

RESOLUCIÓN OIV-OENO 687-2023

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO SÓRBICO EN EL VINO POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS (OENO 6/2006)

ADVERTENCIA: Esta resolución modifica la siguiente resolución:
- OENO 6/2006

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,

A PROPUESTA de la Subcomisión “Métodos de Análisis”,

CONSIDERANDO la Resolución OENO 06/2006, “Dosificación de los ácidos sórbico, benzoico y salicílico en los vinos por cromatografía líquida de alto rendimiento”, aprobada en 2006,

CONSIDERANDO que la validación se refiere exclusivamente al ácido sórbico,

DECIDE añadir el anexo A, “Validación del método de determinación del ácido sórbico en el vino por cromatografía de líquidos”, y cambiar el método del ácido sórbico de tipo IV a tipo II.

DECIDE modificar la Resolución OENO 06/2006, “Dosificación de los ácidos sórbico, benzoico y salicílico en los vinos por cromatografía líquida de alto rendimiento”, y por ende el método OIV-MA-AS313-20, como sigue (el texto añadido se indica en negrita y el texto eliminado aparece tachado):

2. **Ámbito de aplicación**

Todos los vinos o mostos de uva, en particular los que son susceptibles de contener únicamente trazas de ácido sórbico, benzoico o salicílico. ~~(puesta en evidencia a partir de 1 mg/l)~~.

3. Principio

Los antisépticos se dosifican por CLAR por inyección directa de la muestra en una columna en modo isocrático con detección ~~en la luz ultravioleta a 235 nm.~~^1

4.11. Solución hidroalcohólica al 50 % vol. u otra concentración adecuada. Coloque 500 ml de alcohol puro (4.10) en un matraz de 1 l completado con agua destilada (4.1)

5.7. Detector que pueda funcionar en la luz ultravioleta a 235 nm(1) provisto de una cubeta de circulación para CLHP (por ejemplo, de 8 µl para 1 cm de trayecto óptico)

5.8. Columna para CLHP de fase estacionaria de 5 µm tipo sílice con grupos octadecilos (C18) ligados químicamente injertados de 20 cm de longitud y 4 mm de diámetro interior.(1)

6.2. Desgasifique el solvente de elución (4.6) durante 5 minutos mediante el baño de ultrasonidos 5.2 o por cualquier otro método.

6.3. Filtre el solvente mediante el dispositivo 5.43)

8. Cálculo

Una vez identificados los picos de los ácidos a cuantificar en la muestra, compare el área de los picos con las de los ácidos de una solución hija (4.13) de concentración C conocida.

Por ejemplo, sea s el área del pico del ácido a cuantificar y S el área del pico de la solución (4.13) de concentración C

$$X_{(en\ la\ muestra)} = C \times \frac{s}{S} \text{ en. mg/l}$$

También se puede utilizar una curva de calibración y determinar la concentración por interpolación.

9. Características del método

9.1 Para el ácido sórbico

El ensayo interlaboratorios y los resultados correspondientes se detallan en el anexo

A.

- $r = 0.0148 x + 0.5498$
- $R = 0.0936 x + 1.5542$
- x: concentración de ácido sórbico (mg/l)

9.2 Para los ácidos benzoico y salicílico

	Ácido sórbico	Ácido benzoico	Ácido salicílico
Rango de linealidad	0 a 200 mg/l	0 a 200 mg/l	0 a 200 mg/l
Recuperación	>90%	>90%	>90%
Repetibilidad: r*	2%	3%	8%
Reproducibilidad: R*	8%	9%	12%
Límite de detección	3 mg/l	3 mg/l	3 mg/l
Límite de cuantificación	5 mg/l	6 mg/l	7 mg/l
Incertidumbre	11%	12%	13%

ANEXO A - Datos estadísticos obtenidos a partir de los resultados de los ensayos interlaboratorios

Los parámetros siguientes se han establecido en un ensayo interlaboratorios dirigido por el Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto (Portugal).

