RESOLUCIÓN OIV-OENO 643-2020

MONOGRAFÍA SOBRE MICROESFERAS ADSORBENTES DE ESTIRENO-DIVINILBENCENO

LA ASAMBLEA GENERAL,

VISTO EL ARTÍCULO 2, párrafo 2 b) ii del Acuerdo del 3 de abril de 2001 por el que se crea la Organización Internacional de la Viña y el Vino,

DECIDE completar el Codex Enológico Internacional con la siguiente monografía:

Microesferas adsorbentes de estireno-divinilbenceno

N.o CAS 9003-69-4

1. Objeto, origen y ámbito de aplicación

Las microesferas adsorbentes permiten reducir o eliminar las desviaciones organolépticas de tipo mohoso-terroso por un proceso físico de adsorción.

Las microesferas adsorbentes se introducen en columnas destinadas al contacto con los alimentos para permitir la percolación del mosto o del vino con arreglo a las fichas del Código Internacional de Prácticas Enológicas de la OIV. Adsorben las moléculas causantes del mal olor con un tamaño inferior al de los poros. El efecto deseado se consigue por la combinación del volumen de microesferas de estireno-divinilbenceno, el tamaño de los poros y la velocidad a la que el mosto o el vino atraviesa las microesferas. La elución es muy rápida, al contrario que en el caso de los zumos de frutas tratados con el mismo tipo de microesferas.

2. Composición

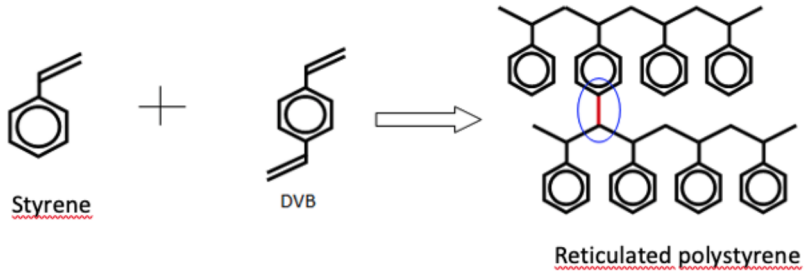
Las microesferas adsorbentes de estireno-divinilbenceno deberán haberse fabricado de conformidad con las buenas prácticas de fabricación a partir de las siguientes sustancias: estireno, etenilbenceno o vinilbenceno (n.o CAS: 100-42-5) y divinilbenceno o dietenilbenceno (n.o CAS: 1321-74-0), dos sustancias aprobadas para su uso en materiales y artículos destinados a entrar en contacto con los alimentos (ver apartado 1 Referencias bibliográficas).

Se obtienen por polimerización del divinilbenceno (DVB) con estireno (o vinilbenceno) como agente reticulante. La concentración inicial de estireno puede variar entre el

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

0,5□% y el 40□%, como máximo.



El copolímero reticulado de estireno-divinilbenceno es completamente insoluble. Constituye la base de la mayoría de las resinas de intercambio iónico y de las membranas de electrodiálisis antes de su modificación.

Las microesferas adsorbentes tienen un tamaño de entre 600□µm y 750□µm, una superficie específica de 700□m2/g o superior y un diámetro de poro de entre 1□nm y 40□nm, como máximo.

Las microesferas adsorbentes de copolímero de estireno-divinilbenceno deberán ser inertes.

El proveedor deberá aplicar a las microesferas adsorbentes un pretratamiento con etanol puro (al 100□% vol.) para eliminar los monómeros residuales. Antes de su uso, se deberán lavar y preparar según las instrucciones del fabricante.

3. Etiquetado

En la etiqueta deberán figurar las características principales, en particular el número de lote, la fecha de caducidad y las condiciones de conservación.

4. Características

Se presentan en forma de microesferas blancas, porosas e inodoras. Se preparan y envasan con entre un 30□% y un 40□% de agua, con o sin cloruro de sodio, para evitar que se sequen.

