



RESOLUCIÓN OIV-OENO 459-2013

MONOGRAFÍA SOBRE LAS LEVADURAS INACTIVADAS

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 completar el “*Codex Enológico Internacional*” con la siguiente monografía:

LEVADURAS INACTIVADAS

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

Las levaduras inactivadas se utilizan como nutrientes para las levaduras, tanto al inicio como en el transcurso de la fermentación alcohólica y también para mejorar la rehidratación de las levaduras secas activas. Gracias a estas, es posible reducir el nivel de ocratoxina A en las fases de crianza y clarificación de los vinos¹.

Estas proceden de biomásas de *Saccharomyces spp* inactivadas por el calor y/o por modificaciones en el pH. Estas pueden haber sufrido un proceso inicial de autólisis natural debido a la acción de las enzimas endógenas. Las técnicas de producción son las que se utilizan normalmente para las biomásas de levaduras. En el procedimiento no hay ninguna adición de antibióticos ni ningún compuesto, excepto los necesarios para el crecimiento de la levadura.

Cuando las levaduras inactivadas provengan de levaduras genéticamente modificadas, las autoridades competentes deben haberlas autorizado con anterioridad.

2. ETIQUETADO

En la etiqueta se incluirán:

- el nombre del género y de la especie, de las levaduras inactivadas
- el contenido de nitrógeno orgánico,
- los aditivos agregados,
- el modo de empleo,
- el número del lote así como la fecha límite de uso y las condiciones de conservación en

¹ Código de buenas prácticas vitivinícolas para limitar al máximo la presencia de OTA en los productos derivados de la viña.

*Certificado conforme
Bucarest, 7 de junio de 2013
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

- condiciones establecidas de temperatura, humedad y ventilación,
- si es necesario, la indicación de que las levaduras inactivadas provienen de levaduras obtenidas por modificación genética y el carácter modificado.

3. CARACTERÍSTICAS

Se presentan normalmente en polvo, en copos o granulados, con un color entre amarillo claro y amarillo ocre, y un olor característico a levadura.

Una parte de las levaduras inactivadas es soluble en agua, la parte insoluble es superior o igual al 60% m/m de la materia seca

4. LÍMITES Y MÉTODOS DE ENSAYO

4.1 Contenido de nitrógeno

4.1.1 El contenido de nitrógeno total, expresado como elemento N, debe ser inferior al 10 % de la materia seca, con arreglo al método de análisis descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

4.1.2 El contenido de nitrógeno amoniacal, expresado como elemento N, debe ser inferior al 0,5 % de la materia seca. Este se determina según el siguiente método de análisis:

Poner 1 g de materia seca en 100 mL de KCl 0,5 M, agitar durante un período comprendido entre 20 y 30 minutos e introducir en el equipo para el tratamiento por vapor de agua descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional para el análisis del nitrógeno total, añadir 50 mL de hidróxido de sodio al 30 % (R), destilar y recuperar 250 mL en un matraz cónico que contenga 5 mL de ácido bórico al 4 % (R), 10 mL de agua y 2 o 3 gotas de un indicador compuesto por una mezcla del rojo del metil y del azul del metileno (R). Titular el destilado con ácido clorhídrico 0,1 M hasta alcanzar el color rosa-violeta en el indicador.

1 mL de solución de ácido clorhídrico se corresponde con 1,4 mg de nitrógeno N.

Siendo n el número de mL vertidos: 100 g de levaduras secas inactivadas contienen $0,14 \cdot n$ g de nitrógeno amoniacal expresado como elemento N.

4.1.3 El contenido de nitrógeno orgánico se obtiene a razón de la diferencia entre la cantidad de nitrógeno total y la cantidad de nitrógeno amoniacal.

4.1.4 El contenido de aminoácidos libres y solubles y en pequeños péptidos debe ser inferior al 10 % de la materia seca en equivalente de glicina, según el método del DNFB que se describe en el anexo, mientras que si se expresa como elemento N, debe ser el 1,9 % de la materia seca.

4.2 Humedad

Esta se mide por la pérdida de peso de 5 g del producto, secado a 105 °C hasta alcanzar un peso constante (unas 3 horas).

El contenido máximo debe ser inferior al 7 %.

4.3 Plomo

Proceder a su análisis según el método que aparece en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

*Certificado conforme
Bucarest, 7 de junio de 2013
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

El contenido debe ser inferior a 2 mg/kg de materia seca.

4.4 Mercurio

Proceder a su análisis según el método que aparece en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido máximo debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

4.5 Arsénico

Proceder a su análisis según el método que aparece en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido debe ser inferior a 3 mg/kg de materia seca.

4.6 Cadmio

Proceder a su análisis según el método que aparece en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

4.7 Levaduras revivificables

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

El número debe ser inferior o igual a 10^2 UFC/g.

4.8 Mohos

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

El número debe ser inferior a 10^3 UFC/g de materia seca.

4.9 Bacterias lácticas

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

El número debe ser inferior a 10^3 UFC/g de materia seca.

4.10 Bacterias acéticas

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

El número debe ser inferior a 10^3 UFC/g de materia seca.

4.11 Salmonellas

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

Se debe controlar la ausencia en una muestra de 25 g de materia seca.

4.12 Escherichia coli

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

Se debe controlar la ausencia en una muestra de 1 g de materia seca.

4.13 Estafilococos

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

Se debe controlar la ausencia en una muestra de 1 g de materia seca.

4.14 Coliformes

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

El número debe ser inferior a 10^2 UFC/g de materia seca.

*Certificado conforme
Bucarest, 7 de junio de 2013
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

5. ADITIVOS

Los aditivos deben ser conformes a las reglamentaciones en vigor.

6. CONSERVACIÓN

. Las levaduras inactivadas deben siempre conservarse al abrigo del aire en bolsas herméticas Almacenar en un lugar fresco y seco.

En todos los casos, consultar las prescripciones del fabricante.

*Certificado conforme
Bucarest, 7 de junio de 2013
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Anexo 1

Método con Dinitrofluorobenceno

1. Introducción

Este método permitirá determinar rápidamente el nitrógeno aminado en una solución biológica con respecto a un rango de soluciones de trabajo elaborado con una solución de glicina.

2. Ámbito de aplicación

Productos enológicos de origen vegetal o animal.

3. Definición

El Dinitrofluorobenceno o DNFB reacciona con las funciones NH_2 libres que están en los aminoácidos para generar un compuesto de color amarillo vivo dosificado por colorimetría a 420 nm. La reacción tiene lugar con un $\text{pH} > 9,3$.

4. Reactivos y productos

Reactivos:

- Bórax o tetraborato del sodio,
- Dinitrofluorobenceno,
- ácido clorhídrico 10 M,
- glicina.

5. Equipo

- Tubos de hemólisis,
- micropipetas,
- espectrofotómetro para espectrofotometría visible,
- baño maría a 60 °C.

6. Muestreo

- Preparar una solución de tetraborato de sodio a 5 % en agua pura,
- preparar una solución de DNFB: introducir 130 μL de DNFB en 10 ml de etanol puro a 95 % vol.,
- preparar una solución de ácido clorhídrico 2 M,
- elaborar un rango de soluciones de trabajo a partir de una solución madre de glicina a 2 g/L ($M=75,07$ g) por ejemplo: 0,50 mg/L; 100 mg/L; 200 mg/L; 500 mg/L,
- Preparar una solución de 2 g/L del producto que hay que analizar.

7. Procedimiento

- En un tubo de hemólisis introducir:
 - 380 μL de Bórax a 5 %,
 - 20 μL de la muestra que hay que analizar,
 - 20 μL de la solución de DNFB,
 - Proceder de igual modo para la solución de glicina de concentración conocida,
 - Agitar y poner al baño maría a 60 °C durante 30 minutos,
 - Añadir 3 mL de HCl 2M,
 - Agitar y leer la absorbancia específica a 420 nm para la muestra,
 - Realizar una curva de calibración con las soluciones de trabajo glicina.

*Certificado conforme
Bucarest, 7 de junio de 2013
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

8. Resultados

Relacionar el valor de la absorbancia a 420 nm de la muestra con la curva de calibración. Los resultados se expresan en g/L de glicina.

*Certificado conforme
Bucarest, 7 de junio de 2013
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI