



Istituto per lo Sviluppo Viticolo Enologico
ed Agroindustriale - Dr. C. Iozzi

Oggetto : Validazione metodi Winelab CDR

Acidità Volatile

Per tale parametro sono stati determinati la linearità, il recupero, la ripetibilità e la corrispondenza statistica al metodo ufficiale.

La linearità è stata verificata su standard in matrice (vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) dal valore minimo di 0,2 fino ad un valore massimo di 1,2 g/l : entro questo campo il metodo risulta ben lineare.

Il recupero (eseguito su standard in matrice: vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) è stato calcolato su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni e risulta sempre statisticamente equivalente al 100%.

Le prove di ripetibilità sono state condotte su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni. Sono presenti 2 valori che non superano il test di Dixon per i dati aberranti ma sono stati comunque considerati validi, poiché superano il test di Student e il test della deviazione standard. Il valore del limite di ripetibilità (scarto max tra due prove ripetute con probabilità del 95%) è più alto di quello previsto per il metodo ufficiale (0.08 contro 0.04), ma risulta comunque più che accettabile per lo scopo cui è destinato.

Il confronto dei risultati ottenuti con il metodo di riferimento (OIV MA-F-AS313-02-ACIVOL) è stato eseguito su 46 campioni di varia natura (rossi, bianchi, rosati, passiti). I campioni sono stati scelti in modo da avere un ampio campo di valori (da 0.10 a 1.12 g/L). I due metodi risultano statisticamente equivalenti al 95% di probabilità. Sono stati trovati 6 valori discordanti più di 0.1 g/L.

Acido L-Malico

Per tale parametro sono stati determinati la linearità, il recupero, la ripetibilità e la corrispondenza statistica al metodo HPLC.

La linearità è stata verificata su standard in matrice (vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) dal valore minimo di 0,17 fino ad un valore massimo di 1,7 g/l (valori calcolati in L-malico): entro questo campo il metodo risulta ben lineare. Per i vini bianchi una prova di aggiunta (prova indicativa non riportata) suggerisce una linearità ottima fino a 2.5 g/L.

Il recupero (eseguito su standard in matrice: vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) è stato calcolato su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni: si nota una diminuzione del recupero con l'aumentare della concentrazione, comunque fino ad un valore di 3 g/L il recupero risulta superiore all'85%. Prove indicative, non riportate, evidenziano che per i vini bianchi il recupero è più alto.

Le prove di ripetibilità sono state condotte su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni. Anche in questo caso sono presenti 2 valori che non superano il test di Dixon ma sono stati comunque considerati validi, poiché superano il test di Student e il test della deviazione standard. Il valore del limite di ripetibilità (scarto max tra due prove ripetute con probabilità del 95%) è 0.10 g/L : più che sufficiente per lo scopo cui è destinato.

Il confronto dei risultati ottenuti con il metodo di riferimento (HPLC interno ISVEA) è stato eseguito su 58 campioni di varia natura (rossi, bianchi, rosati, passiti). I campioni sono stati scelti in modo da avere un ampio campo di valori (da 0 a 1.85 g/L). I due metodi risultano statisticamente equivalenti al 95% di probabilità. Sono stati trovati solamente 2 valori discordanti più di 0.3 g/L.

Glucosio

Per tale parametro sono stati determinati la linearità, il recupero, la ripetibilità e la corrispondenza statistica al metodo HPLC.

La linearità è stata verificata su standard in matrice (vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) dal valore minimo di 1 fino ad un valore massimo di 3 g/l : entro questo campo il metodo risulta assolutamente lineare.

Il recupero (eseguito su standard in matrice: vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) è stato calcolato su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni: fino a 3 g/L il recupero è statisticamente del 100%.

Le prove di ripetibilità sono state condotte su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni. E' presente 1 valore che non supera il test di Dixon e il test di Student al 95%: tuttavia, considerando che è vicino al limite di accettabilità e considerando il numero non altissimo di prove e che supera il test della deviazione standard il dato viene considerato accettabile. Il valore del limite di ripetibilità (scarto max tra due prove ripetute con probabilità del 95%) è 0.10 g/L : più che sufficiente per i vini a fine fermentazione. Per i mosti e per i vini passiti per i quali sia necessario diluire in modo importante (più di 20 volte) è consigliabile eseguire l'analisi almeno in duplicato e porre assoluta attenzione sulla manualità dell'operazione di analisi.

Il confronto dei risultati ottenuti con il metodo di riferimento (HPLC interno ISVEA) è stato eseguito su 46 campioni scelti considerando che il metodo è valido fino a 3 g/L di glucosio: sono stati selezionati vini rossi e bianchi in base al contenuto in zuccheri riduttori da 1 a 6 g/L. Purtroppo la quasi totalità di essi risulta priva di glucosio, come risulta sia dal metodo Winelab sia dal metodo di riferimento, pertanto per avere un numero significativo di dati confrontabili sono stati anche diluiti dei vini passiti con concentrazioni zuccherine elevate. I due metodi risultano statisticamente equivalenti al 95% di probabilità.

Fruttosio

Per tale parametro sono stati determinati la linearità, il recupero, la ripetibilità e la corrispondenza statistica al metodo HPLC.

La linearità è stata verificata su standard in matrice (vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) dal valore minimo di 1 fino ad un valore massimo di 3 g/l : fino a 2.5 g/l il metodo risulta lineare anche se al limite, ma già a 3 g/l la perdita di linearità è troppo elevata. (Nota: lo standard più alto conteneva anche 2.5 g/l di glucosio ed il colore del vino matrice era molto intenso: questo ha probabilmente diminuito il range di linearità del fruttosio pertanto è da considerare questo campo di linearità come un valore limite ottenuto nelle condizioni peggiori).

Il recupero (eseguito su standard in matrice: vino rosso ad alto contenuto in polifenoli) è stato calcolato su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni: fino a 2 g/L il recupero è statisticamente del 100% ma a 3 g/L si ha una forte diminuzione anche se il valore rimane accettabile (superiore all'85%). Anche in questo caso valgono le considerazioni fatte in precedenza per il campo di linearità.

Le prove di ripetibilità sono state condotte su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni. Tutti i valori superano il test di Dixon, è presente 1 valore che non supera il test di Student al 95% ma supera lo stesso test

a probabilità 99% quindi tutti i dati sono da considerare accettabili. Il valore del limite di ripetibilità (scarto max tra due prove ripetute con probabilità del 95%) è 0.08 g/L : più che sufficiente per i vini a fine fermentazione. Per i mosti e per i vini passiti vale quanto detto per il glucosio.

Il confronto dei risultati ottenuti con il metodo di riferimento (HPLC interno ISVEA) è stato eseguito su 49 campioni scelti considerando che il metodo è valido fino a 3 g/L: sono stati selezionati vini rossi e bianchi in base al contenuto in zuccheri riduttori da 1 a 6 g/L in più sono stati anche diluiti dei vini passiti con concentrazioni zuccherine elevate. I due metodi risultano statisticamente equivalenti al 95% di probabilità.

Anidride Solforosa Totale

Per tale parametro sono stati determinati la ripetibilità e la corrispondenza statistica al metodo di riferimento per distillazione (OIV MA-F-AS323-04-DIOSOU par 2.2).

In mancanza di uno standard stabile per definire il contenuto di anidride solforosa la validazione di questo metodo è basata sul confronto con il metodo di riferimento e prove di ripetibilità a vari livelli di concentrazione.

Per il confronto sono state analizzati 65 campioni (36 bianchi e 29 rossi): il valore del segnale ottenuto dal Winelab è stato messo in correlazione con i valori di anidride solforosa totale ottenuti dal metodo di riferimento. Si è subito notato che i vini bianchi e i rossi formano due popolazioni statistiche distinte, pertanto si è proseguito nell'analisi di correlazione distinguendo tra le due tipologie di vino. Sono quindi stati scelti alcuni campioni (3 rossi e 6 bianchi separatamente) rappresentativi della popolazione, su di essi sono state ripetute le analisi (sia con il metodo di riferimento che con il Winelab) e i valori medi ottenuti sono stati utilizzati per il calcolo delle rette di taratura (per i bianchi e i rossi) con le quali sono poi state calcolate le concentrazioni utilizzate per il confronto con il metodo di riferimento.

Per i vini bianchi emerge una equivalenza statistica dei due metodi (al 95% di probabilità) in tutto il campo di misura considerato. Tuttavia ci sono 9 campioni su 36 che differiscono di più di 10 mg/L dai valori di riferimento (outlier).

Anche per i vini rossi i metodi sono statisticamente equivalenti (al 95% di probabilità), però in questo caso i campioni che differiscono più di 10 mg/L dal riferimento sono 9 su 29 e sono maggiormente presenti per alti valori di concentrazione, cosa che potrebbe indicare una mancanza di linearità per valori sopra a 100 mg/L.

La precisione del metodo è stata verificata su 3 livelli di concentrazione con 10 ripetizioni, per il livello di concentrazione medio è stato preso un vino rosso, mentre per i valori basso e alto sono stati scelti 2 vini bianchi. C'è un solo valore che non supera il test di Dixon al 95% (ma lo supera al 99%), mentre tutti valori superano il test di Student, pertanto tutti i dati vengono considerati significativi. Si nota una differenza sostanziale nella ripetibilità dipendente dal tipo di vino: per i bianchi il valore è più che accettabile (limite di ripetibilità al 95% =5 mg/L) per entrambi i livelli di concentrazione, mentre per il rosso il valore è circa il doppio. Questo significa che per i vini rossi l'analisi non è molto precisa e suggerisce che per avere un valore affidabile la prova deve essere eseguita almeno in doppio.

La scarsa precisione per i vini rossi giustifica in parte il maggior numero di outlier ottenuti nel confronto con il metodo di riferimento.

CONSIDERAZIONI FINALI

I metodi testati sono da considerare essenzialmente validi, anche se, in condizioni operative standard, possono avere qualche problema di precisione (in particolare per la anidride solforosa totale e gli zuccheri su campioni diluiti) che però può essere superato con la ripetizione dell'analisi.

Il punto debole di tutto il sistema è sicuramente da identificarsi nella precisione dell'operatore durante l'operazione di aggiunta del campione ai reattivi (manualità con le pipette). Tra quelle testate solo l'analisi dell'anidride solforosa totale sui vini rossi mostra dei problemi di ripetibilità legata al metodo e non all'operatore.

La dotazione standard di materiale può considerarsi completa, unico neo: il piatto forato porta campioni prevede solo 10 posti per le cuvette e 1 per i reattivi, mentre per alcuni metodi sarebbero necessari 12 posizioni per le cuvette e 2 per i reattivi.

Le cuvette di lettura sono quasi sempre rigate, anche se questo non sembra aver influenzato in modo significativo la ripetibilità dell'analisi.

Tra tutte le confezioni testate solo 1 cuvetta è risultata contenere reagenti difettosi (tra l'altro ben riconoscibile per il colore ben diverso dalle altre).

In Fede,

Il Responsabile del Laboratorio

Dr. Alessandro Cavaglioni

Ordine dei Chimici della Toscana n° 1494