

Anexos

Anexo I

Diálisis

Definición

Este término presenta diversas definiciones en función del ámbito en el que se éste utilizando. Principalmente podemos distinguir entre la diálisis del campo medicinal, que consiste en un tratamiento médico que se basa en la eliminación artificial de las sustancias nocivas o tóxicas de la sangre, especialmente de las que quedan retenidas a causa de una insuficiencia renal; y la diálisis del ámbito químico, que se trata de la separación de las sustancias que forman parte de una misma solución mediante una membrana semipermeable.

Concepto

En este apartado se tratará exclusivamente la diálisis desde el enfoque químico, ya que el funcionamiento de ambos procesos no es exactamente el mismo, aunque el fundamento sí que es el mismo.

Se trata, una vez más, de una tecnología de membranas, que rige su funcionamiento a partir del principio de la difusión selectiva. Es por eso por lo que el transporte de solvente y soluto se desarrolla tal y como se explica en el apartado 2.2, donde la difusión se produce a partir de una diferencia de presión osmótica.

Un estudio reciente relacionado con la desalcoholización de la cerveza a partir de una unidad piloto con una capacidad de 1500L/h (Moonen & Niefind, 1982) explica la difusión de las moléculas de etanol desde la cerveza hacia el agua, como un resultado del gradiente de concentraciones. Hasta aquí, podría considerarse idéntico a la FO, pero vamos a ver ciertas propiedades diferentes.

En el caso de la diálisis, se trabaja con una presión superior a la de saturación del CO₂ y se enriquece el agua con CO₂, para evitar que se libere. En el caso mencionado anteriormente, se trabajó con una membrana de fibra hueca de Cuprophane¹³ de celulosa de algodón con 90m² de área, a una temperatura de 5°C y el contenido de alcohol fue reducido del 6.29% al 3% v/v.

¹³ *Cuprophane* es una membrana sintética de celulosa, utilizada, generalmente para la hemodiálisis.

Años más tarde, Leskošek y Mitrović estudiaron la posibilidad de optimizar la desalcoholización de cerveza utilizando las membranas de Cuprophane [110]. Llegaron a la conclusión de que la modificación de la velocidad media de la corriente de cerveza supondría una mejora en los resultados. Posteriormente, en un estudio realizado al año siguiente [111] afirmaban que el grosor de la membrana y el gradiente de presiones entre ambos lados de la membrana serían factores significativos en este proceso. Con una membrana de Cuprophane de $8\mu m$ de grosor obtuvieron mejores resultados en cuanto al coeficiente de ultrafiltración, permeabilidad y selección de etanol que con una membrana de $11\mu m$.

Utilizando un gradiente de presión mayor a $40kPa$, se redujo la cantidad de compuestos volátiles esenciales.

En la siguiente imagen podemos apreciar un proceso de desalcoholización de cerveza mediante diálisis que consta de tres partes: a) RO y nanofiltración; b) Diálisis y OD mediante membrana; c) PV

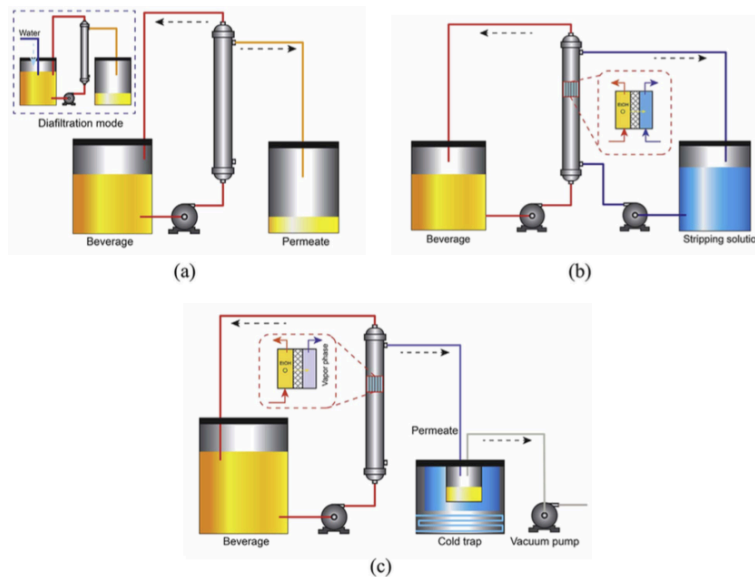


Figura 28: Esquema de un proceso de desalcoholización de cerveza mediante diálisis (Mangindaan *et al.*, 2018)

De todos modos, cabe destacar que no se trata de uno de los métodos más empleados en la desalcoholización de vino.

Anexo II

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV Alcoholic strength by volume – Type I methods

Method OIV-MA-AS312-01A

Type I methods

Alcoholic strength by volume

(Resolution Oeno 566/2016)

1. DEFINITION

The alcoholic strength by volume is the number of liters of ethanol contained in 100 liters of wine, both volumes being measured at a temperature of 20°C. It is expressed by the symbol % vol.

Note: Homologues of ethanol, together with the ethanol and esters of ethanol homologues are included in the alcoholic strength since they occur in the distillate.

2. PRINCIPLE OF METHODS

2.1. *Distillation of wine* made alkaline by a suspension of calcium hydroxide.
Measurement of the alcoholic strength of the distillate:

2.2. *Type I methods:*

- A. Measurement of the alcoholic strength of the distillate with a pycnometer
- B. Measurement of the alcoholic strength of wine by electronic densimetry using frequency oscillator.
- C. Measurement of the alcoholic strength of wine by densimetry using hydrostatic balance.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

3. Method of obtaining distillate

3.1. Apparatus

3.1.1 Distillation apparatus, consisting of:

- a round-bottomed 1-liter flask with ground-glass joints.
- a rectifying column about 20 cm in height or any similar condenser.
- a source of heat; any pyrolysis of extracted matter must be prevented by a suitable arrangement.
- a condenser terminated by a drawn-out tube taking the distillate to the bottom of a graduated receiving flask containing several mL of water.

3.1.2 Steam distillation apparatus consisting of:

- a steam generator
- a steam pipe
- a rectifying column
- a condenser.

Any type of distillation or steam distillation apparatus may be used provided that it satisfies the following test:

Distil an ethanol-water mixture with an alcoholic strength of 10% vol. five times in succession. The distillate should have an alcoholic strength of at least 9.9% vol. after the fifth distillation; i.e. the loss of alcohol during each distillation should not be more than 0.02% vol.

