

**RISOLUZIONE OIV-OENO 621-2019**

ATTENZIONE: questa risoluzione modifica la seguente risoluzione:
- OIV-OENO 391-2010

DETERMINAZIONE DELL'ACIDO ACETICO NEI VINI MEDIANTE METODO ENZIMATICO AUTOMATIZZATO

(Metodo di Tipo II)

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 della Sottocommissione "Metodi di analisi",

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

DECIDE di eliminare l'esempio pratico concernente l'analita dalla risoluzione OIV-OENO 391/2010 ogniqualvolta venga adottato un metodo automatico,

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

**Determinazione dell'acido acetico nei vini mediante metodo enzimatico automatizzato
(Metodo di tipo II)**

1. Scopo e campo d'applicazione

Il presente metodo consente la determinazione dell'acido acetico nei vini mediante analizzatore automatico sequenziale e analisi enzimatica specifica. L'intervallo di misura utilizzato nell'ambito della presente validazione interlaboratorio va da 0,2 a 1,14 g/L di acido acetico.

NOTA: Introducendo una diluizione del campione è possibile analizzare un intervallo di valori più elevato.

2. Riferimenti normativi

- ISO 78-2: Chimica – Standard.

Esemplare certificato conforme Ginevra, il 19 luglio 2019
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA

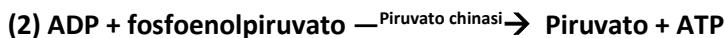


3. Principio di reazione

In presenza di ATP, tramite una reazione catalizzata dall'acetato chinasi, l'acido acetico viene trasformato in acetilfosfato.



L'ADP formatasi mediante questa reazione, reagendo con il fosfoenolpiruvato e in presenza della piruvato chinasi, viene trasformata nuovamente in ATP.



In presenza della lattato deidrogenasi, il piruvato viene ridotto in L-lattato tramite una reazione con il nicotinammide adenina dinucleotide ridotto (NADH).



È possibile determinare la quantità di NADH ossidato nell'ambito della reazione (3) misurandone l'assorbanza a 340 nm; questa quantità è proporzionale alla concentrazione di acido acetico nel vino.

Nota 1:

Quando questa analisi enzimatica viene condotta manualmente, la lettura deve avvenire una volta stabilizzato il plateau finale. A tal fine, una quarta reazione permette di spostare completamente l'equilibrio della reazione 1 a sinistra (formazione di acetilfosfato) mediante eliminazione di quest'ultimo.



Qualora invece quest'analisi venga condotta in modo automatizzato (che richiede un tempo d'analisi inferiore), non è necessario attendere la stabilizzazione del plateau finale e questa reazione risulta inutile. L'impiego della fosfotransacetilasi non è dunque necessario e, nell'ambito del presente documento, non verrà descritto.

Nota 2:

La catena di reazione enzimatica coinvolge il piruvato. Le piccole quantità di piruvato (poche decine di mg/L) normalmente presenti nei vini non si ripercuotono in modo significativo sul risultato. In rari casi, la presenza nel vino di quantità alte e anomale di piruvato potrebbe produrre un errore sistematico del metodo.

4. Reagenti e soluzioni di lavoro

Nel corso dell'analisi, salvo indicazione contraria, utilizzare unicamente reagenti di qualità analitica riconosciuta e acqua distillata o demineralizzata oppure acqua di purezza equivalente.

4.1. Reagenti

- 4.1.1. Acqua per uso analitico (norma ISO 3696), qualità I o II
- 4.1.2. Acido N-morfolino-3-propanosolfonico (MOPS) (N. CAS 1132-61-2)



- 4.1.3. Cloruro di magnesio esaидрато (N. CAS 7791-18-6)
- 4.1.4. Cloruro di potassio (N. CAS 7447-40-7)
- 4.1.5. β nicotinammide adenina dinucleotide (NADH) (N. CAS 53-84-9), purezza \geq 98%
- 4.1.6. Adenosina-5'- trifosfato, sale disodico (ATP) (N. CAS 56-65-5)
- 4.1.7. Idrossido di potassio (N. CAS 1310-58-3)
- 4.1.8. Fosfoenolpiruvato di triciclosilammonio (N. CAS 35556-70-8) o fosfoenolpiruvato monosodico (N. CAS 138-08-9) (PEP)
- 4.1.9. Acetato chinasi (AK) (N. CAS 9027-42-3)
- 4.1.10. Piruvato chinasi (PK) (N. CAS 9001-59-6)
- 4.1.11. Lattato deidrogenasi (LDH) (N. CAS 9001-60-9)
- 4.1.12. Polivinilpirrolidone (PVP) (N. CAS 9003-39-8)
- 4.1.13. Acido acetico (N. CAS 64-19-7), purezza \geq 99,5%
- 4.1.14. Cloruro di sodio (N. CAS 7647-14-15)
- 4.1.15. Albumina di siero bovino (BSA) (N. CAS 9048-46-8)

Nota 3: Esistono dei kit commerciali per la determinazione dell'acido acetico. L'utilizzatore deve verificarne la composizione per accertarsi che essi includano i reagenti summenzionati. A volte, tali kit includono la fosfotransacetilasi (non utile in un metodo automatizzato).

Nota 4: Per poter eliminare un'eventuale azione negativa dei tannini del vino sulle molecole proteiche degli enzimi si consiglia l'uso del PVP. Qualora non si scelga di utilizzare il PVP, il laboratorio deve accertarsi che i tannini del vino non interferiscano con gli enzimi.

Nota 5: La BSA è un agente che consente di stabilizzare gli enzimi in soluzione.

4.2. Soluzioni di lavoro

4.2.1. Tampone MOPS

La preparazione può essere la seguente:

- 13 g di MOPS (acido N-morfolino-3-propanosolfonico) (4.1.2),
- 0,5 g di cloruro di magnesio esaидрато (4.1.3),
- 1,5 g di cloruro di potassio (KCl) (4.1.4),
- 1,3 g di PVP (4.1.12),
- 250 mL di acqua per uso analitico (4.1.1).

Aggiustare il pH a 4,75 con una soluzione di idrossido di potassio (KOH) 1,5 M (4.1.7).

Attendere 5 minuti, quindi aggiustare nuovamente il pH à 7,45 con la medesima soluzione di idrossido di potassio (KOH) 1,5 M (4.1.7).

Portare al volume di 300 mL con acqua per uso analitico (4.1.1).

Il tampone rimane stabile per almeno 60 giorni a una temperatura da 2 a 8 °C (circa).

4.2.2. Soluzione di lavoro 1 (R1)

La preparazione può essere la seguente:

- 100 mL di tampone MOPS (4.2.1),
- tra 300 e 350 mg di adenosina-5'- trifosfato, sale disodico (ATP) (4.1.6),
- 50 mg di fosfoenolpiruvato di triciclosilammonio (PEP) (4.1.8),

Esemplare certificato conforme Ginevra, il 19 luglio 2019

Il Direttore Generale dell'OIV

Secretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA



- 40 mg di β nicotinammide adenina dinucleotide (forma ridotta) (NADH) (4.1.5).

La soluzione di lavoro R1 rimane stabile per almeno 30 giorni a una temperatura da 2 a 8 °C (circa).

4.2.3. Soluzione di lavoro 2 (R2)

La preparazione può essere la seguente:

- 100 mL di tampone MOPS (4.2.1),
- 40 unità circa di piruvato chinasi (PK) (4.1.10),
- 40 unità circa di lattato deidrogenasi (LDH) (4.1.11),
- 50 unità di acetato chinasi (AK) (4.1.9),
- 300 mg di BSA (4.1.15).

La soluzione di lavoro R2 rimane stabile per circa 48 ore a una temperatura da 2 a 8 °C (circa).

Nota: Durante la preparazione di queste soluzioni, la miscela deve essere realizzata delicatamente per evitare che si formi schiuma. Il periodo di validità delle soluzioni di lavoro è limitato e, pertanto, il laboratorio deve valutarlo e rispettarlo.

4.3. Soluzioni di calibrazione

Al fine di assicurare un collegamento che sia il più prossimo possibile al Sistema internazionale di unità di misura (SI), l'intervallo di calibrazione deve essere realizzato con soluzioni pure di acido acetico (4.1.13). Si raccomanda di realizzare una soluzione madre (ad esempio, acido acetico a una concentrazione di $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) preparandola mediante pesata, mentre gli altri campioni si ottengono dalla soluzione madre in modo tale che coprano l'intervallo di misura.

È possibile ottenere il valore "zero" utilizzando una soluzione al 9% di cloruro di sodio (4.1.14) o una soluzione salina equivalente.

5. Strumentazione

5.1. Analizzatore

5.1.1. Tipo di strumento

Analizzatore automatico sequenziale dotato di spettrometro con rivelatore UV. La temperatura di reazione deve essere stabile (37 °C circa). Le cuvette di reazione possono essere in vetro, in metacrilato o in quarzo. Lo strumento è controllato da un software che ne garantisce il funzionamento, l'acquisizione dei dati e i calcoli utili.

5.1.2. Lettura dei valori dell'assorbanza

La concentrazione degli analiti è direttamente proporzionale alla differenza tra i valori dell'assorbanza letta dallo spettrofotometro. La precisione della lettura dell'assorbanza deve essere di almeno 0,1 unità di assorbanza (AU). I valori di assorbanza ottenuti non devono superare i valori di saturazione per lo spettrofotometro utilizzato.

5.1.3. Precisione dei volumi prelevati

I volumi dei reagenti e dei campioni prelevati dalle pipette dell'analizzatore devono essere sufficientemente precisi da poter garantire che non vi siano ripercussioni sul risultato della misurazione.

Esemplare certificato conforme Ginevra, il 19 luglio 2019

Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA



5.1.4. Durata e temperatura della reazione

In generale, il tempo di reazione è di 10 minuti e la temperatura di 37 °C. Alcuni strumenti possono utilizzare dei valori leggermente differenti.

5.1.5. Utilizzo di un bianco di reazione

La lettura dei risultati si effettua confrontando il valore dell'intensità luminosa assorbita alla lunghezza d'onda scelta da una cuvetta in cui avviene la reazione e quello dell'intensità luminosa assorbita alla medesima lunghezza d'onda da una cuvetta in cui la reazione non ha luogo (bianco di reazione).

5.1.6. Lunghezza d'onda

La lunghezza d'onda massima di assorbimento dell'NADH formatosi nella reazione è di 340 nm. Per gli spettrofotometri comunemente utilizzati, la lunghezza d'onda da utilizzare è questa.

Allo scopo di correggere un eventuale effetto della matrice è possibile impostare una lunghezza d'onda secondaria pari a 410 nm.

La misura si basa sulla differenza di assorbanza $DO_{340}-DO_{410}$.

5.2. Bilancia

Deve essere calibrata conformemente al SI e avere una risoluzione di 0,1 mg.

5.3. pH-metro

5.4. Vetreria da laboratorio

La vetreria da laboratorio per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di calibrazione deve essere di classe A.

6. Preparazione dei campioni

6.1. Campioni per i test

6.1.1. Preparazione dei campioni di vini fermi

La maggior parte dei campioni di vini può essere analizzata senza che venga preventivamente preparata. In alcuni casi è possibile preparare i campioni:

- Effettuando una filtrazione per i campioni molto torbidi.
- Diluendo il campione (diluizione manuale o automatica) con acqua per uso analitico (4.1.1) qualora si vogliano considerare valori di riferimento superiori a quelli dell'intervallo di misura.

6.1.2. Preparazione dei campioni di vini spumanti

I campioni di vini spumanti devono essere preventivamente degassati mediante agitazione sottovuoto, trattamento a ultrasuoni o qualsiasi altro metodo che consenta di ottenere il degassaggio richiesto.

7. Procedimento

Poiché possono essere utilizzati analizzatori differenti, si raccomanda di rispettare scrupolosamente le condizioni d'uso fornite dal fabbricante. Lo stesso vale per i differenti kit enzimatici disponibili sul mercato.

Il procedimento è il seguente:

1. Porre il campione (C) in una 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 affinché si inneschi la reazione.

A titolo esemplificativo, le quantità dei differenti elementi possono essere:

- campione: 3 μ L,
- R1: 120 μ L, a T_0 (inizio della sequenza),
- R2: 60 μ L, a $T_0 + 3$ min 40 s.

Lo strumento effettua misurazioni regolari che consentono di ottenere la curva di reazione, di cui un esempio è fornito nella figura 1.

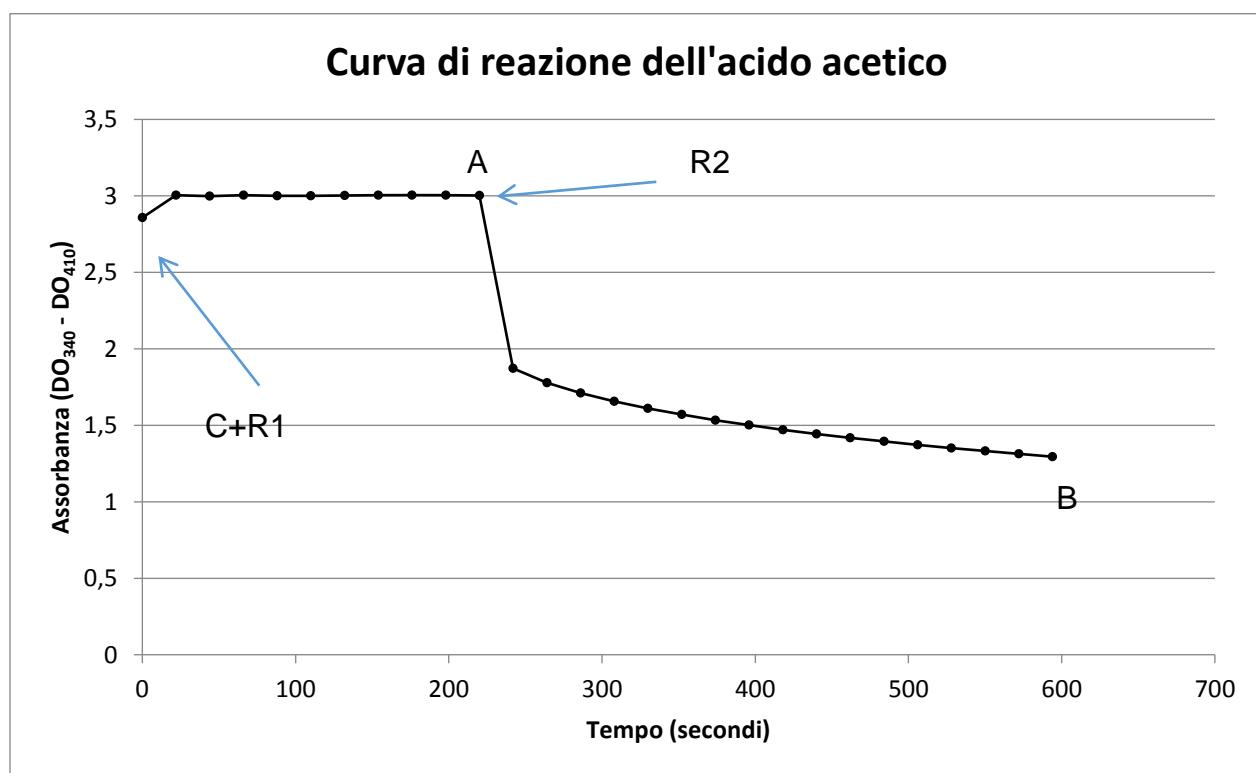


Figura 1. Curva di reazione

Lo strumento consente di scegliere i punti per poter effettuare la lettura della differenza dell'assorbanza ricercata, ad esempio tra i punti A e B della figura 1.

Esemplare certificato conforme Ginevra, il 19 luglio 2019
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA

Per riportare questo valore alla concentrazione di acido acetico, si effettua regolarmente una calibrazione dello strumento, utilizzando le soluzioni di calibrazione in almeno 3 punti che coprano l'intervallo di misura utilizzato. La curva di calibrazione ottenuta approssima una retta. È possibile comunque utilizzare un'equazione di secondo grado. Un esempio è fornito nella figura 2.

Inoltre, si prepara un bianco di reazione che contenga tutti i reagenti ma nessun campione (punto 0 della calibrazione).

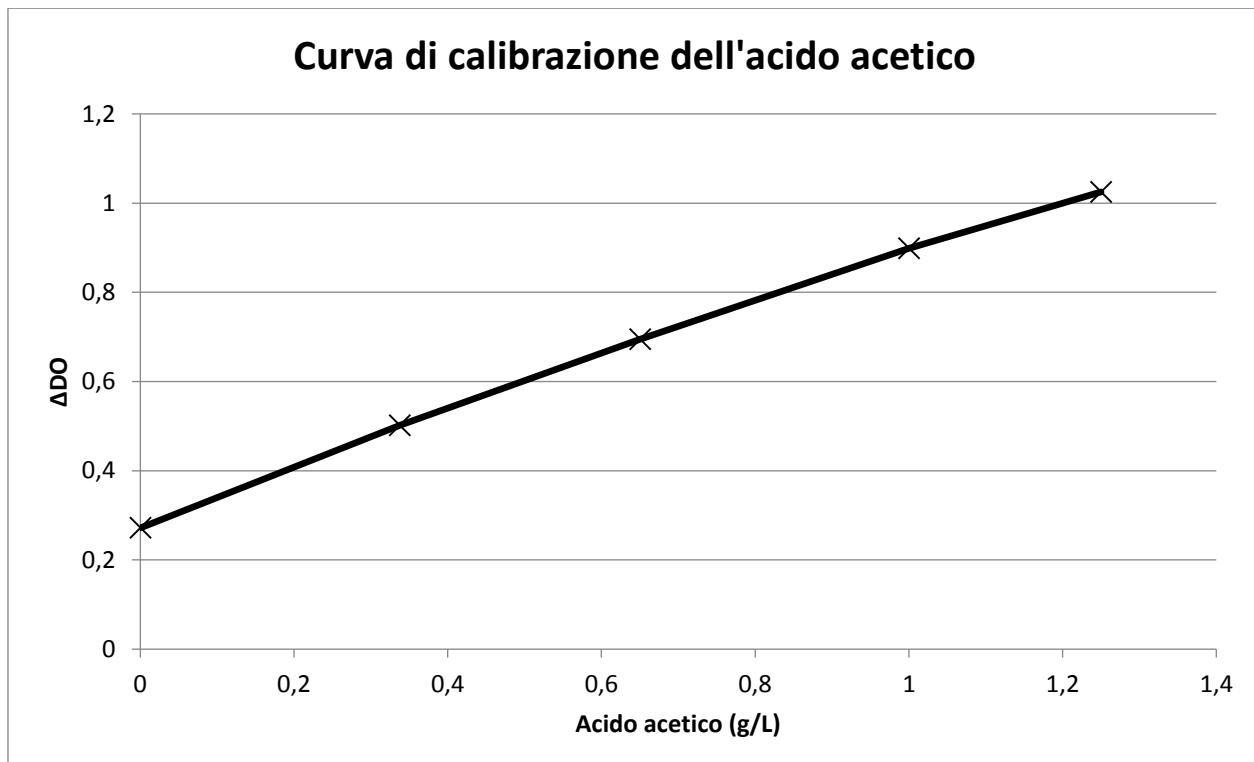


Figura 2. Curva di calibrazione

8. Calcolo dei risultati

Per ogni misurazione, il risultato si ottiene dalla formula:

$$R = | \text{Assorbanza B} - \text{Assorbanza A} |$$

Per ottenere la concentrazione dell'acido acetico, i valori così ottenuti vengono riportati sulla curva di calibrazione. Il valore finale ottenuto deve essere moltiplicato per il coefficiente dell'eventuale diluizione effettuata.



9. Espressione dei risultati

I risultati relativi all'acido acetico si esprimono in g/L di acido acetico, con due cifre decimali, o in altre unità di misura abituali (meq/L). L'espressione del risultato deve tenere conto dell'incertezza di misura.

10. Caratteristiche del metodo enzimatico automatizzato

Riproducibilità interlaboratorio

$RSD_R = 10\%$
 $CV_R\% (k=2) = 2 \cdot RSD_R = 20\%$,

Ripetibilità

$RSD_r = 4\%$
 $CV_r\% (k=2) = 2 \cdot RSD_r = 8\%$

Limite di quantificazione

LOQ validato < 0,2 g/L
Non determinato nello studio collaborativo

11. Riferimenti

- McCLOSKEY Leo P., "An Improved enzymatic assay for acetate in juice and wine", *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 31, N. 2, 1980.

Esemplare certificato conforme Ginevra, il 19 luglio 2019
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA



ALLEGATO
Studio della prestazione del metodo

Studio collaborativo

Allo studio collaborativo hanno partecipato 11 laboratori di 5 paesi differenti.

Laboratorio	Paese
Miguel Torres S.A.- Finca Mas La Plana	Spagna
INGACAL -Consellería do Medio Rural Estación de Viticultura e Enoloxía de Galicia	Spagna
Estación Enológica de Haro	Spagna
Laboratoires Dubernet	Francia
Laboratoire Dicéños Rhône	Francia
Laboratoire Natoli	Francia
SCL Montpellier	Francia
Fachbereich: Wein, Weinüberwachung - Chemisches und Veterinärunterchungsamt Karlsruhe	Germania
HBLAuBA Wein - und Obstbau	Austria
Hochschule GEISENHEIM University Institut Weinanalytik und Getränkeforschung	Germania
Unione Italiana Vini soc. Coop.	Italia

Tabella 1: Laboratori partecipanti

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

Esemplare certificato conforme Ginevra, il 19 luglio 2019
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA



Campione		A		B		C		D		E		F		G		H		I		J	
		Vino di Porto		Vino edulcorato		Vino secco		Vino secco		Vino edulcorato		Vino secco		Vino secco		Vino edulcorato		Vino edulcorato		Vino edulcorato	
Posizione		1	9	2	13	3	4	5	15	6	10	16	20	7	11	12	17	8	19	14	18
Lab 3	rip 1	0,24	0,27	0,20	0,21	0,65	0,65	0,47	0,49	0,54	0,52	1,28	1,30	0,64	0,63	0,29	0,31	0,39	0,37	0,63	0,62
	rip 2	0,25	0,26	0,20	0,21	0,67	0,65	0,46	0,50	0,56	0,53	1,29	1,33	0,65	0,67	0,29	0,28	0,36	0,37	0,65	0,61
Lab 7	rip 1	0,20	0,20	0,22	0,23	0,62	0,62	0,45	0,46	0,50	0,50	1,25	1,30	0,61	0,62	0,28	0,28	0,34	0,35	0,62	0,60
	rip 2	0,20	0,21	0,21	0,22	0,63	0,64	0,45	0,46	0,53	0,52	1,20	1,20	0,61	0,64	0,29	0,28	0,35	0,37	0,60	0,61
Lab 9	rip 1	0,17	0,18	0,18	0,19	0,57	0,52	0,40	0,40	0,41	0,43	1,18	1,18	0,57	0,54	0,24	0,29	0,36	0,32	0,53	0,51
	rip 2	0,17	0,19	0,16	0,17	0,59	0,57	0,39	0,43	0,44	0,41	1,16	1,14	0,55	0,55	0,25	0,29	0,30	0,33	0,55	0,51
Lab 12	rip 1	0,17	0,18	0,20	0,20	0,56	0,53	0,40	0,41	0,44	0,44	1,02	1,01	0,53	0,53	0,27	0,28	0,36	0,33	0,49	0,51
	rip 2	0,17	0,18	0,20	0,21	0,55	0,54	0,40	0,41	0,44	0,44	1,02	1,01	0,52	0,52	0,28	0,29	0,36	0,34	0,48	0,51
Lab 13	rip 1	0,22	0,19	0,23	0,20	0,50	0,51	0,40	0,40	0,42	0,44	0,95	0,97	0,48	0,49	0,27	0,28	0,32	0,32	0,48	0,50
	rip 2	0,20	0,19	0,23	0,21	0,52	0,52	0,39	0,39	0,43	0,42	0,97	0,96	0,51	0,48	0,28	0,28	0,32	0,33	0,50	0,51
Lab 14	rip 1	0,17	0,17	0,20	0,19	0,56	0,57	0,42	0,41	0,46	0,45	1,10	1,14	0,55	0,54	0,27	0,26	0,34	0,32	0,53	0,51
	rip 2	0,17	0,17	0,20	0,19	0,56	0,57	0,42	0,41	0,45	0,44	1,12	1,10	0,53	0,55	0,26	0,26	0,33	0,31	0,53	0,53
Lab 15	rip 1	0,22	0,23	0,28	0,27	0,68	0,68	0,52	0,52	0,56	0,56	1,20	1,23	0,69	0,73	0,35	0,34	0,47	0,42	0,60	0,62
	rip 2	0,22	0,22	0,26	0,26	0,68	0,63	0,53	0,50	0,52	0,54	1,18	1,13	0,65	0,67	0,34	0,34	0,42	0,41	0,59	0,64
Lab 17	rip 1	0,20	0,19	0,26	0,25	0,54	0,52	0,41	0,42	0,39	0,39	1,01	1,00	0,49	0,45	0,32	0,29	0,34	0,35	0,44	0,43
	rip 2	0,20	0,20	0,27	0,27	0,53	0,55	0,43	0,43	0,43	0,43	1,03	1,05	0,49	0,49	0,31	0,32	0,37	0,38	0,44	0,46
Lab 18	rip 1	0,27	0,25	0,35	0,33	0,69	0,68	0,53	0,56	0,59	0,59	1,24	1,21	0,66	0,68	0,43	0,41	0,50	0,51	0,65	0,63
	rip 2	0,28	0,27	0,36	0,36	0,68	0,69	0,55	0,57	0,60	0,60	1,26	1,23	0,68	0,71	0,44	0,43	0,50	0,52	0,63	0,65
Lab 20	rip 1	0,23	0,20	0,29	0,29	0,58	0,57	0,49	0,47	0,47	0,47	1,15	1,13	0,55	0,58	0,34	0,35	0,39	0,40	0,55	0,52
	rip 2	0,23	0,20	0,29	0,29	0,58	0,57	0,49	0,47	0,47	0,47	1,15	1,13	0,55	0,58	0,34	0,36	0,39	0,40	0,55	0,52
Lab 22	rip 1	0,17	0,16	0,20	0,18	0,60	0,60	0,43	0,44	0,47	0,47	1,20	1,20	0,58	0,58	0,26	0,26	0,32	0,32	0,55	0,58
	rip 2	0,17	0,17	0,19	0,19	0,61	0,61	0,43	0,43	0,48	0,47	1,21	1,22	0,59	0,58	0,26	0,27	0,31	0,33	0,54	0,59

Tabella 2: Tavola dei dati ottenuti (in g·L⁻¹ di acido acetico). I valori in grassetto corrispondono ai valori rifiutati secondo il test di Cochran (valori aberranti per la varianza) con livello di significatività del 2,5% (test unilaterale) e secondo il test di Grubbs (valori aberranti per le medie) con livello di significatività del 2,5% (test bilaterale).

Esemplare certificato conforme Ginevra, il 19 luglio 2019

Il Direttore Generale dell'OIV

Secretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA

Campione	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N° laboratori presi in considerazione	11	10	11	10	10	11	10	9	9	9
N° ripetizioni	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Minimo	0,17	0,18	0,51	0,40	0,41	0,96	0,49	0,26	0,32	0,50
Massimo	0,27	0,29	0,69	0,52	0,55	1,30	0,69	0,35	0,39	0,63
Media complessiva	0,20	0,22	0,59	0,44	0,47	1,14	0,59	0,30	0,35	0,55
Varianza della ripetibilità	0,0001	0,0001	0,0002	0,0001	0,0002	0,0006	0,0003	0,0001	0,0003	0,0003
Scarto tipo interlaboratorio	0,03	0,04	0,06	0,04	0,05	0,11	0,07	0,03	0,03	0,05
Varianza della riproducibilità	0,001	0,001	0,003	0,002	0,002	0,012	0,005	0,001	0,001	0,003
Scarto tipo di ripetibilità	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02
Limite r	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,07	0,05	0,02	0,05	0,05
RSD _r di ripetibilità	4,5%	4,5%	2,4%	2,7%	2,9%	2,1%	3,1%	2,8%	4,8%	3,2%
Scarto tipo di riproducibilità	0,03	0,04	0,06	0,04	0,05	0,11	0,07	0,03	0,03	0,05
Limite R	0,10	0,11	0,17	0,12	0,14	0,31	0,19	0,09	0,08	0,15
RSD _R di riproducibilità	16,8%	17,4%	9,9%	9,5%	10,6%	9,5%	11,7%	11,1%	8,5%	9,5%
Horwitz RSD _r	4,74	4,68	4,04	4,22	4,18	3,66	4,04	4,49	4,38	4,08
HorRat _r	0,96	0,97	0,60	0,63	0,70	0,58	0,77	0,62	1,10	0,79
Horwitz RSD _R	7,18	7,09	6,12	6,40	6,34	5,54	6,13	6,80	6,63	6,18
HorRat _R	2,34	2,45	1,63	1,49	1,67	1,71	1,91	1,63	1,29	1,53

Tavella 3: Tavola dei risultati ottenuti

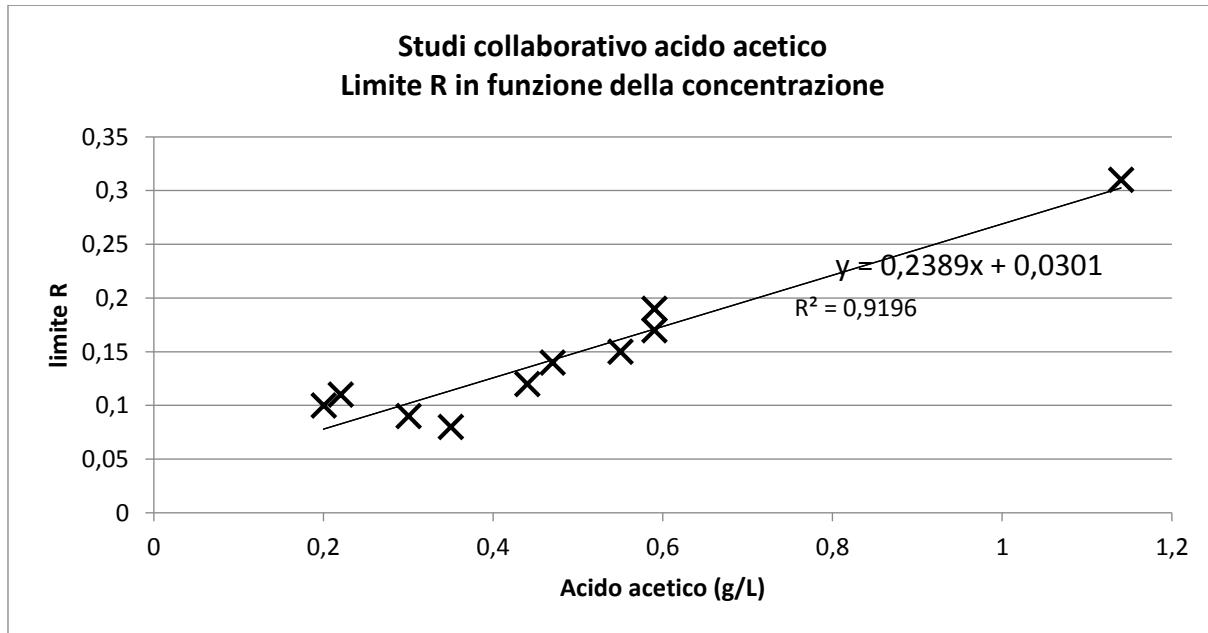


Figura 3. Limite R in funzione della concentrazione