



## RISOLUZIONE OIV-OENO 572-2017

### MONOGRAFIA DEL POLIASPARTATO DI POTASSIO

L'ASSEMBLEA GENERALE,

Visto l'articolo 2, paragrafo 2iv del accordo del 3 aprile 2011 che ha portato alla creazione della Organizzazione Internazionale della vigna e del vino,

TENUTO CONTO dei lavori del Gruppo di esperti «Specificazioni dei prodotti enologici»  
CONSIDERATA la risoluzione dell'OIV OENO-TECHNO 14-543, « Trattamento con poliaspartato di potassio»,

DECIDE di completare il Codex Enologico internazionale con la seguente monografia

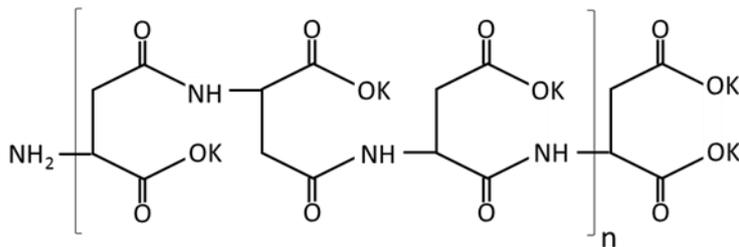
#### **POLIASPARTATO DI POTASSIO**

**Nome chimico :**

Omopolimero del L-aspartato di potassio o poliaspartato di potassio

**Formula chimica :**  $[C_4H_5NO_3K]_n$

**Formula topologica :**



dove  $n \approx 30$

**N° CAS :** 64723-18-8

#### **1. OGGETTO, ORIGINE E CAMPO DI APPLICAZIONE**

Il poliaspartato di potassio enologico è preparato esclusivamente a partire da acido L-aspartico. L'acido L-aspartico monomero utilizzato nel processo è prodotto per fermentazione. Un processo termico trasforma l'acido L-aspartico monomero in polisuccinimide, un composto insolubile. La polisuccinimide è successivamente trattata con idrossido di potassio in condizioni controllate al fine di ottenere il poliaspartato di potassio. Il poliaspartato di potassio inibisce la precipitazione tartarica grazie ad un effetto di «colloide protettore». Il poliaspartato di potassio è efficace per la stabilizzazione tartarica dei vini.

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

## 2. SINONIMI

Poliaspartato di potassio, A-5D K/SD ; A-5D K SD ; A-5DK/SD ; A-5DK ; KPA.

## 3. ETICHETTATURA

Le indicazioni che seguono devono comparire sull'etichetta d'imballaggio:

- il nome o la denominazione di vendita
- «Prodotto destinato ad uso enologico, utilizzo limitato »
- gli eventuali additivi,
- le modalità d'impiego,
- il numero di lotto ed il tenore in poliaspartato di potassio (purezza) così come la data limite d'utilizzo e le condizioni di conservazione (temperatura, umidità e ventilazione),
- il nome o la ragione sociale e indirizzo del fabbricante, del confezionatore o di chi mette in commercio
- la quantità netta.
- l'indicazione che l'acido aspartico proviene da organismi geneticamente modificati e del carattere modificato, se questo è il caso.

## 4. CARATTERIZZAZIONE

### 4.1 Descrizione

Polvere bruno chiara inodore contenente 90 % di materia secca. Essa è completamente solubile in acqua (> 1000 g/L), ma insolubile in solventi organici (< 5 g/L), con una durata di conservazione di quattro anni a temperatura ambiente.

### 4.2 Formula chimica

Il poliaspartato di potassio è un polimero composto di unità di acido aspartico che presenta la seguente formula generale:  $[C_4H_5NO_3K]_n$ , dove n corrisponde al grado medio di polimerizzazione (n  $\approx$  30).

### 4.3 Grado di sostituzione

Il grado di sostituzione del sale di potassio è pari ad almeno il 91,5 % (riferito alla sostanza anidra), per garantire una solubilità ottimale.

Valutare il grado di sostituzione impiegando il metodo descritto più avanti (allegato 1).

### 4.4 Massa molecolare

La sua massa molecolare media, determinata per cromatografia di gel permeazione, è di 5.000 g/mol, che è la migliore per l'efficacia del prodotto.

### 4.5 Composizione

La purezza del prodotto è verificata attraverso il dosaggio del acido aspartico dopo idrolisi totale del polimero e confrontando questo valore con il valore teorico del monomero contenuto nel poliaspartato di potassio conformemente alla sua formula molecolare. La descrizione del metodo è riportata nell'allegato 2.