3.2 Reagent

Suspension of calcium hydroxide, 2 M

Obtain by carefully pouring 1 liter of water at 60 to 70°C on to 120 g of quicklime, CaO.

3.3. Preparation of sample

Remove the bulk of any carbon dioxide from young and sparkling wines by stirring 250 to 300 mL of the wine in a 1000 mL flask.

3.4. Procedure

3.4.1 Procedure for beverages with an ABV greater than 1.5% vol

Measure out 200 mL of the wine using a volumetric flask. Record the temperature of the wine.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

Transfer the wine to the distillation flask and introduce the steam-pipe of the steam distillation apparatus. Rinse the volumetric flask four times with successive 5 mL washings of water added to the flask or the steam-pipe. Add 10 mL of calcium hydroxide, 2 mol/L, and several pieces of inert porous material (pumice etc).

Collect the distillate in the 200 mL graduated flask used to measure the wine. Collect a volume of about three-quarters of the initial volume if distillation is used and a volume of 198 to 199 mL of distillate if steam distillation is used. Make up to 200 mL with distilled water, keeping the distillate at a temperature within 2°C of the initial temperature. Mix carefully, using a circular motion.

Note: In the case of wines containing particularly large concentrations of ammonium ions, the distillate may be redistilled under the conditions described above, but replacing the suspension of calcium hydroxide with 1 mL sulfuric acid diluted 10 /100.

3.4.1 Procedure for beverages with an ABV lower than or equal to 1.5% vol

Take a 200 mL sample of beverage using a calibrated flask. Note the temperature of the beverage. Pour it into the flask of the distillation apparatus or into the bubbler of the steam distillation apparatus. Rinse the calibrated flask four times with 5 mL of water and add this to the apparatus' flask or bubbler.

Add a 10 mL suspension of 2 M calcium hydroxide and, in the case of distillation, if necessary, a boiling regulator (pumice stone, etc.). Collect, in a 100 mL calibrated flask, a volume of distillate equal to around 75 mL in the case of distillation or 98-99 mL in the case of steam distillation. Make up to 100 mL with distilled water while the distillate is within ± 2 °C of the initial temperature. Carefully mix using a circular motion.

Mix carefully, using a circular motion.

Precautionary safety measures

Respect the safety guidelines for the usage of distillation apparatuses, the manipulation of hydro-alcoholic and cleaning solutions.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

**4.A. Measurement of the alcoholic strength of the distillate
using a pycnometer**

(Method A2/1978 – Resolution 377/2009)

1. *Apparatus*

Use the standardized pycnometer as described in the chapter *Density and specific gravity* (Annex, chapter 1).

2. *Procedure*

Measure the apparent density of the distillate (3.4) at t °C as described in the chapter *Density and specific gravity* (Annex, chapter 1, sections 4.3.1 and 4.3.2). Let this density be ρ_t .

3. *Expression of results*

3.1 Method of calculation

Find the alcoholic strength at 20 °C using Table I. In the horizontal line of this table corresponding to the temperature T (expressed as a whole number) immediately below t °C, find the smallest density greater than ρ_t . Use the tabular difference just below this density to calculate the density ρ at this temperature T .

On the line of the temperature T , find the density ρ' immediately above ρ and calculate the difference between the densities ρ and ρ' . Divide this difference by the tabular difference just to the right of the density ρ' . The quotient gives the decimal part of the alcoholic strength, while the whole number part of this strength is shown at the head of the column in which the density ρ' is located.

An example of the calculation of an alcoholic strength is given in Annex I of this chapter.

Note: This temperature correction has been incorporated in a computer program and might possibly be carried out automatically.

3.2 Beverages with an ABV lower than or equal to 1.5% vol

The alcoholic strength by volume of a beverage with low alcohol content, with an ABV of less than 1.5% vol., is given by the following formula: $ABV = ABVD/2$, ABVD being the alcoholic strength by volume of the distillate.

It is expressed in "% vol.". The result is given to two decimal places.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

4.3.2 *Repeatability r:*
 $r = 0.10 \text{ \% vol.}$

4.3.3 *Reproducibility R:*
 $R = 0.19 \text{ \% vol.}$

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

ANNEX I

Example of the calculation of the alcoholic strength of a wine

I. Measurement by pycnometer on a twin-pan balance

The constants of the pycnometer have been determined and calculated as described in chapter I. *Density and specific gravity*, section 6.1.1.

Calculations	Example
1. <i>Weighing of pycnometer filled with distillate:</i>	
Tare = pycnometer + distillate at $t\text{ }^{\circ}\text{C} + p''$	$\left\{ \begin{array}{l} t\text{ }^{\circ}\text{C} = 18.90^{\circ}\text{C} \\ t\text{ }^{\circ}\text{C corrected} = 18.70^{\circ}\text{C} \\ p'' = 2.8074\text{ g} \end{array} \right.$
$p + m - p'' = \text{mass of distillate at } t\text{ }^{\circ}\text{C}$	$\{105.0698 - 2.8074 = 102.2624\text{ g}$
Apparent density at $t\text{ }^{\circ}\text{C}$:	
$\rho_t = \frac{p + m - p''}{\text{volume of pycnometer at } 20^{\circ}\text{C}}$	$\left\{ \rho_{18.7^{\circ}} = \frac{102.2624}{104.0229} = 0.983076 \right.$
2. <i>Calculation of alcoholic strength:</i>	
Refer to the table of apparent densities of water-alcohol mixtures at different temperatures, as indicated above	$\left\{ \begin{array}{l} \text{On the line } 18\text{ }^{\circ}\text{C} \text{ of the table of} \\ \text{apparent densities, the smallest} \\ \text{density greater than the observed} \\ \text{density of } 0.983076 \text{ is } 0.98398 \text{ in} \\ \text{column } 11\% \text{ vol.} \\ \\ \text{The density at } 18\text{ }^{\circ}\text{C} \text{ is:} \\ 98307.6 + 0.7 \times 22) \cdot 10^{-5} = 0.98323 \\ 0.98398 - 0.98323 = 0.00075 \\ \\ \text{The decimal portion of the \% vol.} \\ \text{of alcoholic strength is} \\ 75/114 = 0.65 \\ \\ \text{The alcoholic strength is:} \\ 11.65\% \text{ vol.} \end{array} \right.$