Año del ensayo interlaboratorios: 2020

1. Laboratorios: 23 laboratorios de 14 países



HBLA und Bundesamt für Wein- und Obstbau Klosterneuburg	Austria
Departamento de Agricultura	Chipre
Autoridad Nacional de Control Agroalimentario	República Checa
Comité Interprofesional del Vino de Champagne	Francia
Laboratoires Dubernet	Francia
SCL Laboratoire de Montpellier	Francia
SCL Laboratoire de Bordeaux	Francia
Landesuntersuchungsamt, Institut für Lebensmittelchemie	Alemania
Lebensmittel- u. Veterinärinstitut Braunschweig/Hannover	Alemania
Oficina Nacional de Seguridad en la Cadena Alimentaria	Hungría
Unione Italiana Vini Servizi	Italia
Vassanelli Lab SRL	Italia
AsureQuality Ltd. Laboratory Services	Nueva Zelanda
Arcus Norway AS	Noruega
Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE)	Portugal
Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto	Portugal
Universidad RUDN	Rusia
Laboratorio Nacional de Sanidad, Medio Ambiente y Alimentación (Novo Gorica)	Eslovenia
Instituto Nacional de Química	Eslovenia
Laboratorio Nacional de Sanidad, Medio Ambiente y Alimentación (Novo Mesto)	Eslovenia
Laboratorio Arbitral Agroalimentario	España
Estación Enológica de Haro (La Rioja)	España

Departamento de Ingeniería de los Alimentos de la Universidad de
Çukurova

Turquía

2. Número de muestras: seis muestras por duplicado

- dos vinos blancos (A/G, C/K)
- un vino blanco de cosecha tardía (I/O)
- un vino tinto (D/M)
- un vino rosado (B/F)
- un vino generoso tinto con una graduación alcohólica de 19 % vol. (E/N)

3. Condiciones analíticas

Las condiciones analíticas se resumen en la tabla 1.

4. Resultados individuales

Los resultados individuales de la determinación del ácido sórbico (mg/L) se resumen en la tabla 2.

5. Análisis de los datos

- Se llevó a cabo un análisis estadístico según las recomendaciones de la OIV para obtener los datos de precisión.
- Los valores inferiores al límite de cuantificación se trataron como valores normales.
- Los valores discrepantes se determinaron mediante los test de Cochran y Grubbs.
- Los resultados se resumen en las tablas 3 y 4.
- En la figura 1 se representan el límite de repetibilidad y el límite de reproducibilidad en función de la concentración de ácido sórbico.
- Se evaluó el z-score de cada laboratorio con respecto a los valores globales para

las distintas muestras. Los resultados se indican en la figura 2.

TABLA 1 - CONDICIONES ANALÍTICAS

Código del laboratorio	Curva de calibración	Columna	Detección	Fase móvil	Caudal (mL/min)	Temperatura de la columna (°C)	Vol. de inyección (µL)
1	Sí	Altima C18LL 5µm 250 × 4,6mm	235nm	Agua pH=2,0 / MeOH / THF (650/280/70)	1	Ambiente	20
2	Sí	C18 250 × 4,6 Luna Phenomenex	235nm	0,389 acetato de amonio en 1µL de agua + 250µmL ACN (pH=4 ajustado con CH ₃ COOH)	1,25	35	20
3	Sí	Poreshell 120 EC-C18. 150µ×4,4mm; 2,7µm	235nm	A: H ₂ O 0,7% THF (pH=2) / B: MeOH (80% A y 20% B)	1,5	40	5
4	Sí	RP-18 (250-4)	254nm	Solución amortiguadora acetato de amonio (pH 4,4); MeOH=70:30	1	40	20
6	Sí	PerfectSil Target ODS-3 HD. 5µm. 250µ×4,6mm	235nm	ACN:Solución amortiguadora (35:65); Solución amortiguadora=acetato de amonio (1,8µg/L)+ácido acético. pH=4,3	1	40	2
7	Sí	PoroShell C18 4,6µ×75mm; 2,7µm	235nm	Isocrática: 80% H ₂ O acidif. con ácido sulfúrico; 20% ACN	1,5	25	20
8	Sí	Rezex ROA- Organic acid H ⁺ (8%) - 300µ×7,8mm	254nm	Disolvente de elución: ácido sulfúrico 0,025M	1	90	50
9	Sí	Columna HICROM Ultrasphere 5µm ODS. 250µ×4,6mm	235nm	650µmL H ₂ O pH 2 con 280µmL MeOH+7µmL THF	0,6	25	20
10	Sí	Teknokroma Trace Excel 120 ODSB 5µm. 20 × 0,4 cm	235nm	650µmL H ₂ O pH 2 (HCl 0,1M)+280µmL MeOH+7µmL THF	1	24	20
11	Sí	C18 5µm. 200 x 4 mm	235nm				

12	Si	RP18 Chromolith 100 × 4,6 mm; 5 µm	φ=φ235mm	770 agua pH=φ2,3 (0,8 mL H ₃ PO ₄): isopropanol 200 mL. ACN 30mmL	1	25	10
13	Si	Phenomenex Gemini 5µm. C18; 150φ×φ2mm	φ=φ240 nm	0,925ng acetato de amonioφ+φ1,2φL H ₂ Oφ+φ0,8 L MeOH (pH 5,5 ácido acético)	0,4	40	10
15	Si	C18 5µm. 200φ×φ4mm	φ=φ235mm	90% v/v agua 15mmL ácido acéticoφ+φ15ng acetato de amonio 10% v/v MeOH	1	40	10
16	Si	Prodigy 5µm ODS-3 100. 150φ×φ4,6mm con precolumna C18	φ=φ261mm	80% v/v H ₂ O pH=φ4 (ácido acético puro)φ+φacetato de amonio 0,005φM 20% v/v ACN	1,2	40	50
17		Kinetex; RP-C18 150φ×φ4,6mm; 5µm	φ=φ230mm	11/89. MeOH: sol. amortiguadora (sol. amortiguadoraφ=φ3,0 g KH ₂ PO ₄ φ+φ3,0φg K ₂ HPO ₄ φ+φ100mmL agua)	0,6	40	6
18	Si	C18 Luna. Phenomenex	φ=φ224mm	Sol. amortiguadora fosfato 95%:ACN 5%	1,2	Ambiente	20
19	Si	Phenomenex Aqua C18 125A 250φ×φ4,6mm; 5µm	φ=φ235mm	Acetato de amonio 0,005φM (pH 4): ACNφ=φ8:2	1	25	2
20	Si	Zorbax Eclipse XDB-C18 4,6φ×φ150mm. 5µm	φ=φ235mm	650mmL H ₂ O pH 2 (HCl 0,1M)φ+φ280mmL MeOHφ+φ7mmL THF	1	Ambiente	5
21	Si	RP-18 Nucloedur 100-C18. 3φµm. 50mm	φ=φ262mm	A:B = 80:20; A: acetato de amonio. 0,002 mol/L. pH= 4,1 (ajustado con ácido acético concentrado); B: MeOH/ACN 2:1	1	60	6
22	Si	HYPERSIL ODS 250φ×φ4,6mm. 5µm	φ=φ235mm		1,8	40	20
23	Si	RP-C18. 150φ×φ4,6mm; 5µm	φ=φ235mm		1	25	20
24	Si	RP-C18 Purospher. 125φ×φ4mm; 5µm	φ=φ235mm	MeOH / sol. amortiguadora acetato de sodio 0,02φM pH 4,4φ=φ(30/70 v/v)	0,8	40	5

26	Sí	Kinetex XB-C18 100µ×4,6mm; 2,6µm	φ=254mm	Agua 0,1% TFA. ACN 0,1% TFA	1,5	30	10
----	----	--	---------	--------------------------------	-----	----	----

TABLA 2. RESULTADOS INDIVIDUALES DE LA DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO SÓRBICO (mg/L)

