

**RISOLUZIONE OIV-OENO 618-2020**

QUANTIFICAZIONE DI GLUCOSIO, ACIDO MALICO, ACIDO ACETICO, ACIDO FUMARICO, ACIDO SHIKIMICO E ACIDO SORBICO NEL VINO MEDIANTE SPETTROSCOPIA DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE (NMR ^1H) QUANTITATIVA

L'ASSEMBLEA GENERALE,

VISTO L'ARTICOLO 2, paragrafo 2 b) iv, dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

SU PROPOSTA della Sottocommissione "Metodi di analisi",

DECIDE di integrare l'allegato A della *Raccolta dei metodi internazionali di analisi dei vini e dei mosti* con il metodo seguente:

Quantificazione di glucosio, acido malico, acido acetico, acido fumarico, acido shikimico e acido sorbico nel vino mediante spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR ^1H) quantitativa

(Metodo di tipo IV)

1. Introduzione

La spettroscopia NMR è una cosiddetta tecnica analitica quantitativa primaria con ampi intervalli di linearità (5-6 ordini di grandezza). La soppressione del segnale di più elementi, come quello prodotto dall'acqua e dall'etanolo, può incrementare in modo significativo la sensibilità delle matrici contenenti acqua ed etanolo (come il vino) durante le misurazioni automatizzate. Mediante segnali specifici e in un unico ciclo analitico è possibile identificare e quantificare i vari composti del vino.

2. Campo di applicazione

Il metodo descritto è indicato per la determinazione quantitativa di glucosio, acido malico, acido acetico, acido fumarico e acido shikimico alle rispettive concentrazioni naturali nel vino nonché del conservante acido sorbico.

Intervallo di lavoro in mg/L:

Glucosio	600-50000
Acido malico	300-5000
Acido acetico	30-2000
Acido fumarico	20-300
Acido shikimico	20-500
Acido sorbico	20-800

Esemplare certificato conforme Parigi-videoconferenza, il 26 novembre 2020
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA



3. Abbreviazioni

NMR	Risonanza magnetica nucleare
NMR ^1H	Risonanza magnetica nucleare protonica
TSP	3-(trimetilsilil)-acido propionico sale sodico
PULCON	Determinazione della concentrazione basata sulla lunghezza degli impulsi (PULse lengthbased CONcentration measurement)

4. Principio

Si diluisce il campione di vino con tampone al 10% in D_2O . Come standard interno si usa il TSP che serve per aggiustare lo spostamento chimico (δ) (0 ppm). Dopodiché si sottopone il campione a misurazione tramite NMR ^1H . Occorre sopprimere almeno il segnale prodotto dall'acqua e, per aumentare la sensibilità, è necessario sopprimere anche il segnale prodotto dall'etanolo. Per valutare e quantificare gli analiti del vino selezionati si utilizzano i segnali appropriati (cfr. tabella 1 dell'allegato al punto 11.1.).

5. Reagenti e materiali

I reagenti utilizzati e l'acqua (5.8) devono essere privi degli analiti da determinare. Salvo diversamente indicato, per "soluzione" s'intende una soluzione acquosa.

- 5.1 D_2O (grado di deuterazione del 99,9%), N. CAS 7789-20-0
- 5.2 3-(trimetilsilil)-acido propionico 2,2,3,3- d_4 sale sodico (TSP) (grado di deuterazione del 98%), N. CAS 24493-21-8
- 5.3 Soluzione tampone, pH 2,9-3,3 per aggiustare il pH del vino

Ad esempio: KH_2PO_4 1 M (potassio diidrogenofosfato, N. CAS 7778-77-0), TSP allo 0,1% (3-(trimetilsilil)-acido propionico sale sodico (5.2) e NaN_3 (azoturo di sodio, N. CAS 26628-22-8) 3 mM in D_2O (5.1), pH 3,10
- 5.4 Acido cloridrico 1 M, N. CAS 7647-01-0
- 5.5 Idrossido di sodio 1 M, N. CAS 1310-73-2
- 5.6 Soluzioni tampone per la calibrazione degli elettrodi

pH 4,00 e pH 2,00
(materiale di riferimento certificato, ad esempio Certipur®)
- 5.7 Acido citrico monoidrato, N. CAS 5949-29-1

Esemplare certificato conforme Parigi-videoconferenza, il 26 novembre 2020
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA



5.8 Acqua ultrapura, ISO 3696

6. Strumentazione

I filtri a membrana (6.8) devono essere privi degli analiti da determinare.

- 6.1 Provette per NMR da 5 mm, deviazione del diametro interno max. $\pm 1\%$
- 6.2 Centrifuga con calibro per la regolazione delle provette per NMR
- 6.3 Dispositivo per la misurazione del pH (unità di pH $\pm 0,01$)
- 6.4 Sistema automatico per la titolazione (aggiustamento del pH di $\pm 0,01$ unità di pH); in alternativa sarà necessario procedere all'aggiustamento manuale
- 6.5 Spettrometro NMR, ad esempio a 400 MHz con sonda da 5 mm (gradiente z) e stabilizzazione della temperatura $\pm 0,2$ K
- 6.6 Pipette da 100-1000 μL
- 6.7 Vial di reazione da 1,5 mL
- 6.8 Filtro a membrana in polivinilidenfluoruro (PVDF) con dimensione dei pori di 0,2 μm e diametro di 15 mm

7. Preparazione dei campioni

I campioni di vino non devono presentare impurità, in caso contrario devono essere filtrati (6.8). Per la preparazione dei campioni, diluire i vini con il tampone al 10% in D_2O . Come standard interno di riferimento per lo spostamento chimico a δ 0 ppm si utilizza il TSP. Il pH finale delle soluzioni dei campioni deve essere $3,10 \pm 0,02$.

Ad esempio, miscelare 900 μL di vino con 100 μL di tampone (5.3) e aggiustare il pH esattamente a $3,10 (\pm 0,02)$ unità di pH con acido cloridrico (5.4) o idrossido di sodio (5.5) al fine di poter utilizzare i parametri di quantificazione indicati nella tabella 1 dell'allegato al punto 11.1. A questo scopo, occorre utilizzare un sistema automatico per la titolazione oppure effettuare un aggiustamento manuale del pH, tramite un pH-metro di precisione. Da questa miscela, trasferire 600 μL in una provetta per NMR da 5 mm e procedere direttamente alla misurazione.

8. Procedimento

8.1 Spettrometro NMR e misurazione

Le misurazioni devono essere effettuate adoperando schemi di soppressione da multi-presaturazione da acqua ed etanolo. Esistono diverse tecniche di soppressione dei segnali indesiderati, come la multi-presaturazione selettiva e il watergate. Per sopprimere adeguatamente il segnale dell'acqua, gli spettrometri sono dotati di appropriate sequenze di impulsi. Per la quantificazione degli analiti, il rapporto segnale/rumore dei segnali selezionati dovrà essere superiore a 10:1.

In linea di massima, i parametri essenziali sono i seguenti:

- il tempo di riciclo deve essere di almeno 6 secondi,
- le misurazioni devono essere effettuate a 300 K (27 °C) con una stabilità termica di $\pm 0,2$ K, senza rotazione,



- la risoluzione deve essere uguale o superiore a 16 punti/Hz,
- l'ampiezza spettrale (SW) deve essere maggiore o uguale a 18 ppm,
- la calibrazione e le misurazioni dei campioni di vino devono essere effettuate mediante impulso con lo stesso angolo.

8.2 Quantificazione dei composti

La quantificazione viene effettuata sulle aree/intensità del segnale raccomandate degli analiti (cfr. tabella 1 dell'allegato al punto 11.1). Può essere effettuata mediante standardizzazione e calibrazione interna o esterna (PULCON). Devono essere assegnati i segnali corrispondenti agli analiti (cfr. tabella 1 dell'allegato al punto 11.1). Al fine di ottenere il fattore di correzione aggiuntivo di risposta per l'analita in questione, è necessario che gli standard puri (a concentrazioni confrontabili) siano sottoposti a misurazione alle stesse condizioni dei campioni (ad esempio, mediante esperimenti *spiking*). La tabella 1 dell'allegato al punto 11.1 contiene un elenco dei segnali corrispondenti alle sostanze oggetto dell'analisi.

9. Calcoli

9.1 Calcolo tramite standard interno

Per la quantificazione, è possibile valutare i segnali corrispondenti agli analiti secondo la formula seguente (standard interno):

$$m_x = \frac{MM_x}{MM_{std}} \cdot \frac{nH_{std}}{nH_x} \cdot \frac{A_x}{A_{std}} \cdot m_{std} \cdot FC$$

m_x e m_{std}	Massa dell'analita e dello standard [g]
MM_x e MM_{std}	Massa molecolare dell'analita e dello standard [g/mol]
nH_x e nH_{std}	Numero di protoni dell'analita e dello standard
A_x e A_{std}	Area dei picchi selezionati dell'analita e dello standard
x	Analita
std	Standard di riferimento, standard interno (ad es. TSP (5.2))
FC	Fattore di correzione, vedere la tabella 1 dell'allegato al punto 11.1 (se necessario, può essere ottenuto mediante esperimenti con campioni arricchiti dell'analita in questione)

9.2 Calcolo tramite standard esterno, metodo PULCON

Per la quantificazione, è possibile valutare i segnali corrispondenti agli analiti secondo il metodo che si avvale delle misurazioni della concentrazione basate sulla lunghezza degli impulsi, tramite la formula

Esemplare certificato conforme Parigi-videoconferenza, il 26 novembre 2020
Il Direttore Generale dell'OIV
Segretario dell'Assemblea Generale
Pau ROCA



F.1 riportata di seguito. Per la quantificazione, si utilizza a ogni ciclo un campione esterno con concentrazione nota di sostanze adeguate alla calibrazione, il campione Quant_{rif} (acido citrico 20 g/L). Il fattore di quantificazione risultante fa parte dei dati di ogni campione. Per calcolare il valore di qf si utilizza il campione Quant_{rif}, secondo la formula F.2:

Il metodo PULCON si basa sulla formula seguente:

$$\text{F.1} \quad \gamma_{An} = \frac{I_{An} \cdot SW_{An} \cdot M_{An} \cdot P_{An} \cdot k_{An}}{SI_{An} \cdot qf \cdot P_{Rif} \cdot N_{H,An} \cdot d_{An}^2 \cdot NS_{An}}$$

dove:

- γ_{An} = concentrazione massica dell'analita ricercato (in mg/L)
- I_{An} = integrale assoluto dell'analita nel campione
- SW_{An} = ampiezza spettrale (ad es. 20,55 ppm)
- M_{An} = massa molare dell'analita (g/mol)
- P_{An} = durata dell'impulso di eccitazione utilizzato per il campione (in μ s)
- k_{An} = fattore di correzione (se necessario, può essere ottenuto mediante esperimenti con campioni arricchiti dell'analita in questione)
- SI_{An} = dimensione (ad es. 131072)
- qf = valore medio del fattore di quantificazione Quant_{rif}
- P_{Rif} = durata dell'impulso di eccitazione utilizzato per Quant_{rif} (in μ s)
- $N_{H, An}$ = numero di protoni della molecola dell'analita che fornisce questa risonanza
- d_{An} = diametro interno della provetta contenete l'analita
- NS_{An} = numero di FID acquisiti per la provetta dell'analita

$$\text{F.2} \quad qf = \frac{I_{Ref} \cdot SW_{Ref} \cdot M_{Ref}}{SI_{Rif} \cdot \gamma_{Rif} \cdot N_{H,Rif} \cdot d_{Rif}^2 \cdot NS_{Rif}} \left(\text{in } \frac{\text{a. u.} \cdot \text{ppm} \cdot \text{l}}{\text{mol}} \right)$$

dove:

- I_{Rif} = integrale assoluto del segnale del riferimento
- SW_{Rif} = ampiezza spettrale (ad es. 20,55 ppm)
- M_{Rif} = massa molare della sostanza di riferimento (g/mol)
- SI_{Rif} = dimensione (ad es. 131072 = 128k = 2¹⁷)
- γ_{Rif} = concentrazione massica della sostanza di riferimento
- $N_{H, Rif}$ = numero di protoni della molecola di riferimento che fornisce questa risonanza
- d_{Rif} = diametro interno della provetta del campione di riferimento
- NS_{Rif} = numero di FID acquisiti per la provetta della sostanza di riferimento

Inoltre, è obbligatorio acquisire rispettivamente sia lo spettro del riferimento che quello dell'analita con la stessa impostazione per la sensibilità del ricevitore (guadagno del ricevitore). Inoltre, nel



determinare rispettivamente qf o γ_{An} , si consiglia di mantenere invariati tutti i parametri di misurazione (temperatura, tipo di provetta del campione, SI, SW e NS).

9.3 Espressione dei risultati

I risultati devono essere espressi in mg/L, con una cifra decimale per i componenti secondari (< 1 g/L) e senza cifre decimali per i componenti principali (> 1 g/L).

10. Precisione

Al fine di fornire un'indicazione realistica delle prestazioni del metodo, è stato condotto un ring test. I dettagli sono reperibili in Godelmann *et al.*, 2016.

10.1 Ripetibilità e riproducibilità

In tabella 1 vengono riassunti lo scarto tipo relativo di ripetibilità e quello di riproducibilità per i diversi analiti (Godelmann *et al.* 2016).



Tabella 1: Scarto tipo relativo di ripetibilità e riproducibilità – Tratti dal Proficiency test (Godelmann *et al.* 2016) per i diversi analiti

	Glucosio	Acido malico	Acido acetico	Acido fumarico	Acido shikimico	Acido sorbico
NMRP01 (vino modello)						
Numero di laboratori	15	14	15	14	13	14
Valore medio in mg/L	9903	2628	1056	82,1	103,6	126,1*
RSD _r %	1,5	1,7	1,4	1,5	1,8	7,5
RSD _R %	5,5	4,3	7,5	12,5	5	11,9
NMRP02 (vino bianco)						
Numero di laboratori	15	14	15	14	13	15
Valore medio in mg/L	28304	3528	868	12,1 (<LOQ)	45,8	164,6
RSD _r %	1,3	1,7	1,6		4	2,1
RSD _R %	4,6	14,3	9		18,3	5,1
NMRP03 (vino rosso)						
Numero di laboratori	14	9	14	13	13	14
Valore medio in mg/L	11505	240 (<LOQ)	544	29,1	34,6	149,7
RSD _r %	2,2		3,6	3,1	14,7	2,7
RSD _R %	4,3		7,6	9,1	20	5,4
NMRP04 (vino rosso)						
Numero di laboratori	14	11	14		13	5
Valore medio in mg/L	12538	251	627	n.d.	61,8	10,9 (<LOQ)
RSD _r %	1,7	6,6	2,7		9,4	
RSD _R %	3,9	11,4	5,8		15,3	
NMRP05 (vino bianco)						
Numero di laboratori	14	13	14	13	13	15
Valore medio in mg/L	30303	2615	1011	27,1	29,3	191,8
RSD _r %	3,2	4,6	2,7	3	8,8	3,9
RSD _R %	5	13,7	7	5,3	15,6	7
NMRP06 (vino rosso)						
Numero di laboratori	14	11	14	4	12	14
Valore medio in mg/L	6090	267	630	n.d.	30	158,5
RSD _r %	3	6,1	2,1		9,6	4,3
RSD _R %	5,3	10,2	4,9		12,6	6,3
NMRP07 (vino bianco)						
Numero di laboratori	13	10	14	14	13	4
Valore medio in mg/L	5297	8036	794	n.d.	36,2	3,2 (<LOQ)
RSD _r %	1,5	3,7	2,6		11,5	
RSD _R %	6,3	5,9	7,4		14,7	
NMRP08 (vino bianco)						
Numero di laboratori	14	14	14	13	13	6
Valore medio in mg/L	16518	5254	301	n.d.	68,4	5,4 (<LOQ)
RSD _r %	1	2,2	3		4,2	
RSD _R %	4,5	8,6	7,1		6,4	
NMRP09 (vino bianco)						
Numero di laboratori	14	12	14	14	13	15
Valore medio in mg/L	2091	2390	176	45,9	44,1	98
RSD _r %	3,1	2,6	4,6	2,2	4,3	1,8
RSD _R %	6,6	5,7	12	4,6	8,4	5,1
NMRP10 (vino rosso)						
Numero di laboratori	9	7	14	15	13	15
Valore medio in mg/L	442 (<LOQ)	178 (<LOQ)	502	90,6	58	200,3
RSD _r %			2,4	2,5	5,2	2,9
RSD _R %			11,7	7,7	16,4	6,8

Esemplare certificato conforme Parigi-videoconferenza, il 26 novembre 2020

Il Direttore Generale dell'OIV

Segretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA



10.2 Limite di rivelabilità e limite di quantificazione

Il limite di rivelabilità (LOD) e il limite di quantificazione (LOQ) devono essere stimati singolarmente dai laboratori e dipendono dal sistema NMR utilizzato (in particolare dall'intensità del campo). Tuttavia, a titolo indicativo, i LOD e LOQ di cui alla tabella 2 sono stati calcolati seguendo le istruzioni contenute nella risoluzione OENO 7-2000 (E-AS1-10-LIMDET) sulla base della preparazione del campione e dei parametri di misurazione NMR riportati in precedenza (400 MHz e avvalendosi della soppressione del segnale dell'etanolo).

Tabella 2: Limite di rivelabilità e limite di quantificazione

Analita	LOD mg/L	LOQ mg/L
Glucosio	150	600
Acido malico	90	300
Acido acetico	10	30
Acido fumarico	5	20
Acido shikimico	5	20
Acido sorbico	5	20

**11. Allegato****11.1 Tabella 1: Parametri di quantificazione, impostazioni 400 MHz, pH 3,10**

Analita	Molarità (g/mol)	Segnale utilizzato per la quantificazione	n° di protoni	Descrizione	Regione tipica (esempio) - ppm	Fattore di correzione	Commento per la correzione
Acido malico	134	H3B, 4 segnali a circa 2,88 ppm	1	Regione: segnale di sinistra + 4,5 Hz, segnale di destra -4,5 Hz Correzione locale della linea di base (tipicamente di ordine zero)	2,8465-2,9216	1,05	Dovuta al troncamento della regione
Acido sorbico	112	Metà di H2, segnale di sinistra di doppietto a circa 5,85 ppm	0,5	Regione: segnale di sinistra del doppietto \pm 7 Hz Correzione locale della linea di base (tipicamente di ordine zero)	5,8250-5,8600	0,95	Dovuta all'effetto tetto del doppietto
Acido fumarico	116	H2+H3, singoletto a circa 6,75 ppm	2	Regione: segnale \pm 3 Hz Correzione locale della linea di base (ordine zero/primo ordine)	6,7350-6,7600	1,00	
Acido acetico	60	H2A + H2B + H2C, singoletto a circa 2,07 ppm	3	Regione: Segnale \pm 3 Hz Correzione locale della linea di base (ordine zero)	2,0720-2,0830	1,28 (fattore combinato)	Dovuta a T1 (fattore 1,16) e troncamento della regione (fattore 1.1)
Glucosio	180	H1-alfa, doppietto a circa 5,21 ppm	1	Regione: centro del doppietto \pm 5 Hz Correzione locale della linea di base (ordine zero)	5,1900-5,2300	2,50 (fattore combinato)	alfa/beta-glucosio (fattore 2,33), troncamento della regione (fattore 1,07)
Acido shikimico	174	H2, ordine superiore (5) a circa 6,8 ppm	1	Regione: centro del multipletto \pm 6 Hz Correzione locale della linea di base (ordine zero/primo ordine)	6,7850-6,8200	1,00	-

Esemplare certificato conforme Parigi-videoconferenza, il 26 novembre 2020

Il Direttore Generale dell'OIV

Segretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA



11.2 Giustizia/recupero

Per i campioni del ring test, il recupero è stato determinato confrontando i valori medi del metodo NMR con la rispettiva analisi del parametro corrispondente eseguita secondo il metodo dell'OIV (per l'acido acetico sono stati utilizzati il metodo HPLC e il metodo enzimatico e per l'acido fumarico è stato utilizzato il metodo HPLC).

I recuperi calcolati sono del 100,3% per il glucosio (n=9, 95,2-106,4), 108,9% per l'acido acetico (n=10, 99,9-123), 104,1% per l'acido malico (n=7, 91,4-124,1), 105,2% per l'acido shikimico (n=10, 91,2-122,3), 100,2% per l'acido sorbico (n=8, 97,9-102,5) e 96,8% per l'acido fumarico (n=6, 80,5-104,1). Soltanto per il parametro relativo all'acido acetico si sono ottenuti sempre risultati superiori al 100%, con una media totale pari a 109%. Per questi risultati, il motivo potrebbe essere il fattore di correzione di 1,28 (cfr. tabella 1 dell'allegato al punto 11.1). I recuperi sono calcolati sulla base dell'analisi dei valori di riferimento derivanti dai metodi dell'OIV.

Tabella 2: Recuperi degli analiti

Analita	Recupero % medio n: numero calcolato di campioni del ring test	Variazione %
Glucosio	100,0 (n=9)	95,2-106,4
Acido malico	104,1 (n=7)	91,4-124,1
Acido acetico	108,9 (n=10)	99,9-123
Acido fumarico	96,8 (n=6)	80,5-104,1
Acido shikimico	105,2 (n=10)	91,2-122,3
Acido sorbico	100,2 (n=8)	97,9-102,5

11.3 Valori di HorRat per tutti i composti

Tabella 4:

Parametro	Valore di HorRat			Campioni <LOQ
	0,5-1,5	1,6-2,0	> 2,0	
Acido acetico	7 (0,8-1,3)	3 (1,6; 1,6; 1,9)	0	0
Acido malico	4 (0,9-1,5)	2 (1,6; 2,0)	2 (2,8; 3,1)	2
Glucosio	9 (1,0-1,5)	0	0	1
Acido sorbico	7 (0,6-1,5)	0	0	3
Acido fumarico	6 (0,5-1,5)	0	0	4
Acido shikimico	4 (0,6-1,3)	5 (1,6; 1,6; 1,8; 1,9; 2,0)	1 (2,1)	0

Esemplare certificato conforme Parigi-videoconferenza, il 26 novembre 2020

Il Direttore Generale dell'OIV

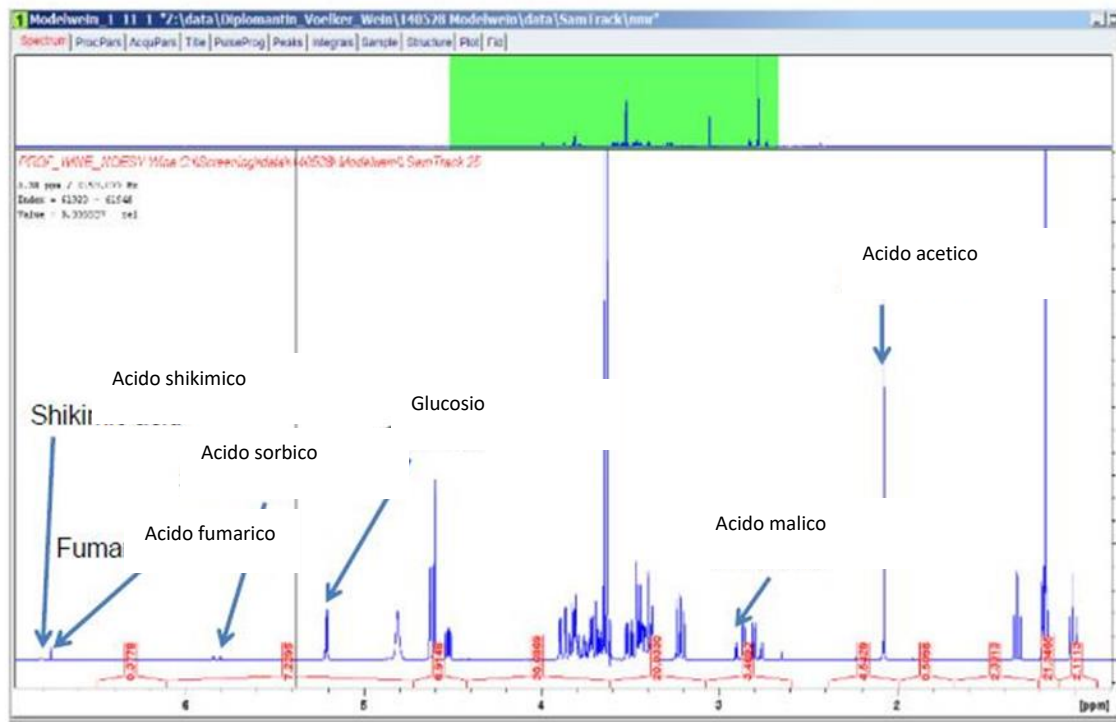
Segretario dell'Assemblea Generale

Pau ROCA



11.4 Esempio di spettro NMR

Figure 1. Spettro NMR di un vino modello con segnali scelti per la quantificazione





12. Bibliografia

1. Godelmann, R., Fang, F., Humpfer, E., Schütz, B., Bansbach, M., Schäfer, H., Spraul, M., "Targeted and Nontargeted Wine Analysis by ¹H NMR Spectroscopy Combined with Multivariate Statistical Analysis. Differentiation of Important Parameters: Grape Variety, Geographical Origin, Year of Vintage", *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61, pagg. 5610-5619.
2. Monakhova, Y. B., Schäfer, H., Humpfer, E., Spraul, M., Kuballa, T., Lachenmeier, D., "Application of automated eightfold suppression of water and ethanol signals in ¹H NMR to provide sensitivity for analyzing alcoholic beverages", *Magn. Reson. Chem.*, 2011, 49, pagg. 734-739.
3. Wider, G., Dreier, L., "Measuring Protein Concentrations by NMR Spectroscopy", *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, pagg. 2571-2576.
4. Godelmann, R., Kost, C., Patz, C., Ristow, R., Wachter, H., "Quantitation of compounds in wine using ¹H NMR spectroscopy – Description of the method and collaborative study", *Journal of AOAC International*, 2016, Vol. 99, n. 5, pagg. 1295-1304.
5. Horwitz, W., "Protocol for the design, conduct and interpretation of method- performance studies", *Pure and Applied Chemistry*, 1995, 67, pagg. 331-343.
6. Horwitz, W., *Anal. Chem.*, 1982, 54, pagg. 67A-76A.
7. Peeler, J. T., Horwitz, W., Albert, R., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1989, 72, pagg. 784-806.
8. Herbert-Pucheta, J. E., Mejía-Fonseca, I., Zepeda-Vallejo, L. G., Milmo-Brittingham, D., Maya, G. P. "The "Wine-T1" NMR experiment of novel wine-metabolome fingerprinting with nuclear-spin relaxation", DOI: 10.1051/bioconf/20191202029.
9. Herbert-Pucheta, J. E., Pino-Villar, C., Rodríguez, González, F., Padilla-Mata, G., Milmo-Brittingham, D., Zepeda-Vallejo, L. G. "One-shot" analysis of wine parameters in non-Saccharomyces large-scale alcohol reduction processes with one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance", DOI: 10.1051/bioconf/20191502016.
10. Risoluzione OENO 7-2000 (E-AS1-10-LIMDET), "Estimation of the detection and quantification limits of a method of analysis".
11. ISO 3696.