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

II. Measurement by pycnometer on a single pan balance

The constants of the pycnometer have been determined and calculated as described in chapter 1. *Density and specific gravity*, section 6.2.1

Calculations

1. *Weighing of the pycnometer filled with distillate:*

Weight of tare bottle at the time of measurement in grams:	$T_1 = 171.9178$
Pycnometer filled with distillate at 20.50 °C in grams:	$P_2 = 167.8438$
Variation in the buoyancy of air:	$dT = 171.9178 - 171.9160$ $= + 0.0018$
Mass of the distillate at 20.50 °C:	$L_f = 167.8438 - (67.6695 + 0.0018)$ $= 100.1725$
Apparent density of the distillate:	$\rho_{20.50^\circ} = \frac{100.1725}{101.8194} = 0.983825$

2. *Calculation of alcoholic strength:*

Refer to the table of apparent densities of water-alcohol mixtures at different temperatures, as indicated above:

On the line 20°C of the table of apparent {densities, the smallest density greater than {observed density of 0.983825 is 0.98471 in {column 10% vol.

The density at 20°C is:
 $(98382.5 + 0.5 \times 24) 10^{-5} = 0.983945$
 $(0.98471 - 0.983945 = 0.000765$

The decimal portion of the % vol.
 $76.5/119 = 0.64$

The alcoholic strength is:
10.64% vol.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

ANNEX II

**Formula from which tables of alcoholic strengths
of ethanol-water mixtures are calculated**

The density " ρ " in kilograms per meter cubed (kg/m^3) of an ethanol-water mixture at temperature t in degrees Celsius is given by the formula below as a function of:

- the alcoholic strength by weight p expressed as a decimal; *
- the temperature t in °C (EIPT 68);
- the numerical coefficients below.

The formula is valid for temperatures between -20 °C and $+40$ °C.

$$\rho = A_1 + \sum_{k=2}^{12} A_k p^{k-1} + \sum_{k=1}^6 B_k (t - 20^\circ\text{C})^k$$

$$+ \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^m C_{i,k} p^{k(t - 20^\circ\text{C})^i}$$

$$n = 5$$

$$m_1 = 11$$

$$m_2 = 10$$

$$m_3 = 9$$

$$m_4 = 4$$

$$m_5 = 2$$

* For example, for an alcoholic strength of 12 % by weight, $q = 0.12$

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

Numerical coefficients in the formula

<i>k</i>	<i>Ak</i> kg/m ³	<i>Bk</i>
1	9.982 012 300 · 10 ²	– 2.061 851 3 · 10 ⁻¹ kg/(m ³ · °C)
2	– 1.929 769 495 · 10 ²	– 5.268 254 2 · 10 ⁻³ kg/(m ³ · °C ²)
3	3.891 238 958 · 10 ²	3.613 001 3 · 10 ⁻⁵ kg/(m ³ · °C ³)
4	– 1.668 103 923 · 10 ³	– 3.895 770 2 · 10 ⁻⁷ kg/(m ³ · °C ⁴)
5	1.352 215 441 · 10 ⁴	7.169 354 0 · 10 ⁻⁹ kg/(m ³ · °C ⁵)
6	– 8.829 278 388 · 10 ⁴	– 9.973 923 1 · 10 ⁻¹¹ kg/(m ³ · °C ⁶)
7	3.062 874 042 · 10 ⁵	
8	– 6.138 381 234 · 10 ⁵	
9	7.470 172 998 · 10 ⁵	
1	– 5.478 461 354 · 10 ⁵	
1	2.234 460 334 · 10 ⁵	
1	– 3.903 285 426 · 10 ⁴	

<i>k</i>	<i>Cl.k</i> kg/(m ³ · °C)	<i>C2.k</i> k g/(m ³ · °C ²)
1	1.693 443 461 530 087 · 10 ⁻¹	– 1. 193 013 005 057 010 ·
2	– 1.046 914 743 455 169 · 10 ¹	2.517 399 633 803 46 1 ·
3	7.196 353 469 546 523 · 10 ¹	– 2.170 575 700 536 993
4	– 7.047 478 054 272 792 · 10 ²	1.353 034 988 843 029 · 10 ¹
5	3.924 090 430 035 045 · 10 ³	– 5.029 988 758 547 014 · 10 ¹
6	– 1.210 164 659 068 747 · 10 ⁴	1.096 355 666 577 570 · 10 ²
7	2.248 646 550 400 788 · 10 ⁴	– 1.422 753 946 421 155 · 10 ²
8	– 2.605 562 982 188 164 · 10 ⁴	1.080 435 942 856 230 · 10 ²
9	1.852 373 922 069 467 · 10 ⁴	– 4.414 153 236 817 392 · 10 ¹
1	– 7.420 201 433 430 137 · 10 ³	7.442 971 530 188 783
1	1.285 617 841 998 974 · 10 ³	

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

<i>k</i>	C3. <i>k</i> kg/(m ³ · °C3)	C4. <i>k</i> kg/(m ³ · °C4)	C5. <i>k</i> kg/(m ³ · °C5)
1	– 6.802 995 733 503 803 · 10 ⁻⁴	4.075 376 675 622 027 · 10 ⁻	– 2.788 074 354 782 409 ·
2	1.876 837 790 289 664 · 10 ⁻²	– 8.763 058 573 471 110 · 10 ⁻	1.345 612 883493 354 ·
3	– 2.002 561 813734 156 · 10 ⁻¹	6.515 031 360 099 368 · 10 ⁻	
4	1.022 992 966 719 220	– 1.515 784 836 987 210 · 10 ⁻	
5	– 2.895 696 483 903 638		
6	4.810 060 584 300 675		
7	– 4.672 147 440 794 683		
8	2.458 043 105 903 461		
9	– 5.411 227 621 436 812 · 10 ⁻¹		



COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

**4. B. Measurement of the alcoholic strength of wine by
electronic densimetry using frequency oscillator**
(Resolution Oeno 8/2000 – 377/2009)

1. Measurement method

1.1. Strength and introduction

The alcoholic strength by volume of wine must be measured before being commercialised mainly in order to conform to labelling rules.

The alcoholic strength by volume is equal to the number of litres of ethanol contained in 100 litres of wine; these volumes are both measured at 20 °C. The symbol is “ % vol. ”.

1.2. Precautionary safety measures

Respect the safety guidelines for the usage of distillation apparatuses, the manipulation of hydro-alcoholic and cleaning solutions.

1.3. Object and field of application

The method of measurement described is electronic densimetry using a frequency oscillator.

In reference to the provision of the rules in the existing law, the trial temperature is stopped at 20 °C.

1.4. Principle and definitions

The principle of the method consists firstly of distilling the wine volume by volume. The distillation procedure is described in the Compendium. This distillation enables the elimination of non-volatile substances. The ethanol counter parts in addition to ethanol and the ethanol counter parts involved in esters are included in the alcoholic strength since they are present in the distillate

The distillate density of the distillate is measured. The density of a liquid at a given temperature is equal to the ratio of its density to its volume.

$\rho = m / V$, for a wine, it is expressed as g/ml

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

For hydro-alcoholic solutions such as distillates, given the known temperature, the graphs correspond to the alcoholic strength by volume (OIV, 1990). This alcoholic strength corresponds to that of wine (distillation of volume to volume).

In the present method the distillate density is measured by electronic densimetry using a frequency oscillator. The principle consists of measuring the period of oscillation of a tube containing the sample undergoing an electromagnetic stimulation. The density is thus calculated and is linked to the period of oscillation by the following formula:

$$p = T^2 \times \left(\frac{C}{4\pi^2 V} \right) - \left(\frac{M}{V} \right) \quad (1)$$

ρ = density of sample
T = period of induced vibration
M = mass of empty tube
C = spring constant
V = volume of vibrating sample

This relation is in the form of, $\rho = A T^2 - B$ (2), There is a linear relationship between density and the period squared. The A and B constants specific to each oscillator are estimated by measuring the period of fluids of the known density.

1.5. Reagents and products

1.5.1 Reference fluids

Two reference fluids are used to adjust the densimetry. The densities of reference fluids must encompass the densities of the distillates to be measured. A spread between the densities between reference fluids above 0.01000 g/ml is recommended. The density must be known with an uncertainty under ± 0.00005 g/ml, for a temperature of 20.00 ± 0.05 °C.

The measuring of alcoholic strength by volume of wine by electronic densimetry of reference fluids:

- dry air (unpolluted),
- double distilled water or of an equivalent analytical purity,
- hydro alcoholic solution of density determined by pycnometry (reference method),
- solutions connected to national standards of viscosity under 2 mm²/s.

1.5.2 Cleaning and drying products

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

- detergents, acids,
- organic solvents: ethanol 96% Vol., pure acetone.

1.6. Apparatus*1.6.1 Electronic densimetry by frequency oscillator*

Electronic densimetry contains the following elements:

- a measuring cell containing a measurement tube and a temperature controlled enclosure,
- a system for setting up an oscillation tube and measurement of the period of oscillation,
- a timer,
- a digital display and possibly a calculator.

The densimetry on a perfectly stable support isolated from all vibrations.

1.6.2 Temperature control of measuring cell

The measurement tube is located in the temperature-controlled enclosure. Temperature stability must be better than ± 0.02 °C.

It is necessary to control the temperature of the measuring cell when the densimetry makes this possible, because this strongly influences the indication results. Density of this hydro alcoholic solution with an alcoholic strength by volume of 10% Vol., and is at 0.98471 g/ml at 20°C and at 0.98447 g/ml at 21°C or a spread of 0.00024 g/ml.

The trial temperature is stopped at 20°C. The temperature is taken at the cell level and done with a resolution thermometer 0.01°C and connected to national standards. This must enable a temperature measurement with an uncertainty of under ± 0.07 °C.

1.6.3 Calibration of the apparatus

The apparatus must be calibrated before using for the first time, then every six months or if the verification is not satisfactory. The objective is to use two reference fluids to calculate the constants A and B (cf. (2)). To carry out the calibration refer to the user's manual of the apparatus. In principle, this calibration is carried out with dry air (take into account the atmospheric pressure) and very pure water (double distilled and/or very high micro filtered resistance, for example > 18 M Ω).

1.6.4 Calibration verification

In order to verify the calibration we measure the density of the reference fluids.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

- Every day, a density check of the air is carried out. A difference between the theoretical density and the observed density of more than 0.00008 g/ml may indicate that the tube is clogged. In that case, it must be cleaned. After cleaning, verify the air density again. If the verification is not conclusive adjust the apparatus.
- Check the density of water, if the difference between the theoretical density and the density observed is greater than 0.00008 g/ml, adjust the apparatus.
- If the verification of cell temperature is difficult, it is possible to directly check hydro alcoholic density of the alcoholic strength by volume compared to the distillates analysed.

1.6.5 Check

When the difference between the theoretical density of the reference solution (known with an uncertainty of +/- 0.00005 g/ml) and the measurement is above 0.00008 g/ml the temperature of the cell must be taken.

1.7. Sampling and preparation of samples

(Cf. Compendium of International methods of wine and musts 1990, page 59, Obtaining distillate)

1.8. Operating procedure

After obtaining a distillate, (OIV, 1990) we measure the density or the alcoholic strength by volume by densimetry.

The operator must ensure the stability and the temperature of the measuring cell. The distillate in the densimetry cell must not contain air bubble and must be homogeneous. If there is an available lighting system, turn off quickly after checking because the heat generated by the lamp can influence the measuring temperature.

If the apparatus only provides the period, density can be calculated by the A and B constants (cf. A.4 c). If the apparatus does not provide the alcoholic strength by volume directly, we can obtain the alcoholic strength by volume using the (OIV, 1990) tables if we know the density.

1.9. Expression of results

The alcoholic strength by volume is obtained from the distillate. This is expressed as “ % vol. ”.

If the temperature conditions are not respected, a correction must be made to express the temperature at 20°C. The result is quoted to two decimal places

1.9.1 Beverages with an ABV lower than or equal to 1.5% vol

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

The alcoholic strength by volume of a beverage with low alcohol content, with an ABV of less than 1.5% vol., is given by the following formula: $ABV = ABVD/2$, ABVD being the alcoholic strength by volume of the distillate.

It is expressed in "% vol.". The result is given to two decimal places.

1.10. Comments

The volume introduced into the cell must be sufficient enough to avoid possible contamination caused from the previous sample. It is thus necessary to carry out two testing. If this does not provide results included in the repeatability limits, a third testing may be necessary. In general, results from the last two testing are homogeneous and we then eliminate the first factor.

1.11 Reliability

For alcoholic strength by volume samples between 4 to 18% Vol.

Repeatability (r) = 0.067 (% vol.),

Reproducibility (R) = $0.0454 + 0.0105 \times$ alcoholic strength by volume.

2. Interlaboratory Tests. Reliability and accuracy on additions

2.1. Samples

The samples used for this joint study are described in Table 1.

Table 1: Samples for joint study

Nu m	Nature	Approx alcoholic strength by volume (% vol.)
C0	Cider (filtered through membrane to remove CO ₂)	5
V0	Filtered wine	10
V1	Filtered wine then doped	11
V2	Filtered wine then doped	12
V3	Filtered wine then doped	13
P0	Liqueur wine	16

All samples are homogenised before filling the bottles to be sent to the participants. For wine, 40 litres of wine are homogenised before sending and carrying out the additions

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

For the additions, pour absolute ethanol into a 5 litre volumetric flask and then fill up to the line with filtered wine. This operation is repeated two times. The volumes of ethanol are respectively 50, 100 and 150 ml for the V1, V2 and V3 samples.

2.2. *Participating laboratories*

The participating laboratories in the joint study are outlined in Table 2.

Laboratory	Zip Code	City	Contact
ALKO Group LTD	FIN-00101	Helsinki	Monsieur Lehtonen
Bénédictine	76400	Fécamp	Madame Pillon
Casani	18881	Gemenos	Madame Cozon
CIVC	51200	Epernay	Monsieur Tusseau
Cointreau	49181	St Barthélémy d'Anjou	Madame Guerin
Courvoisier	16200	Jarnac	Monsieur Lavergne
Hennessy	16100	Cognac	Monsieur Calvo
IDAC	44120	Vertou	Madame Mars
Laboratoire Gendrot	33000	Bordeaux	Madame Gubbiotti
Martell	16100	Cognac	Monsieur Barboteau
Ricard	94320	Thiais	Monsieur Boulanger
SOEC Martin Vialatte	51319	Epernay	Madame Bertemes

In order not to introduce a methodological angle, the *Station Viticole du Bureau National Interprofessionnel du Cognac*, the joint study organiser, will not be taken into account.

2.3. *Analyses*

The C0 and P0 products are distilled two times, the V0, V1, V2 and V3 products three times. Three alcoholic strength by volume tests were done for each distillate. The results were carried over to the results table.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

2.4. Results

The second testing (out of the three carried out) is kept of the accuracy study (Table 3).

Table 3: Results (second testing per distillate) (% vol.)

Laboratory	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	6,020	9,500	10,390	11,290	12,100	17,080
	5,970	9,470	10,380	11,260	12,150	17,080
2	6,040	9,500	10,990	11,270	12,210	17,050
	6,040	9,500	10,390	11,280	12,210	17,050
3	5,960	9,460	10,350	11,280	12,170	17,190
	5,910	9,460	10,360	11,280	12,150	17,200
		9,450	10,340	11,260	12,170	
4	6,020	9,470	10,310	11,250	12,160	16,940
	6,020	9,450	10,350	11,250	12,120	17,070
		9,450	10,330	11,210	12,130	
5	5,950	9,350	10,250	11,300	12,050	17,000
	5,950	9,430	10,250	11,300	12,050	17,000
		9,430	10,250	11,300	12,050	
6	6,016	9,513	10,370	11,275	12,222	17,120
	6,031	9,513	10,336	11,266	12,222	17,194
		9,505	10,386	11,275	12,220	
7	5,730	9,350	10,230	11,440	12,080	17,010
	5,730	9,430	10,220	11,090	12,030	16,920
		9,460	10,220	11,080	11,930	
8	5,990	9,400	10,340	11,160	12,110	17,080
	6,000	9,440	10,320	11,150	12,090	17,110
		9,440	10,360	11,210	12,090	
9	6,031	9,508	10,428	11,289	12,180	17,089
	6,019	9,478	10,406	11,293	12,215	17,084
		9,509	10,411	11,297	12,215	
10	6,030	9,500	10,380	11,250	12,150	17,130
	6,020	9,510	10,380	11,250	12,150	17,100
		9,510	10,380	11,250	12,160	
11	6,020	9,480	10,400	11,260	12,150	17,040
	6,000	9,470	10,390	11,260	12,140	17,000
		9,490	10,370	11,240	12,160	

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

2.5. Repeatability and reproducibility calculations

Repeatability and reproducibility calculations are carried out in compliance with the standard NF X 06-041, September 1983, ISO 5725. Table 4 presents the standard deviation per cell (laboratory x sample).

Table 4: Dispersion table (standard deviation in % vol.)

Laboratory	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	0,0354	0,0252	0,0265	0,0173	0,0289	0,0000
2	0,0000	0,0058	0,3436	0,0100	0,0058	0,0000
3	0,0354	0,0058	0,0100	0,0115	0,0115	0,0071
4	0,0000	0,0115	0,0200	0,0231	0,0208	0,0919
5	0,0000	0,0462	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
6	0,0106	0,0046	0,0255	0,0052	0,0012	0,0523
7	0,0000	0,0569	0,0058	0,2050	0,0764	0,0636
8	0,0071	0,0231	0,0200	0,0321	0,0115	0,0212
9	0,0085	0,0176	0,0115	0,0040	0,0202	0,0035
10	0,0071	0,0058	0,0000	0,0000	0,0058	0,0212
11	0,0141	0,0100	0,0153	0,0115	0,0100	0,0283

Three cells presented strong dispersions (probability with Cochran test under 1%).
 These cells are represented in grey (Table 4).

For laboratory 7 and the V3 product, the standard deviation of 0.0764 is maintained despite the Cochran test because it is on the same high level as that observed at the same laboratory on the V0 product.

An examination of figures for each distillate leads us to eliminate (Table 3):

- laboratory 2, product V1, value 10.990,
- laboratory 7, product V2, value 11.440.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

After eliminating these two values, the cell averages are calculated (laboratory x sample) (Table 5).

Table 5: Table of averages (averages in % vol.)

Laboratory	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	5,9950	9,4733	10,3700	11,2700	12,1333	17,0800
2	6,0400	9,5033	10,3950	11,2800	12,2067	17,0500
3	5,9350	9,4567	10,3500	11,2733	12,1633	17,1950
4	6,0200	9,4567	10,3300	11,2367	12,1367	17,0050
5	5,9500	9,4033	10,2500	11,3000	12,0500	17,0000
6	6,0235	9,5103	10,3640	11,2720	12,2213	17,1570
7	5,7300	9,4133	10,2233	11,0850	12,0133	16,9650
8	5,9950	9,4267	10,3400	11,1733	12,0967	17,0950
9	6,0250	9,4983	10,4150	11,2930	12,2033	17,0865
10	6,0250	9,5067	10,3800	11,2500	12,1533	17,1150
11	6,0100	9,4800	10,3867	11,2533	12,1500	17,0200

The figures given by laboratory 7 are generally low (Table 5). In the case of cider the average for this laboratory is very far from the figures of the other laboratories (associated probability to the Dixon test under 1 %). The results of this laboratory for this product are eliminated.

Table 6 presents the calculated repeatability and reproducibility.

Table 6: Calculation of repeatability and reproducibility

Sample	P	n	TAV	S2r	S2L	r	R
C0	10	20	6,002	0,000298	0,001033	0,049	0,103
V0	11	33	9,466	0,000654	0,001255	0,072	0,124
V1	11	32	10,344	0,000255	0,003485	0,045	0,173
V2	11	32	11,249	0,000219	0,003113	0,042	0,163
V3	11	33	12,139	0,000722	0,003955	0,076	0,194
P0	11	22	17,070	0,001545	0,004154	0,111	0,214

Key:

- p* : number of laboratories retained
n : number of values retained
TAV : average alcoholic strength by volume (% vol.)
S2r : repeatability variation (% vol.)²
S2L : interlaboratory variation (% vol.)²

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

r : repeatability (% vol.)
R : reproducibility (% vol.)

Reproducibility increases with the samples' alcoholic strength by volume (Figure 1). The increase in repeatability according to alcoholic strength by volume is less noticeable and global repeatability is calculated according to the average repeatability variation. As such, for the alcoholic strength by volume samples between 4 and 18% vol.,

Repeatability (*r*) = 0.067 (% vol.),

Reproducibility (*R*) = 0.0454 + 0.0105 x alcoholic strength by volume.

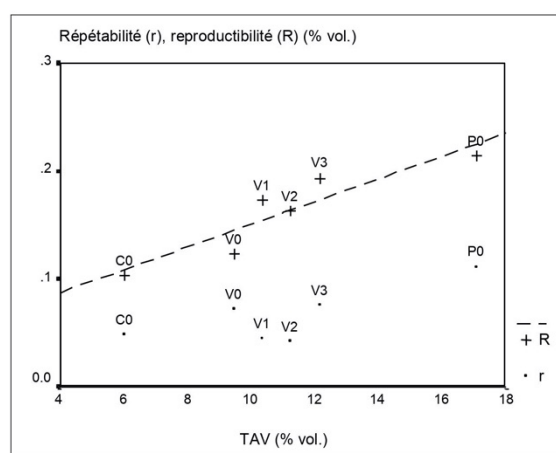


Figure 1: Repeatability and reproducibility according to alcoholic strength by volume

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

2.6. Accuracy on additions carried out on wine

The regression line of alcoholic strength after the addition according to the volume of ethanol supplied, for a volume of 0 ml, an estimation of the initial alcoholic strength of product (Figure 2). This regression is carried out with average values for each laboratory (Table 5).

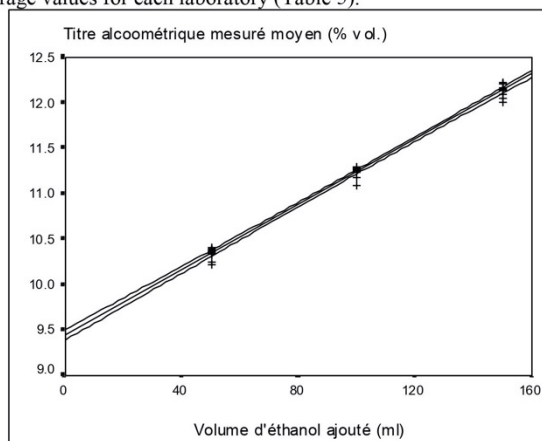


Figure 2: Regression of measures alcoholic strength by volume of added ethanol

Measurements carried out on initial products are not included in this estimation. This estimation is made up of the average of measurements taken on this product before additions; the intervals of relative confidence on these two estimations are calculated (Table 7).

Table 7: Additions on products

BI	Average measurements	BS	BI	estimation with measurements on products + additions	BS
9,440	9,466	9,492	9,392	9,450	9,508

Key: BI : lower bound of confidence interval at 95%
BS : upper bound of confidence interval at 95%

The two confidence intervals cover a large overlapping spreading centre. Thanks to the measurements on doped samples, the alcoholic strength by volume of the initial product can be found.

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

2.7. Conclusion of interlaboratory trials

The repeatability and the reproducibility indications by interlaboratory trials provide the following equations, for alcoholic strength by volume products between 4 to 18% vol.:

Repeatability (r) = 0.67 (% vol.),

Reproducibility (R) = 0.454 + 0.0105 x alcoholic strength by volume (% vol.).

The Horwitz indicators, Hor and HoR are weak (Table 8). These indicators provide good details of the method compared to the level of analyte measured.

Table 8: Table summary of method reliability

Samples	C0	V0	V1	V2	V3	P0
n	20	33	32	32	33	22
p	10	11	11	11	11	11
Alcoholic strength by volume	6,0019	9,4662	10,3443	11,2492	12,1389	17,0699
r	0,0489	0,0724	0,0452	0,0419	0,0760	0,1113
sr	0,0173	0,0256	0,0160	0,0148	0,0269	0,0393
RSDr	0,2878	0,2702	0,1543	0,1316	0,2214	0,2303
RSDrH	2,0159	1,8822	1,8573	1,8340	1,8131	1,7224
Hor	0,1428	0,1436	0,0831	0,0718	0,1221	0,1337
R	0,1033	0,1237	0,1731	0,1634	0,1935	0,2136
sR	0,0365	0,0437	0,0612	0,0577	0,0684	0,0755
RSDR	0,6080	0,4616	0,5912	0,5131	0,5634	0,4423
RSDRH	3,0543	2,8519	2,8141	2,7788	2,7471	2,6097
HoR	0,1991	0,1619	0,2101	0,1847	0,2051	0,1695

Key:

- n* : number of values retained
- p* : number of laboratories retained
- Alcoholic strength by volume: average rate (% vol.)
- r* : repeatability (% vol.)
- sr* : Standard deviation of repeatability (% vol.)
- RSDr* : Repeatability coefficient of variation (*sr* x 100 / TAV) (%)
- RSDrH* : Horwitz repeatability coefficient of variation (.0.66 x *RSDRH*) (%)
- Hor* : Horrat repeatability value (*RSDr/RSDrH*)
- R* : Reproducibility (% vol.)
- sR* : Reproducibility standard deviation (% vol.)
- RSDR* : Reproducibility coefficient of variation (*sR* x 100 / TAV) (%)
- RSDRH* : Horwitz reproducibility coefficient of variation ($2^{(1-0,5 \log(TAV))}$) (%)
- HoR* : Horrat reproducibility value (*RSDR/RSDRH*)



COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

Interlaboratory trials' measurements carried out on wine with additions enable us to find the value obtained before the addition. We respectively find 9.45 and 9.47% vol.

BIBLIOGRAPHY

OIV, 1990. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, (Compendium of international methods of analysis of wine and musts) Office International de la Vigne et du Vin ; Paris.

Standard ISO 5725, page 7

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

**4. C. Measurement of the alcoholic strength of wine by
densimetry using hydrostatic balance**
(Resolution Oeno 24/2003 – 377/2009)

1. METHOD OF MEASUREMENT

1.1 Strength and introduction

Measurement of alcoholic strength by volume should be determined before marketing notably to be in compliance with labelling rules.

Alcoholic strength by volume is equal to the number of litres of ethanol contained in 100 litres of wine measured at 20°C, referred to as “% vol.”.

1.2 Safety precaution

Respect safety measures concerning the use of distillation apparatuses, manipulation of hydro-alcoholic solutions and cleaning products.

1.3 Object and field of application

The method of measurement is densimetry using a hydrostatic balance.

In reference to regulatory provisions in force the trial temperature is set at 20°C.

1.4 Principle and definitions

The principle of this method involves firstly distilling wine volume by volume. The distilling method is described in the Compendium. Non volatile substances can be eliminated through distillation. Ethanol counterparts and ethanol found in esters are included in the alcoholic strength as they are found in the distillate.

Secondly, the volumetric weight of the distillate obtained is measured. The volumetric weight of a liquid at a given temperature is equal to the ratio of the weight over its volume: $\rho=m/V$, for wine, it is expressed in g/ml.

The alcoholic strength of wine can be measured by densimetry using a hydrostatic balance following the Archimedes principle by which any body plunged into a fluid undergoes a vertical push, from the bottom to the top, equal to the weight of the displaced fluid.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

1.5 Reagents

Unless other wise indicated, only recognised analytical quality reagents should be used during the analysis with at least class 3 water corresponding to the definition of the standard ISO 3696:1987.

1.5.1 Solution for washing float device (sodium hydroxide , 30% m/v).

To prepare a 100 ml solution, weigh 30 g of sodium hydroxide and fill using 96% vol. ethanol.

1.6 Apparatus and material

current laboratory apparatus including:

- 1.6.1 Single-plate hydrostatic balance with 1 mg precision.
- 1.6.2 Floater with at least 20 ml volume, specifically adapted for the balance, suspended by a thread with a diameter less than or equal to 0.1 mm.
- 1.6.3 Cylindrical test tube with level indicator. The floater must entirely fill the test tube volume above the marker, only the slinging wire goes through the surface of the liquid. The cylindrical test tube should have an inside diameter at least above 6 mm of the floater.
- 1.6.4 Thermometer (or temperature measurement pipette) with degree and 10th of degree graduations, from 10°C to 40°C, calibrated to $\pm 0.05^\circ\text{C}$.
- 1.6.5 Calibrated weight by a recognized certification body.

1.7 Procedure

After each measurement, the floater and the test tube must be cleaned with distilled water, wiped with soft laboratory paper which doesn't loose its fibres and rinsed with solution whose volumetric weight is to be determined. These measurements must be carried out once the apparatus has reached a stable level in order to limit alcohol loss through evaporation.

1.7.1 Balance calibration

While balances usually have internal calibration systems, hydrostatic balances must be calibrated with controlled weights by an official certification body.

1.7.2 Floater calibration

1.7.2.1 Fill cylindrical test tube up to marker with bidistilled water (or an equivalent purity, for example microfiltered water with a conductivity of

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

18.2 MΩ/cm), whose temperature between 15°C to 25°C, but preferably at 20°C.

1.7.2.2 Plunge the floater and the thermometer into the liquid, shake, note down the volumetric weight on the apparatus and, if necessary, adjust the reading in order for it to be equal to the water measurement temperature.

1.7.3 Control using a hydroalcoholic solution

1.7.3.1 Fill the cylindrical test tube up to the marker with a known titre of hydroalcoholic solution at a temperature between 15°C to 25°C, preferably at 20°C.

1.7.3.2 Plunge the floater and the thermometer into the liquid, shake, note down the volumetric weight on the apparatus (or the alcoholic strength if possible). The established alcoholic strength must be equal to the previously determined alcoholic strength.

Note 2: This alcoholic strength solution can be replaced by bidistilled water for floater calibration.

1.7.4 Measure volumetric weight of the distillate (or alcoholic strength if possible)

1.7.4.1 Pour the sample for the trial in the cylindrical test tube up to the marker level.

1.7.4.2 Plunge the floater and the thermometer into the liquid, shake, note down the volumetric weight on the apparatus (or the alcoholic strength if possible). Note the temperature if the volumetric mass is measured at t°C (\bar{n}_t).

1.7.4.3 Correct \bar{n}_t using a volumetric weight table \bar{n}_t of hydroalcoholic mixtures [Table II of Annex II of the Compendium of methods of analysis of the OIV].