Código del laboratorio	Vino blanco (A)		Vino rosado (B)		Vino blanco (C)		Vino tinto (D)		Vino generoso (E)		Vino rosado (F)		Vino blanco (G)		Vino blanco (I)		Vino blanco (K)		Vino tinto (M)		Vino generoso (N)		Vino blanco (O)	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	36,3	35,5	226,0	221,0	88,0	86,0	5,2	5,3	1,7	1,8	226,0	224,0	36,1	35,9	125,0	124,0	90,0	87,0	4,7	4,6	1,8	2,0	126,0	126,0
2	33,1	33,2	210,7	208,3	80,9	81,4	4,5	4,4	1,7	2,4	210,4	209,5	33,0	32,5	116,0	114,9	81,2	80,6	4,3	5,7	2,0	2,4	116,3	116,1
3	34,1	34,5	216,8	215,5	84,7	84,5	5,3	5,2	2,5	2,3	216,3	217,2	34,5	34,3	119,8	120,1	84,5	84,3	5,7	5,7	2,4	2,4	120,5	120,2
4	34,7	35,0	223,1	224,7	89,3	88,6	5,1	5,1	2,1	2,2	220,0	221,6	34,5	34,8	123,1	123,2	86,7	86,4	5,2	5,2	2,1	2,1	123,1	123,5
6	34,3	34,6	214,2	215,2	83,9	84,0	5,5	5,6	1,9	2,0	215,0	215,6	34,6	34,7	120,6	120,7	83,6	83,9	6,2	6,5	2,0	2,1	120,1	121,1
7	34,0	35,0	217,0	218,0	84,0	85,0	5,0	6,0	3,0	3,0	218,0	218,0	35,0	35,0	122,0	123,0	86,0	84,0	5,0	5,0	2,0	2,0	122,0	122,0
8	33,9	33,4	216,8	218,5	86,2	83,8	4,5	4,5	2,0	2,0	218,8	215,5	35,2	33,9	122,0	118,9	84,2	84,3	4,3	4,1	2,0	2,0	124,5	123,3
9	32,5	32,5	197,4	198,2	81,0	80,7	3,4	3,4	1,4	1,4	197,0	195,8	32,1	32,2	112,5	112,2	79,3	79,4	3,3	3,3	1,3	1,2	113,5	113,7
10	34,1	34,1	216,0	217,0	83,7	83,6	5,7	5,6	2,2	2,1	216,0	216,0	34,2	34,0	118,0	119,0	83,4	83,4	5,6	5,8	2,1	2,1	120,0	119,0
11	36,8	37,0	227,2	229,9	90,2	90,4	4,6	4,8	2,1	1,9	224,2	225,6	37,1	36,8	127,4	127,0	88,4	89,0	4,0	4,3	2,1	1,9	128,0	128,5
12	31,0	31,0	207,0	202,0	78,0	78,0	4,0	3,0	2,0	2,0	209,0	209,0	32,0	32,0	111,0	111,0	79,0	78,0	4,0	5,0	2,0	2,0	109,0	109,0
13	35,0	35,0	219,0	220,0	86,0	87,0	6,0	6,0	3,0	3,0	220,0	220,0	35,0	36,0	124,0	124,0	85,0	87,0	7,0	7,0	3,0	3,0	123,0	123,0
15	32,0	32,0	200,0	199,0	79,0	78,0	4,0	4,0	1,7	1,6	200,0	199,0	32,0	32,0	111,0	111,0	79,0	78,0	4,0	4,0	1,7	1,6	111,0	111,0
16	31,3	29,1	213,1	214,2	84,7	84,2	4,3	4,3	1,9	1,9	217,3	216,0	30,3	31,0	120,1	119,6	83,5	84,2	4,2	4,6	2,0	2,0	119,3	120,1
17	35,6	35,4	217,8	221,4	87,0	86,0	5,2	5,4	2,3	2,4	215,5	219,5	35,6	35,3	122,2	123,4	85,9	86,5	5,4	5,5	2,7	2,5	122,3	123,9
18	35,0	37,0	235,0	246,0	88,0	85,0	6,1	5,2	7,5	7,7	220,0	209,0	36,0	37,0	124,0	125,0	94,0	88,0	6,5	6,6	7,8	7,4	127,0	128,0
19	31,0	30,0	183,0	187,0	71,0	72,0	8,0	8,0	-2,0	0,0	177,0	179,0	30,0	27,0	105,0	106,0	67,0	71,0	4,0	5,0	-1,0	-1,0	116,0	115,0
20	36,2	34,8	217,4	217,0	84,9	84,4	7,1	8,9	1,9	2,7	219,0	217,1	35,1	34,4	121,2	119,0	85,8	84,3	5,6	5,9	2,4	2,3	121,9	119,2
21	32,2	32,2	204,1	204,2	79,3	79,1	4,3	4,4	1,9	2,0	204,9	204,4	32,6	32,3	111,9	112,4	78,6	78,7	4,3	4,4	1,9	2,0	115,0	114,2
22	34,0	34,0	216,0	216,0	83,0	83,0	6,0	6,0	3,0	3,0	216,0	217,0	34,0	34,0	121,0	121,0	83,0	83,0	6,0	6,0	3,0	3,0	121,0	121,0

23	35,3	35,0	219,3	217,6	87,3	86,1	4,1	4,5	1,6	1,7	219,3	217,9	35,4	35,9	124,3	123,0	87,0	86,0	3,9	4,1	1,6	1,8	124,6	123,5
24	34,2	34,0	214,0	216,0	81,8	82,1	4,1	4,1	2,7	2,8	215,0	215,0	33,7	33,8	117,0	118,0	83,7	83,4	4,1	4,1	2,8	2,7	119,0	119,0
26	35,1	35,2	214,4	214,5	86,2	86,2	5,0	5,1	2,2	2,2	214,9	214,2	35,0	35,1	122,3	122,5	86,0	86,3	5,1	5,1	2,2	2,2	122,2	122,5

TABLA 3. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO SÓRBICO (mg/L)

Código del laboratorio	Vino blanco		Vino rosado		Vino blanco		Vino tinto		Vino generoso		Vino blanco	
	A	G	B	F	C	K	D	M	E	N	I	O
1	35,90	36,00	223,50	225,00	87,00	88,50	5,25	4,65	1,75	1,90	124,50	126,00
2	33,15	32,25	209,50	209,95	81,15	80,80	4,45	5,00	2,05	2,20	115,45	116,20
3	34,30	34,40	216,15	216,75	84,60	84,40	5,25	5,70	2,40 ^{c)}	2,40 ^{c)}	119,95	120,35
4	34,85	34,65	223,90	221,00	88,95	86,55	5,10	5,20	2,15	2,10	123,15	123,30
6	34,45	34,65	214,70	215,30	83,95	83,75	5,58 ^{c)}	6,34	1,95 ^{c)}	2,08 ^{c)}	120,65	120,60
7	34,50	35,00	217,50	218,00	84,50	85,00	5,50	5,00	3,00 ^{b)}	2,00 ^{b)}	122,50	122,00
8	33,65	34,55	217,65	217,15	85,00	84,25	4,50	4,20	2,00	2,00	120,45	123,90
9	32,49	32,16	197,83	196,38	80,81	79,40	3,42	3,32	1,41	1,25	112,38	113,56
10*	34,10	34,10	216,50	216,00	83,65	83,40	5,66	5,68	2,15 ^{c)}	2,13 ^{c)}	118,50	119,50
11*	36,90	36,95	228,55	224,90	90,30	88,70	4,70	4,15	2,00 ^{c)}	2,00 ^{c)}	127,20	128,25
12	31,00	32,00	204,50	209,00	78,00	78,50	3,50	4,50	2,00	2,00	111,00	109,00
13	35,00	35,50	219,50	220,00	86,50	86,00	6,00	7,00	3,00	3,00	124,00	123,00
15*	32,00	32,00	199,50	199,50	78,50	78,50	4,00	4,00	1,65	1,65	111,00	111,00
16	30,20	30,65	213,65	216,65	84,45	83,85	4,28	4,38	1,94	1,96	119,85	119,70
17	35,53	35,44	219,61	217,53	86,51	86,19	5,30	5,47	2,38	2,61	122,82	123,12
18	36,00	36,50	240,50 ^{b)}	214,50 ^{b)}	86,50 ^{b)}	91,00 ^{b)}	5,65	6,55	7,60 ^{a)}	7,60 ^{a)}	124,50	127,50
19	30,50 ^{b)}	28,50 ^{b)}	185,00 ^{a)}	98,00 ^{a)}	71,50 ^{a)}	69,00 ^{a)}	8,00 ^{b)}	4,50 ^{c)b)}	-1,00 ^{a)}	-1,00 ^{c)a)}	105,50 ^{b)}	115,50 ^{b)}
20	35,50	34,75	217,20	218,05	84,65	85,05	8,00 ^{b)}	5,75 ^{b)}	2,30 ^{c)}	2,35 ^{c)}	120,10	120,55
21	32,20	32,45	204,15	204,65	79,20	78,65	4,36	4,36	1,94	1,94	112,15	114,60
22	34,00	34,00	216,00	216,50	83,00	83,00	6,00	6,00	3,00	3,00	121,00	121,00
23	35,15	35,65	218,45	218,60	86,70	86,50	4,30	4,00	1,65 ^{c)}	1,70 ^{c)}	123,65	124,05
24	34,10	33,75	215,00	215,00	81,95	83,55	4,10 ^{c)}	4,10 ^{c)}	2,75 ^{c)}	2,75 ^{c)}	117,50	119,00
26	35,13	35,06	214,45	214,58	86,21	86,15	5,07	5,07	2,17	2,17	122,37	122,35