Il tenore in sostanza anidra del poliaspartato di potassio deve essere almeno pari al 98 %.

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

## 5 PROVE

### 5.1 Tenore in acido aspartico libero nel poliaspartato di potassio

Il tenore in acido aspartico libero deve essere  $\leq 2,0$  %.

Il dosaggio è effettuato secondo il metodo descritto nell'allegato 3.

### 5.2 Umidità – Perdita all'essiccazione

Determinare la perdita di peso di un g di prodotto secco conservato in stufa a  $105 \pm 2$  °C per 12 - 24 ore. Il peso deve essere costante e la perdita di peso deve essere inferiore al 10 %.

### 5.3 Contenuto in metalli

Prima del dosaggio dei metalli, sottoporre il campione a mineralizzazione per digestione acida ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{HCl}$ ). La mineralizzazione avviene in un forno a microonde. Il campione non deve essere stato sottoposto a macinazione e ad essiccazione prima della mineralizzazione.

I reagenti utilizzati per la mineralizzazione sono i seguenti:  $\text{HNO}_3$  (65 %) (Suprapur o similari),  $\text{HCl}$  (37 %) (Suprapur o similari),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (35 %).

Il campione di poliaspartato (tra 0,5 e 2 g) è posto in un matraccio da 100 mL al quale si aggiungono 25 mL di  $\text{HNO}_3$ , 2 mL di  $\text{HCl}$  e 3 mL di  $\text{H}_2\text{O}_2$ . L'insieme è a questo punto sottoposto a una digestione in un forno a microonde con una potenza massima di 1200 W: Potenza del 60 % per 1 min, 30 % per 10 min, 15 % per 3 min e 40 % per 15 min. Il matraccio è quindi portato a volume con acqua bidistillata. Sulla soluzione così ottenuta viene effettuato il dosaggio dei metalli.

#### 5.3.1. Ferro

Dosare il ferro seguendo il metodo descritto al capitolo II del *Codex enologico internazionale*. Il tenore in ferro deve essere inferiore a 10 mg/kg.

#### 5.3.2. Arsenico

Dosare l'arsenico seguendo il metodo descritto al capitolo II del *Codex enologico internazionale*. Il tenore in arsenico deve essere inferiore a 3 mg/kg.

#### 5.3.3. Piombo

Dosare il piombo seguendo il metodo descritto al capitolo II del *Codex enologico internazionale*. Il tenore in piombo deve essere inferiore a 2 mg/kg.

#### 5.3.4. Mercurio

Dosare il mercurio seguendo il metodo descritto al capitolo II del *Codex enologico internazionale*. Il tenore in mercurio deve essere inferiore a 1 mg/kg.

#### 5.3.5. Cadmio

Dosare il cadmio seguendo il metodo descritto al capitolo II del *Codex enologico internazionale*. Il tenore in cadmio deve essere inferiore a 1 mg/kg.

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

## ALLEGATO 1

### 1. Determinazione del grado di sostituzione

#### 1.1 Principio

Il grado di sostituzione del poliaspartato di potassio commerciale è determinato attraverso l'analisi del tenore in potassio con il metodo ICP-OES.

Il dosaggio del potassio è effettuato impiegando una curva di taratura ottenuta iniettando una soluzione standard di riferimento a cinque diverse concentrazioni.

Per calcolare il grado di sostituzione, la concentrazione in potassio misurata è comparata al tenore teorico pari al 100 % di sostituzione.

#### 1.2 Materiale

1.2.1 Matracci da 100 mL (classe A)

1.2.2 Camera d'atomizzazione ciclonica, lampada quarzo standard

1.2.3 Bagno a ultrasuoni

1.2.4 Dispositivo di filtrazione a membrana di porosità pari a 0,45 µm

#### 1.3 Reagenti

1.3.1 Acido nitrico (HNO<sub>3</sub>) al 65 %

1.3.2 Soluzione standard di potassio (K) a 10 000 mg/L (soluzione standard di potassio ICP/DCP a 10 000 µg/mL di HNO<sub>3</sub> al 5%)

1.3.3 Acqua bidistillata di resistività superiore a 10 MΩ.cm

1.3.4 Soluzione acquosa acidificata a 0,5 % di HNO<sub>3</sub> (bianco di taratura) da utilizzare come diluente per la preparazione delle soluzioni standard

1.3.5 Soluzioni standard preparate per diluizione della soluzione madre (punto 1.3.2) ; i valori di riferimento sono indicati qui di seguito:

	std 1	std 2	std 3	std 4	std 5
Potassio (mg/L)	200	400	600	1000	2000

#### 1.4 Modalità operativa

Il prodotto da analizzare (KPA) è sciolto in acqua bidistillata.

1.4.1 Soluzione di KPA a 5000 mg/L (a) : pesare direttamente circa 500 mg (annotare il peso esatto) in un matraccio da 100 mL, completare con acqua bidistillata (1.3.3) e omogeneizzare nel bagno ad ultrasuoni (1.2.3) per almeno 10 minuti. Filtrare su membrana a porosità 0,45 µm.

1.4.2 Preparare la curva di taratura a 5 punti con le soluzioni standard come indicato al punto 1.3.5.

I risultati devono essere calcolati come media di tre misurazioni.

Se la concentrazione supera il range della curva di taratura il campione deve essere diluito al fine di rientrare nel range.

Per calcolare il grado di sostituzione, confrontare la concentrazione in potassio misurata al tenore teorico riferito al 100% di sostituzione (vedere punto 1.5).

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

## 1.5 Calcoli

Il tenore di potassio viene calcolato con il programma del software di acquisizione; il calcolo da effettuare è il seguente :

$$(a) A = A' \times n$$

dove :

- A : concentrazione in mg/L di campione,
- A' : concentrazione in mg/L di campione diluito,
- n : fattore di diluizione.

La percentuale di potassio nel campione di KPA, espressa in peso secco, è calcolata con la formula (b) :

$$\% K_{(pesosecco)} = A \cdot \frac{100}{w} \cdot \frac{100}{(100 - h\%)} \quad (b)$$

dove :

- A : risultato della equazione (a),
- w : mg/L di poliaspartato di potassio
- h% : umidità del campione (percentuale d'umidità).

Il grado di sostituzione ( $DS_K$ ) è calcolato con l'equazione (c) :

$$\% DS_K = \frac{\% K_{(pesosecco)}}{\frac{MA_K}{MM_{monomeroKPA}} \cdot 100} \quad (c)$$

dove :

- $MA_K$  : massa atomica di potassio ,
- $MM_{monomeroKPA}$  : massa molecolare calcolata del monomero di poliaspartato .

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

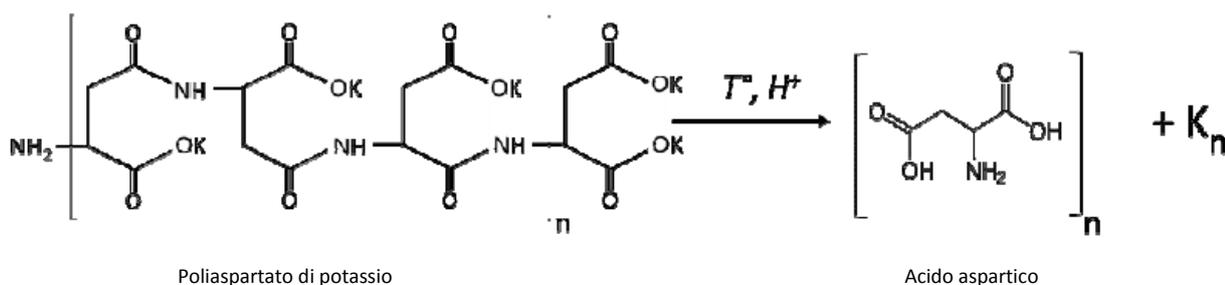
## ALLEGATO 2

### 2 Determinazione della purezza del poliaspartato di potassio

#### 2.1 PRINCIPIO

Analisi per HPLC-FLD del tenore in acido aspartico libero dopo idrolisi acida.

Il principio consiste nel dosaggio per HPLC dell'acido aspartico liberato per idrolisi acida del KPA. L'idrolisi acida è condotta in condizioni che permettono la depolimerizzazione completa del KPA :



#### 2.2 MATERIALE

- 2.2.1 Piastra riscaldante per l'idrolisi acida.
- 2.2.2 Flaconi di vetro colorato di 4 mL con tappo a vite.
- 2.2.3 Bilancia di precisione a 0,1 mg.
- 2.2.4 Matracci.
- 2.2.5 Sistema HPLC comprendente una pompa quaternaria, un campionatore automatico, un termostato e un rilevatore FLD.
- 2.2.6 Colonna C18 (per esempio Synchronis aQ C18, 4,6 x 250 mm ; 5  $\mu$ m (Thermo)).
- 2.2.7 Dispositivo di filtrazione a membrana di porosità pari a 0,2  $\mu$ m.

#### 2.3

#### REAGENTI E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

##### Per l'idrolisi acida

- 2.3.1 Soluzione di metabisolfito di sodio ( $Na_2S_2O_2$ ) (n° Cas 16731-55-8) pari a 10 g/L.
- 2.3.2 Acido cloridrico (HCl) 6 M.
- 2.3.3 Idrossido di sodio (NaOH) 5 M.
- 2.3.4 Acqua bidistillata di resistività superiore a 10  $m\Omega$ .cm.
- 2.3.5 Poliaspartato di potassio

##### Per la preparazione del campione

- 2.3.6 Acido aminocaproico ( $C_6H_{13}NO_2$ , n° CAS : 60-32-2)

#### 2.4

#### MODALITA' OPERATIVA

La procedura prevede tre fasi :

- idrolisi acida a caldo del campione di poliaspartato di potassio

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

- preparazione dei campioni per l'analisi HPLC-FLD delle soluzioni standard su cui determinare la concentrazione in acido aspartico
- analisi dell'acido aspartico libero dopo idrolisi per HPLC (vedi allegato 3).

#### 2.4.1 Fase 1 : idrolisi acida

- 2.4.1.1 Trasferire in un flacone da 4 mL (2.2.2) :
  - 0,2 mL di soluzione di 10 g/L di metabisolfito di sodio (2.3.1),
  - 0,5 g di poliaspartato di potassio pesato al mg
  - 2 mL di HCl 6 M (2.3.2).
- 2.4.1.2 Riscaldare a  $108 \pm 2$  °C per 72 ore (2.2.1).
- 2.4.1.3 Trasferire in un matraccio da 10 mL, aggiungere 2,4 mL di NaOH 5 M (2.3.3) e portare a volume con acqua ultra pura (2.3.4).

#### 2.4.2 Fase 2 : preparazione del campione per analisi HPLC

- 2.4.2.1 Microfiltrare (2.2.7) a 0,20 µm 5 mL del mezzo di cui al punto 2.4.1.3 in un matraccio da 20 mL
- 2.4.2.2 Aggiungere 0,2 mL di standard interno (acido aminocaproico) (3.3.6)
- 2.4.2.3 Portare a volume con acqua bidistillata.

#### 2.4.3 Fase 3 : Analisi dei campioni per HPLC (vedere allegato 3)

### CALCOLI

La concentrazione in poliaspartato (kPA) è calcolata nel modo seguente :

$KPA \text{ (mg/L)} = (\text{Acido aspartico idrolizzato} - \text{Acido aspartico libero prima della idrolisi}) * f_{KAP}$   
 dove  $f_{KAP} = 1,15$  è il fattore di conversione del KPA in acido aspartico, calcolato a partire dal rapporto fra la massa molecolare del monomero di KPA (MM medio dei monomeri di PAK A5DK SD = 154) e la massa molecolare dell'acido aspartico (133,1), secondo l'equazione :

$$f_{KPA} = \frac{MM_{\text{monomero\_KPA}}}{MM_{\text{acido\_aspartico}}} = 1,15$$

dove l'acido aspartico libero è determinato secondo l'allegato 3 .

*Esemplare certificato conforme  
 Sofia, il 2 giugno 2017  
 Il Direttore Generale dell'OIV  
 Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

## ALLEGATO 3

### 3. Dosaggio dell'acido aspartico libero

#### 3.1 PRINCIPIO

Il dosaggio dell'acido aspartico libero nel poliaspartato di potassio come è stato prodotto è effettuato per HPLC con un rivelatore per fluorimetria (FLD), dopo derivatizzazione dell'acido aspartico con l'ortoftalaldeide (OPA). Il dosaggio del potassio è effettuato impiegando una curva di taratura ottenuta iniettando le soluzioni standard di riferimento.

#### 3.2. MATERIALI / APPARECCHI

- 3.2.1 Matracci
- 3.2.2 Sistema HPLC comprendente una pompa quaternaria, un campionatore automatico, un termostato e un rivelatore FLD.
- 3.2.3 Colonna C18, per esempio Synchronis aQ C18 4,6 x 250 mm ; 5 µm.