5. Límites y métodos de ensayo

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

5.1. Aspectos generales

Las microesferas adsorbentes de copolímero de estireno-divinilbenceno o resinas no modificadas que se utilizan para tratar alimentos deberán cumplir los siguientes requisitos:

- No ceder sus componentes a los alimentos en cantidades que puedan poner en peligro la salud de las personas o provocar una modificación inaceptable de la composición de los alimentos o una alteración de sus características organolépticas.
- El fabricante determinará la liberación de sustancias orgánicas liberadas (determinación del carbono orgánico total, COT) y llevará a cabo ensayos de migración de componentes específicos utilizando simulantes alimentarios en las condiciones convencionales de los ensayos de migración. Estos ensayos son obligatorios para obtener la autorización de comercialización de las resinas o microesferas adsorbentes de copolímero de estireno-divinilbenceno o de cualquier material destinado a entrar en contacto con los alimentos.
- Para aplicar las microesferas adsorbentes de copolímero de estireno-divinilbenceno al mosto y al vino es necesario determinar la migración de los componentes específicos de las microesferas con 3 simulantes. La determinación de la migración de los componentes específicos deberá llevarse a cabo con los siguientes simulantes: agua, ácido acético al 3 % (p/v) y etanol al 20 % vol. Se pueden probar concentraciones adicionales para su aplicación a productos concretos (p. ej., vinos de licor).
- El tiempo de contacto de los ensayos de migración será de 4 h, muy superior al tiempo de contacto previsto para el mosto y el vino en las condiciones del tratamiento (varios minutos).

5.2. Determinación del carbono orgánico total (COT)

5.2.1. Reactivos de control

- Agua de ensayo: agua destilada y/o desionizada con una conductividad a 25 °C inferior a 20 μS/cm y un contenido de COT inferior a 0,2 mg/L.

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

5.2.2. Procedimiento

- Preparar una columna y recuperar 100 mL de agua de ensayo. El contenido de COT de este ensayo en blanco (Cb) debe ser inferior a 0,5 mg/L.
- Preparar 100 mL de microesferas adsorbentes, cuyo peso se habrá determinado previamente.
- Mantener la temperatura máxima que pueda darse durante el uso habitual (por ej., 20 °C).
- Introducir 100 mL de agua de ensayo en la columna y añadir poco a poco los 100 mL de microesferas adsorbentes, que deberán quedar sumergidas. Dejar sedimentar y, a continuación, compactar la resina hasta volumen constante golpeando suavemente la columna por los lados.
- Percolar 2 L de agua de ensayo a través de la resina a un flujo de 1000 mL/h.
- Mantener en reposo durante 24 horas.
- Recuperar 5 fracciones sucesivas de 100 mL de agua de ensayo percolada a través de 100 mL de microesferas adsorbentes a un flujo de 500 mL/h.
- Determinar el COT de las 5 fracciones recuperadas y del ensayo en blanco (Cb) en un analizador automático de COT.

5.2.3. Resultados

La suma de los resultados de la determinación del COT de cada fracción menos el COT del ensayo en blanco no debe superar los 10 mg/L (criterios de aceptación).

5.3. Ensayo de migración de componentes específicos: estireno y divinilbenceno

5.3.1. Objetivo

Comprobar que el perfil de impurezas orgánicas o componentes específicos de las microesferas adsorbentes después del pretratamiento del fabricante se ajusta a lo establecido:

- a) Determinar la cantidad total de impurezas orgánicas volátiles (estireno y divinilbenceno) que presentan las microesferas adsorbentes;

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

- b) determinar la proporción de dichas impurezas que puede migrar a una solución con una capacidad de extracción equivalente a la del mosto o el vino (disolventes o simulantes).

5.3.2. Disolventes o simulantes necesarios

Utilizar los siguientes disolventes:

- agua de ensayo: agua destilada y/o desionizada con una conductividad a 25 °C inferior a 20 μS/cm y un contenido de COT inferior a 0,2 mg/L,
- alcohol etílico al 20 % (vol.), mezcla de alcohol etílico puro y agua destilada y/o desionizada,
- ácido acético al 3 %, mezcla de ácido acético con agua destilada y/o desionizada en una proporción de 3:97 (m/m).

5.3.3. Procedimiento

- Por cada simulante, preparar una columna y recuperar 100 mL de agua de ensayo (ensayo en blanco).
- Preparar 100 mL de microesferas adsorbentes, cuyo peso se habrá determinado previamente.
- Mantener la temperatura máxima que pueda darse durante el uso habitual (por ej., 20 °C).
- Introducir 100 mL de agua de ensayo en cada columna y añadir poco a poco 100 mL de microesferas adsorbentes, que deberán quedar sumergidas. Dejar sedimentar y, a continuación, compactar la resina hasta volumen constante golpeando suavemente la columna por los lados.
- Percolar 2 L de agua de ensayo y de cada disolvente o simulante a través de las resinas a un flujo de 1000 mL/h.
- Mantener en reposo durante 4 horas.
- Recuperar 5 fracciones sucesivas de 100 mL de simulante percolado a través de 100 mL de microesferas adsorbentes a un flujo de 500 mL/h.
- Determinar los componentes específicos en las 5 fracciones recuperadas de cada

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

simulante y del agua de ensayo y en el ensayo en blanco según el método que se describe en el anexo 1.

5.3.4. Resultados

Los límites de migración específica (LMS) son los límites de detección analíticos. En el caso del divinilbenceno, LMS = no detectado (ND), sabiendo que el límite de detección es 0,02 mg/kg.

6. Limitaciones de uso

- El tratamiento no deberá cambiar las características organolépticas del vino.
- El tratamiento no deberá modificar de forma notable el color del vino.
- El tratamiento no deberá disminuir de forma significativa la concentración de cationes metálicos del vino.
- El tratamiento no deberá modificar de forma significativa el pH del mosto o el vino.
- La resina no deberá ceder al vino o al mosto sustancias que puedan alterarlos.
- La disminución del grado alcohólico del vino no deberá superar el 0,1 %.
- El operador podrá utilizar agentes acondicionadores y/o regeneradores compuestos de agua y ácidos inorgánicos, bases o sales, a condición de que, antes de introducir el mosto o el vino, se eliminen por completo los agentes acondicionadores y regeneradores enjuagando con agua la resina acondicionada o regenerada.

7. Determinación del volumen de microesferas adsorbentes (volumen de lecho, bv) y del flujo de mosto o vino (bv/h)

Se recomienda realizar ensayos en el laboratorio con objeto de determinar la cantidad de microesferas y el flujo antes de su aplicación a gran escala.

7.1. Material

- Columna de cromatografía de 10 mm de diámetro y 250 mm de longitud, con dos

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

fritas de PTFE de 50 μm de diámetro de poro en los extremos,

- bomba peristáltica,
- 5 L o 10 L de mosto o vino contaminado con geosmina por ensayo,
- microesferas adsorbentes de copolímero de estireno-divinilbenceno.

7.2. Método

Para determinar el flujo óptimo para eliminar la geosmina (BV/h), emplear en el ensayo un volumen de 5 o 10 mL de microesferas (BV) para tratar respectivamente 5 o 10 L de vino o mosto, de modo que la relación entre la resina y el volumen de vino o mosto sea de 1:1000. El flujo óptimo se encuentra entre 150 BV/h y 250 BV/h.

Antes de tratar el mosto, hay que degradar las pectinas que contiene y filtrarlo, de modo que la turbidez sea inferior a 10 NTU. De este modo, se evita que se obstruyan los poros de las microesferas.

- Lavar las microesferas adsorbentes con agua abundante (agua osmotizada), introducirlas en la columna y compactarlas golpeando suavemente la columna.
- Introducir el vino o el mosto en la columna con la bomba peristáltica a un flujo predeterminado. Medir el flujo de salida del vino cada 30 minutos mediante una bureta graduada para comprobar que la resina no se colmate. Tras el tratamiento, medir el SO2 libre y el SO2 total para, en caso necesario, reajustar su concentración en el vino.
- Para comprobar que el tratamiento no tiene efectos negativos sobre el mosto o el vino, analizar los 5 o 10 litros tratados (cuadro 1).

Cuadro1. Análisis que deben realizarse antes y después del tratamiento

-	Tintos	Blancos
Grado alcohólico	X en vino	X en vino
Azúcares residuales	X en vino	X en vino
Azúcares totales	X en mosto	X en mosto

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

Acidez volátil	X	X
Acidez total	X	X
pH	X	X
SO_2 Libre y total	X	X
DO 280 nm	X	X
DO 320 nm	X	X
DO 420 nm o CIELAB	X	X
DO 520 nm or CIELAB	X	
DO 620 nm or CIELAB	X	

Reajustar la cantidad de microesferas adsorbentes y el flujo en función del grado de eliminación de la geosmina, determinado mediante análisis (SPME GC-MS, método interno laboratorios certificados COFRAC) o, si el tratamiento es urgente, mediante cata y análisis de confirmación posterior.

8. Regeneración

Las microesferas adsorbentes se pueden regenerar cinco veces como máximo, tras el paso del volumen total o parcial de mosto o vino.

La regeneración se realiza en la columna, haciendo pasar una solución de hidróxido de sodio 4M al mínimo caudal que permita el sistema de bombeo (p. ej., 20 BV/h).

Para enjuagar se utiliza agua potable de pH conocido (pH inicial) hasta eliminar el hidróxido de sodio, lo que se comprueba midiendo el pH del agua de enjuague, que debe ser igual al pH inicial.

9. Instrucciones de uso

La conservación, utilización y regeneración de las microesferas adsorbentes, así como

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

la eliminación de sus residuos, se llevarán a cabo mediante las técnicas autorizadas para los materiales destinados al contacto con los alimentos. El proveedor deberá facilitar toda la información necesaria para su uso y regeneración. Según la legislación vigente, las microesferas adsorbentes se deben depositar en centros autorizados de tratamiento de residuos industriales para su reciclado por despolimerización.

10. Referencias bibliográficas

1. Reglamento (CE) no 1935/2004
2. Reglamento (UE) no 10/2011 modificado, cuadro 1 del anexo I
3. Código de Regulaciones Federales (CFR) de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de EE. UU., título 21, parte 173 (Aditivos alimentarios secundarios permitidos para la adición directa a los alimentos de consumo humano), sec. 173.65

Anexo 1 Determinación del estireno y el divinilbenceno en el vino (método de tipo IV)

1. Aviso

El usuario del presente documento deberá estar familiarizado con las prácticas habituales de laboratorio. En este documento no se abordan los problemas de seguridad que podrían derivarse de su uso. El usuario deberá adoptar las prácticas de higiene y seguridad adecuadas, ajustarse a la normativa nacional vigente y garantizar el respeto al medio ambiente.

2. Ámbito de aplicación

ENSAYO DE MIGRACIÓN DE COMPONENTES ESPECÍFICOS

3. Objetivo

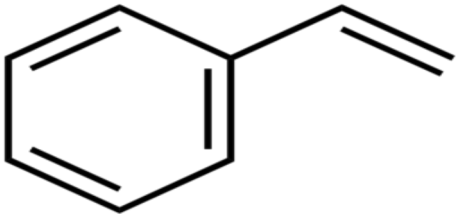
Comprobar que el perfil de impurezas orgánicas o componentes específicos de las microesferas adsorbentes después del pretratamiento del fabricante se ajusta a lo establecido.

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

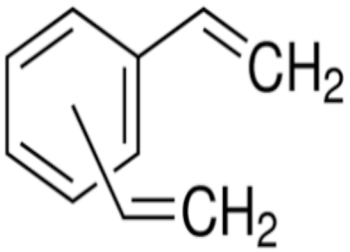
© OIV 2020

a) Determinar la cantidad total de impurezas orgánicas volátiles que presentan las microesferas adsorbentes;

b) determinar la proporción de dichas impurezas que puede migrar a una solución con una capacidad de extracción equivalente a la del mosto o el vino (disolventes o simulantes).



Estireno



Divinilbenceno

Existen tres formas de divinilbenceno: orto, meta y para.

4. Referencias normativas

ISO 78 2: Química. Diseños para normas.

5. Fundamento del método

El método empleado es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La muestra se extrae en espacio de cabeza por microextracción en fase sólida (SPME). Para preparar la muestra de vino/mosto, se introducen unos 2□g de NaCl, 10□mL de vino/mosto y 50□µL de una solución de heptanoato de etilo (patrón interno) de 20□mg/L en un vial para SPME. Se cierra el vial y se agita durante 5 minutos. Este patrón interno se indica a modo de ejemplo; se pueden usar otros patrones internos.

Para la determinación, se utilizan seis puntos de calibración obtenidos con una solución madre que contiene todas las moléculas objeto de análisis.

6. Reactivos y soluciones de trabajo

A menos que se indique lo contrario, utilizar únicamente reactivos aptos para uso en análisis de laboratorio y agua destilada, desmineralizada o de un grado de pureza

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

equivalente.

7. Reactivos

- Agua para uso en análisis de laboratorio (tipos I y II de la norma ISO 3696)
- Etanol (CAS 64-17-5)
- Cloruro de sodio (CAS 7647-14-5)
- Heptanoato de etilo (CAS 106-30-9)
- Divinilbenceno (CAS 1321-74-0)
- Estireno (CAS 100-42-5)

8. Soluciones de trabajo

Preparar soluciones madre individuales de 1□g/L de cada molécula y del patrón interno (heptanoato de etilo) en etanol.

A partir de las soluciones madre individuales, preparar con etanol soluciones de trabajo de distintas concentraciones que cubran todo el intervalo de medida.

9. Soluciones de calibración

Para garantizar la trazabilidad al Sistema Internacional de Unidades (SI), la curva de calibración se realizará con soluciones de etanol (5.1.2) al 12□% (v/v). Dicha curva constará de seis puntos que cubran el intervalo de medida (de 1□µg·L−1 a 100□µg·L−1). Preparar estas soluciones justo antes de usar. Las soluciones son para uso único.

La ecuación de la curva de calibración es de segundo grado.

10. Equipo

El siguiente equipo se recoge a modo de ejemplo. La técnica empleada (GC-MS) se puede ajustar y optimizar en función de la configuración del equipo.

- Cromatógrafo de gases equipado con un inyector de tipo split-splitless y acoplado a un espectrómetro de masas
- Columna capilar de fase estacionaria apolar, 5 % fenilmetilpolisiloxano (p. ej.,

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

HP-5MS, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm de espesor de película) o equivalente

- Microjeringas de 100 μL, 1 μL y 10 μL, calibradas
- Vial de 20 mL para SPME con cápsula de cierre perforada con septum revestido de teflón
- Sistema de SPME con fibra recubierta de una capa de dimetilpolisiloxano de 100 µm de espesor
- Balanza analítica
- Deberá tener una sensibilidad de 0,1 mg.
- Material volumétrico de vidrio

El material de vidrio para preparar los reactivos y las soluciones de calibración debe ser de clase A.

11. Preparación de las muestras

11.1. Muestras de ensayo

En un vial de vidrio para SPME de 20□mL (6.4), introducir 10□mL de vino/mosto, unos 2□g de NaCl (5.1.3) y 50□μL de una solución de heptanoato de etilo (patrón interno) de 20□mg/L (5.1.4).
Cerrar el vial con una cápsula de cierre perforada con septum revestido de teflón (6.4).

11.2. Procedimiento GC-MS

11.2.1. Extracción

Realizar una SPME en el espacio de cabeza durante 25 minutos a temperatura ambiente.

11.2.2. Inyección

Llevar a cabo la desorción de la fibra en el inyector durante 10 minutos.
Inyector a 260□°C en modo splitless
Flujo de helio: 2□mL/min

11.2.3. Parámetros del cromatógrafo de gases

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020

- Columna: 5MS UI 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm
- Temperatura de la línea de transferencia: 300 °C
- Temperatura del horno: 45 °C
- A continuación, 2 °C/min hasta alcanzar los 80 °C
- A continuación, 3 °C/min hasta alcanzar los 92 °C
- A continuación, 40 °C/min hasta alcanzar los 300 °C
- Por último, 300 °C durante 2 min
- Tiempo de desarrollo: 28,7 min

11.2.4. Adquisición

- Temperatura de la fuente: 230 °C
- Temperatura del cuadrupolo: 150 °C
- Adquisición: SIM

