C hasta peso constante (2 horas). La pérdida de masa debe ser inferior al 10%.

## 6. Límites máximos de contaminantes

Los taninos enológicos deben haberse fabricado de conformidad con las buenas prácticas de fabricación. Algunos límites de contaminantes, en particular los relativos a los metales pesados, pueden variar en función del origen vegetal (p. ej., el contenido de hierro de los taninos de castaño).

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

### 6.1. Pentaclorofenol

Analizar según el método que figura en el Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de Vinos y Mostos. La concentración deberá ser inferior a 1 µg/kg.

### 6.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) totales

Suma de benzo(a)pireno, benz(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno y criseno.

Analizar según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. La concentración deberá ser inferior a 30 µg/kg.

### 6.3. Benzo(a)pireno

Analizar según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. La concentración deberá ser inferior a 5 µg/kg.

#### **6.4. Cenizas**

Incinerar progresivamente 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 5%. Una concentración mayor podría indicar que la extracción se ha realizado con disolventes no autorizados.

#### **6.5. Preparación de la solución de ensayo**

Disolver las cenizas obtenidas de 2 g de tanino con 1 mL de ácido clorhídrico diluido (R) y una gota de ácido nítrico concentrado (R). Calentar unos instantes en un baño María a 100°C para garantizar la completa disolución del soluto. Verter en un matraz aforado de 50 mL enjuagando la cápsula con agua destilada y enrasar. La solución de ensayo está lista para dosificar los siguientes elementos.

#### **6.6. Arsénico**

Determinar el arsénico en 0,25 g de tanino según el método de determinación por espectrofotometría de absorción atómica descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional o según el método de ICP/MS descrito en el Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de Vinos y Mostos, previa destrucción de la materia orgánica por vía húmeda. La concentración de arsénico deberá ser inferior a 3 mg/kg.

#### **6.7. Hierro**

A partir de 10 mL de la solución de ensayo preparada como se describe en el apartado 6.5, determinar el hierro mediante espectrometría de absorción atómica según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional o según el método de ICP/MS descrito en el Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de Vinos y Mostos.

La concentración de hierro deberá ser inferior a 50 mg/kg, excepto en el caso de los taninos de castaño, cuya concentración deberá ser inferior o igual a 200 mg/kg.

#### **6.8. Cobre**

Analizar según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional o según el método de ICP/MS descrito en el Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de Vinos y Mostos. La concentración deberá ser inferior a 5 mg/kg.

## 6.9. Plomo

Analizar según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional o según el método de ICP/MS descrito en el Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de Vinos y Mostos. La concentración deberá ser inferior a 5 mg/kg.

## 6.10. Mercurio

Analizar según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional o según el método de ICP/MS descrito en el Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de Vinos y Mostos. La concentración deberá ser inferior a 0,5 mg/kg.

## 6.11. Cadmio

Analizar según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional o según el método de ICP/MS descrito en el Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de Vinos y Mostos. La concentración deberá ser inferior a 0,5 mg/kg.

## 6.12. Salmonelas

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Comprobar su ausencia en una muestra de 25 g de extracto seco.

## 6.13. Coliformes totales

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. La concentración deberá ser inferior a 30 UFC por gramo de extracto seco.

## 6.14. Escherichia coli

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. Comprobar su ausencia en una muestra de 25 g de extracto seco.

## 6.15. Mohos

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. La concentración deberá ser inferior a 100 UFC por gramo de extracto seco.

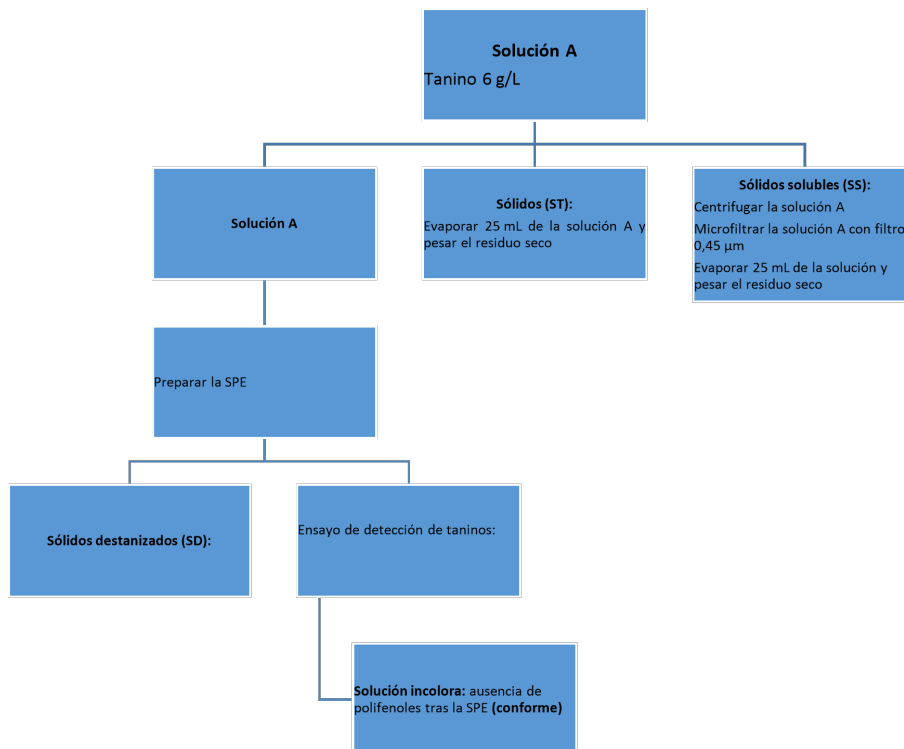
Encyclopaedia health food Pub off 00683

## ANEXO 1: MÉTODO DE ESTIMACIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

### 1. Fundamento

Este método, basado en un análisis gravimétrico mediante extracción en fase sólida (SPE), mide la concentración de polifenoles de los preparados de taninos enológicos. En el interior de una columna de SPE, la polivinilpirrolidona, un polímero capaz de retener los polifenoles, adsorbe los taninos en solución acuosa. Las sustancias no retenidas por la PVPP son compuestos no fenólicos presentes en la muestra de partida.

Este es el diagrama completo del método:





## 2. Reactivos, material y equipo

### 2.1. Reactivos

- 2.1.1. PVPP (polivinilpolipirrolidona de unos 100  $\mu$ m, CAS 9003-39-8)
- 2.1.2. Solución acuosa de FeCl<sub>3</sub> (1g/L)
- 2.1.3. Agua bidestilada
- 2.1.4. Etanol al 20% (v/v)

### 2.2. Material

- 2.2.1. Cápsulas de aluminio (70mL)
- 2.2.2. Tubos desechables de fondo cónico, con tapón (50mL)
- 2.2.3. Columnas para SPE (70mL, 150 $\times$ 29,75mm)
- 2.2.4. Fritas para columna de SPE (diámetro 27mm, 200 $\mu$ m PE)
- 2.2.5. Matraz de vidrio refractario de 1000mL
- 2.2.6. Probetas de 50 mL, clase A
- 2.2.7. Filtro de membrana de acetato de celulosa (0,45  $\mu$ m,  $\varnothing$  47 mm)
- 2.2.8. Jeringa de plástico de 50mL
- 2.2.9. Pipetas de vidrio de doble aforo, 25 mL, clase A

### 2.3. Equipo

- 2.3.1. Baño termostático a 20°C
- 2.3.2. Balanza técnica con una sensibilidad de 0,01g

- 2.3.3. Balanza analítica con una sensibilidad de 0,1 mg
- 2.3.4. Estufa a 105 °C
- 2.3.5. Estufa a 80 °C o, en su defecto, baño termostático
- 2.3.6. Centrífuga
- 2.3.7. Colector de vacío
- 2.3.8. Material volumétrico de vidrio de clase A
- 2.3.9. Desecador

### 3. Preparación de las muestras

La solución (en adelante, solución A) se utiliza para determinar los sólidos totales (ST), los sólidos solubles (SS) y los sólidos destanzados (SD).

Pesar unos 6 mg de taninos en la balanza analítica y anotar el peso. En un matraz de vidrio borosilicatado de 1 L, disolver los taninos con unos 950 mL de agua bidestilada caliente (60-70 °C) y agitar bien. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Enfriar la solución a 20-22 °C en un baño termostático, enrasar con agua bidestilada y mezclar bien.

## 4. Procedimiento

### 4.1. Determinación de los sólidos totales (ST)

Con una pipeta, transferir 25 mL de la solución A a una cápsula de aluminio (2.2.1).

Evaporar a seco en una estufa a 80 °C.

Transferir a una estufa a 105 °C y desecar hasta peso constante. Pesar el residuo (dejar enfriar la cápsula en el desecador antes de pesar).

Para calcular los sólidos totales (ST) se utiliza la siguiente fórmula:

$$\%ST = \frac{\text{residuo seco ST (g)}}{\text{peso taninos (g)}} \cdot \frac{1000}{(\text{mL})\text{solA}} \cdot 100$$

## 4.2. Determinación de los sólidos solubles (SS)

Centrifugar la solución A a 10 000 g durante 5 minutos.

Microfiltrar la solución A centrifugada con un filtro de membrana para obtener una solución transparente. Evaporar a seco 25 mL de la solución en una estufa a 80°C.

Transferir a una estufa a 105°C y desecar hasta peso constante. Pesar el residuo (dejar enfriar la cápsula en el desecador antes de pesar).

Para calcular los sólidos solubles (SS) se utiliza la siguiente fórmula:

$$\%SS = \frac{\text{residuo seco SS (g)}}{\text{peso taninos (g)}} \cdot \frac{1000}{(\text{mL})_{\text{solA}}} \cdot 100$$

## 4.3. Determinación de los sólidos insolubles (SI)

Calcular la diferencia entre los sólidos totales y los sólidos solubles:

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

## 4.4. Determinación de los sólidos destanzados (SD)

- Preparar las columnas de SPE: introducir la primera frita (7,0 g  $\pm$  0,1 g de PVPP), rehidratada durante 15 minutos con una solución hidroalcohólica al 20 %; introducir la segunda frita, y compactar bien la fase estacionaria.
- Colocar la columna de SPE en el colector de vacío (v. figura 1).
- Enjuagar la columna tres veces (no secar la PVPP y aplicar 0,2 bar de vacío para evitar la compactación del polímero): enjuagar primero con 50 mL de etanol al 20 % (v/v), después con 50 mL de agua bidestilada y, por último, con 20 mL de la solución A, para eliminar los restos de agua de la PVPP.
- Introducir 30 mL de la solución A en la columna y recuperar los 30 mL de eluido (SD, sólidos destanzados) en un tubo de fondo cónico Falcon de 50 mL; interrumpir la elución cuando el líquido alcance el nivel de la frita superior.
- Transferir 25 mL del eluido a una cápsula de aluminio.

- Evaporar a seco en una estufa a 80 °C.
- Transferir a una estufa a 105 °C y desecar hasta peso constante. Pesar el residuo (dejar enfriar la cápsula en el desecador antes de pesar).

Para calcular los sólidos destanzados (SD) se utiliza la siguiente fórmula:

$$\%SD = \frac{\text{residuo seco.. } SD(g) - BC(g)}{\text{peso taninos } (g)} \cdot \frac{1000}{(mL)_{solA}} \cdot 100$$

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



*Figura 1. Ejemplo de extracción en fase sólida (SPE)*

Para garantizar la ausencia de polifenoles en el eluido tras pasar por la columna, añadir 3 gotas de la solución acuosa de  $FeCl_3$  a 3 mL de sólidos destanzados (SD) en solución. Si la solución adquiere un color entre azul y negro, los polifenoles han atravesado el polímero. En ese caso, se recomienda repetir el análisis con menos cantidad de producto. Si la solución permanece incolora tras el tratamiento, proceder al análisis gravimétrico.

#### **4.5. Análisis del blanco (BC)**

Realizar un ensayo en blanco antes de la SPE para evaluar las posibles interferencias del procedimiento analítico. Proceder de la siguiente manera:

- Preparar las columnas de SPE: introducir la primera frita ( $7,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$  de PVPP), rehidratada durante 15 minutos con una solución hidroalcohólica al 20 %; introducir la segunda frita, y compactar bien.
- Colocar la columna de SPE en el colector de vacío (v. figura 1).
- Enjuagar la columna dos veces (no secar la PVPP y aplicar 0,2 bar de vacío para evitar la compactación del polímero): enjuagar primero con 50 mL de etanol al 20 % (v/v) y después con 70 mL de agua bidestilada.
- Introducir 30 mL de agua bidestilada en la columna y recuperar los 30 mL de eluido (blanco de sólidos destanzados) en un tubo de fondo cónico Falcon de 50 mL; interrumpir la elución cuando el líquido alcance el nivel de la frita superior.
- Transferir 25 mL del eluido a una cápsula de aluminio. Evaporar a seco en una estufa a 80 °C.
- Transferir a una estufa a 105 °C y desecar hasta peso constante. Pesar el residuo (dejar enfriar las cápsulas en el desecador antes de pesar).

## 5. Expresión de los resultados

Determinación del porcentaje de polifenoles totales (%polifenoles):

Para calcular el porcentaje se utiliza la siguiente fórmula:

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

- Determinación de la idoneidad de la PVPP: consultar OENO 11-2002 - COEI-1-PVPP:2007, apartado 6.