#### 3.3 REAGENTI

- 3.3.1 Acido aspartico (acido DL-aspartico,  $C_4H_7NO_4 \geq 99\%$ , n° CAS : 617-45-8)
- 3.3.2 Soluzione 1 : acido aspartico pari a 8000 mg/L in acqua bidistillata
- 3.3.3 Soluzione 2 : acido aspartico pari a 200 mg/L in acqua bidistillata
- 3.3.4 Acido aminocaproico ( $C_6H_{13}NO_2$ , n° CAS : 60-32-2)
- 3.3.5 Soluzione madre di acido aminocaproico pari a 1000 mg/L in acqua bidistillata
- 3.3.6 Soluzione standard preparata per diluizione della soluzione 1 (punto 3.3.2) e della soluzione 2 (3.3.3) ; i valori di riferimento sono indicati qui di seguito :

	std 1	std2	std3	std 4	std 5	std 6
mL H <sub>2</sub> O	18,8	19,0	15,0	19,750	19,375	18,750
mL Soluzione 1	-	-	-	0,250	0,625	1,250
mL Soluzione 2	0,2	1,0	5,0	-	-	-
<b>Acido aspartico (mg/L)</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>500</b>

- 3.3.7 Metanolo per HPLC
- 3.3.8 Tetraidrofurano per HPLC
- 3.3.9 Acetato di sodio anidro (n° CAS · 127-09-3)
- 3.3.10 Acetonitrile (CH<sub>3</sub>CN) per HPLC
- 3.3.11 Tetraborato di sodio decaidrato (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O, n° CAS · 1303-96-4)
- 3.3.12 O-ftalaldeide (OPA): ( $C_8H_6O_2 \geq 99\%$ , n° CAS : 643-79-8)
- 3.3.13 Mercaptoetanolo : ( $C_2H_6OS \geq 99\%$ , n° CAS : 60-24.2)
- 3.3.14 Acqua bidistillata di resistività superiore a 10 MΩ.cm

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

3.3.15 Soluzione di derivatizzazione : in un matraccio da 10 mL, introdurre 100 mg di OPA, 200 µL di mercaptoetanololo, 1 mL di metanolo e portare a volume con una soluzione tampone a pH 10,5 di tetraborato di sodio decaidrato 0,1 M.

La soluzione deve essere preparata appena prima dell'impiego poichè si degrada nella giornata seguente la sua preparazione.

### 3.4 FASE MOBILE

3.4.1 [canale A] : acqua ultra pura

3.4.2 [canale B] : tampone acetato di sodio 0,05 M/tetraidrofurano (96:4 ; v/v)

3.4.3 [canale C] : metanolo

3.4.4 [canale D] : acetonitrile

### 3.5 MODALITA' OPERATIVA

Il metodo comporta una reazione di derivatizzazione dell'acido aspartico con l'o-ftalaldeide (OPA) ; il tasso di recupero per questo processo è del 100%.

I parametri strumentali sono indicati di seguito :

- temperatura della colonna : 40° C,

- lunghezza d'onda (λ) : FLD Ex 340 nm, Em 450 nm,

- separazione in modalità gradiente (vedi il punto 3.3, Fasi mobili) :

Tempo (min)	% B	% C	% D	Flusso (ml/min)
0,00	100,0	0,0	0,0	1,1
3,00	100,0	0,0	0,0	1,1
15,00	50,0	25,0	25,0	1,1
17,00	84,0	8,0	8,0	1,1
18,00	100,0	0,0	0,0	1,1
Tempo di esecuzione : 21 min + 2 min di tempo di fermata				

3.5.1 Preparare le soluzioni standard miscelando 5,0 mL della soluzione standard (3.3.6) et 0,2 mL della soluzione di standard interno (3.3.5) in un matraccio da 20 mL, poi portare a volume con acqua bidistillata e omogeneizzare.

3.5.2 Diluire 5,0 µL di campione (allegato 2 punto 2.4.2) con 20 µL di metanolo, poi derivatizzare con 0,5 µL di OPA. Mescolare dieci volte 10,0 µL della soluzione ottenuta nell'iniettore e iniettare dopo 0,5 min.

3.5.3 Se i risultati superano il limite superiore della curva di taratura, diluire il campione e ripetere l'analisi.

### 3.6 CALCOLI

La concentrazione dell'acido aspartico nel campione, espressa in mg/L, è ottenuta applicando la seguente formula :

$$Y = A \cdot f \cdot d$$

dove:

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

Y : concentrazione in acido aspartico nel campione in mg/L,  
A : area del picco del cromatogramma,  
f : fattore di risposta del picco del cromatogramma,  
d : fattore di diluizione.

*Esemplare certificato conforme  
Sofia, il 2 giugno 2017  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*