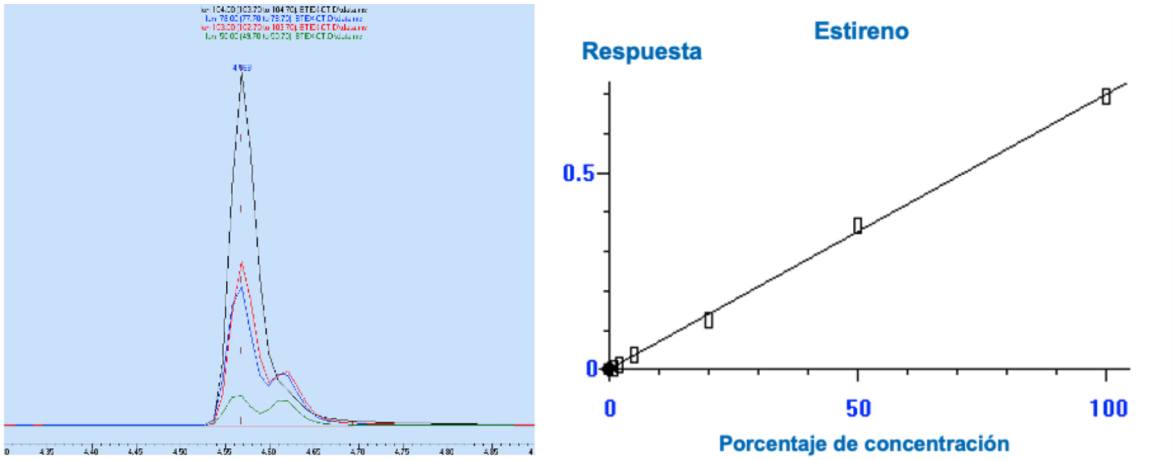
	Tiempo de desarrollo (min)	Iones (cuantit.)	Iones (cualit.)
Heptanoato de etilo	15.0	88	113 / 101 / 158
Estireno	5.0	104	78 / 103 / 50
m,p-Divinilbenceno	15.4 y 16.1	130	128 / 115

12. Resultados

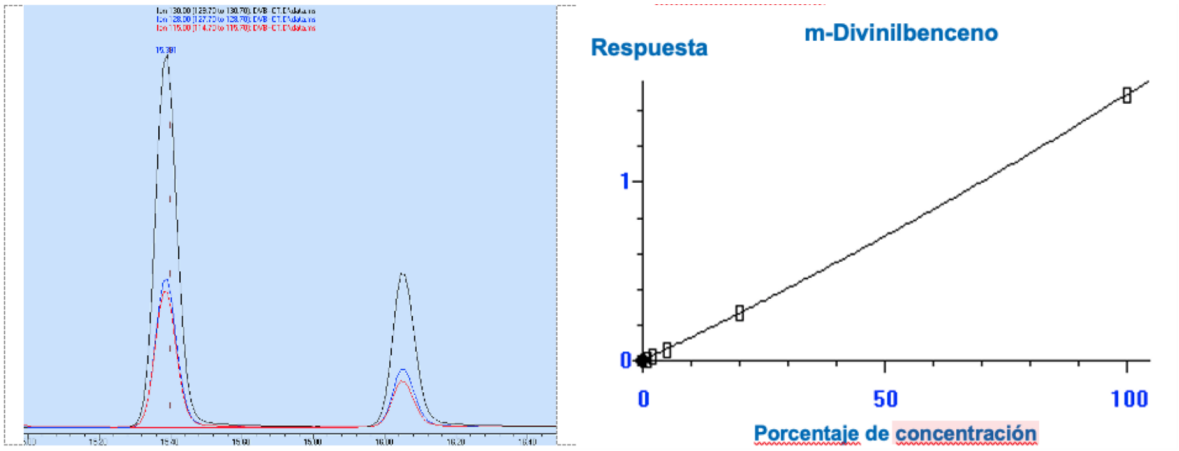
Ejemplo de cromatograma y de curva de calibración del estireno

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA

© OIV 2020



Ejemplo de cromatograma y de curva de calibración del divinilbenceno



13. Expresión de los resultados

Los resultados se expresan en µg/L.

© OIV 2020

Certificado conforme París videoconferencia 26 de noviembre de 2020
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea General
Pau ROCA