



## RISOLUZIONE OIV-OENO 600-2018

**ATTENZIONE: questa risoluzione modifica la seguente risoluzione:**

**- OIV-OENO 391-2010**

### DOSAGGIO DEL D-GLUCOSIO E DEL D-FRUTTOSIO NEI VINI MEDIANTE METODO ENZIMATICO AUTOMATIZZATO

(Metodo di Tipo III)

L'ASSEMBLEA GENERALE,

Visto l'articolo 2, paragrafo 2 iv, dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

Su proposta dalla Sottocommissione "Metodi di analisi",

CONSIDERATO l'interesse espresso da alcuni esperti della SCMA di inserire i metodi automatici nella *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti*,

DECIDE di rimuovere l'esempio pratico riguardante l'analisi nella risoluzione OIV-OENO 391-2010 nel momento in cui un metodo automatico riguardante lo stesso analita è adottata

DECIDE di aggiungere alla *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti* il metodo seguente:

#### **Dosaggio del D-glucosio e del D-fruttosio nei vini mediante metodo enzimatico automatizzato**

**Metodo di Tipo III**

##### **1. Campo di applicazione**

Questo metodo consente il dosaggio del contenuto totale di D-glucosio + D-fruttosio nei vini mediante analisi enzimatica specifica utilizzando un analizzatore sequenziale automatico. Nell'ambito del presente documento, lo studio collaborativo ha consentito di caratterizzare il metodo su una scala di misura che va da 0,1 a 96,31 g/L tenendo conto dell'introduzione di ' una diluizione del campione superiore a 5 g/L.

Nota: Se del caso, spetta a ciascun laboratorio che utilizzi questo metodo ridefinire il campo di applicazione, eventualmente ampliandolo, mediante un lavoro di validazione.

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

## 2. Riferimenti normativi

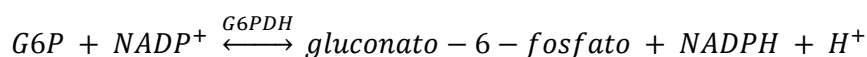
- *Raccolta dei metodi internazionali di analisi* – OIV: Glucosio e fruttosio – metodo enzimatico OIV-MA-AS311-02,
- ISO 78-2: Chimica: modelli per le norme.

## 3. Principio di reazione

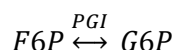
Il D-glucosio e il D-fruttosio vengono fosforilati dall'adenosina trifosfato (ATP) durante una reazione enzimatica catalizzata dall'esochinasi (HK). I prodotti di reazione sono il glucosio-6-fosfato (G6P) e il fruttosio-6-fosfato (F6P).



Il glucosio-6-fosfato viene inizialmente ossidato in gluconato-6-fosfato dal nicotinammide adenina dinucleotide fosfato (NADP) in presenza dell'enzima glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH). La concentrazione di nicotinammide adenina dinucleotide fosfato ridotto (NADPH) prodotta è direttamente proporzionale alla concentrazione di glucosio-6-fosfato e quindi a quella del D-glucosio.



Il fruttosio-6-fosfato (F6P) viene trasformato in glucosio-6-fosfato (G6P) dalla fosfoglucoisomerasi (PGI):



Il glucosio-6-fosfato così formato reagisce allo stesso modo di cui sopra.

Il nicotinammide adenina dinucleotide fosfato ridotto (NADPH) prodotto viene misurato grazie al suo assorbimento a 340 nm.

## 4. Reagenti e soluzioni di lavoro

Durante l'analisi, salvo indicazioni contrarie, utilizzare esclusivamente reagenti dalla qualità analitica riconosciuta e acqua distillata o demineralizzata, o acqua di purezza equivalente.

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

#### 4.1. Reagenti

- 4.1.1. Acqua per uso analitico (norma ISO 3696), di qualità I o II
- 4.1.2. Trietanolamina cloridrato – N. CAS 637-39-8
- 4.1.3. NADP (nicotinammide adenina dinucleotide fosfato) – N. CAS 24292-60-2
- 4.1.4. ATP (adenosina-5'-trifosfato) – N. CAS 34369-07-8
- 4.1.5.  $\text{MgSO}_4$  (solfato di magnesio anidro) – N. CAS 7487-88-9
- 4.1.6. Idrossido di sodio – N. CAS 1310-73-2
- 4.1.7. Esochinasi (HK) – N. CAS 9001-51-8
- 4.1.8. Glucosio-6–fosfato deidrogenasi (G6P-DH) - N. CAS 9001-40-5
- 4.1.9. Fosfoglucoisomerasi (PGI): polvere liofilizzata, 400-600 unità/mg di proteina - N. CAS 9001-41-6

*Nota: Una unità garantisce la conversione di 1,0  $\mu\text{mole}$  di D-fruttosio-6-fosfato in D-glucosio-6-fosfato in un minuto, a pH 7,4 e alla temperatura di 25 °C*

- 4.1.10. Polivinilpirrolidone (PVP) - N. CAS 9003-39-8
- 4.1.11. D-glucosio: purezza  $\geq 99,5\%$  - N. CAS 50-99-7
- 4.1.12. D-fruttosio: purezza  $\geq 99\%$  - N. CAS 57-48-7

**Nota 1:** Esistono dei kit commerciali per la determinazione del D-glucosio e del D-fruttosio. L'utente deve controllarne la composizione per accertarsi che questa comprenda i reagenti menzionati sopra.

**Nota 2:** Si raccomanda l'uso del PVP per eliminare un'eventuale azione negativa dei tannini del vino sulle molecole proteiche degli enzimi, specialmente nel caso di vini rossi. Qualora l'uso del PVP non sia efficace, il laboratorio deve accertarsi che non vi sia interferenza dei tannini del vino sugli enzimi.

#### 4.2. Soluzioni di lavoro

- 4.2.1. Tampone di trietanolamina cloridrato e solfato di magnesio con pH aggiustato a 7,6. La soluzione può essere la seguente:
  - trietanolamina cloridrato (4.1.2): 11,2 g,
  - solfato di magnesio (4.1.5): 0,2 g,
  - PVP (4.1.10): 2 g,
  - acqua per uso analitico (4.1.1): 150 mL.

La miscela viene aggiustata a pH 7,6 con una soluzione di idrossido di sodio 5 M quindi portata a volume di 200 mL con acqua per uso analitico. La soluzione rimane stabile per almeno 4 settimane a una temperatura da 2 a 8 °C (circa).

- 4.2.2. Soluzione di lavoro R1 (esempio):
  - tampone di trietanolamina (4.2.1): 50 mL,
  - NADP (4.1.3): 117 mg,
  - ATP: (4.1.4) 150 mg.

- 4.2.3. Soluzione di lavoro R2 (esempio):
  - tampone di trietanolamina (4.2.1): 2 mL,

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

- HK (4.1.7): 270 U,
- G6P-DH (4.1.8): 340 U,
- PGI (4.1.9): 640 U.

**Nota:** Si possono utilizzare i preparati commerciali di HK/6GPDH (miscela).

**Nota:** La preparazione di queste soluzioni deve avvenire in modo delicato per evitare che si formi schiuma. La vita utile delle soluzioni è limitata e deve essere valutata e rispettata dal laboratorio.

### 4.3. Soluzioni di calibrazione

Per assicurare un collegamento quanto più vicino possibile al Sistema internazionale di unità di misura (SI) l'intervallo di calibrazione deve essere realizzato con soluzioni pure di D-glucosio e D-fruttosio preparate mediante pesata e deve coprire l'intervallo di misura.

## 5. Apparecchiatura

### 5.1. Analizzatore

#### 5.1.1. Tipo di apparecchiatura

Analizzatore sequenziale automatico dotato di spettrofotometro con rivelatore ad assorbimento di UV. La temperatura della reazione deve essere stabile (circa 37 °C). Le cuvette della reazione sono di vetro, metacrilato o quarzo. Lo strumento è controllato da un programma che ne assicura il corretto funzionamento, l'acquisizione dei dati e i calcoli utili.

#### 5.1.2. Lettura delle assorbanze

La concentrazione degli analiti è direttamente proporzionale alla differenza dell'assorbanza letta allo spettrofotometro. La precisione di lettura dell'assorbanza deve essere minimo di 0,1 unità d'assorbanza (AU). È preferibile non utilizzare valori di assorbanza superiori a 2,0.

#### 5.1.3. Precisione dei volumi prelevati

La precisione dei volumi dei reagenti e dei campioni prelevati mediante le pipette dell'analizzatore influisce sul risultato di misura. Si raccomanda di controllare la qualità dei risultati adottando strategie appropriate (ad esempio in base alle linee guida pubblicate dall'OIV).

#### 5.1.4. Durata e temperatura della reazione

Generalmente, la durata della reazione è di 10 minuti e la temperatura è di 37 °C. Alcuni apparecchi possono utilizzare dei valori leggermente diversi.

#### 5.1.5. Lunghezza d'onda

La lunghezza d'onda d'assorbimento massimo del NADPH formato dalla reazione è di 340 nm. Si sceglierà questa lunghezza d'onda nel caso si utilizzi uno spettrofotometro comune. Alcuni analizzatori sono equipaggiati di fotometri che utilizzano una lampada a vapore di mercurio. In tal caso, la lunghezza d'onda di lettura sarà impostata a 365 o 334 nm.

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

## **5.2. Bilancia**

Deve essere tarata conformemente al Sistema Unitario delle Unità di Misura e avere una sensibilità di 1 mg.

## **5.3. pH-metro**

## **5.4. Vetreria da laboratorio**

La vetreria da laboratorio utilizzata per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di taratura è di classe A.

# **6. Campionamento**

## **6.1. Preparazione dei campioni per i mosti e i vini**

La maggior parte dei campioni dei vini e dei mosti possono essere analizzati senza prepararli. In alcuni casi potrebbe rendersi necessario preparare i campioni:

- per i campioni molto torbidi bisogna eseguire una filtrazione,
- per valori che vanno oltre l'intervallo di misura bisogna effettuare una diluizione del campione (manuale o automatica) con acqua per uso analitico (4.1.1). A titolo d'esempio, per i mosti si utilizzano fattori 10x, 20x o 40x. Dato l'impatto che hanno sull'incertezza, queste diluizioni devono essere eseguite quanto più accuratamente possibile.

## **6.2. Preparazione dei campioni di vini contenenti CO<sub>2</sub>**

Il campioni di vini contenenti CO<sub>2</sub> possono essere caratterizzati dalla presenza di bolle. Pertanto, questi devono essere preventivamente degassati mediante agitazione sottovuoto, sottoponendoli agli ultrasuoni o utilizzando qualsiasi altro mezzo che ne consenta il degasaggio richiesto.

# **7. Procedimento**

Dal momento che si possono utilizzare apparecchiature differenti, si raccomanda di seguire scrupolosamente le condizioni d'uso fornite dal produttore. Lo stesso vale anche per i diversi kit enzimatici disponibili in commercio.

Il procedimento è il seguente:

1. Porre il campione (C) nella cuvetta di reazione.
2. Successivamente, introdurre la soluzione di lavoro (R1) (4.2.2.) all'interno della cuvetta.
3. Procedere all'omogeneizzazione. Al fine di garantire la stabilità dell'assorbanza, osservare un tempo di latenza. Tale tempo di latenza può durare da 1 a 5 min e viene definito dal laboratorio, in funzione delle caratteristiche dello strumento utilizzato.
4. Aggiungere la soluzione di lavoro R2 (4.2.3) affinché si inneschi la reazione.

A titolo esemplificativo, le quantità per i diversi elementi possono essere:

- campione: 2,0 µL,
- R1: 40 µL,
- R2: 40 µL.

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

Lo strumento informatico esegue tutte le misure a intervalli regolari (ad esempio, ogni 12 secondi): ciò consente di ottenere una curva di reazione come quella mostrata in figura 1.

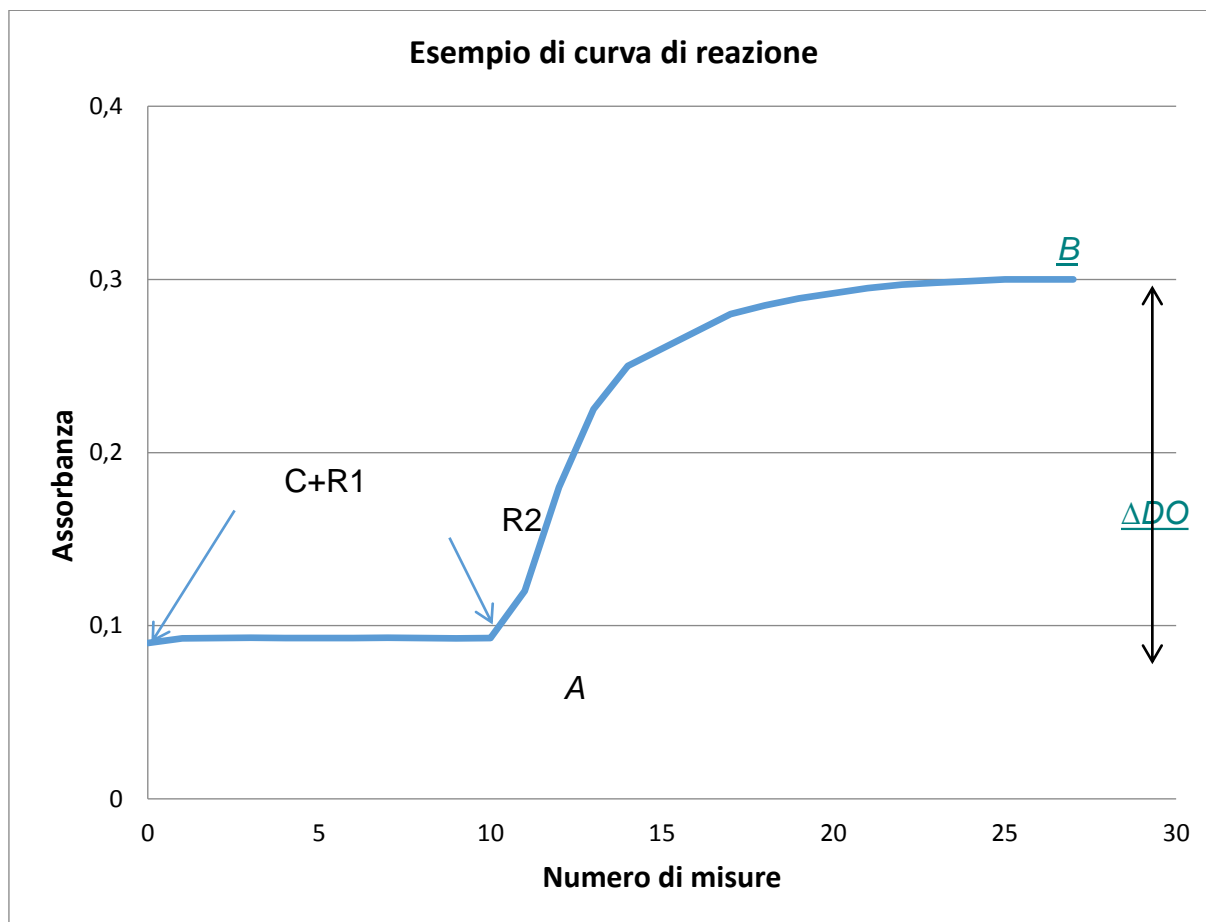


Figura 1: Curva di reazione

Lo strumento informatico deve consentire di scegliere i punti di lettura della differenza dell'assorbanza ricercata (ad es., A e B in figura 1).

## 8. Calcolo dei risultati

L'equazione utilizzata per la determinazione del risultato è:

$$\Delta DO = (\text{Assorbanza } B - \text{Assorbanza } A)$$

Per poter correlare questo valore di  $\Delta DO$  alla concentrazione di D-glucosio + D-fruttosio si esegue una calibrazione regolare dello strumento utilizzando delle soluzioni di calibrazione (§ 4.3) in almeno 3 punti dell'intervallo di misura. Inoltre, il bianco del reagente viene realizzato per tutti i reagenti ma non per il campione (punto 0 della calibrazione).

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

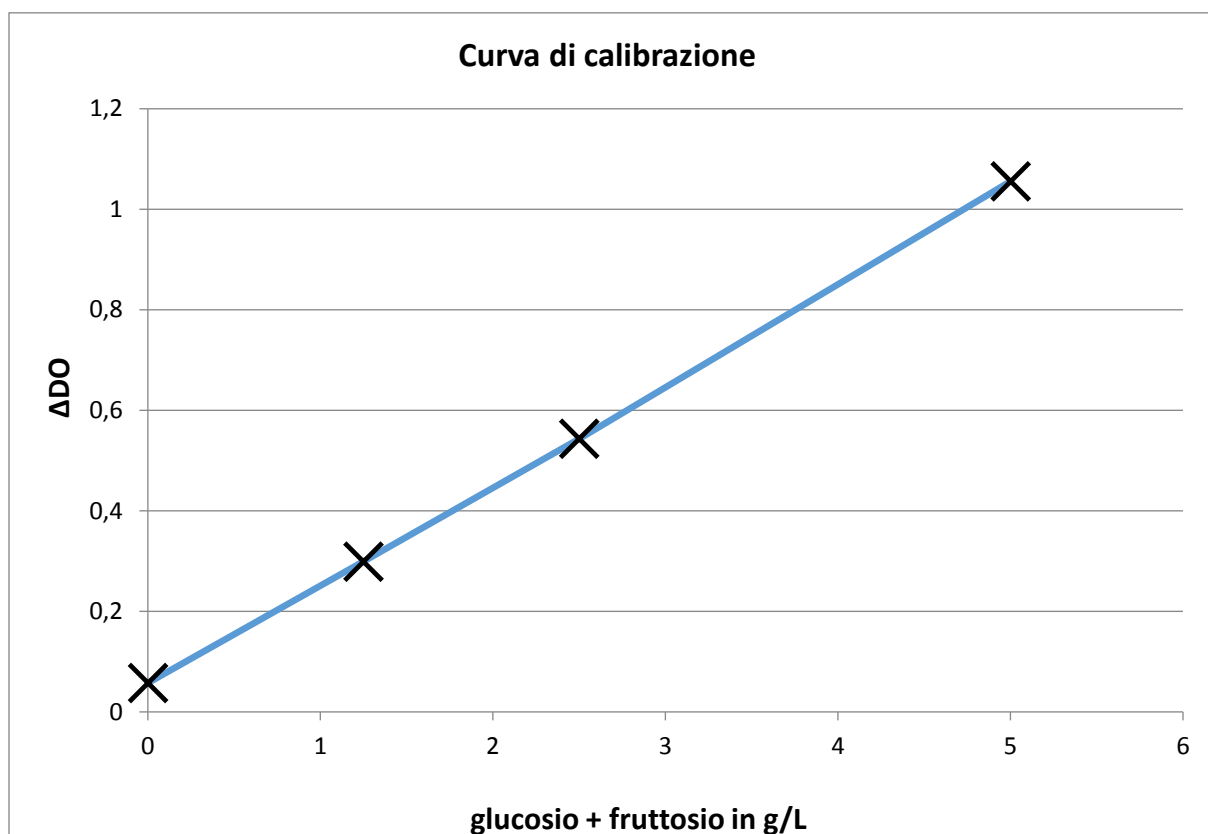


Figura 2: Curva di calibrazione

La curva di calibrazione può essere di ordine 1 ( $Concentrazione = a \cdot \Delta DO + b$ ) o di ordine 2 ( $Concentrazione = a \cdot \Delta DO^2 + b \cdot \Delta DO + c$ ). Qualora si utilizzi una curva di calibrazione di ordine 2, il laboratorio dovrà porre attenzione a limitare l'intervallo di calibrazione per poter far sì che il metodo mantenga una sensibilità sufficiente (rischio di appiattimento della curva).

Il valore finale ottenuto deve essere moltiplicato per l'eventuale coefficiente della diluizione utilizzata.

## 9. Espressione dei risultati

I risultati del D-glucosio + D-fruttosio si esprimono in g/L, con due cifre decimali.

## 10. Precisione

### Riproducibilità interlaboratorio

$RSD_R = 5\%$  (a partire da 1,00 g/L)

$CV_R\% (k=2) = 2 \cdot RSD_R = 10\%$  (a partire da 1,00 g/L)

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

## Ripetibilità

$RSD_r = 1,5\%$  (a partire da 1,00 g/L)

$CV_r\% (k=2) = 2 \cdot RSD_r = 3\%$  (a partire da 1 g/L)

## Limite di quantificazione

LOQ validato = 0,10 g/L

(Concentrazione in cui  $CV_R\% (k=2) = 60\%$ )

## ALLEGATO Risultati dei test interlaboratorio

### Studio collaborativo

Allo studio collaborativo organizzato nel 2016 hanno partecipato 17 laboratori di diversi paesi.

Laboratorio	Paese
Miguel Torres S.A.- Finca Mas La Plana	SPAGNA
Estación Enológica de Castilla y León	SPAGNA
INGACAL -Consellería do Medio Rural Estación de Viticultura e Enoloxía de Galicia	SPAGNA
Estación Enológica de Haro	SPAGNA
Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto, IP	PORTOGALLO
Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes	PORTOGALLO
Laboratoires Dubernet	FRANCIA
Laboratoire Dioenos Rhône	FRANCIA
Laboratoire Natoli	FRANCIA
SCL Montpellier	FRANCIA
Agricultural institute of Slovenia	SLOVENIA
Fachbereich: Wein, Weinüberwachung - Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe	GERMANIA
HBLAuBA Wein - und Obstbau	AUSTRIA
Landesuntersuchungsamt Mainz	GERMANIA
Hochschule GEISENHEIM University Institut Weinanalytik und Getränkforschung	GERMANIA
Unità Chimica Vitienologica e Agroalimentare - Centro Trasferimento Tecnologico - Fondazione Edmund Mach	ITALIA
Unione Italiana Vini soc. Coop.	ITALIA

Sono stati analizzati 2 x 10 campioni in doppio cieco, con una ripetizione. I vini analizzati sono vini originari di Francia e Portogallo, vini secchi e vini liquorosi.

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*



Campione		A		B		C		D		E		F		G		H		I		J	
Posizione		1	9	2	13	3	4	5	15	6	10	16	20	7	11	12	17	8	19	14	18
Labo3	rip#1	94,00	96,00	3,40	3,50	<b>0,40</b>	<b>0,40</b>	0,90	1,10	<b>2,10</b>	<b>2,50</b>	0,10	0,10	1,40	1,40	5,60	5,90	<b>4,70</b>	<b>4,20</b>	17,50	17,00
	rip#2	96,00	98,00	3,50	3,60	<b>0,40</b>	<b>0,30</b>	1,00	1,10	<b>2,20</b>	<b>2,40</b>	0,10	0,10	1,40	1,40	5,70	6,00	<b>4,30</b>	<b>4,50</b>	17,50	17,00
Labo6	rip#1	97,50	95,00	3,42	3,25	<b>0,35</b>	<b>0,48</b>	1,05	0,98	<b>3,24</b>	<b>2,65</b>	0,08	0,05	1,42	1,40	5,49	5,57	4,04	4,11	13,63	19,00
	rip#2	97,00	94,50	3,39	3,29	<b>0,37</b>	<b>0,57</b>	1,08	1,01	<b>3,34</b>	<b>2,66</b>	0,08	0,08	1,52	1,45	5,42	5,52	3,95	4,13	13,70	20,50
Labo7	rip#1	99,22	99,53	3,46	3,56	0,31	0,34	1,00	0,98	2,50	2,58	0,04	0,04	1,49	1,39	5,77	5,75	4,26	4,35	17,66	17,35
	rip#2	100,3 0	98,90	3,53	3,53	0,31	0,32	1,02	1,02	2,48	2,50	0,04	0,02	1,48	1,34	5,89	5,79	4,23	4,40	17,21	17,94
Labo9	rip#1	92,00	94,20	3,05	3,03	0,29	0,30	0,93	0,97	2,30	2,16	0,04	0,04	1,25	1,25	5,02	5,01	3,98	3,76	15,60	15,76
	rip#2	95,00	97,25	3,03	3,23	0,32	0,31	0,94	0,90	2,20	2,29	0,03	0,04	1,27	1,25	5,14	5,39	3,80	4,06	16,64	16,40
Labo10	rip#1	90,79	92,31	3,27	3,36	0,34	0,34	0,97	1,01	2,28	2,30	0,09	0,07	1,28	1,26	5,46	5,42	3,27	3,36	17,92	17,99
	rip#2	92,13	91,65	3,34	3,24	0,32	0,35	0,97	1,04	2,28	2,33	0,08	0,08	1,32	1,28	5,18	5,37	3,34	3,24	17,58	17,68
Labo11	rip#1	91,40	91,28	3,06	3,12	0,57	0,30	0,95	0,93	2,15	2,18	0,07	0,05	1,16	1,22	5,19	5,34	3,70	3,86	16,22	16,47
	rip#2	90,13	89,94	3,10	3,14	0,56	0,30	0,93	0,93	2,14	2,18	0,07	0,06	1,16	1,20	5,28	5,18	3,76	3,86	16,13	16,33
Labo12	rip#1	100,0 0	100,0 0	3,25	3,27	0,34	0,33	1,03	1,10	<b>2,35</b>	<b>2,75</b>	0,08	0,10	1,30	1,39	5,66	5,64	4,07	4,13	17,30	17,44
	rip#2	101,0 0	97,00	3,22	3,25	0,34	0,33	1,03	1,11	<b>2,36</b>	<b>2,75</b>	0,08	0,10	1,30	1,39	5,62	5,68	4,07	4,15	17,50	17,80
Labo13	rip#1	96,60	96,00	3,04	3,07	0,34	0,31	0,97	0,94	2,26	2,50	0,05	0,04	1,25	1,25	5,21	5,29	3,84	3,99	16,08	16,03
	rip#2	96,00	95,10	3,07	3,12	0,32	0,32	0,97	1,04	2,25	2,25	0,04	0,04	1,25	1,28	5,24	5,31	3,90	3,97	15,95	16,18
Labo14	rip#1	<b>104,0 0</b>	<b>98,00</b>	3,19	3,16	0,33	0,33	0,97	0,96	2,47	2,44	0,05	0,05	1,34	1,32	5,77	5,81	4,20	4,21	17,76	17,04
	rip#2	<b>103,0 0</b>	<b>96,00</b>	3,18	3,17	0,33	0,33	0,97	0,97	2,48	2,44	0,05	0,05	1,34	1,32	5,77	5,78	4,20	4,14	17,44	17,24
Labo15	rip#1	<b>110,0 3</b>	<b>99,25</b>	3,63	3,60	0,20	0,19	0,94	0,97	2,54	2,36			1,30	1,20	<b>5,65</b>	<b>6,14</b>	4,56	4,43	<b>17,16</b>	<b>19,33</b>
	rip#2	<b>104,3 9</b>	<b>99,34</b>	3,59	3,72	0,20	0,20	0,94	0,95	2,52	2,32			1,32	1,20	<b>5,62</b>	<b>6,19</b>	4,39	4,54	<b>17,41</b>	<b>19,29</b>
Labo16	rip#1	95,20	94,08	3,20	3,22	0,32	0,32	0,96	0,96	2,24	2,26	0,06	0,06	1,23	1,23	5,19	5,19	3,89	3,84	17,82	17,38
	rip#2	96,00	94,41	3,17	3,18	0,31	0,33	0,95	0,94	2,25	2,22	0,06	0,06	1,24	1,22	5,13	5,15	3,85	3,86	17,84	17,24
Labo17	rip#1	96,68	97,10	3,28	3,38	0,47	0,43	1,03	1,03	2,41	2,46	<b>0,10</b>	<b>0,20</b>	1,36	1,36	5,52	5,53	4,09	4,00	16,42	17,30
	rip#2	97,08	99,40	3,24	3,33	0,39	0,38	0,95	0,96	2,30	2,36	<b>0,20</b>	<b>0,15</b>	1,32	1,24	5,38	5,40	3,95	4,10	16,50	16,60
Labo18	rip#1	90,23	91,39	3,14	3,26	0,46	0,47	1,12	1,10	2,30	2,44	<b>0,23</b>	<b>0,24</b>	1,38	1,30	5,19	5,49	3,91	4,10	14,83	14,89
	rip#2	90,02	91,74	3,18	3,31	0,47	0,47	1,07	1,07	2,31	2,40	<b>0,23</b>	<b>0,24</b>	1,38	1,32	5,23	5,45	3,94	4,04	14,82	14,85
Labo19	rip#1	99,63	103,5 5	3,34	3,41	0,32	0,32	0,98	0,97	2,38	2,41	0,04	0,05	1,29	1,30	5,68	5,56	4,10	4,11	17,61	17,49
	rip#2	100,5 7	103,2 8	3,36	3,42	0,32	0,32	0,98	0,97	2,36	2,42	0,05	0,05	1,29	1,31	5,61	5,59	4,10	4,11	17,53	17,51
Labo20	rip#1	96,41	96,18	3,20	3,23	0,32	0,32	0,96	0,95	2,26	2,32	0,07	0,08	1,24	1,24	5,35	5,40	3,92	4,03	16,36	16,51
	rip#2	96,32	95,89	3,18	3,23	0,32	0,32	0,96	0,95	2,26	2,32	0,07	0,08	1,24	1,24	5,35	5,38	3,92	4,03	16,38	16,49
Labo21	rip#1	103,6 0	102,0 2	3,37	3,60	0,23	0,25	0,95	0,98	2,41	2,49	0,05	0,05	1,27	1,33	5,95	6,12	<b>4,02</b>	<b>4,53</b>	<b>18,41</b>	<b>19,70</b>
	rip#2	102,5 0	103,0 2	3,34	3,51	0,23	0,26	0,92	0,98	2,45	2,45	0,03	0,05	1,26	1,27	6,02	5,99	<b>4,09</b>	<b>4,42</b>	<b>18,96</b>	<b>19,90</b>
Labo22	rip#1	96,73	96,59	3,25	3,28	0,28	0,28	0,92	0,93	2,25	2,31	0,06	0,05	1,23	1,28	5,51	5,47	4,02	3,98	17,09	17,10
	rip#2	97,06	96,34	3,24	3,21	0,30	0,30	0,93	0,93	2,26	2,30	0,04	0,05	1,21	1,24	5,40	5,39	4,03	4,04	17,05	17,01

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Secretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

**Tavola dei dati ottenuti.** I valori in grassetto corrispondono ai valori rifiutati secondo il test di Cochran (valori aberranti per la varianza) con un livello di significatività del 2,5% (test unilaterale) e secondo il test di Grubbs (valori aberranti per le medie) con un livello di significatività del 2,5% (test bilaterale).

*Nota: I valori mancanti non sono stati forniti dai relativi laboratori.*

Campione	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N. di laboratori presi in considerazione	15	17	14	17	14	14	17	16	15	14
N. di ripetizioni	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Minimo	90,69	3,08	0,20	0,93	2,16	0,04	1,19	5,14	3,80	14,85
Massimo	102,79	3,64	0,47	1,09	2,52	0,10	1,45	6,02	4,48	17,79
Media complessiva	96,31	3,29	0,32	0,98	2,34	0,06	1,30	5,50	4,05	16,86
Varianza della ripetibilità	1,449	0,004	0,000	0,001	0,004	0,000	0,001	0,009	0,005	0,065
Scarto tipo interlaboratorio	3,60	0,16	0,06	0,05	0,10	0,02	0,07	0,26	0,17	0,83
Varianza della riproducibilità	14,037	0,029	0,004	0,003	0,013	0,000	0,006	0,073	0,034	0,739
Scarto tipo di ripetibilità	1,20	0,06	0,01	0,04	0,06	0,01	0,04	0,09	0,07	0,26
Limite r	3,40	0,17	0,04	0,10	0,17	0,02	0,11	0,26	0,21	0,72
RSD <sub>r</sub> di ripetibilità	1,2%	1,8%	4,4%	3,6%	2,5%	13,2%	2,9%	1,7%	1,8%	1,5%
Scarto tipo di riproducibilità	3,75	0,17	0,07	0,06	0,11	0,02	0,08	0,27	0,19	0,86
Limite R	10,60	0,48	0,19	0,16	0,32	0,06	0,22	0,76	0,52	2,43
RSD <sub>R</sub> di riproducibilità	3,9%	5,1%	20,4%	5,7%	4,8%	35,3%	6,1%	4,9%	4,6%	5,1%
Horwitz RSD <sub>r</sub>	1,877	3,120	4,425	3,742	3,284	5,694	3,588	2,889	3,025	2,440
Horrat <sub>r</sub>	0,666	0,587	1,001	0,952	0,773	2,315	0,804	0,585	0,593	0,621
Horwitz RSD <sub>R</sub>	2,84	4,73	6,70	5,67	4,98	8,63	5,44	4,38	4,58	3,70
Horrat <sub>R</sub>	1,368	1,086	3,036	0,997	0,965	4,087	1,123	1,122	1,000	1,378

#### Tavola dei risultati ottenuti

*Nota: I risultati ottenuti per il campione F devono essere interpretati con cautela a causa del livello molto basso di concentrazione, inferiore al limite di quantificazione dei laboratori.*

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

*Jean-Marie AURAND*

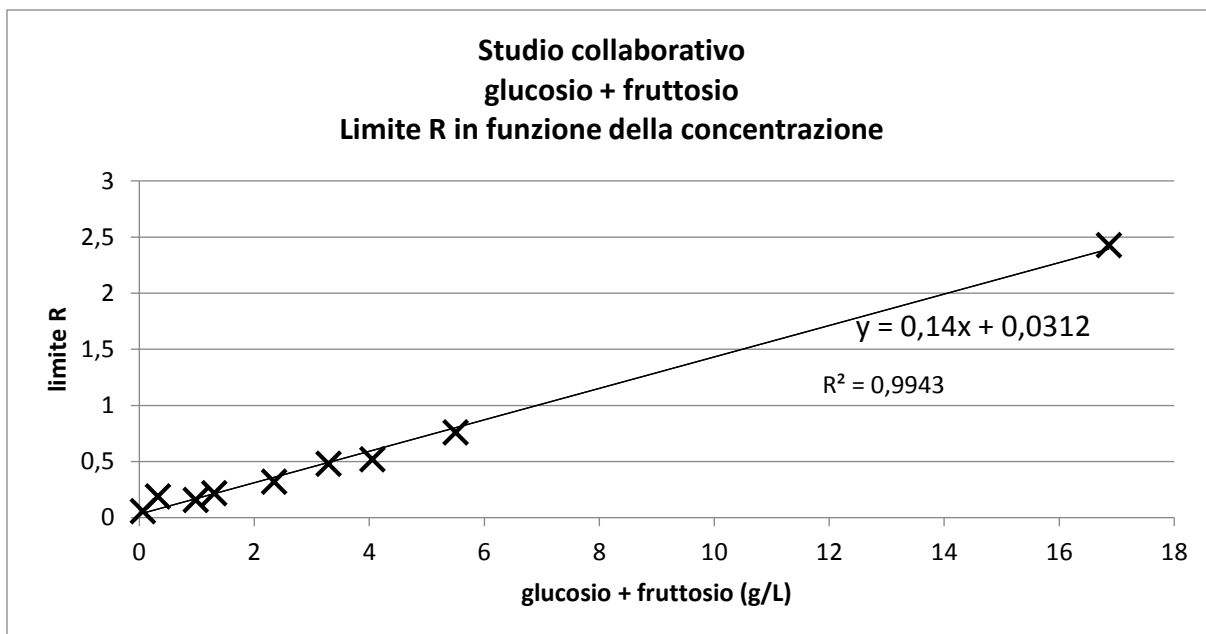


Figura 3: Limite R in funzione della concentrazione

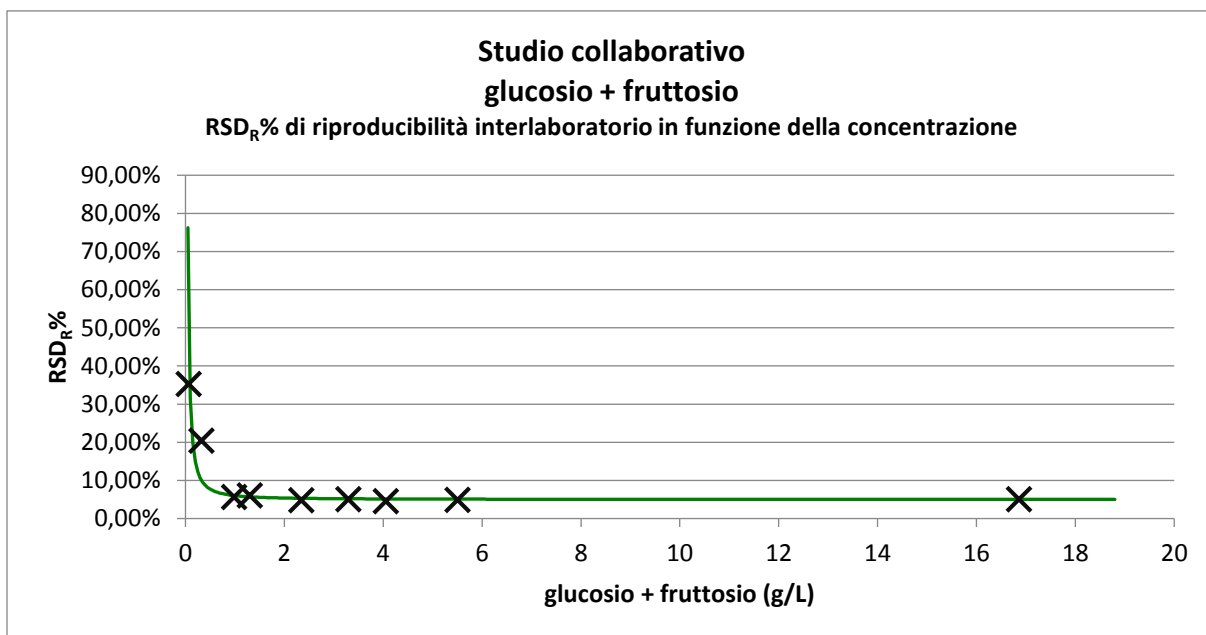


Figura 4: RSD<sub>R</sub>% interlaboratorio in funzione della concentrazione.

Modellizzazione:  $RSD_R\% = 1,000 \cdot C^{(-1,424)} + 5$

*Esemplare certificato conforme  
Punta del Este, il 23 novembre 2018  
Il Direttore Generale dell'OIV  
Segretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND