

# Cevaqoe

Jéan-Michel Riboulet, Luis A.R. Alves, Nerea Urreizti

## Microextracción en Fase Sólida



El "gusto a corcho" o a "moho" en un vino se está convirtiendo en uno de los principales "defectos" encontrados en los vinos. La empresa Cevaqoe estudia a los responsables: los cloroanisoles, a través de la SPME.

Este estudio describe un método de cuantificación de los cloroanisoles de los tapones de corcho extraíbles por el vino. Este método está basado en la maceración en un vino blanco de una muestra del lote de tapones de corcho a evaluar. Los cloroanisoles extraídos de los tapones de corcho por el líquido de maceración son analizados por la técnica de Microextracción en Fase Sólida (SPME).

El tapón de corcho acompaña al vino durante su evolución en la botella y está ligado a la conservación y a la protección de su calidad. Sólo él permite la

conservación y la protección de la calidad y el desarrollo de las cualidades aromáticas y organolépticas de los vinos. Sin embargo, los "gustos a corcho" o a "moho" en un vino se están convirtiendo en uno de las principales "defectos" encontrados en los vinos. El consumidor se muestra cada vez más sensible y atento a esta cuestión.

En la mayoría de los casos, los compuestos responsables de estas alteraciones son moléculas de la familia de los cloroanisoles.

Los cloroanisoles se conocen desde hace tiempo por ser los responsables de los intensos olores a "moho" en vinos,

corcho y en otros muchos productos (agua, café, chocolate y arroz). Existen una gran variedad de derivados en función del lugar de inserción del cloro en el anillo bencénico. Entre los compuestos identificables en los vinos se encuentran el 2,4, 6-TCA y el 2,3,4,6-TeCA. Están asociados en la mayoría de los casos con la presencia de olores y gustos a moho. Son el 2,4,6-TCA y el 2,3,4,6-TeCA los que poseen el olor más intenso y el nivel de percepción más bajo. El PCA tiene un olor mucho menos intenso que el resto de los cloroanisoles. Los cloroanisoles provienen de la mutilación de los clorofenoles correspondientes. Estos fueron muy utilizados durante años como fungicidas en el tratamiento de madera y como defoliantes. El PCF, aportado en forma de sal, es un adyuvante en

la fabricación de papel y en el tratamiento de cueros y telas. La reacción de mutilación la realizan bioquímicamente un gran número de microorganismos y en particular de hongos.

Los cloroanisoles pueden tener otros orígenes, tales como el de la degradación de ciertas moléculas cloradas empleadas como insecticidas o también pueden ser directamente sintetizados a partir de fenoles libres en el agua los cuales reaccionan con el cloro utilizado en tratamientos y/o desinfecciones de las bodegas. Todas las moléculas pueden ser analizadas en los vinos, pero también en los diferentes materiales susceptibles de contaminar directa o indirectamente el vino (madera, tapones de corcho, atmósfera, agua, cartón, productos enológicos...). Estos análisis son una ayuda muy preciosa para poner en evidencia la existencia de problemas y para buscar las causas.

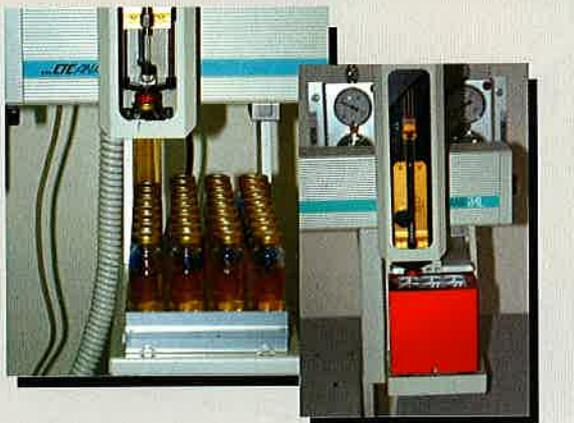
Según el tipo de policloroanisol detectado analíticamente, se puede determinar el origen de la contaminación. La presencia de TCA tiende a implicar el tapón de corcho. Los PCA y TeCA son indicadores de contaminaciones del ambiente. El análisis de los cloroanisoles que el tapón de corcho puede caer al vino constituye para los corcheros una herramienta de control rápido y fiable de los tapones de corcho comprados o de los lotes de tapones de corcho antes de su expedición.

## CONCLUSIONES

El método (Microextracción en Fase Sólida) SPME: GC/MS es una potente herramienta analítica de los compuestos del corcho susceptibles de contaminar el vino. Permite evaluar la contaminación de un lote de tapones de corcho de manera rápida y fiable. Su elevado grado de automatización reduce los costes de análisis de tal modo que permite el control sistemático de los lotes de tapones de corcho.

Por otra parte, esta técnica se puede completar con test sensoriales sobre macerantes de agua.

Finalmente, debe considerarse la representatividad de la muestra de tapones de corcho que se analiza. El número de muestras y el tamaño de cada una dependerá del número de tapones que compongan el lote en cuestión y del riesgo que se esté dispuesto a asumir en la aceptación de un lote.



De igual modo, y con objeto de prevenir el riesgo de gustos a corcho, para los bodegueros resulta muy importante el análisis de los tapones de corcho previamente al embotellado. Este trabajo presenta un método de cuantificación de los cloroaníssoles (TCA, TeCA y PCA) de los tapones de corcho extraíbles por el vino. Está basado en la maceración, de una muestra del lote de tapones de corcho a evaluar, en un vino y su análisis por SPME-GC/MS.

La SPME ha sido introducida como una técnica moderna y alternativa para la preparación de las muestras. Esta técnica elimina la utilización de solventes orgánicos, reduce el tiempo de análisis y permite la automatización de la preparación de las muestras. Además, se puede acoplar a diferentes tipos de equipos analíticos y aplicarse a la extracción de una amplia gama de moléculas; tales como pesticidas, aromas y productos farmacéuticos, así como al análisis de alimentos, aguas, atmósfera y matrices sólidas.

#### MÉTODO DE ANÁLISIS

Hoy en día, y por lo que respecta a la maceración de los tapones de corcho, no existe un método normalizado, nuestro método analiza los macerantes obtenidos a partir de tapones de corcho enteros. Este principio se asemeja más a lo que puede ocurrir en una situación real, con un tapón de corcho que obtura una botella de vino. Desde un punto de vista enológico lo que interesa es conocer los elementos que migran del corcho al vino, es decir, los componentes extraíbles.

Para realizar la maceración de los tapones de corcho empleamos frascos de vidrio con un tapón de polipropileno. Estos materiales no fijan los cloroaníssoles. Se ha realizado un estudio sobre la eficacia de la limpieza de estos frascos. Se han analizado tras la limpieza y están exentos de cloroaníssoles.

El líquido de maceración es un vino blanco común envasado en "Bag in Box". Para controlar la

ausencia de cloroaníssoles en el vino de maceración, previamente a su utilización, se analiza el vino de todos los "Bag in Box". Se introducen los tapones de corcho en los frascos de vidrio, previamente aclarados con el vino de la maceración y a continuación se llenan con el vino de maceración. El tiempo de maceración es de 24 horas a temperatura ambiente.

Tras eso, se homogeneiza el macerante y se introduce en frascos



de almacenamiento desechables para evitar contaminaciones entre diferentes muestras.

Cuando el demandante realiza el mismo la maceración de los tapones, el Laboratorio Cevaquo suministra el vino previamente analizado, los frascos de almacenamiento y de transporte del macerante.

#### PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Tras la maceración, se toma una muestra de 15 mL. Del frasco de almacenamiento y se introduce en viales de vidrio del tipo headspace de 20 mL, engastables para pasador CombiPAL, en los cuales se ha colocado NaCl en saturación para favorecer la extracción. Con la finalidad de eliminar posibles contaminaciones, estos frascos también son desechables. A continuación se añade 2,4,6-tricloroanisól deuterizado cinco veces y se engastan los frascos con una cápsula magnética de boca ancha.

Una vez preparada la muestra, ésta se coloca sobre el soporte del pasador CombiPAL, y queda así lista para su análisis.

La técnica de extracción e in-

yección utilizada es la micro extracción en fase sólida (SPME). La SPME es una técnica analítica basada en la adsorción y la desorción de moléculas sobre una fibra específica. Los Laboratorios Cevaquo aplican esta técnica desde 1998. Con la SPME los cloroaníssoles presentes en el líquido de maceración se fijan sobre un adsorbente específico. La adsorción se realiza en caliente y mediante agitación. Estos compuestos son termodesorbidos en el inyector de un cromatógrafo en fase gaseosa (GC) para ser a continuación identificados con exactitud y cuantificados por espectrometría de masas (MS). El pasador automático de muestras CombiPAL está equipado de un módulo SPME con fibra de polimetilsiloxano (PD-MS) que permite que la extracción e introducción de las muestras se realice de manera automática, continua y reproducible.

#### SEPARACIÓN Y ANÁLISIS

La separación cromatográfica de los compuestos se efectúa con ayuda de

un cromatógrafo en fase gaseosa VARIAN modelo 3900 GC sobre el que se monta una columna capilar de baja polaridad.

Los compuestos eluidos se detectan mediante un detector de espectrometría de masas VARIAN, modelo Saturn 2100 T funcionando de modo MS/MS y la cuantificación se basa en la comparación con el patrón interno TCA-d5 y respecto a una curva de calibración para cada compuesto.

#### ANÁLISIS COMPLETO Y RÁPIDO

Obtenemos de modo rápido, sin pérdida de sensibilidad y sin riesgo de contaminación, un análisis completo de los cloroaníssoles. Se ha optimizado el tiempo global de la cuantificación de los cloroaníssoles, en función de aquellos parámetros que pueden tener una influencia sobre la calidad de los análisis.

#### REPETITIVIDAD

Se ha estudiado la repetitividad del método para una concentración de entre 5 y 6 ng.L (elevado a -1) para cada uno de los tres compuestos. El coeficiente de variación viene dado por:  $CV = (\text{desviación estándar} \times 100) / \text{media}$ . ■

#### SUMMARY

*This paper describes a method for the quantification of releasable chloroaníssoles from cork stoppers to wine. A sample of the corks to be tested is soaked in white wine.*

*The chloroaníssoles which have migrated from the stoppers to the wine are then analysed using the SPME-GC/MS technique.*