- a) Valores rechazados por el test de Grubbs (aplicado a los valores medios)
 b) Valores rechazados por el test de Cochran (aplicado a las varianzas)
 c) Valor obtenido por el laboratorio, pero inferior al límite de cuantificación

TABLA 4. DATOS DE PRECISIÓN

Indicadores	Vino blanco (A/G)	Vino rosado (B/F)	Vino blanco (C/K)	Vino tinto (D/M)	Vino generoso (E/N)	Vino blanco (I/O)
Número de laboratorios	22	21	21	21	20	22
Número de repeticiones	2	2	2	2	2	2
Mínimo (mg/L)	30,20	196,38	78,00	3,32	1,25	109,00
Máximo (mg/L)	36,95	228,55	90,30	7,00	3,00	128,25
Varianza de la repetibilidad s_r^2	0,0942	1,5249	0,4191	0,1201	0,0037	0,9397
Varianza entre grupos s_L^2	2,6370	55,1140	9,7049	0,6418	0,1793	22,4914
Varianza de la reproducibilidad s_R^2	2,7312	56,6389	10,1240	0,7619	0,1830	23,4311
Media (mg/L)	34,16	214,72	83,96	4,92	2,15	120,07
Desviación estándar de la repetibilidad (mg/L)	0,31	1,23	0,65	0,35	0,06	0,97
Límite de repetibilidad (mg/L)	0,869	3,495	1,832	0,981	0,172	2,743
RSD _r (%)	0,9	0,6	0,8	7,0	2,8	0,8
Desviación estándar de la reproducibilidad (mg/L)	1,65	7,53	3,18	0,87	0,43	4,84
Límite de reproducibilidad (mg/L)	4,677	21,298	9,005	2,470	1,211	13,699
RSD _R (%)	4,8	3,5	3,8	17,7	19,9	4,0
HORRAT	0,5	0,5	0,5	1,4	1,4	0,5

FIGURA 1. CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO SÓRBICO Y LA PRECISIÓN

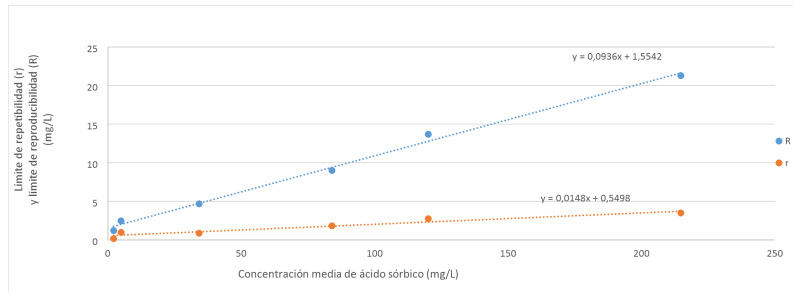
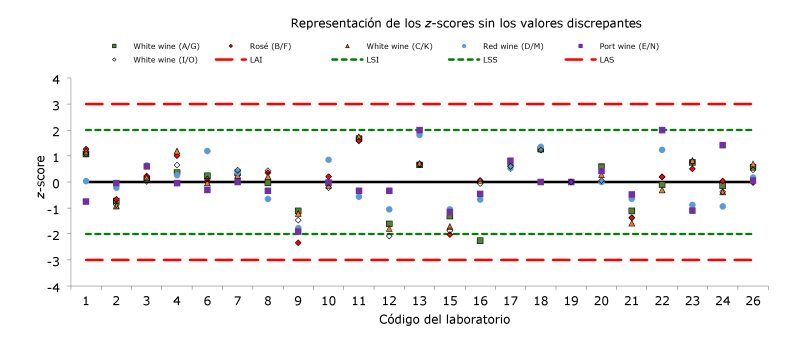


FIGURA 2. REPRESENTACIÓN DE LOS Z-SCORES SIN LOS VALORES DISCREPANTES



* LAI: límite inferior de acción; LAS: límite superior de acción; LSI: límite inferior de aviso; LSS: límite superior de aviso

^[1] (1) Para la determinación del ácido sórbico, la columna y la longitud de onda se indican a modo de ejemplo.