

Herramientas analíticas para la exportación y el aseguramiento de la calidad en bodega

Elvira Zaldívar Santamaría, PhD.
Directora de calidad e I+D
Laboratorios Excell Ibérica S.L.
controlcalidad@labexcell.es
941 445 106



El concepto de calidad alimentaria



La etimología de la palabra calidad proviene del latín: **“qualitas”**
«atributo, propiedad o condición de un contrato».

- ✓ La calidad de los vinos está estrechamente unida a las cualidades intrínsecas del producto, a partir de las cuales podemos juzgar su valor.
- ✓ Tradicionalmente, el control de los alimentos se ha centrado en la inspección de los productos finales.
- ✓ En los últimos años se percibe una sensibilización creciente acerca de la importancia de un enfoque multidisciplinario que abarque toda la cadena alimentaria
- ✓ Este enfoque implica para la industria alimentaria la aplicación de procesos prácticos estandarizados como las **Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)** y el **Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC)** que permiten optimizar la producción y generar una nueva cultura de inocuidad de los alimentos.
- ✓ **Food safety:** la seguridad alimentaria (inocuidad) evoca la ausencia de los peligros asociados a los productos alimenticios susceptibles de perjudicar la salud de los consumidores.
- ✓ Sellos de calidad alimentaria tradicionalmente empleados en empresas vitivinícolas:
 - ❖ BRC- British Retail Consortium: GLOBAL STANDARD FOOD SAFETY ISSUE 8
 - ❖ IFS International Featured Standards: productores, distribuidores, certificadores
 - ❖ ISO 22000: 2018

Beneficios de la implantación de un sistema de calidad

Evidencia documentada del control para alcanzar la seguridad alimentaria

Constituye un enfoque global en los aspectos de seguridad.

Facilita las oportunidades comerciales dentro y fuera de la Unión Europea.

Proporciona medios para prevenir errores, en el control de la seguridad de los alimentos



Sistema APPCC

- ✓ Es una herramienta para evaluar peligros y establecer sistemas de control centrados en prevención. Puede aplicarse en toda la cadena alimentaria, desde el productor primario hasta el consumidor final.

HACCP

Hazard **A**nalysis **C**ritical **C**ontrol **P**oint

APPCC

Análisis de **P**eligros y **P**untos de **C**ontrol **C**rítico

- ❖ Las empresas del sector del vino deben crear, aplicar y mantener procedimientos eficaces de control para garantizar la protección de la salud de los consumidores, de acuerdo con los principios del sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC).
- ❖ El **Codex Alimentarius**, que orienta la elaboración de este documento, **estructura el sistema APPCC en 7 principios básicos y 4 fases previas**, los cuales son de obligado cumplimiento:

- ❖ 1. Creación del equipo de trabajo del APPCC
- ❖ 2. Descripción de las actividades y los productos
- ❖ 3. Elaboración del diagrama de flujo
- ❖ 4. Comprobación del diagrama de flujo
- ❖ 5. Análisis de peligros y determinación de las medidas preventivas. **Principio 1**
- ❖ 6. Determinación de los puntos de control crítico (PCC). **Principio 2**
- ❖ 7. Establecimiento de límites críticos para cada PCC. **Principio 3**
- ❖ 8. Establecimiento de un sistema de vigilancia para cada PCC. **Principio 4**
- ❖ 9. Adopción de medidas correctoras. **Principio 5**
- ❖ 10. Comprobación del sistema. **Principio 6**
- ❖ 11. Establecimiento de un sistema de documentación y registro. **Principio 7**

FASES PREVIAS



Creación del equipo de trabajo APPCC

- ❖ Equipo multidisciplinar.
- ❖ Funciones:
 - ❖ Asegurar que la composición del equipo responde a las necesidades
 - ❖ Dirigir y coordinar todo el equipo.
 - ❖ Escribir el Plan con la ayuda del equipo de trabajo, incorporando documentos ya elaborados
 - ❖ Coordinar la implantación, el desarrollo y el mantenimiento.
 - ❖ Asumir la representación del equipo ante la Dirección con la finalidad de informarla.
 - ❖ Aprobar el documento de autocontrol.
 - ❖ Realizar el seguimiento hasta asegurar su implantación completa.



Descripción de las actividades y de los productos

✓ Descripción de materia prima



✓ Descripción de producto final

DESCRIPCIÓN DE LOS PRODUCTOS (para empresas elaboradoras)					
Referencia del documento:					
Denominación del producto					
Ingredientes, con indicación de cantidades y/o porcentajes					
Ingredientes alérgenos, con indicación de ingredientes compuestos, aditivos, soportes de aditivos y coadyuvantes tecnológicos					
Características microbiológicas y fisicoquímicas					
Formato y presentación del envase y/o embalaje					
Tratamientos tecnológicos a los que se ha sometido					
Condiciones de conservación					
Sistema empleado para identificar el producto					
Destinación					
Uso esperado (consumo directo o uso culinario)					
Versión:	Fecha de emisión:	Elaborado por:	Aprobado por:	Pág. de	Referencia:

Elaboración de diagrama de flujo

- ❖ Los diagramas de flujo son representaciones gráficas, útiles para realizar el análisis de peligros.
- ❖ Para cada tipo de producto se debe realizar un análisis del proceso y elaborar un diagrama de flujo en el que se pueden agrupar las operaciones similares.

Comprobación de diagrama de flujo

- ❖ Comprobar in situ junto con un plano de la planta
- ❖ Identificar las áreas de alto y bajo riesgo

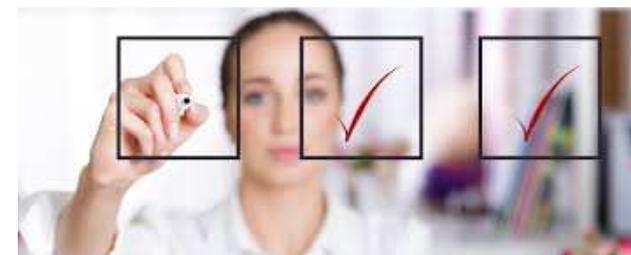
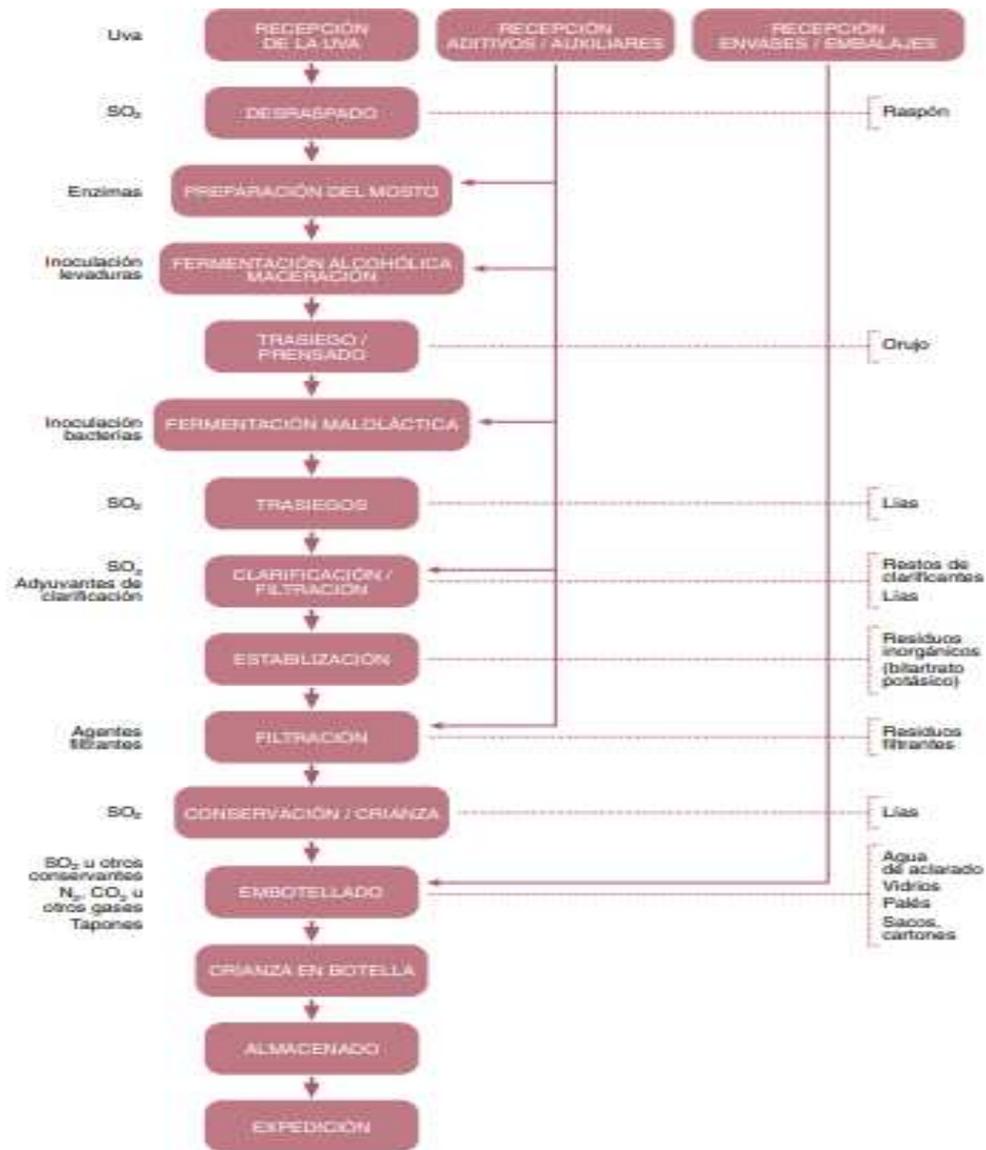


Diagrama de flujo para elaboración de vino tinto



PESADO DE LA UVA Y TOMA DE MUESTRAS

El peso de la uva es el primer paso en la elaboración del vino. Para obtener una muestra representativa se debe utilizar un método adecuado que asegure la homogeneidad de la muestra. Posteriormente se debe dividir la muestra en porciones que permitan su análisis.

DESPELLADO Y ESTRUJADO

Después de haber pesado la uva, el siguiente paso es despalmarla y estrujarla. Este proceso se realiza en un despalmeador y estrujador, donde se separa la pulpa de la pepita y se extrae el jugo de la uva.

MACERACIÓN Y FERMENTACIÓN

La maceración y fermentación son procesos clave en la elaboración del vino. Durante la maceración se extrae el jugo de la uva y se mezcla con la pulpa. Posteriormente se realiza la fermentación alcohólica, donde se convierte el azúcar en alcohol.

FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Este es el momento en el que se realiza la fermentación alcohólica. Se utiliza levadura para convertir el azúcar en alcohol y CO₂. Este proceso se realiza en un fermentador.

DESUBIDO

Después de la fermentación, se realiza el desubido. Este proceso consiste en separar el jugo de la pulpa y la levadura. Se utiliza un desubidor para realizar este proceso.

PRENSADO DEL MOSTO

El prensado del mosto es el proceso de extraer el jugo de la uva. Se utiliza un prensador para realizar este proceso. Este proceso se realiza en un prensador.

CUPAGE

El cupage es el proceso de mezcla de vinos. Se utiliza un cupageador para realizar este proceso. Este proceso se realiza en un cupageador.

CRIANZA

La crianza es el proceso de maduración del vino. Se realiza en un bodega. Este proceso se realiza en un bodega.

CLARIFICACIÓN, ESTABILIZACIÓN Y FILTRACIÓN

Este proceso consiste en clarificar, estabilizar y filtrar el vino. Se utilizan diversos productos para realizar este proceso. Este proceso se realiza en un clarificador.

ENSAMBLAJE

El ensamblaje es el proceso de unir los vinos. Se utiliza un ensamblador para realizar este proceso. Este proceso se realiza en un ensamblador.

EMBOTELLADO Y CRIANZA EN BOTELLA

Este proceso consiste en embotellar y criar el vino en botella. Se utiliza un embotellador para realizar este proceso. Este proceso se realiza en un embotellador.

ETIQUETAJE

El etiquetaje es el proceso de poner etiquetas a las botellas. Se utiliza un etiquetador para realizar este proceso. Este proceso se realiza en un etiquetador.

COMO SE ELABORA EL VINO BLANCO

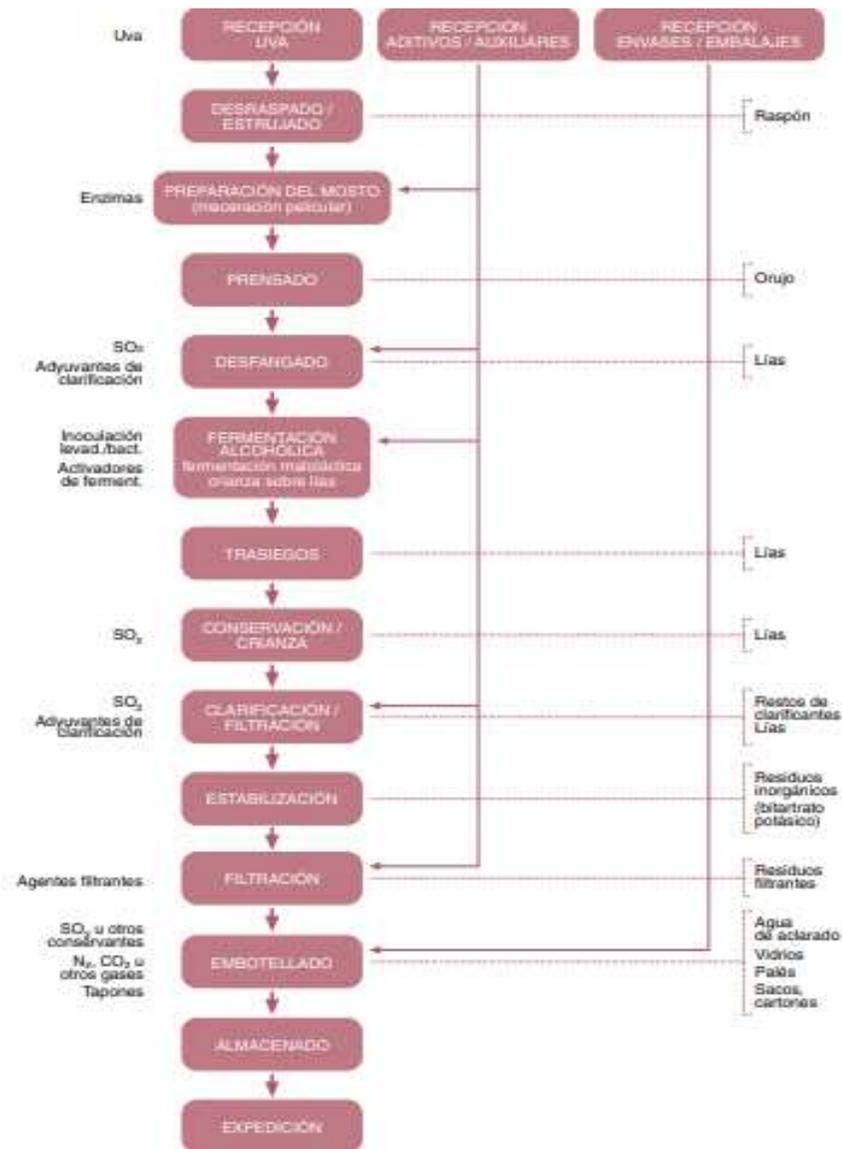
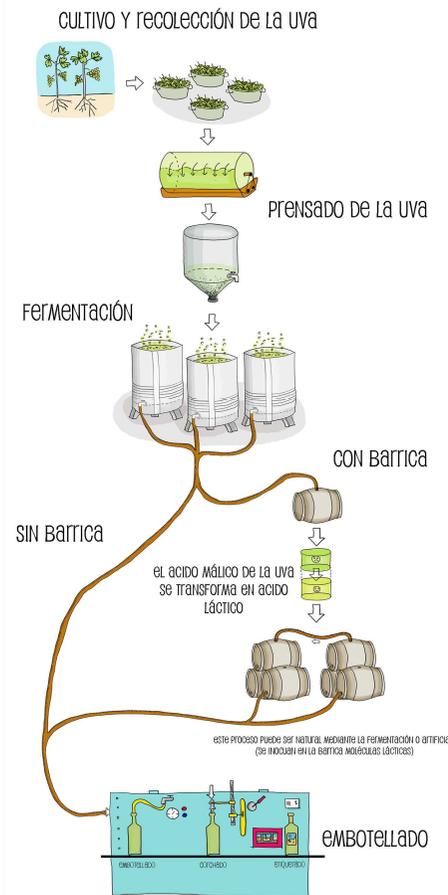
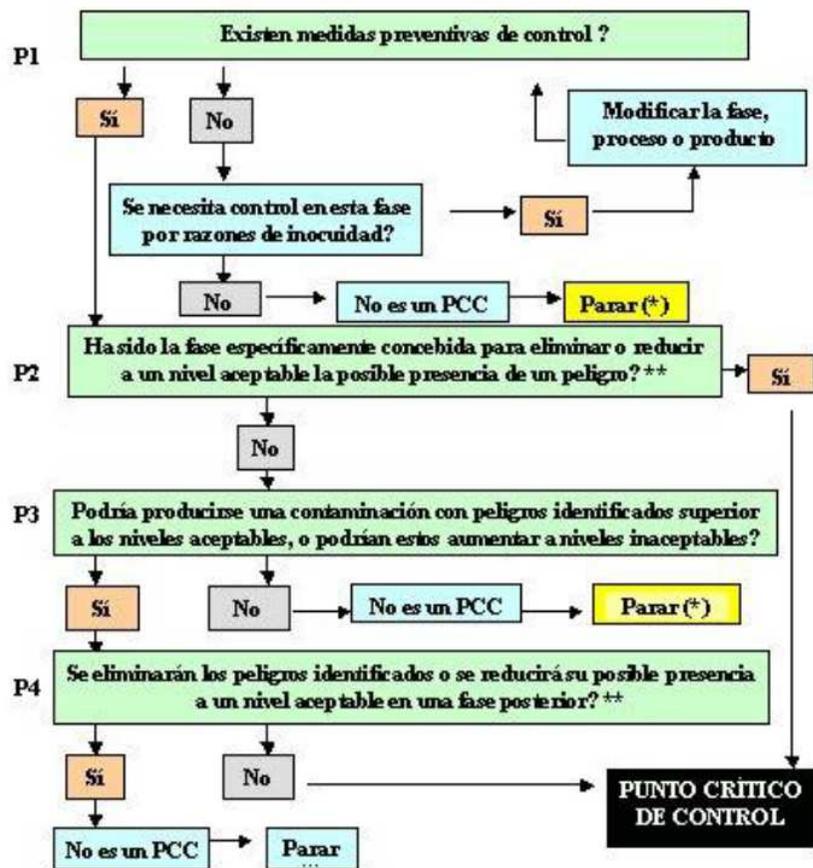


Diagrama de flujo para elaboración de vino blanco

Principio 1: Análisis de peligros y determinación de las medidas preventivas



* Pasar al siguiente peligro identificado el proceso descrito
** Los niveles aceptables u inaceptables necesitan ser definidos

❖ Puntos de control:

- Restos de productos fitosanitarios, herbicidas, grasas, aceites
- Micotoxinas provenientes de podredumbre
- Contaminación por metales pesados
- Contaminación por productos de limpieza y desinfección
- Elementos extraños: restos de vegetales, insectos, polvo...
- Microorganismos en envases y transporte

❖ Determinar los puntos de control en cada etapa como por ejemplo:

- En el desfangado/clarificación: contaminación por bisfenol A, residuos de etilenglicol/ dietilenglicol/ propilenglicol
- En la fermentación maloláctica: producción de aminas biógenas

Principio 2: Determinación de los PCC

- ❖ La identificación de un PCC exige la aplicación de un árbol de decisiones; se trata de formular una serie de preguntas en un orden determinado y contestarlas para concluir qué fase o etapa en cuestión es un PCC

Principio 3: Establecimiento de límites críticos para cada PCC

- ❖ El sistema de vigilancia para controlar lo que sucede en los PCC tiene que ser capaz de indicar:
 - Una tendencia en la pérdida de control de un PCC, con el fin de facilitar tomar las medidas que devuelvan la situación a la normalidad, antes de que se produzca una desviación del límite crítico.
 - Una pérdida constatable de control de un PCC, que ocasiona el incumplimiento de un límite crítico, por lo que se deben ejecutar las medidas correctoras.



Principio 4: Establecimiento de un sistema de vigilancia para cada PCC

- ❖ Los límites críticos para cada PCC son los indicadores de la necesidad de aplicar una medida correctora.
- ❖ Los criterios deben ser fáciles de observar medir y registrar, y deben referirse a una característica física, química, microbiológica o sensorial objetiva, tanto del producto como del proceso.
- ❖ Se tiene que establecer un valor correcto, un intervalo de tolerancia y un límite crítico a partir del cual el producto o proceso no es aceptable.



Principio 5: Adopción de medidas correctoras

- ❖ Cuando el sistema de vigilancia identifica desviaciones fuera de los límites en algún PCC, hay que aplicar las medidas correctoras específicas que aseguren el retorno al control; además, estas medidas correctoras sirven para tratar adecuadamente el producto no conforme y para identificar las causas que han provocado que se superen los límites críticos
- ❖ Las medidas correctoras deben ser específicas para los diferentes límites críticos establecidos y, si un PCC falla, debe ser posible aplicar su medida correctora inmediatamente.

Principio 6: Comprobación del sistema

Los programas de comprobación deben incluir:

- Procedimientos: definir qué (el objeto de la comprobación), cómo (con qué método) y dónde (lugar o punto del proceso)
- Frecuencia: definir cada cuándo se comprueba (frecuencia anual, mensual, semanal, diaria)
- Responsable: establecer quien comprueba; debe ser un miembro cualificado del equipo de APPCC que no audite actividades sobre las que tiene responsabilidades o bien un auditor experto externo .
- Registros: enumerar las medidas de comprobación y los resultados (modelos de registros)
- La comprobación del sistema APPCC debe incluir procedimientos para validar y verificar que demuestren que el sistema funciona de forma eficaz y eficiente, en conjunto.



Principio 7: Establecimiento de un sistema de documentación y registro

❖ Para implantar el sistema APPCC de forma eficiente y eficaz es esencial un sistema documentado que incluya

- Documentos previos al análisis de peligros:
 - Lista de los miembros del equipo de trabajo
 - Descripción de las actividades y los productos
 - Diagrama de flujo
 - Documento de comprobación de cada diagrama de flujo
- Documentos relacionados con el APPCC:
 - Análisis de los peligros y determinación de las medidas preventivas
 - Identificación de los PCC
 - Identificación de los límites críticos para cada PCC
 - Actividades de vigilancia
 - Medidas correctoras
 - Procedimientos de comprobación
 - Sistemas de documentación y mantenimiento de registros
 - Cuadro de gestión del Plan APPCC
- Registros generados por el Plan APPCC:
 - Registro de actividades de vigilancia de los PCC
 - Registro de incidencias y de medidas correctoras
 - Registros de verificación / validación del sistema APPCC
 - Modificaciones introducidas en el sistema



Ejemplos APPCC en bodega

Nº	FASE	PELIGRO	CAUSA	MEDIDA DE CONTROL	PCC/PC	MEDIDAS CORRECTORAS
1	Recepción de materia prima	Contenido en microbiología patógena por encima de niveles de seguridad. Bacterias y hongos.	Temperaturas inadecuadas en cisternas	Cisternas isotermas	PC	Devolución del producto
			Suciedad de cisternas o mangueras	Limpieza y desinfección de la cisterna antes de cargar mosto		
				Limpieza y desinfección de las mangueras antes y después de cargar mosto		
				Limpieza y desinfección de las tuberías fijas - Plan de limpieza		
			Limpieza y desinfección de la acometida y taponado después de su utilización - Plan de limpieza			
		Restos de plaguicidas, ocratoxina y metales pesados en el vino	Restos de plaguicidas, ocratoxina y metales pesados en el vino	Conocimiento de la legislación de plaguicidas	PCC	Si ha llegado mosto de esa finca: identificar mediante trazabilidad lotes afectados, retirarlos, recuperarlos, bloquearlos y destruirlos mediante gestor autorizado.
Inspecciones de campo	Si no ha llegado mosto de esa finca: Analizar el problema de la contaminación y establecer medidas al proveedor para evitar otros problemas.					

EJEMPLO BODEGA		GESTIÓN DE PUNTOS DE CONTROL CRÍTICOS EN BODEGA						IT-0001 Rev0
FASE ELABORACIÓN	PELIGRO	MEDIDA PREVENTIVA	P.C.C.	LÍMITE CRÍTICO	VIGILANCIA	MEDIDAS CORRECTIVAS	REGISTRO ASOCIADO	RESPONSABLE
1. Recepción uva/vino y productos enológicos	Restos de toxinas en uva/vino por incorrecta sanidad de la uva	Inspección de buenas prácticas de campo. Control sanidad parcelas. Homologación de proveedor Certificado de compra vino	No	Niveles de toxinas (OTA) en vino por debajo de lo establecido por ley.	Visitas a los viñedos entre envero y vendimia. Analítica anual de ocratoxina de un cupaje.	Clasificación y cupaje para disminuir la concentración hasta límites aceptables.	Control proveedores uva. Analítica mosto (OTA)	Responsable de calidad
1. Recepción uva/vino y productos enológicos	Restos fitosanitarios/metales pesados en uva/vino Uso de productos no autorizados	Buenas prácticas agricultor Control cuaderno de campo Homologación de proveedor Certificado de compra vino	No	Niveles de fitosanitarios o metales en vino por debajo de lo establecido por ley	Visitas a los viñedos entre envero y vendimia. Analítica de un cupaje	Clasificación y cupaje para disminuir la concentración hasta límites aceptables.	Control proveedores uva. Control cuaderno de campo Analítica fitosanitarios y metales vino	Responsable de calidad
2. Recepción mosto	Restos fitosanitarios en uva por malas prácticas proveedor	Homologación de proveedor Certificado de compra mosto	No	Niveles de fitosanitarios y/o metales en vino por debajo de lo establecido por ley Límites establecidos exportación para carbamato de Etilo e Histamina	Analítica de un cupaje	Clasificación y cupaje y verificación de límites legales.	Analítica fitosanitarios y metales vino	Responsable de calidad
3. Elaboración	Presencia de toxinas	Inoculación de bacterias	No	Ausencia de estos compuestos	Control analítico durante FML	Control de la FML	Analítica Carbamato de etilo y aminos biogénas	Responsable de calidad
4. Estabilización	Toxicidad por Presencia de etilenglicol y/o di etilenglicol	Alternativas al uso de estos refrigerantes	SI	Ausencia de estos compuestos	Control fichas técnicas composición refrigerantes	Eliminar la partida afectada de producirse derrame	Registro fichas técnicas refrigerantes Analítica ausencia refrigerantes en vino	Responsable de calidad
5. Embotellado	Contaminación microbiológica -Vino con alto contenido en azúcar: estallido de la botella o rezume por el tapón -vino tranquilo: enturbiamiento del vino	Uso de filtros amicrobólicos	NO	< 5 UFC/ml para Levaduras Bretanomyces Bacterias acéticas Bacterias lácticas Mohos	Control periódico de presencia de microorganismos (levaduras, bacterias etc.)	limpieza de todo el circuito de embotellado con productos aptos y específicos para la industria alimentaria antes y después de embotellar y en las dosis adecuadas	Analítica <5UFC/ml Parte de limpieza y registros de control de SO2	Responsable de calidad
5. Embotellado	Contaminación externa	Cambio y renovación de materiales plásticos permitidos	SI	Ausencia de Fialatos	Control de fichas técnicas compra de materiales. Analítica	Clasificación y cupaje y verificación de límites legales.	Analítica de Fialatos y fichas técnicas de materiales plásticos	Responsable de calidad
4. Embotellado	Presencia alérgeno:SO ₂ y clarificantes animales	Control de SO ₂ Aviso en el etiquetado "contiene sulfitos" o derivados leche y/o huevo	No	Mención en todas las botellas de "contiene sulfitos" o derivados leche y/o huevo	Análisis de SO2 del vino embotellado Control de proveedores y gestión de pedidos de etiquetas	Paralizar el proceso de embotellado y delimitar el lote afectado para ser marcado como no conforme. Re etiquetado del producto.	Analítica de alérgenos (SO ₂ y otros) Parte de producción embotellado	Responsable de calidad, compras y de embotelladora

Infecciones fúngicas



La aparición de lluvia durante los últimos meses, cuando la uva empieza a estar madura, facilita las infecciones fúngicas al reblandecerse la piel y favorecer la penetración de las hifas de ciertos hongos. Enfermedades como la podredumbre gris causada por *Botrytis cinerea* y el Oidio.

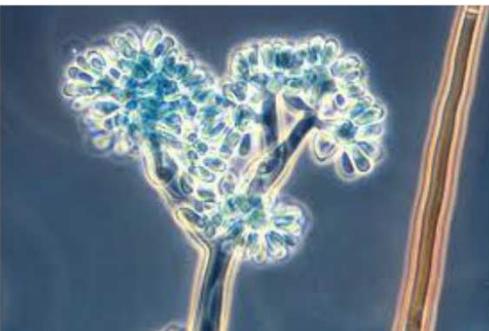
ÁCIDO GLUCÓNICO

Parámetro indicador de la sanidad de la cosecha. Este ácido aparece a partir de la glucosa mediante fermentación aeróbica con la actuación de enzimas de ciertas bacterias del género *Acetobacter* y entre otras, algunos mohos como *Aspergillus* y *Botrytis cinerea*.

Uvas que muestran una alta infección fúngica pueden contener niveles de ácido glucónico de entre 1-2 g/L, sin embargo, niveles menores de este compuesto permiten detectar cierta infección (>0,5 g/L).

PREVENCIÓN

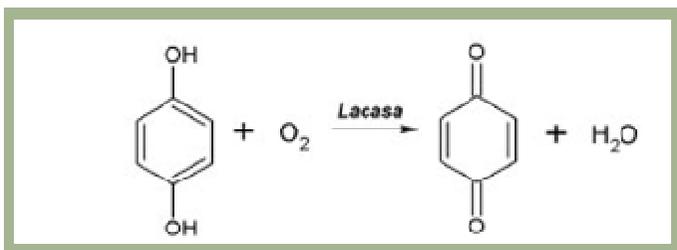
Bloquear la actividad laccasa con anhídrido carbónico.	Acciones mecánicas extractivas suaves, como el <i>delestage</i> .
Sulfuroso.	No usar ácido ascórbico sin, SO ₂ libre
Corrección del pH.	Maceraciones cortas.
Extracciones suaves.	Evitar contacto con el oxígeno.
Uso de taninos elágicos.	



Infecciones fúngicas



Diferentes grados de ataque en racimo por parte de *Botrytis*.



Reacción típica de las laccasas sobre sustratos fenólicos.

TEST LACCASA

- ✓ La actividad laccasa es una enzima fuertemente oxidante producida por el hongo *Botrytis cinerea*.
- ✓ Cataliza la oxidación de una gama más amplia de polifenoles; es una enzima extracelular y muy soluble en agua.
- ✓ Además, resulta resistente al SO₂.
- ✓ Ensayo espectrofotométrico.

Resultado test Laccasa	Evaluación	Significado enológico
0-8 U/mL	Baja actividad	Poco problemáticas a nivel enológico
9-20 U/mL	Actividad moderada	Acciones reparadoras posibles
>20 hasta 140 U/mL	Actividad alta-muy alta	Acciones reparadoras requeridas

LÍMITES LEGALES



- ❖ La mayoría de los requisitos de la OIV están traspasados a reglamentación europea.
- ❖ Los valores máximos en vinos son válidos para todos los países de la U.E.
- ❖ En general son válidos para otros países del mundo dado que son recomendaciones de la OIV.

- ❖ Textos a tener en cuenta:

- **Reglamento (CE) No 1493/1999** por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola.
- **Reglamento (CE) no 423/2008** de la comisión por el que se establecen determinadas disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) no 1493/1999 del Consejo y se introduce un código comunitario de prácticas y tratamientos enológicos.
- **Codex internacional de prácticas enológicas.**
- **Codex enológico internacional (productos).**



Micotoxinas

Micotoxinas identificadas en uva y productos derivados

Micotoxina	Sustrato	Hongo productor
Ácido bisoclámico	Uva	<i>Byssochlamys fulva</i>
		<i>Byssochlamys nivea</i>
Citrinina	Mosto	<i>Penicillium citrinum</i>
		<i>Penicillium expansum</i>
Patulina	Mosto	<i>Byssochlamys fulva</i>
		<i>Byssochlamys nivea</i>
		<i>Penicillium expansum</i>
Ocratoxina A	Uva, mosto y vino	<i>Aspergillus carbonarius</i>
		<i>Aspergillus fumigatus</i>
		<i>Penicillium pinophilum</i>

- ❖ Las micotoxinas son metabolitos producidos por los hongos filamentosos micotoxinogénicos (pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*) durante su crecimiento.
- ❖ Mohos saprofíticos, como *Botrytis cinerea*, o *Aspergillus spp.*, producen Ocratoxina A (OTA).
- ❖ la OTA es una micotoxina con efecto nefrotóxico, carcinogénico, teratogénico, inmunotóxico, y posiblemente neurotóxico.

OCRATOXINA A

- ❖ La Unión Europea: los límites máximos permisibles en uvas pasas (10 µg/kg). En vinos y mostos de 2 µg/L (OIV-AM-C1:22011).
- ❖ China : National Health and Family Planning Commission titled GB 2761-2017 que regula los niveles máximos de micotoxinas en vinos, se fijan 2 µg/kg de Ocratoxina A. Parámetro a incluir en los boletines de exportación a China.



SULFATOS

- ❖ Los sulfatos son todas las sales compuestas del anión SO_4^{2-} .
- ❖ La presión social contra el empleo de fitosanitarios sintéticos en el viñedo, lleva a los profesionales a recurrir a productos en base de azufre, principalmente en viticultura orgánica.
- ❖ Muchos microorganismos están involucrados en los fenómenos de oxidoreducción que contribuyen a la producción de sulfatos a partir de aportes de azufre durante los períodos de tratamiento.



LÍMITES LEGALES

TIPO DE VINO	SULFATOS EXPRESADOS EN SULFATO DE POTASIO	NORMATIVA
Límite general	< 1,0 g/L	OIV-MA-C1-01: 2011
Vinos criados en madera más de 2 años, vinos edulcorados, vinos especiales adicionados de mosto, alcohol o destilados	<1,5 g/L	OIV-MA-C1-01: 2011
Vinos adicionados de mosto concentrados, vinos dulces naturales	< 2,0 g/L	OIV-MA-C1-01: 2011
Vinos de Jerez	<2,5 g/L	OIV-MA-C1-01: 2011



Control de pesticidas en materia prima



- ✓ La legislación vigente establece los **Límites Máximos de Residuos (LMRs)** permitidos para cada plaguicida, en concreto el **RD 280/1994** regula los límites máximos en España.
- ✓ Por tanto, el control de su presencia en productos alimenticios según lo dispuesto constituye una importante tarea de vigilancia.
- ✓ Además, para aquellas empresas que opten por implantar APPCC y/o normativas **ISO 22000, BRC e IFS**, están obligadas a cuantificar y prevenir los riesgos para la salud asociados a sus productos. (**Food safety**).

Control de pesticidas

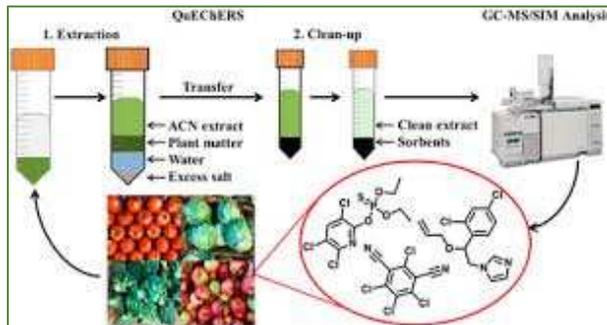
- ✓ Técnicas de análisis de pesticidas (*tecnología Quenchers*):
 - Cromatografía de gases: GC/MS/MS
 - Cromatografía líquida: HPLC/MS



¿Es el listado de residuos fitosanitarios que utilizo el más adaptado el viñedo?

Pose-Juan, E. et al, 2015, residuos de fitosanitarios con una mayor frecuencia en suelos de viñedo.

Fitosanitarios de mayor presencia en viñedo se encontraban: benalaxilo, ciproconazol, ciprodinilo, diazinon, dimetomorfo, kresoxim-metil, metalaxilo, miclobutanilo, pirimetanil, pirimicarb, iprovalicarb y tebuconazol.



SERVICIO ANALÍTICO	Nº RESIDUOS INCLUIDOS	TÉCNICA EMPLEADA
¹ PRESENCIA/AUSENCIA	203	GC/MS/MS
PHYTO CHECK SMALL	6	HPLC/MS/MS
² PHYTO CHECK MEDIUM	203	GC/MS/MS
² PHYTO CHECK LARGE	203 + 72 = 275	GC/MS/MS + HPLC/MS/MS
² PHYTO CHECK EXTRA LARGE	203 + 72 + 6 = 281	GC/MS/MS + HPLC/MS/MS

Control de pesticidas en agricultura convencional

ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/?event=details&pest_res_ids=244&product_ids=&v=1&e=search.pr

Pesticide residue(s) and maximum residue levels (mg/kg)

Please note:

- New MRL values for **Boscalid (R) (F)** will apply on a yet to be specified date

Back to search Export history

381 products selected Filter results ...

Code number	Products to which MRLs apply	Boscalid (R) (F)	Boscalid (R) (F)	Boscalid (R) (F)
		SANTE/11426/2020	Reg. (EU) 2016/156	Reg. (EU) 2016/1
0140040	Plums	not yet applicable	3	3
0140990	Others (2)	0.01*	0.01*	3
0150000	Berries and small fruits			
0151000	(a) grapes	5	5	5
0151010	Table grapes	5	5	5
0151020	Wine grapes	5	5	5

- ✓ La legislación vigente establece los Límites Máximos de Residuos (**LMRs**) permitidos para cada plaguicida, en concreto el RD 280/1994 regula los límites máximos en España.
- ✓ El Límite Máximo de Residuo (LMR) es el nivel más alto de un residuo de plaguicida que se tolera legalmente en alimentos o piensos cuando los plaguicidas se aplican correctamente (Buenas Prácticas Agrícolas).
- ✓ Buscador actualizado de residuos y sus LMR de la página de comisión europea:
<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/?event=search.pr>
- ✓ Debemos buscar el producto: uvas y en el caso de que esta categoría esté dividida por uvas de mesa o de vinificación se aplicará el LMR para uvas de vinificación.
- ✓ Sector cambiante: marzo de 2019 (Consejo Europeo de Certificadores Orgánicos (EOCC) Si el residuo **fosetil** se detecta en concentración igual o superior a **0,01 mg/kg** las autoridades de control deben iniciar una investigación.

Control de pesticidas en agricultura convencional

✓ No existe una categoría para LMR en vino....
¿Que hacemos entonces?



AECOSAN: Agencia española de consumo seguridad alimentaria y nutrición
LMR en alimentos transformados (07/12/2016):

europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/?event=details&pest_res_ids=244&product_ids=&v=1&e=search.pr

Pesticide residue(s) and maximum residue levels (mg/kg)

Please note:
• New MRL values for **Boscalid (R) (F)** will apply on a yet to be specified date

Back to search Export history

381 products selected Filter results ...

Code number	Products to which MRLs apply	Boscalid (R) (F) SANTE/11426/2020 not yet applicable	Boscalid (R) (F) Reg. (EU) 2016/156 applicable	Boscalid (R) (F) Reg. (EU) 2016/1 previous
0140040	Plums	3	3	3
0140990	Others (2)	0.01*	0.01*	3
0150000	Berries and small fruits			
0151000	(a) grapes	5	5	5
0151010	Table grapes	5	5	5
0151020	Wine grapes	5	5	5

Producto agrícola sin elaborar	Producto procesado	Sustancia seca en la materia prima	Sustancia seca en el producto final	Factor de procesado teórico medio
Uvas de vinificación	Vino	Ref. CX/PR 09/41/10 Reglamento 2015/595	Rendimiento de producción de 70% aprox.	0,5-1,0

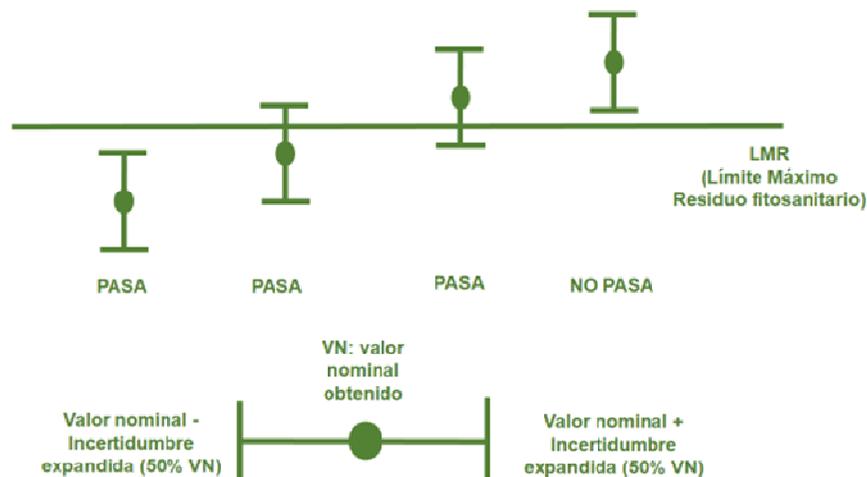
Control de pesticidas en agricultura convencional

*¿Me han detectado residuos fitosanitarios en mi uva/vino?
¿Estoy incumpliendo la legislación?*



- ❖ Los laboratorios acreditados deben establecer **REGLAS DE DECISIÓN** si emiten **DECLARACIONES DE CONFORMIDAD**.
- ❖ Los organismos que evalúen la conformidad del producto (organismos oficiales) deben establecer su regla de decisión a sobre la interpretación de la incertidumbre de ensayo en las declaraciones de conformidad.

INTERPRETACIÓN REGLA DE DECISIÓN PARA RESIDUOS DE PESTICIDAS CONFORME A SU LMR
(Aecosan Interpretación de resultados analíticos 08/02/2016)



AECOSAN: Interpretación de resultados analíticos(08/02/2016):

La incertidumbre de la medida (U) debe ser considerada como un 50%, y en particular, a la baja, es decir, restándosela al resultado (x) obtenido, de forma que, al compararla con el LMR fijado, se pueda tener la certeza, con una confianza del 97.5%, de que la concentración de residuo de esa muestra supera dicho LMR y por lo tanto, es un claro incumplimiento de la legislación alimentaria.

Plaguicidas — Productos fitosanitarios a que se refiere el artículo 5, apartado 1

Todas las sustancias enumeradas en el presente anexo deben cumplir, como mínimo, las condiciones de utilización, según lo especificado en el anexo del Reglamento de Ejecución (UE) n.º 540/2011 ⁽¹⁾. En la segunda columna de cada cuadro se especifican condiciones más restrictivas para su utilización en la producción ecológica.

1. Sustancias de origen vegetal o animal

Denominación	Descripción, requisitos de composición y condiciones de utilización
<i>Allium sativum</i> (Extracto de ajo)	
Azadiractina extraída de <i>Azadirachta indica</i> (árbol del neem)	
Sustancias básicas (en particular: lecitinas, sacarosa, fructosa, vinagre, lactosuero, clorhidrato de quitosano ⁽¹⁾ y <i>Equisetum arvense</i> , etc.)	Únicamente las sustancias básicas a tenor del artículo 23 del Reglamento (CE) n.º 1107/2009 ⁽²⁾ que sean alimentos, tal como se definen en el artículo 2 del Reglamento (CE) n.º 178/2002, y tengan origen vegetal o animal Sustancias que no deben utilizarse como herbicidas, sino únicamente para el control de plagas y enfermedades.
Cera de abejas	Solo como agente para la poda/protector de madera.
Sustancia activa COS-OGA	
Proteínas hidrolizadas salvo la gelatina	
Laminarina	Las laminarias se cultivarán de forma ecológica de acuerdo con el artículo 6 <i>quinquies</i> o se recolectarán de forma sostenible de acuerdo con el artículo 6 <i>quater</i> .
Feromonas	Únicamente en trampas y dispersores.
Aceites vegetales	Todas las utilizaciones autorizadas, salvo como herbicida.
Piretrinas extraídas de <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i>	
Piretroides (solo deltametrina o lambdacihalotrina)	Únicamente en trampas con atrayentes específicos; únicamente contra <i>Bactrocera oleae</i> y <i>Ceratitis capitata</i> Wied.
Cuasia extraída de <i>Quassia amara</i>	Únicamente como insecticida y repelente.
Repelentes (por el olor) de origen animal o vegetal/grasa de ovino	Solo para las partes no comestibles del cultivo y cuando el material del cultivo no sea ingerido por ovejas ni cabras.
<i>Salix spp.</i> Cortex (también denominado extracto de corteza de sauce)	

⁽¹⁾ Obtenidas de la pesca sostenible o de la acuicultura ecológica.

⁽²⁾ Reglamento (CE) n.º 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de octubre de 2009, relativo a la comercialización de productos fitosanitarios (DO L 309 de 24.11.2009, p. 1).

Control de pesticidas en agricultura ecológica

- ❖ REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2018/1584 DE LA COMISIÓN de 22 de octubre de 2018 Plaguicidas — Productos fitosanitarios a que se refiere el artículo 5, apartado 1

¿Y si mis productos muestran presencia mínima de algún residuo no permitido?

- ❖ Vigilar posibles derivas de cultivos vecinos.
- ❖ Control de aguas subterráneas.
- ❖ Límites permitidos por los Consejos de agricultura ecológica.



excell
LA EXPERIENCIA ANALÍTICA
IBÉRICA



Certificación de vino ecológico



FUNCIONES

- Velar por el cumplimiento de la normativa europea, Reglamento (CE) 834/2007, sobre la producción y etiquetado de los productos ecológicos y sus Reglamentos de desarrollo.
- Gestionar y mantener actualizados los registros públicos de operadores (productores, elaboradores, comercializadores) acogidos a esta figura de calidad en La Rioja.

CERTIFICADORES

- La Dirección General con competencias en materia de Calidad Agroalimentaria ejerce las funciones de Autoridad Competente en materia de agricultura ecológica y Autoridad de Control dentro de la Comunidad Autónoma de La Rioja.
- La **Autoridad de Control se encarga de efectuar inspecciones, al menos una vez al año, a todos los operadores inscritos en el Registro de agricultura ecológica de La Rioja en base a la normativa europea.**
- Dicha normativa concreta las **técnicas agronómicas, los insumos** (fertilizantes, plaguicidas, material vegetal, alimentación y profilaxis ganadera) autorizados en la producción de las fincas agrícolas y ganaderas ecológicas, y establece las medidas de control para garantizar la trazabilidad a lo largo de toda la cadena de producción, desde el campo hasta la elaboración, y la puesta a la venta de los alimentos en los mercados, dando las máximas garantías en el cumplimiento de esta normativa frente al consumidor, que es en última instancia el destinatario de este tipo de productos.
- La **Autoridad de Control de Agricultura Ecológica de La Rioja solo emite el certificado de conformidad a aquellos operadores que superen los controles.**
- Cuando se detecta un producto con residuos de plaguicidas no se permite la comercialización haciendo uso de la mención "ecológico", "biológico", "orgánico", "eco" o "bio".

Certificación de vino ecológico



- ❖ Habrá que demostrar la ausencia de productos fitosanitarios.
- ❖ El CPAER tomará diferentes tipos de muestra:
 - ❖ Productor: uva, suelo, hojas...
 - ❖ Elaborador: vino
- ❖ **Reglamento (UE) 2017/625** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017, relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios: **en la mesa de producción ecológica** se designo que solamente los laboratorios que cumplieran **NT70-09 2019** pueden ser designados como **laboratorios para las analíticas oficiales**: el alcance de acreditación deberá incluir métodos de ensayo multiresiduos de plaguicidas mediante técnicas de cromatografía de gases y de cromatografía de líquidos con detección por espectrometría de masas dotada con modo de adquisición masas-masas (ej. MRM) y cuyo alcance previsto incluya al menos un total de 300 materias activas. En todos los casos el alcance de acreditación debe incluir al menos las familias de productos "Frutas y hortalizas", "Material vegetal" (por ejemplo tallos, hojas, plantones, semillas) y "Productos transformados" (por ejemplo zumos, aceite, vino). Asimismo, deberá disponer de métodos específicos para la determinación de glifosato, fosetil y clorato/perclorato
- ❖ Por el momento en La Rioja el CPAER no está tomando en cuenta la incertidumbre de ensayo a la hora de evaluar los resultados analíticos.
- ❖ Cualquier material que aparezca $\geq 0,01$ mg/L es susceptible de descalificación del producto o de apertura de una investigación.
- ❖ Si se encontraran restos de residuos fitosanitarios se descalificaría la partida:
 - ❖ Deposito
 - ❖ Parcela o parte de la parcela si fuera debido a derivas etc.
- ❖ La materia prima debe ser ecológica (demostrar que la uva es ecológica).
- ❖ 3 años de conversión de un cultivo (año 0, 1, 2)
- ❖ Se puede pedir un adelanto a la Conserjería de Agricultura (año 0, 1, 2)



CONTROL DE METALES

- ❖ Un alto contenido de metales en el vino puede provocar enturbiamientos o quiebras, ya que estos se insolubilizan pudiendo quedar afectado el color o la limpidez de los vinos.
- ❖ El origen de los elementos metálicos presentes proviene en su mayor parte del viñedo debido a las actividades de abonado.
- ❖ Sin embargo en el mosto y en el vino, debido a su acidez, puede aumentar su cantidad por el ataque a los elementos metálicos de la maquinaria con la que están en contacto, así como por algunos tratamientos enológicos.
- ❖ Según su solubilidad, los metales pueden dividirse en dos categorías:
 1. Fácilmente solubles, como el hierro y el zinc.
 2. Difícilmente solubles, como el cobre, el aluminio y el plomo.



CONTROL DE METALES

- ❖ Tecnologías analíticas:
 - ✓ Absorción atómica (AA)
 - ✓ Plasma Acoplado Inductivamente (ICP)

LÍMITES MÁXIMOS PERMITIDOS

Actualmente existe una creciente preocupación por conocer cuál es la cantidad de metales presentes en el vino, no solo debido a las posibles quebras, sino a que las cantidades máximas se encuentran legisladas por la comunidad europea, terceros países o por recomendaciones de la organización Internacional de la viña y el vino (OIV):

- ✓ Reglamento CE1493/99 y 423/2008.
- ✓ RD 2207/95 (APPCC).
- ✓ Codex internacional de prácticas enológicas permitidas.



CONTROL DE METALES

- ❖ Tecnologías analíticas:
 - ✓ Absorción atómica (AA)
 - ✓ Plasma Acoplado Inductivamente (ICP)

METALES	NORMATIVA	VALORES MÁXIMOS ADMITIDOS	VALORES HABITUALES EN VINOS	¿POR QUÉ ANALIZARLO?
ARSÉNICO	OIV-MA-C1-01:2011	200 µg/L	<1,0-130 µg/L	Exigencia legislativa
BORO	OIV-MA-C1-01:2011	80000 µg/L (expresado en ácido bórico)	18-340 mg/L	Exigencia legislativa
CALCIO		-	37-139 µg/L	Estabilidad tartárica
COBRE	OIV-MA-C1-01:2011	1.000 µg/L	10-280 µg/L	<300 µg/L quiebra cuprica. Valores bajos aromas de reducción
HIERRO		-	0,6-6,0 mg/L	Quiebras
MAGNESIO		-	30-77 mg/L	Potenciador del aroma
MERCURIO	(UE) 2018/73	10 µg/L	<1,0-1,4 µg/L	Exigencia legislativa
PLATA	OIV-MA-C1-01:2011	100 µg/L	3,0-10 µg/L	Exigencia legislativa
PLOMO	OIV-MA-C1-01:2011	150 µg/L	<1,0-100 µg/L	Exigencia legislativa
POTASIO		-	300-1.400 mg/L	Estabilidad tartárica
SODIO	OIV-MA-C1-01:2011	80.000 µg/L	6,4-44,8 mg/L	Potenciador del aroma
ZINC		5.000 µg/L	60-480 µg/L	Exigencia legislativa. <300 µg/L pueden dificultar fermentación
CADMIO	OIV-MA-C1-01:2011	10 µg/L	1,0-10 µg/L	Exigencia legislativa

Alérgenos



ETIQUETADO

Reglamentación del etiquetado de alérgenos en el vino mediante el cual se obliga a que todos los productores de los países miembros indiquen en las botellas el contenido de sulfitos, de la leche (caseína) y el huevo.

- Directiva 2000/13 y 2007/68. Etiquetado en productos alimenticios.
- Reglamento 1266/2010 ;moratoria hasta junio 2012.
- Reglamento (UE) 1169/2011. sobre etiquetado de productos alimenticios. Anexo II.
- Reglamento (UE) 579/2012 etiquetado de determinados productos vitivinícolas de acuerdo al Reglamento 1234/2007.

Alérgenos: Contenido SO₂ total



REGLAMENTO DELEGADO (UE) 2019/934 DE LA COMISIÓN de 12 de marzo de 2019

MOMENTO	CANTIDAD
En el momento de su comercialización para consumo humano	175 mg/L para los vinos tintos
	225 mg/L para los vinos blancos y rosados
Vinos con un contenido de azúcares residuales ≥ 5 g/L	225 mg/L para los vinos tintos
	275 mg/L para los vinos blancos y rosados.
Para los vinos espumosos	250 mg/L
Para los vinos espumosos de calidad	200 mg/L

OIV-MA-C1-01: R2011

MOMENTO	CANTIDAD
Vinos tintos $\leq 4,0$ g/L azúcares reductores	150 mg/L
Vinos blancos y rosados $\leq 4,0$ g/L azúcares reductores	200 mg/L
Vinos $> 4,0$ g/L azúcares reductores	300 mg/L
Casos excepcionales de vinos blancos dulces	400 mg/L



Alérgenos: Contenido SO₂ total

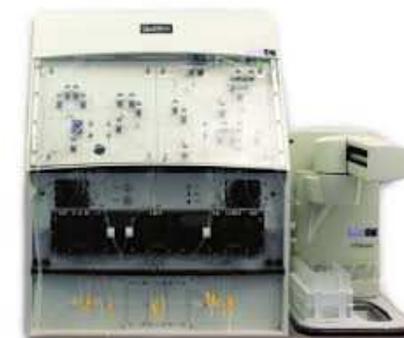
Técnicas empleadas:

Tienen la mención de métodos normalizados aquellos recogidos en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos de la OIV, en la última edición, y que estén identificados como métodos "tipo I", "tipo II" ó "tipo III"

Tipo II SO₂ total por volumetría (Rankine) MA-AS323-04A

Tipo IV SO₂ total por titrimetría yodo OIV-MA-AS323-04B

Tipo IV SO₂ total por auto analizadores colorimétricos (flujo continuo segmentado) OIV/OENO 391/2010

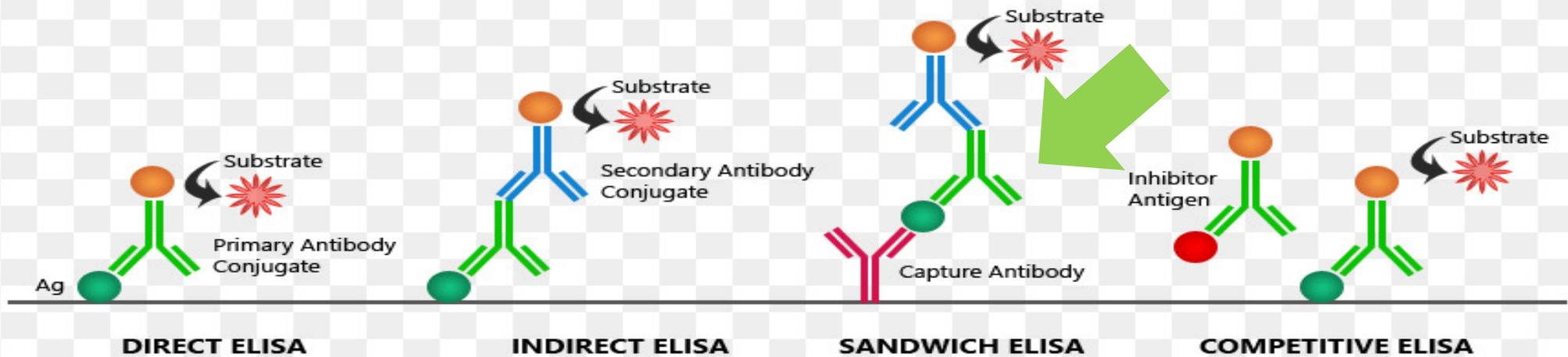


Alérgenos: Albúmina y caseína

RESOLUCIÓN OIV-COMEX 502-2012 :

Cantidades de albúmina y caseína $\geq 0,5$ mg/L en el vino este debe ser etiquetado como los sellos de presencia de alérgenos.

Técnica de ensayo: ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay.
Tipo sándwich



Vinos veganos



vegan



- ❖ La marca "V" etiqueta bienes y productos que son aptos para vegetarianos. La marca "V" solo se puede utilizar para productos que no contienen ningún ingrediente o sustancias elaboradas a partir de animales sacrificados, cómo carne, gelatina, cuero, huesos o grasas animales.
- ❖ Los huevos deben obtenerse de gallinas no criadas en jaulas.
- ❖ Los productos que etiquetados como genéticamente modificados no pueden llevar la etiqueta "V".
- ❖ Para iniciar el proceso se debe enviar una lista de todos los ingredientes y procesos de fabricación asegurando que no se han usado productos animales (clarificantes de origen, huevo, leche o gelatinas, etc.). Certificados de productos enológicos que no sean GMO.

¿Nos pueden pedir pruebas de ausencia de restos animales?

- ❖ Ensayos ELISA para albumina, caseína o cola de pescado (cuantifican la proteína).
- ❖ PCR a tiempo real: ausencia de especies animales: ovino, porcino etc. cuantifican material genético no la proteína.

Control microbiológico de superficies



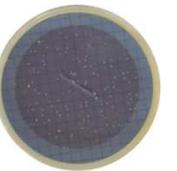
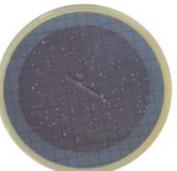
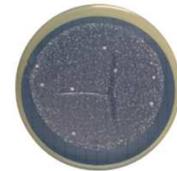
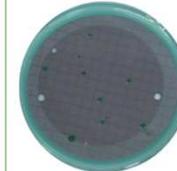
Placas de contacto :

- ❖ Placas concebidas para la determinación de contaminación microbiológica en superficies como la piel, salas de trabajo, cámaras refrigeradas y superficies de trabajo en general.
- ❖ Su forma de utilización es por contacto directo de la superficie con un medio de cultivo específico e incubación a la t° y tiempo indicado para microorganismo.



Hisopos:

- ❖ Frotar una superficie de 1 cm^2 , conservar en el líquido y sembrar en el medio de cultivo adecuado

Mohos levaduras	Levaduras	Levaduras <i>Brettanomyces</i>	Bacterias acéticas	Bacterias lácticas	Bacterias totales	Flora total
25°C (Temperatura constante = un incubador)						
2-5 días	5 días	12 días	6 días	12 días	12 días	12 días
Aerobio	Aerobio	Aerobio	Aerobio	Anaerobio	Aerobio	Aerobio
						

Control microbiológico de superficies



Placas de contacto:

- ❖ Contar las colonias que han crecido y expresar el resultado en ufc/placa.
- ❖ El resultado también se puede expresar en UFC/cm² de superficie.

Hisopos:

- ❖ Contar las colonias que han crecido y expresar el resultado en ufc/placa.

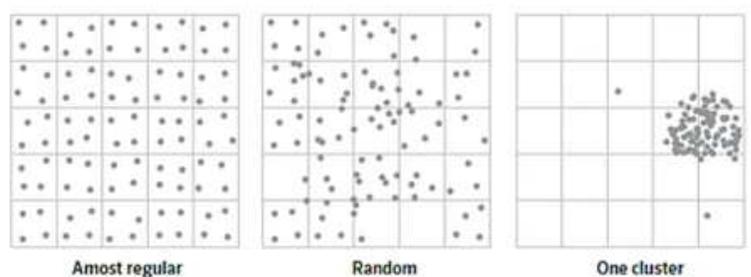
$$\text{N}^\circ \text{ UFC/cm}^2 = \frac{(\text{N}^\circ \text{ colonias} * \text{volumen del tubo de conservación})}{\text{volumen sembrado}} / \text{cm}^2 \text{ muestreados}$$

- ❖ Aplicar la técnica del número más probable: distribución de microorganismos según distribución de Poisson.

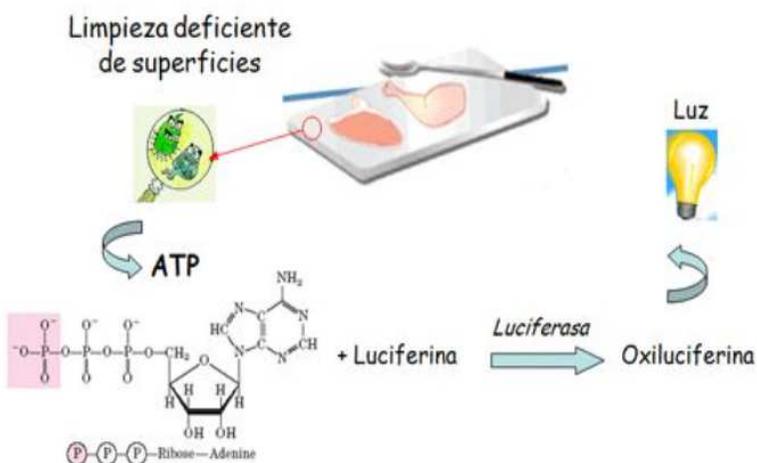
Interpretación de resultados (placas e hisopos)

Valores no normativos pero comúnmente empleados en la empresa alimentaria:

1-10 UFC/cm² zona limpia



Control microbiológico de superficies

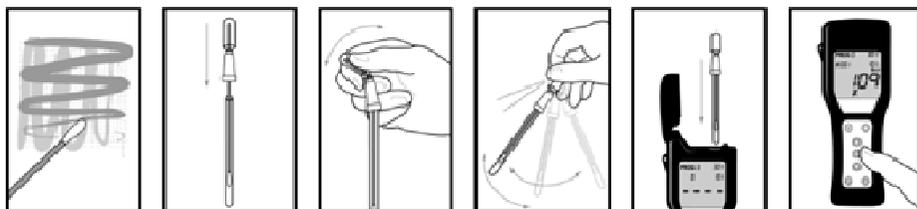


Bioluminiscencia:

La técnica de ATP-bioluminiscencia permite evaluar en forma inmediata la limpieza de las superficies en contacto con los alimentos.

La Cantidad de URL nos indica los niveles de microorganismos y/o materia orgánica presente, expresada como \log_{10} de URL, mediante el uso de un instrumento llamado luminómetro.

Los resultados son expresados en unidades de luz relativas (RLUs).



- ❖ Aceptado: < 10 RLUs
- ❖ Precaución: 11-29 RLUs
- ❖ No conforme: \geq 30 RLUs

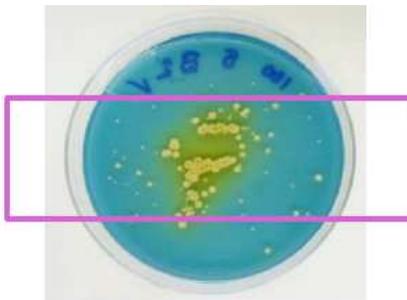
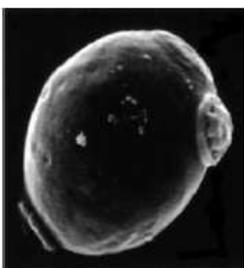
MUESTREO MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL



- ❖ Ajuste el volumen de aire muestreado: se recomienda 200l por placa y 5 placas por sala, para posteriormente sumar los resultados de las 5 placas y obtener el recuento en UFC/m³.
- ❖ Contar las colonias y tener en cuenta la necesidad de volver a repetir el análisis si el recuento es muy alto >150 colonias placa o muy bajo <15 colonias/placa.
- ❖ Aplicar la técnica del número más probable.

$\text{UFC/m}^3 = (1000 \cdot \text{N}^\circ \text{ colonias obtenidas}) / \text{volumen de aire muestreado}$

UNE 100012 recomienda < 800 UFC/m³



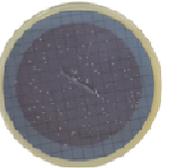
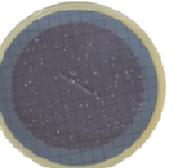
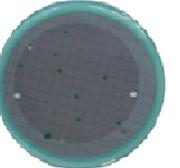
Brettanomyces ambientales
aisladas en parque de barricas
"naturalmente" contaminadas.

CONTROL MICROBIOLÓGICO SOBRE EL PRODUCTO

Método de filtración por membrana

- Se basa en el crecimiento, la identificación y el recuento de las colonias de los microorganismos retenidos en la superficie de un filtro, a través del cual se ha filtrado un volumen conocido de muestra. Incubada en un medio de cultivo durante un tiempo y a una temperatura adecuadas.



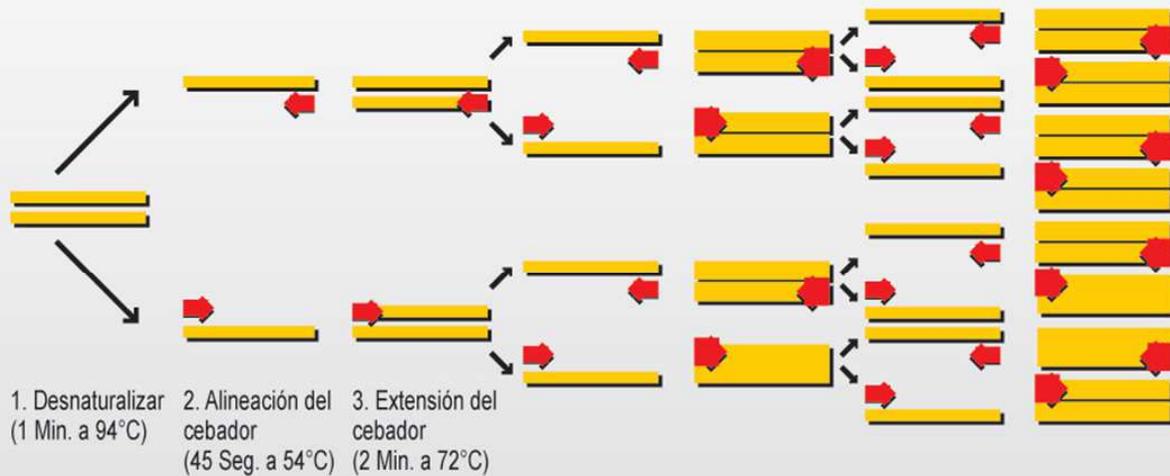
Mohos levaduras	Levaduras	Levaduras <i>Brettanomyces</i>	Bacterias acéticas	Bacterias lácticas	Bacterias totales	Flora total
25°C (Temperatura constante - un incubador)						
2-3 días	5 días	12 días	6 días	12 días	12 días	12 días
Aerobio	Aerobio	Aerobio	Aerobio	Anaerobio	Aerobio	Aerobio
						

Semáforo	Verde	Naranja	Rojo
<i>Brettanomyces</i> UFC/100 mL	<1000	1.000-10.000	>10.000

CONTROL MICROBIOLÓGICO SOBRE EL PRODUCTO

PCR

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA



CICLO 1

CICLO 2

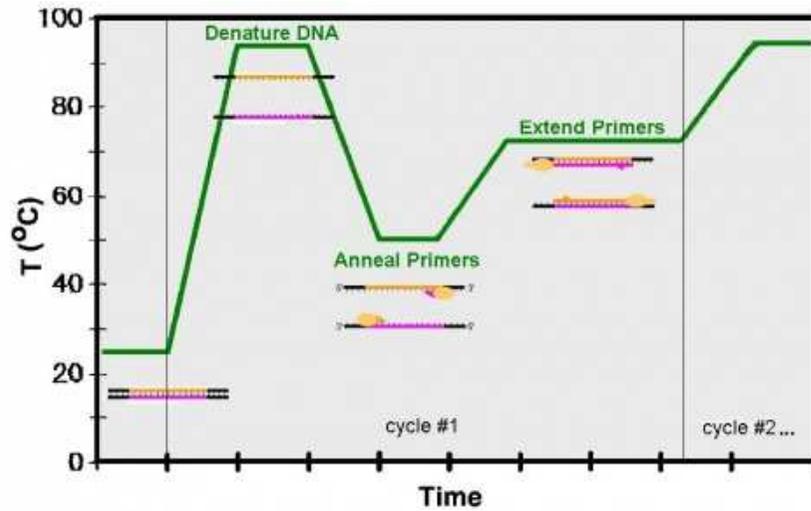
CICLO 3

Técnicas moleculares: PCR a tiempo real

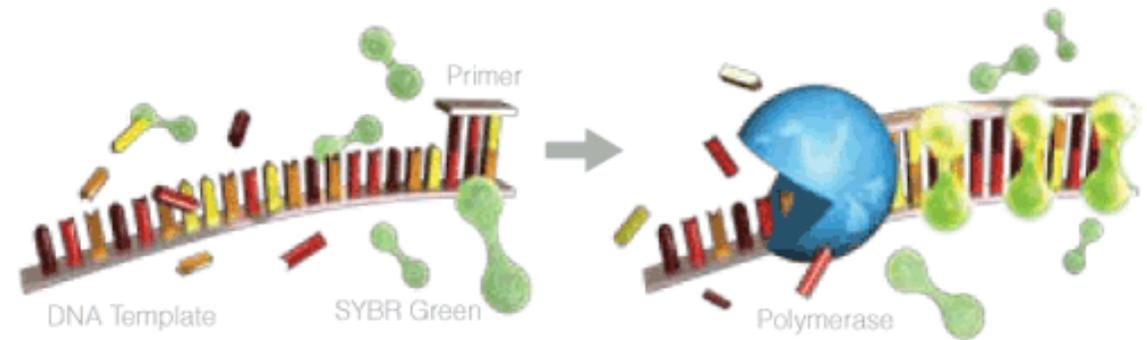
- ❖ La PCR cuantitativa o PCR en tiempo real es una variante de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar de forma absoluta el producto de la amplificación de ácido desoxirribonucleico (ADN).

CONTROL MICROBIOLÓGICO SOBRE EL PRODUCTO

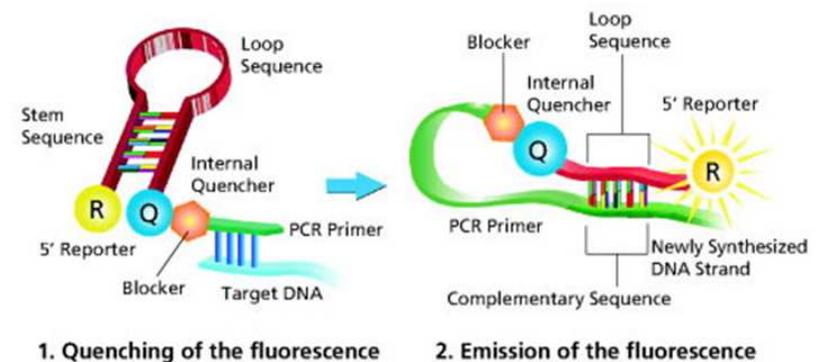
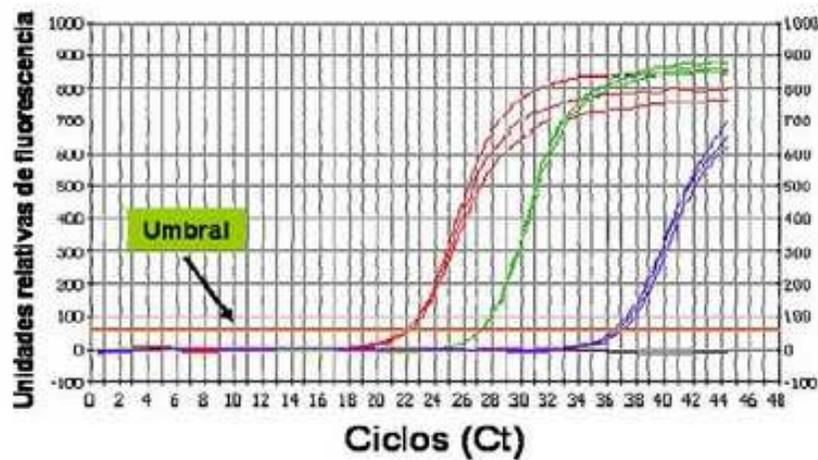
TÉCNICAS MOLECULARES: PCR A TIEMPO REAL



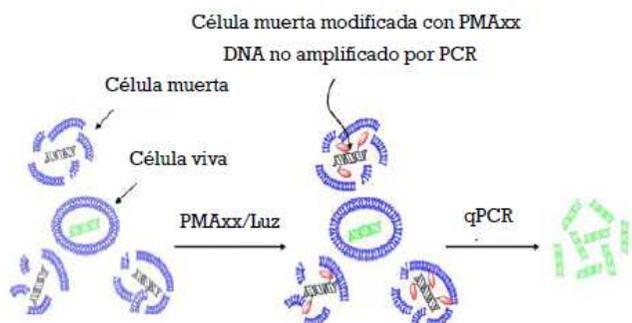
Sondas no específicas: agentes intercalantes



Sondas específicas tipo beacon y scorpion



CONTROL MICROBIOLÓGICO SOBRE EL PRODUCTO



❖ La PCR cuantitativa (reacción en cadena de la polimerasa), puede **sobrestimar** las poblaciones existentes de microorganismos vivos al cuantificar material genético de células con fisiología comprometida o incluso muertas.

❖ El agente intercalante: **Propidio Monoazida (PMAx)**, acoplado a la técnica de PCR a tiempo real, consigue bloquear el DNA de las células muertas, inhibiendo su amplificación en el desarrollo de la PCR.

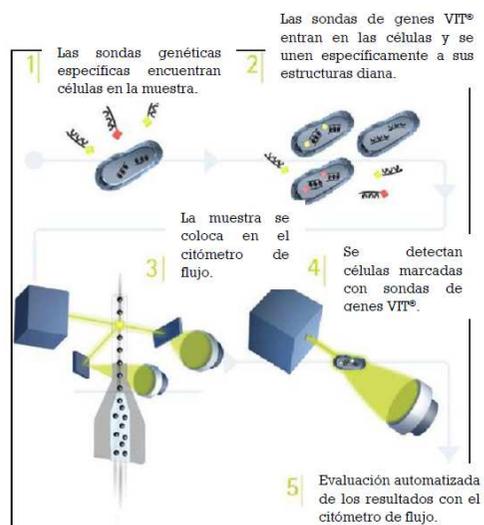
❖ Dicha sustancia puede penetrar en las células con membrana celular rota y, una vez dentro, unirse de manera irreversible a la doble cadena helicoidal de DNA evitando su separación y por tanto su amplificación y cuantificación.

BACTERIAS			
Bacterias del ácido acético	<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus damnosus</i>
	<i>Acetobacter pasteurianus</i>		<i>Pediococcus parvulus</i>
	<i>Acetobacter cerevisiae</i>		<i>Pediococcus inopitanus</i>
	<i>Gluconobacter oxydans</i>		<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	<i>Gluconobacter hansenii</i>		<i>Pediococcus acilactici</i>
	<i>Gluconobacter tiquetiarius</i>		<i>Pediococcus damnosus</i>
	<i>Oenococcus oeni</i>		
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	
	<i>Lactobacillus hilgardii</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus nagelli</i>	
	<i>Lactobacillus collinoides</i>	<i>Lactobacillus mali</i>	
	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
	<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lactobacillus kunkei</i>	
LEVADURAS			
<i>Klebsaniomyces bruxellensis / anomala</i>			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>			

CONTROL MICROBIOLÓGICO SOBRE EL PRODUCTO

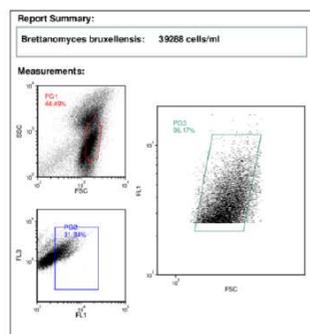
CITOMETRÍA DE FLUJO

- ❖ La citometría de flujo separa las células de levaduras, que de manera natural se encuentran agrupadas, para hacerlas pasar por un canal capaz de contabilizar de una en una al pasar por un capilar detector específico de fluorescencia.
- ❖ La técnica se acopla a la detección de RNA 16s ribosomal mediante sondas FISH, lo que por una parte ofrece la detección inequívoca, entre otras levaduras, de *Bretanomyces brullexensis*, *Brettanomyces nanus* y *Brettanomyces custersianus*.



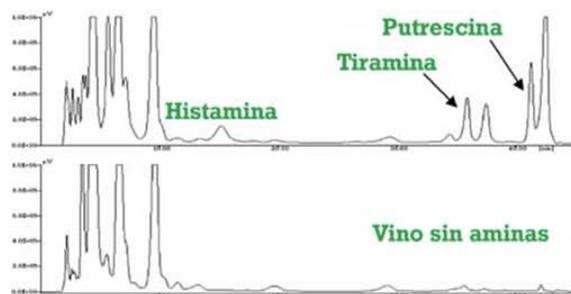
❖ Caso 2. Se detecta contaminación por *Brettanomyces bruxellensis*:

Observamos población en las tres áreas: PG1, PG2 y PG3, obteniéndose una población final de $3,9 \times 10^4$ células/mL.



- ❖ Indicador de actividad metabólica: las sondas son marcadores únicos de células viables, dado que las células que no son activas metabólicamente, no producen RNA ribosomal 16s.

Control de toxinas microbiológicas: Aminas biógenas

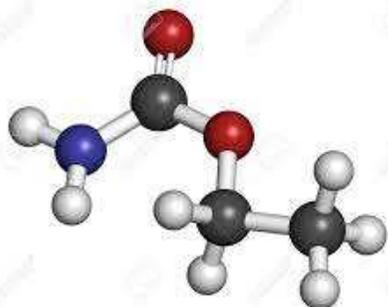


Cromatografía líquida –
Fluorescencia (HPLC/FLD)

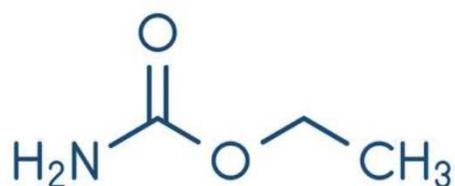
- ❖ Las aminas biógenas son frecuentes en aquellos alimentos de origen fermentativo en los que intervienen bacterias lácticas (queso, cerveza, embutidos).
- ❖ Las tres aminas biógenas más importantes en el vino son la **histamina, cadaverina y putrescina**.
- ❖ La histamina por ser alérgeno y la cadaverina y putrescina por causar problemas sensoriales cuando se encuentran en concentraciones elevadas.
- ❖ Origen: acción de descarboxilasas de origen microbiano.
- ❖ Estos compuestos van aumentando durante la fermentación maloláctica y sobre todo posteriormente.
- ❖ Hasta 2010 límite de 10mg/L en Suiza.

Otros compuestos derivados de la actividad microbiana:

Carbamato de etilo



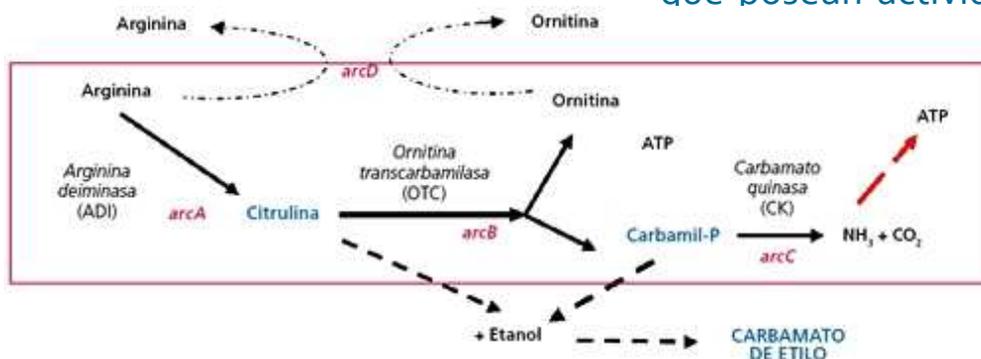
Técnica analítica GC/MS



- ❖ La producción de carbamato de etilo, durante la elaboración del vino, se encuentra ligada a la fermentación maloláctica.
- ❖ El principal precursor del carbamato de etilo en vino por reacción con el etanol, es la **urea** excretada por levaduras.

¿Cuáles son las causas de su aparición?

- ❖ Algunas bacterias lácticas mediante la vía de la arginina deiminasa (ADI) por la degradación de la arginina.
- ❖ La presencia de azúcares residuales que conlleven alteraciones bacterianas como el picado láctico. Las bacterias lácticas heterofermentativas (*Lactobacillus hilgardii*) que posean actividad ADI, pueden producir precursores carbamílicos a partir de la



Recomendaciones sobre valores máximos permitidos

Límite máximo de referencia (Comité Codex FAO/OMS, 1996): 30 ppb (Canadá)

Límite máximo legal en USA (voluntario): 15 ppb.

Contaminaciones externas por contacto directo: Ftalatos

- ❖ Compuestos utilizados como plastificantes en muchos productos, incluyendo polímeros y plásticos.
- ❖ Algunos son considerados potentes disruptores endocrinos que han motivado una reciente modificación de la legislación sobre su uso en el campo de la medicina y especialmente en niños.
- ❖ El uso de ftalatos en materiales destinados a entrar en contacto con productos alimenticios está regulado en Europa por el **Reglamento N ° 10/2011 CE de 14 de enero de 2011**. Reglamento que presta especial atención a los ftalatos como pro-carcinogénicos, como butilbenceno (**BBP**), ftalato de dibutilo (**DBP**) y di(2etilhexil) ftalato (**DEHP**).

LÍMITES DE MIGRACIÓN ESPECÍFICA (LMS) EN PRODUCTOS ALCOHÓLICOS



MOLÉCULA	ABREVIATURA	TÉCNICA	LMS MG/KG
Benzilbutilftalato	BBP	GC/MS	30
Diétilftalato	DEP	GC/MS	No autorizado (<0.01)
Dibutilftalato	DBP	GC/MS	0,3
Dimétilftalato	DMP	GC/MS	No autorizado (<0.01)
Dimétilsulfato	IDMP	GC/MS	0.05
Diétilhexilftalato	DEHP	GC/MS	1.5
Di-n-octilftalato	DNOP	GC/MS	60
Di-iso-Nonilftalato	DINP	GC/MS	60
Di-iso-Decilftalato	DIDP	GC/MS	60
Di-allilftalato	DAP	GC/MS	No detectado (=0.01)
Di iso pentilftalato	DiPP	GC/MS	No autorizado (<0.01)
Di iso butilftalato	DiBP	GC/MS	No autorizado (<0.01)

Contaminaciones externas por contacto directo: Bisfenol A

- ❖ El bisfenol A (BPA) es una sustancia química utilizada en la fabricación de plásticos y resinas. También están presentes en las resinas epoxi que se usan para hacer revestimientos protectores en recipientes de alimentos y bebidas (Ej: latas, etc..).
- ❖ Por otro lado, también se utiliza en la fabricación de productos no relacionados con la alimentación, como por ejemplo pinturas con base epoxi, revestimientos de superficies, tintas de impresión, etc.



El BPA o bisfenol-A...
es una sustancia química utilizada para la fabricación de plásticos duros y resistentes pero delgados.

Afecta tu salud...
porque es catalogado como un elemento disruptor endocrino, es decir, que altera el funcionamiento del sistema hormonal.

Reemplaza...
envases y botellas de plástico por vidrio, evita alimentos empaquetados y ultraprocesados. Si es necesario prefiere los plásticos libres de BPA indicado en el embalaje.

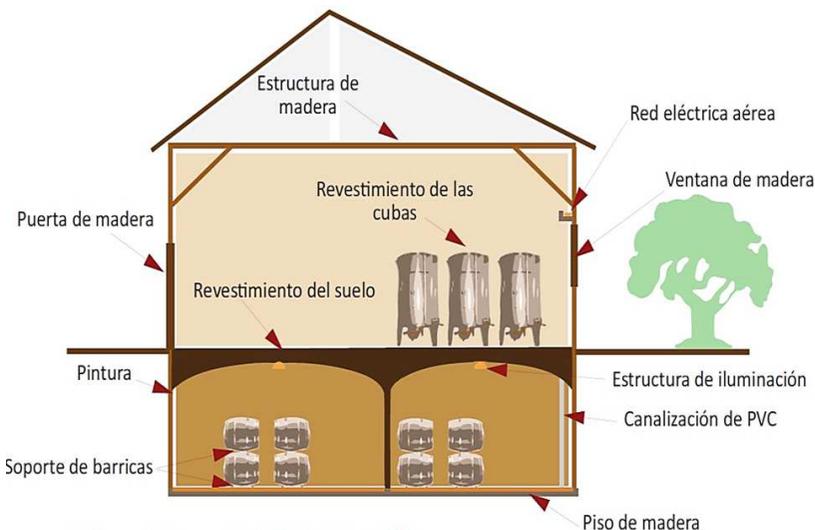
- ❖ Efectos adversos en el riñón y el hígado. Su principal preocupación para la salud humana está relacionada con su capacidad de actuar sobre el sistema hormonal como disruptor endocrino.

LÍMITES LEGALES

- ❖ El uso del BPA está autorizado en materiales plásticos destinados a estar en contacto con los alimentos (**Reglamento UE 2018/213, 12 febrero 2018**) con un **límite de migración específica de 0,05 mg por Kg de alimento.**

Contaminaciones externas: Materiales de construcción

- ❖ Es necesario asegurar y evaluar la inocuidad ambiental de los materiales de construcción e insumos que ocupan lugar en la bodega u otras instalaciones.
- ❖ Algunos residuos de solventes y pesticidas asociados a los materiales de construcción, pueden ser utilizados en los materiales de construcción de las instalaciones vinícolas, pudiendo afectar la calidad del producto por en contacto directo o indirecto.
- ❖ **Contacto indirecto:** por la circulación del aire, se difunden estos compuestos, o sus productos de degradación, causando a distancia serios defectos organolépticos o afectando a la calidad sanitaria de los productos almacenados dentro de estos edificios.



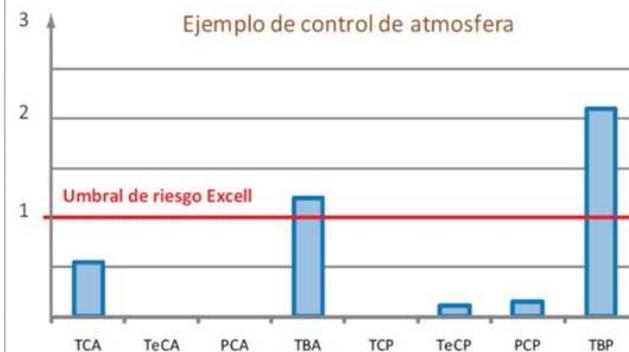
- ❖ **Contacto directo:** (revestimiento de cuba, mangueras, etc.) además de las exigencias legales, pueden existir micro o nano contaminantes susceptibles de afectar la calidad sensorial del producto final.

HALOANISOLES	(TCA, TeCA, PCA, TBA)
HALOFENOLES	(TCP, TeCP, PCP, TBP)
PESTICIDAS ORGANOHALOGENADOS	(Aldrín, DDT, DDD, Lindano, Hexaclorobenzeno, Metoxicloro...)
EMISIÓN DE SOLVENTES	(Estireno, Benzenos, Xileno, Trimel Benzeno, Cloroformo, HAP, Cetonas...)
MIGRANTES EXTRAÍBLES	(Bisfenol A, Bisfenol F, BADGE, BFDGE, Alcohol Benzílico, Benzaldehído, Dimetilfenoles, Ftalatos...)

Contaminaciones externas: Haloanisoles ambientales

Origen ambiental de los clorofenoles y cloroanisoles que contaminan corcho, madera y otros materiales

- ❖ Algunos hongos filamentosos naturales sintetizan cloroanisoles cuando entran en contacto con clorofenoles.
- ❖ Los diferentes insumos pueden ser contaminados por haloanisoles o sus precursores. La utilización de estos insumos contaminados, en contacto directo o indirecto con el vino, puede tener repercusiones irreversibles sobre su calidad organoléptica.
- ❖ Los materiales pueden provenir contaminados de su proceso de fabricación o de una contaminación ambiental si son transportados o almacenados en condiciones inadecuadas.
- ❖ Nuestros productos pueden ser contaminados durante el proceso de transporte (**CONTENEDORES**).



Contaminaciones externas: RESIDUOS DE REFRIGERANTES

RESIDUOS DE ETILENGLICOLY DE DIETILENGLICOL



- ❖ Estos residuos pueden provenir de una fuga de los sistemas de refrigeración.
- ❖ Una absorción diaria elevada puede producir depresión del sistema nervioso central, por ello se deben utilizar otros agentes refrigerantes permitidos por la legislación, Como medida preventiva, es necesario respetar las limitaciones de presencia fijadas en vino por la OIV.
- ❖ Según las especificaciones actuales de la UE, **REGLAMENTO (UE 2018/681 DE LA COMISIÓN DE 4 DE MAYO DE 2018,** la cantidad máxima autorizada de **ETILENGLICOLY DIETILENGLICOL, ES DE 50 mg/Kg** para cada uno de ellos.
- ❖ **OIV-MA-C1-01:2011: 10 mg/kg** ambos

RESIDUOS DE PROPILENGLICOL

- ❖ Anticongelante no tóxico, sustituto del etilenglicol y el dietilenglicol;
- ❖ puede provenir de una fuga de los sistemas de refrigeración. Estudios a largo plazo demuestran una baja probabilidad de efectos crónicos, reproductivos o sobre el desarrollo.
- ❖ **OIV-MA-C1-01:2011:**
VINOS TRANQUILOS 150 mg/kg
VINOS ESPUMOSOS 300 mg/kg



Control de la calidad del agua en industria alimentarias



- ❖ Los equipos, superficies y materiales usados en el procesado de dichos alimentos, de forma directa o indirecta deben tener unas condiciones higiénicas excepcionales y evitar las contaminaciones cruzadas durante todo el procesado del alimento.
- ❖ Guías para la calidad del agua potable de la OMS, apartado 6.6 se indica que la calidad del agua en producción de alimentos, por lo general, puede tener parámetros similares a los indicados para consumo regular.
- ❖ Las industrias alimentarias que dispongan de **captación propia (pozo)** serán responsables de garantizar la calidad del agua en toda la red de suministro.
- ❖ Si el agua procede de una **empresa suministradora (red pública)**, la responsabilidad de la industria alimentaria se limitará a la red de distribución que va desde el punto de entrega de la empresa suministradora hasta los puntos de salida de agua.
- ❖ Las **empresas alimentarias deben vigilar la calidad** del agua según un plan de muestreo basado en los riesgos.



Control de la calidad del agua en industria alimentarias



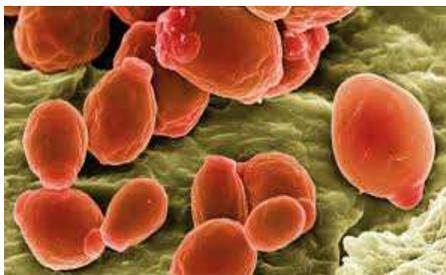
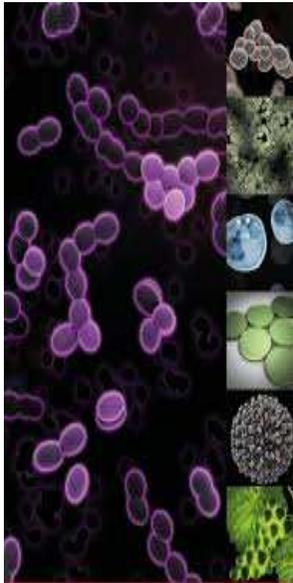
Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.

Determinaciones	Criterio	Unidades
Color	≤ 15	mg/L Pt/Co
Olor	3 a 25	°C Índice de dilución
Sabor	3 a 25	°C Índice de dilución
Turbidez	6,5-9,5	NTU
Conductividad	≤ 2500	$\mu\text{S/cm}$ a 20°C
Amonio (agua)	$\leq 0,5$	mg/L
Cloro combinado residual	$\leq 2,0$	mg/L
Cloro libre residual	$\leq 1,0$	mg/L
pH	6,5-9,5	uds. pH
<i>Escherichia coli</i>	0	UFC/100 mL
Bacterias coliformes	0	UFC/100 mL
<i>Clostridium perfringens</i> + esporas	0	UFC/100 mL



Control físico-químico y microbiológico en productos enológicos

- ❖ La OIV establece una serie de requisitos en relación a los diferentes productos enológicos utilizados en bodega .
- ❖ Estos requisitos hacen referencia a:
 - ❖ Etiquetado del producto
 - ❖ Límites de parámetros físico-químicos y microbiológicos



OENO 459/2013 Levaduras inactivas	
Nitrogeno total	<10% mat . Seca
Humedad	<7%
Plomo	< 2 ppm
Mercurio	< 1 ppm
Arsénico	< 3 ppm
Cadmio	< 1 ppm
Levaduras viables	<= 10E2 UFC/g
Mohos	< 10E3 UFC/g
Bacterias lácticas	< 10E3 UFC/g
bacterias acéticas	< 10E3 UFC/g
Salmonella	Ausencia en 25 g
E. Coli	Ausencia en 1 g
Staphilococcus	Ausencia en 1 g
Coliformes totales	< 10E2 UFC/g

OENO 328/2009 Bacterias	
Plomo	< 2 ppm
Mercurio	< 1 ppm
Arsénico	< 3 ppm
Cadmio	< 1 ppm
Humedad	< 8%
Coliformes totales	< 10E2 UFC/g
E. Coli	Ausencia en 1 g
Estafilococos	Ausencia en 1 g
Salmonella	Ausencia en 25 g
Mohos	< 10E3 UFC/g
Bacterias lácticas	< 10E5 UFC/g
Bacterias acéticas	< 10E4 UFC/g
Levaduras contaminantes	<10E3 UFC/g

OTROS PARÁMETROS

PARÁMETRO	LÍMITE	LEGISLACIÓN	METODOLOGÍA
Ácido cítrico	1 g/L	OIV-MA-C1-01: 2011	Enzimático- Espect. UV-Vis
Aciez volátil	10,0 meq/L	OIV-MA-C1-01: 2011	Destilación / FIA
Metanol	400,0 mg/l vinos tintos	OIV-MA-C1-01: 2011	Cromatografía GC/MS
	250 mg/L en vinos blancos y rosados		
Fluoruros	≤ 1,0 mg/L	OIV-MA-C1-01: 2011	Electrodo selectivo
Ferrocianuro	Negativo	RD 2207/95	Valoración complexométrica
Ácido cianhídrico	35 mg/l	Reglamento (CE) no 1334/2008	Espectrofotometría UV-Vis
Ácido ascórbico	250 mg/L	Oeno 10/01 Reglamento (CE) no 606/2009	Enzimático- Espect. UV-Vis
Sorbato potásico (ácido sórbico)	200 mg/L	Reglamento (CE) no 1333/2008	Espectrofotometría UV/Vis



PLIEGO DE CONDICIONES DE LA D.O.Ca RIOJA



Autocontrol/verificación de la aptitud: Según el procedimiento general Consejo Regulador de la Denominación de Origen Calificada Rioja (DGIA, BOE 05/11/2020), la bodega productora de vino debe tener un sistema de autocontrol documentado, lo que significa una trazabilidad completa desde la explotación de viñedo a la botella. Las tendrán que demostrar que su vino cumple con los pliegos de condiciones de vino de Rioja

Parámetros pliego DOCa Rioja :					
Grado Alcohólico:	Tinto	Blanco	Rosado	Sulfuroso Total: *Tras FOH:	
	Rioja	≥ 11,5	≥ 10,5		Tintos
	R. Alta y Alavesa	≥ 11,5	≥ 11,0		Secos ≤ 100 mg/l ≥ 5 g/l AzRed ≤ 180 mg/l
	R. Oriental	≥ 12,0	≥ 11,0	Blancos y Rosados	
Intensidad de color:	Tintos con FML	≥ 3,5	IPT: ≥ 30 (tintos)	Secos ≤ 150 mg/l ≥ 5 g/l AzRed ≤ 240 mg/l	
	Tintos sin FML	≥ 4	Azúcares Red: ≤ 4 g/l (v.seco)	*Para consumo:	
	Rosados	≥ 0,1 ≤ 1,8	Ácido Málico: ≤ 0,5 g/l fin FML		Tintos
Ac. Volátil:	Blancos y rosados dulces y semidulces	≤ 1,5 g/l		≥ 5 g/l AzRed ≤ 180 mg/l	
	Espumosos	≤ 0,65 g/l		Blancos y Rosados	
	Vinos secos	≤ 0,8 g/l		< 5 g/l AzRed ≤ 180 mg/l ≥ 5 g/l AzRed ≤ 240 mg/l	
Vinos secos > 1 año: ≤ 1 g/l hasta 10% + 0,06 g/l por cada grado de alcohol que exceda de 10%					

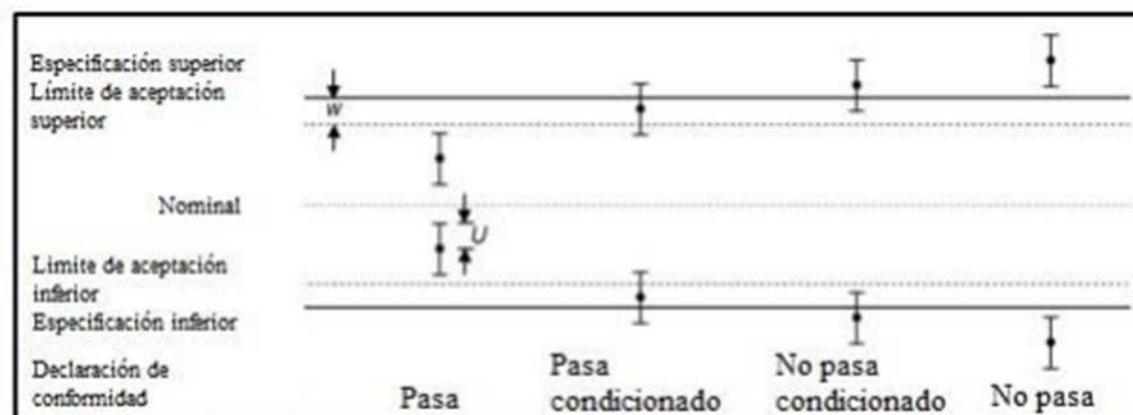


PLIEGO DE CONDICIONES DE LA D.O.Ca RIOJA



Declaraciones de aptitud: los laboratorios de ensayo acreditados deben documentar su regla de conformidad informando del nivel de riesgo (aceptación o rechazo incorrectos) asociado con la regla de decisión empleada y expresar los resultados junto con su incertidumbre.

DECLARACIÓN DE APTITUD	
CONFORME + CONFORME	APTO
CONFORME + NO CONFORME	APTO CONDICIONADO
NO CONFORME + CONFORME	NO APTO CONDICIONADO
NO CONFORME + NO CONFORME	NO APTO



U = 95% Incertidumbre expandida de medida



EXPORTACIÓN



- ❖ Las autoridades de cada país necesitan un sello de garantía que demuestre la competencia técnica del laboratorio que emite los resultados. Para ello, una garantía de éxito a la hora de aprobar la entrada del producto en el destino por las autoridades competentes, es que los certificados a presentar vengan avalados por la normativa internacional **ISO/IEC 17025:2017**.

- ❖ Tener en cuenta países con reglamentación especial para los análisis de exportación. Por ejemplo Japón no permite la presencia de ácido sórbico.
- ❖ Importante que el laboratorio esté incluido en los listados las autoridades competentes de algunos países para que sus certificados sean válidos. Por Ejemplo: **Brasil (SISCOLE)**, **Japón: Ministerio de Sanidad japonés (MHLW)**.



CHINA



- País de origen.
- Periodo de almacenamiento (año/mes/día)¹.
- Contenido en azúcar (gramos/litro).
- Optativo: tipo de uva.

Además, es preciso señalar en la botella que “Beber en exceso es perjudicial para la salud” (过量饮酒有害健康, 孕妇不宜饮酒。).

En cuanto a los **requisitos fitosanitarios**, se enumeran a continuación los más significativos:

- **Contenido en SO₂**. Según el Estándar GB 2760-2014, los límites establecidos son 400 mg/l para los vinos dulces y vinos dulces afrutados y 250 mg/l para el resto. Estos requisitos son iguales a los que fija la Organización Internacional de Viña y el Vino (OIV), lo cual ha facilitado y promovido el comercio internacional. Precisamente, la regulación anterior solamente permitía 50 mg/l, y este límite influyó muy negativamente en las importaciones a China de la UE porque sus niveles máximos, acordes con la normativa internacional fijada por la OIV, son más altos.
- **Ácido ascórbico**. Está admitida su utilización y no hay límite específico.
- **Extracto seco**. El mínimo exigido por la legislación china es el siguiente:
 - Vino tinto: 18 g/L.
 - Vino blanco: 16 g/L.
 - Vino rosado: 17 g/L³⁸.

En las inspecciones de vinos importados, es frecuente que las autoridades chinas recurran a este índice, puesto que detecta de forma inmediata el “*remake*” de algunos vinos de mala calidad.

Por otra parte, el MOFCOM publicó en enero de 2015 la **norma SB/T 11122-2015, sobre “Terminología de Vinos Importados”**, que entró en vigor en septiembre de ese mismo año. La citada normativa presenta una recopilación de términos referidos a vinos importados y normaliza su traducción al chino mandarín, con el propósito de evitar confusiones en el mercado. Adopta una traducción oficial de los siguientes aspectos:

- **Términos básicos** de los vinos importados.
- Nombres de las **variedades de uvas** para la producción de vino (excepto en China).
- **Denominaciones de regiones y zonas productoras** de vino en el caso de once países seleccionados (Alemania, Argentina, Australia, Chile, Estados Unidos, España, Francia, Italia, Nueva Zelanda, Portugal y Sudáfrica).

A pesar de que, como SB/T, es considerada por la legislación china como una “normativa para el comercio interior de carácter voluntario”, AQSIQ ha puesto de manifiesto que será tomada en consideración por los puntos de inspección de las aduanas en lo que respecta a la **verificación y control del etiquetado** de los vinos importados en China.

Cabe destacar que para importar vino en China es indispensable contar con una **licencia de importación** emitida por las autoridades chinas, que únicamente las sociedades constituidas en China pueden obtener. Sin embargo, es frecuente que importadores habituales que no cuentan

¹ Los vinos con un contenido de alcohol superior al 10% no están obligados a presentar dicha indicación

Exportación Brasil	Exportación General	Exportación General espumosos	Exportación China	Exportación Japón
Grado alcohólico adquirido (NIR)	pH (potenciometría)	pH (potenciometría)	pH (potenciometría)	pH (potenciometría)
*Acidez total (volumetría)	*Acidez total (volumetría)	*Acidez total (volumetría)	*Acidez total (volumetría)	*Acidez total (volumetría)
Ácido acético (enzimático)	*Glucosa+Fructosa (enzimático)	*Glucosa+Fructosa (enzimático)	*Glucosa Fructosa (enzimático)	*Glucosa+Fructosa (enzimático)
Dióxido de azufre total (FIA)	Ácido acético (enzimático)	Ácido acético (enzimático)	Ácido acético (enzimático)	Ácido acético (enzimático)
*Azúcares reductores (enzimático + cálculo)	Grado alcohólico adquirido (NIR)			
*Extracto seco (densimetría)	*Grado alcohólico total (cálculo)			
*Sulfatos (cromatografía iónica)	*Ácido cítrico (enzimático)	*Ácido cítrico (enzimático)	*Ácido cítrico (enzimático)	*Ácido cítrico (enzimático)
*Metanol (GC/MS)	Dióxido de azufre total (FIA)			
	*Extracto seco (densimetría)	*Extracto seco (densimetría)	*Extracto seco (densimetría)	*Dióxido de azufre libre (Volumetría)
	*Masa volúmica (densimetría electrónica)	*Masa volúmica (densimetría electrónica)	*Masa volúmica (densimetría electrónica)	*Extracto seco (densimetría)
	*Metanol (GC/MS)	*Metanol (GC/MS)	*Metanol (cromatografía GC/MS)	*Masa volúmica (densimetría electrónica)
		*Sobrepresión (Aferométrico)	*Ocratoxina A (HPLC)	*Metanol (GC/MS)
				*Ácido sórbico (enzimático)
				*Ácido ascórbico (enzimático)



Las actividades marcadas (*) no están amparadas por la acreditación ENAC.

Gracias



Elvira Zaldívar Santamaría, PhD.
Directora de calidad e I+D
Laboratorios Excell Ibérica S.L.
controlcalidad@labexcell.es
941 445 106
