

## RISOLUZIONE OIV-OENO 624-2022

### AGGIORNAMENTO DELLA MONOGRAFIA SUI TANNINI ENOLOGICI

*ATTENZIONE: La presente risoluzione abroga le risoluzioni seguenti:  
OENO 12/2002, OENO 5/2008, OENO 6/2008, OIV/OENO 352/2009, OIV-OENO  
574-2017 e OIV-OENO 554-2015*

L'ASSEMBLEA GENERALE,

VISTO l'articolo 2, paragrafo 2 iv dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

CONSIDERATI i lavori del Gruppo di esperti "Specificazione dei prodotti enologici",

DECIDE, su proposta della Commissione II "Enologia", di sostituire la monografia COEI-1-TANINS del *Codex enologico internazionale* con la seguente:

## TANNINI ENOLOGICI

### 1. Aspetti generali

I tannini enologici contengono polifenoli. Generalmente, la loro struttura complessa è costituita da diverse varietà di unità monomeriche, legate covalentemente l'una all'altra.

Si tratta di tannini derivanti da diverse parti di vegetali ed estratti tramite lausilio di solventi autorizzati dalla normativa vigente. Vengono classificati in 2 classi a seconda della natura delle unità monomeriche che li compongono: tannini idrolizzabili e tannini condensati o *tannini proantocianidinici*. Oltre alle due classi di cui sopra, ciascuna unità monomerica (ad esempio, i monomeri dei flavan-3-oli, l'acido gallico e l'acido ellagico) può essere presente nelle preparazioni a base di tannini.

I tannini idrolizzabili rappresentano una classe eterogenea, che si suddivide in 2 sottoclassi:

- i gallotannini, o tannini gallici, sono costituiti da un'unità di glucosio o di acido chinico esterificata con una o più molecole di acido gallico e/o con i suoi depsidi,
- gli ellagitannini, o tannini ellagici, sono costituiti da una o più unità di glucosio

esterificata(e) con una o più molecole di acido ellagico e molecole simili. Anche in questo caso, le unità glicosidiche possono essere esterificate con l'acido gallico e/o con i suoi depsidi.

La struttura dei tannini idrolizzabili varia in funzione del loro grado di esterificazione e di polimerizzazione (1).

I tannini condensati o proantocianidinici (sottoclasse delle procianidine e prodelfinidine e sottoclasse delle profisetinidine e prorobinetidine) sono costituiti da polimeri di flavan-3-olo. Le unità di flavan-3-olo possono differire dal punto di vista stereochimico nonché nel grado di idrossilazione e possono essere presenti come esteri dell'acido gallico. La grande varietà di unità monomeriche, i diversi legami tra flavani e il grado di polimerizzazione portano a innumerevoli possibili strutture di proantocianidine. A seconda della struttura molecolare, la reattività delle proantocianidine può variare notevolmente.

I tannini enologici si presentano esclusivamente sotto forma di polvere, granuli o scaglie di colore da beige chiaro o beige e mattone a marrone scuro.

Questi possono essere disciolti in un'aliquota di mosto o di vino per essere incorporati alla massa totale di mosto o di vino.

## 2. Etichettatura

L'etichetta dei tannini enologici deve contenere informazioni relative a:

- l'origine botanica (ad es. quercia, quebracho, ecc.),
- la classe di appartenenza (idrolizzabili o condensati),
- la sottoclasse (ad es. gallotannini, prodelfinidine, ecc.),
- il numero di lotto e la data di scadenza,
- il contenuto minimo di polifenoli totali conformemente al metodo dell'allegato 1,
- le funzioni tecnologiche,
- in caso di preparazioni contenenti una miscela di diverse classi o sottoclassi di tannini, le diverse classi o sottoclassi a cui appartengono, nonché le funzioni tecnologiche ad esse associate,
- la dose raccomandata e le condizioni d'uso,
- le condizioni di conservazione per preservarne la stabilità,

- l'eventuale presenza di residui potenzialmente allergenici,
- dove ciò è ammesso, l'indicazione che i tannini enologici sono stati ottenuti da piante geneticamente modificate.

### **3. Tannini enologici ammessi**

In conformità alle schede del Codice delle pratiche enologiche, sono ammessi i tannini enologici descritti nel capitolo 1, le cui proprietà siano dimostrabili e misurabili, che siano di interesse tecnologico debitamente dimostrato nella pratica e che soddisfino appieno le condizioni e i criteri indicati di seguito.

I tannini enologici utilizzati non devono:

- rilasciare sostanze a concentrazioni che potrebbero comportare rischi per la salute,
- dar luogo a frode derivante dall'aggiunta di aromi o coloranti,
- pregiudicare la qualità dei prodotti ottenuti,
- portare all'alterazione del profilo organolettico noto del vino (aromatizzazione).

## **4. Funzioni e proprietà di reattività dei tannini enologici**

### **4.1. Reattività**

I tannini possono essere coinvolti in numerose vie di reazione nel vino. La reattività dei tannini enologici è direttamente legata alla specificità della loro composizione chimica; tale reattività dipende anche dai processi tecnologici di produzione (tecniche di estrazione, di concentrazione, di frazionamento, ecc.) che influenzano il contenuto di polifenoli (quindi il grado di purezza) e il rapporto tra i gruppi funzionali liberi. La natura della pianta determina la/le classe/i di tannini o la/le sottoclasse/i di appartenenza.

### **4.2. Proprietà e funzioni dei tannins**

Le funzioni dei tannini enologici sono direttamente correlate alle loro proprietà. I metodi di analisi utilizzati per determinare le funzioni dei tannini devono corrispondere allo stato dell'arte, preferibilmente validati secondo adeguati standard

internazionali.

La tabella seguente mostra un elenco di proprietà e di applicazioni enologiche, alcune dimostrate e altre da dimostrare.

Proprietà teoriche	Possibili applicazioni enologiche
Reattività con le proteine	Coadiuvante di chiarificazione
Reattività con l'ossigeno	Antiossidante
Chelazione del ferro	Riduzione del contenuto di ferro
Polimerizzazione	Stabilizzazione del colore
Formazione di complessi	Stabilizzazione del colore
Attività antilaccasica	Inibizione dell'attività laccasica
Azione microbiologica	
Effetto antibatterico	Stabilità microbiologica, riduzione dell'uso di SO <sub>2</sub>

Le proprietà e le applicazioni enologiche risultanti saranno oggetto di monografie specifiche, suddivise per classi e/o sottoclassi di tannini, che riporteranno i metodi di misurazione.

### **4.3. Stima del contenuto di polifenoli totali**

La stima del contenuto di polifenoli totali nelle preparazioni a base di tannini enologici viene misurato con il metodo descritto nell'allegato 1.

Il contenuto di polifenoli totali deve essere superiore o uguale al 65% e una concentrazione massima non è richiesta.

## **5. Proprietà fisiche**

### **5.1. Materia insolubile**

Porre in soluzione 5 g di tannini in 100 mL di acqua bidistillata a temperatura ambiente

e agitare per 15 minuti. Successivamente, filtrare questa soluzione su un filtro a membrana con diametro dei pori di 0,8  $\mu\text{m}$  precedentemente pesato. Lasciar evaporare la membrana ed essiccarla a 100-105 °C. Pesare nuovamente la membrana. Il contenuto di materia insolubile non deve essere superiore al 5% w/w.

*In alternativa, è possibile usare la procedura descritta più avanti all'interno del metodo per la stima del contenuto di polifenoli totali (allegato 1, punto 4.3).*

## 5.2. Perdita all'essiccamento

Si misura tramite la perdita di peso di 2 g di campione, essiccati in stufa a 100-105 °C per 2 ore fino al raggiungimento di un peso costante. La perdita all'essiccamento deve essere inferiore al 10%.

## 6. Limiti massimi di contaminanti

I tannini enologici devono essere prodotti in conformità delle buone pratiche di fabbricazione. A seconda dell'origine della pianta utilizzata, alcuni limiti di contaminanti come quelli dei metalli pesanti possono differire (ad esempio il contenuto di ferro dei tannini di castagno).

Tutti i limiti fissati di seguito sono rapportati al prodotto secco.

### 6.1. Pentaclorofenolo

Procedere al dosaggio secondo il metodo descritto nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti* dell'OIV.

Il contenuto deve essere inferiore a 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

### 6.2. Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) totali

Somma di benzo[a]pirene, benzo[a]antracene, benzo[b]fluoroantene e crisene.

Procedere al dosaggio secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale*.

Il contenuto deve essere inferiore a 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

### 6.3. Benzo[a]pirene

Procedere al dosaggio secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale*. Il contenuto deve essere inferiore a 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

#### **6.4. Ceneri**

Incenerire in modo progressivo, senza superare i 550 °C, il residuo recuperato dalla perdita all'essiccamento. Il peso delle ceneri deve essere inferiore al 5%. Una concentrazione maggiore delle ceneri potrebbe indicare che l'estrazione è stata eseguita con solventi non autorizzati.

#### **6.5. Preparazione della soluzione per i test**

Riprendere le ceneri ottenute da 2 g di tannini con 1 mL di acido cloridrico diluito (R) e una goccia di acido nitrico concentrato (R). Riscaldare in un bagnomaria a 100 °C per qualche istante per garantirne la dissoluzione. Trasferire in un matraccio graduato da 50 mL, risciacquando la capsula con acqua distillata e portare a volume. La soluzione per i test è pronta per dosare gli elementi seguenti.

#### **6.6. Arsenico**

Previa distruzione della sostanza organica per via umida, determinare leventuale presenza di arsenico su 0,25 g di tannini secondo il metodo descritto nel capitolo II *del Codex enologico internazionale* o secondo il metodo ICP/MS descritto nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti*, avvalendosi della spettrofotometria ad assorbimento atomico. Il contenuto di arsenico deve essere inferiore a 3 mg/kg.

#### **6.7. Ferro**

Dosare il ferro mediante spettrometria ad assorbimento atomico secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale* o secondo il metodo ICP/MS descritto nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti* a partire da 10 mL di soluzione per i test preparata secondo il punto 6.5.

Il contenuto di ferro deve essere inferiore a 50 mg/kg, salvo per i tannini di castagno, il cui contenuto di ferro deve essere inferiore o uguale a 200 mg/kg.

#### **6.8. Rame**

Procedere al dosaggio secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale* o secondo il metodo ICP/MS descritto nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti*. Il contenuto deve essere inferiore a 5 mg/kg.

## 6.9. Piombo

Procedere al dosaggio secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale* o secondo il metodo ICP/MS descritto nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti*. Il contenuto deve essere inferiore a 5 mg/kg.

## 6.10. Mercurio

Procedere al dosaggio secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale* o secondo il metodo ICP/MS descritto nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti*. Il contenuto deve essere inferiore a 0,5 mg/kg.

## 6.11. Cadmio

Procedere al dosaggio secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale* o secondo il metodo ICP/MS descritto nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti*. Il contenuto deve essere inferiore a 0,5 mg/kg.

## 6.12. Salmonella

Procedere alla conta secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale*. L'assenza deve essere controllata su un campione corrispondente a 25 g di sostanza secca.

## 6.13. Coliformi totali

Procedere alla conta secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale*. La conta deve essere inferiore a 30 UFC per grammo di sostanza secca.

## 6.14. Escherichia coli

Procedere alla conta secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale*. L'assenza deve essere controllata su un campione corrispondente a 25 g di sostanza secca.

## 6.15. Muffe

Procedere alla conta secondo il metodo descritto nel capitolo II del *Codex enologico internazionale*. La conta deve essere inferiore a 100 UFC per grammo di sostanza secca.

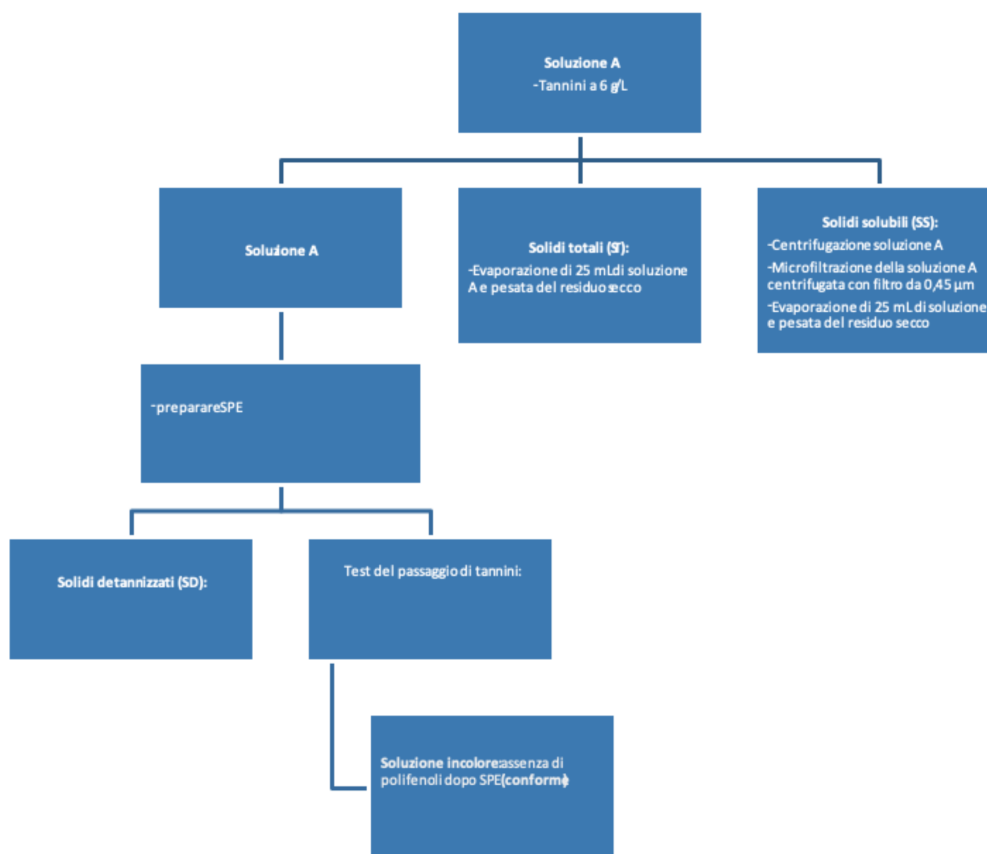
(1) Encyclopaedia health food Pub off 00683

## Allegato 1: Metodo per la stima del contenuto di polifenoli totali

### 1. Principio

Lo scopo del presente metodo è misurare la concentrazione dei polifenoli nelle preparazioni di tannini enologici; esso si basa sull'analisi gravimetrica mediante estrazione in fase solida o SPE. I tannini in soluzione acquosa vengono adsorbiti su un polimero contenuto in una colonna per SPE, in questo caso il polivinilpolipirrolidone, in grado di trattenere i polifenoli. Le sostanze non trattenute dal PVPP corrispondono a dei composti non fenolici inizialmente presenti nel campione d'origine.

Si riporta di seguito il diagramma completo del metodo:





## **2. Reagenti, apparecchiatura e strumentazione**

### **2.1. Reagenti**

2.1.1. PVPP (polivinilpolipirrolidone), circa 100 µm [n. CAS 9003-39-8]

2.1.2. Soluzione acquosa di FeCl<sub>3</sub> (1 g/L)

2.1.3. Acqua bidistillata

2.1.4. Etanolo (20% v/v)

### **2.2. Materiali**

2.2.1. Piatti in alluminio (70 mL)

2.2.2. Provette a fondo conico monouso con tappi (50 mL)

2.2.3. Colonne SPE (serbatoio da 70 mL, 150 x 29,75 mm)

2.2.4. Fritte per colonna SPE (diametro di 27 mm, 20 µm PE)

2.2.5. Matraccio in vetro Pyrex da 1000 mL

2.2.6. Provette da 50 mL di classe A

2.2.7. Filtro a membrana in acetato di cellulosa da 0,45 µm, Ø 47 mm

2.2.8. Siringa in plastica da 50 mL

2.2.9. Pipette graduate in vetro (2 tacche) da 25 mL di classe A

### **2.3. Strumentazione**

2.3.1. Bagno termostato a 20 °C

2.3.2. Bilancia tecnica con precisione di 0,01 g

- 2.3.3. Bilancia analitica con precisione di 0,1 mg
- 2.3.4. Forno termostato a 105 °C
- 2.3.5. Forno termostato a 80 °C o bagno termostatico
- 2.3.6. Centrifuga
- 2.3.7. Collettore sottovuoto
- 2.3.8. Vetreria volumetrica di classe A
- 2.3.9. Essiccatore

### 3. Preparazione dei campioni

Per misurare i solidi totali (ST), i solidi solubili (SS) e i solidi detannizzati (SD) si utilizza la soluzione indicata di seguito (soluzione A).

Pesare circa 6 g di tannini sulla bilancia analitica e annotare il peso. In un matraccio in vetro borosilicato da 1 L sciogliere i tannini in circa 950 mL di acqua bidistillata calda (60-70 °C) e agitare bene. Lasciar riposare il matraccio a temperatura ambiente per 30 minuti. Raffreddare la soluzione in un bagno termostato a 20-22 °C, portare a volume con acqua bidistillata e miscelare bene.

## 4. Procedimento

### 4.1. Misurazione dei solidi totali (ST)

Prelevare e trasferire 25 mL di soluzione A in un piatto di alluminio (2.2.1), far evaporare in un forno termostato a 80 °C fino ad essiccamento, trasferire in un forno termostato a 105 °C e procedere all'essiccamento fino al raggiungimento di un peso costante; pesare il residuo (prima di determinare il peso, lasciar raffreddare il piatto nell'essiccatore).

Per il calcolo dei solidi totali (ST) utilizzare la seguente formula:

$$ST\% = \frac{\text{residuo}_{secco} ST(g)}{\text{peso}_{tannini} (g)} \cdot \frac{1000}{(mL)_{solA}} \cdot 100$$

## 4.2. Misurazione dei solidi solubili (SS)

Centrifugare la soluzione A a 10 000 g per 5 minuti, microfiltrare la soluzione A centrifugata utilizzando un filtro a membrana, in modo da ottenere una soluzione limpida; quindi, portare a secco 25 mL di soluzione in un forno termostato a 80 °C,

trasferire in un forno termostato a 105 °C e procedere all'essiccamento fino al raggiungimento di un peso costante; pesare il residuo (prima di determinare il peso, lasciar raffreddare il piatto nell'essiccatore).

Per il calcolo dei solidi solubili (SS) utilizzare la seguente formula:

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

## 4.3. Misurazione dei solidi insolubili (SI)

Calcolare la differenza tra i solidi totali e i solidi solubili utilizzando la seguente formula:

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

## 4.4. Misurazione dei solidi detannizzati (SD)

Preparare le colonne SPE: introdurre la prima frittata, 7,0 g ± 0,1 g di PVPP, precedentemente reidratata con una soluzione idroalcolica al 20% per 15 minuti, e la seconda frittata, poi compattare bene la fase stazionaria,

posizionare la colonna SPE sul collettore sottovuoto (esempio in figura 1),

condizionare la colonna con tre lavaggi (non lasciar essiccare il PVPP e applicare un vuoto di circa 0,2 bar per evitare il compattamento del polimero): primo lavaggio con 50 mL di etanolo (20% v/v); secondo lavaggio con 50 mL di acqua bidistillata; terzo lavaggio con 20 mL di soluzione A per eliminare i residui di acqua dal PVPP,

aggiungere 30 mL di soluzione A nella colonna e raccogliere 30 mL di eluato (SD, solidi detannizzati) in una provetta a fondo conico da 50 mL Falcon; interrompere l'eluizione quando il liquido raggiunge il livello della frittata superiore,

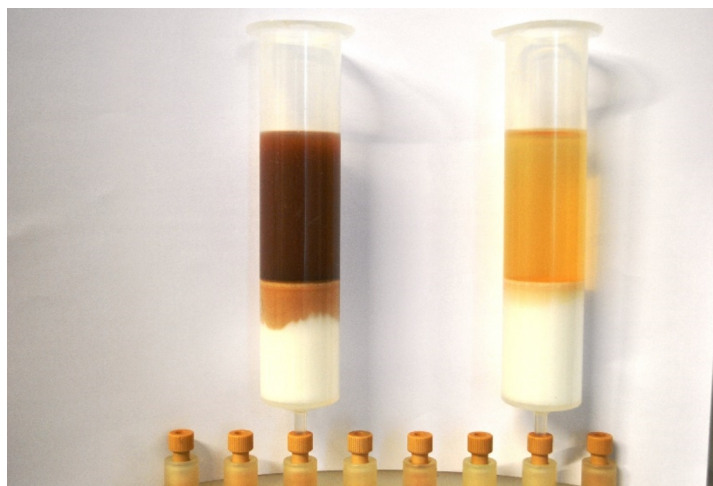
prelevare 25 mL di eluato e trasferirli su un piatto di alluminio,

portare a secco in un forno termostato a 80 °C, trasferire in un forno termostato a 105 °C e procedere all'essiccamento fino al raggiungimento di un peso costante, pesare il residuo (prima di determinare il peso, lasciar raffreddare il piatto nell'essiccatore).

Per il calcolo dei solidi detannizzati (SD) utilizzare la seguente formula:

$$SD\% = \frac{\text{residuo}_{secco} SD(g) - BK(g)}{\text{peso}_{tannini}(g)} \cdot \frac{1000}{(mL)_{solA}} \cdot 100$$

dove BK è il valore relativo al bianco misurato dopo la SPE (cfr. 4.5).



*Figura 1. Esempio di estrazione SPE*

Per garantire l'assenza di polifenoli nell'eluato dopo il passaggio attraverso la colonna, aggiungere a 3 mL di soluzione di solidi detannizzati (SD) 3 gocce di soluzione acquosa di FeCl<sub>3</sub>. Se si osserva una variazione di colore verso una sfumatura nero-bluastro, i polifenoli sono passati attraverso il polimero; pertanto, è necessario ripetere l'analisi riducendo il peso iniziale del prodotto. Qualora la soluzione rimanga incolore dopo il trattamento, si può procedere con l'analisi gravimetrica.

#### **4.5. Misurazione del bianco (BK)**

Prima di eseguire l'eluizione SPE, è necessario procedere a un test del bianco, in modo da poter valutare le eventuali interferenze provocate dal processo analitico. Procedere

nel modo indicato di seguito:

- preparare le colonne SPE: introdurre la prima frittata,  $7,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$  di PVPP, precedentemente reidratata con una soluzione idroalcolica al 20% per 15 minuti, e la seconda frittata, poi impaccare bene,
- posizionare la colonna SPE sul collettore sottovuoto (esempio in figura 1),
- condizionare la colonna con due lavaggi (non lasciar essiccare il PVPP e applicare un vuoto di circa 0,2 bar per evitare il compattamento del polimero): primo lavaggio con 50 mL di etanolo (20% v/v); secondo lavaggio con 70 mL di acqua bidistillata,
- aggiungere 30 mL di acqua bidistillata nella colonna e raccogliere 30 mL di eluato (bianco per i solidi detannizzati) in una provetta a fondo conico da 50 mL Falcon; interrompere l'eluizione quando il liquido raggiunge il livello della frittata superiore,
- prelevare 25 mL di eluato e trasferirli su un piatto di alluminio; quindi portare a secco in un forno termostato a  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ ,
- trasferire in un forno termostato a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  e procedere all'essiccamento fino al raggiungimento di un peso costante, pesare il residuo (prima di determinare il peso, lasciar raffreddare i piatti nell'essiccatore).

## 5. Espressione dei risultati

Misurazione della percentuale di polifenoli totali (%polifenoli):

La formula per calcolare la percentuale è la seguente:

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

Valutazione dell'idoneità del PVPP: consultare OENO 11/2002 - COEI-1-PVPP: 2007, par. 6.