1.7.5 Clean the floater and cylindrical test tube.

1.7.5.1 Plunge the floater into the wash solution in the test tube.

1.7.5.2 Allow to soak 1 hour while turning the floater regularly.

1.7.5.3 Rinse with tap water, then with distilled water.

1.7.5.4 Wipe with soft laboratory paper which doesn't loose its fibres.

Carry out these operations when the floater is used for the first time and then on a regular basis when necessary.

1.7.6 Result

Using \bar{n}_{20} , volumetric weight, calculate real alcoholic strength by using the table indicating volumetric alcoholic strength (% vol.) at 20°C according to volumetric weight at 20°C of hydroalcoholic mixtures. This is the

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

international table adopted by the International Organisation of Legal Metrology in its recommendation number 22.

1.7.6.1 Beverages with an ABV lower than or equal to 1.5% vol

The alcoholic strength by volume of a beverage with low alcohol content, with an ABV of less than 1.5% vol., is given by the following formula: $ABV = ABVD/2$, ABVD being the alcoholic strength by volume of the distillate.

It is expressed in "% vol.". The result is given to two decimal places.

2. COMPARISON OF MEASUREMENTS CARRIED OUT

using a hydrostatic balance with measurements obtained using an electronic density-meter (Annex A of the Compendium of International Methods of Analysis).

From samples whose alcoholic strength is between 4% vol. and 18% vol. the measurements of repeatability and reproducibility were performed after an inter-laboratory ring test. It is the comparison of the measurements of wine alcoholic strength of different samples using the hydrostatic balance and the electronic density-meter, including the repeatability and reproducibility values derived from pluri-annual intercomparison test trials performed on a large scale.

2.1 **Samples:** wines of different density and alcoholic strengths prepared monthly on an industrial scale, taken from a bottled stock stored under normal conditions, and supplied as anonymous products to laboratories.

2.2 **Laboratories:** laboratories participating into the monthly ring test organised by Unione Italiana Vini Verona, (Italy) according to ISO 5725 (UNI 9225) regulation and the 'International Protocol of Proficiency test for chemical analysis laboratories' established by AOAC, ISO and IUPAC (J. AOAC Intern., 1993, 74/4) and according to guidelines ISO 43 and ILAC G13. An annual report is supplied by the cited company to all participants.

2.3 Apparatus:

2.3.1 Electronic hydrostatic balance (whose precision allows to give the 5th decimal of density) eventually equipped with a data treatment device.

2.3.2 Electronic density-meter eventually equipped with an autosampler.

2.4 Analyses

According to method validation rules (resolution OENO 6/99), each sample is analysed twice consecutively to determine the alcoholic strength.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

2.5 Results

Table 1 shows the results of the measurements obtained by the laboratories using the hydrostatic balance.

Table 2 shows the results obtained by the laboratories using an electronic densimeter.

2.6 Evaluations of the results

- 2.6.1 The trial results were examined for evidence of individual systematic error ($p < 0.025$) using Cochran's and Grubbs' tests successively, by procedures described in the internationally agreed [*Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies* Ed W Horwitz, *Pure and Applied Chemistry*, 1995, 67, (2), 331-343.].

2.6.2 Repeatability (r) and reproducibility (R)

Calculations for repeatability (r) and reproducibility (R) as defined by the protocol were carried out on the results remaining after the removal of outliers. When assessing a new method there is often no validated reference or statutory method with which to compare precision criteria, hence it is useful to compare the precision data obtained from collaborative trials with "predicted" levels of precision. These "predicted" levels are calculated from the Horwitz formula. Comparison of the trial results and the predicted levels indicate as to whether the method is sufficiently precise for the level of analyte being measured.

The predicted Horwitz value is calculated from the Horwitz formula.

$$RSD_R = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

where C = measured concentration of analyte expressed in decimals.
 (e.g. 1 g/100g = 0.01) [*Horwitz, W., Analytical Chemistry*, 1982, 54, 67A-76A.].

The Horrat value gives a comparison of the actual precision measured with the precision predicted by the Horwitz formula for the method and at that particular level of concentration of the analyte. It is calculated as follows:

$$Ho_R = RSD_R(\text{measured})/RSD_R(\text{Horwitz})$$

2.6.3 Interlaboratory precision

A Horrat value of 1 usually indicates satisfactory inter-laboratory

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

precision, whereas a value of more than 2 usually normally indicates unsatisfactory precision, i.e. one that is too variable for most analytical purposes or where the variation obtained is greater than that expected for the type of method employed. H_o is also calculated, and used to assess intra-laboratory precision, using the following approximation:
 $RSD_r(\text{Horwitz}) = 0.66 RSD_R(\text{Horwitz})$ (this assumes the approximation $r = 0.66 R$).

Table 3 shows the differences between the measurements obtained by laboratories using an electronic densimeter and those using a hydrostatic balance. Excluding the sample of 2000/3 with very low alcohol strength and for which both techniques show poor reproducibility, a very good concordance is generally observed for the other samples.

2.6.4 Fidelity parameters

Table 4 shows the averaged overall fidelity parameters computed from all monthly trials carried out from January 1999 until May 2001.

In particular:

Repeatability (r)= 0.074 (% vol.) for the hydrostatic balance and 0.061 (% vol.) for electronic densitometry;

Reproducibility (R)= 0.229 (% vol.) for the hydrostatic balance and 0.174 (% vol.) for electronic densitometry, this latter value is concordant to the value estimated for the electronic densitometry from the OIV Compendium of International Methods of Analysis;

2.7 Conclusion

The results concerning the determination of the alcoholic strength of a large range of wines show that the measurements carried out with the hydrostatic balance are concordant with those carried out by electronic densitometry using a flexion resonator and that the validation parameter values are similar for both methods.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

Bibliography

- F.V. n. 1096; Cabanis Marie-Thérèse., Cassanas Geneviève, Raffy Joëlle, Cabanis J.C., 1999: Validation de la mesure du titre alcoolométrique volumique;
- Cabanis Marie-Thérèse., Cassanas Geneviève, Raffy Joëlle, Cabanis J.C., 1999: Intérêt de la balance hydrostatique “nouvelle génération” pour la détermination du titre alcoolométrique des vins et des boissons spiritueuses. Rev. Franç. Œnol., 177/juillet-août, 28-31;
- Versini G., Larcher R., 2002: Comparison of wine density and alcoholic strength measurement by hydrostatic balance and electronic density-meter. Communication at the OIV Sub-commission of analytical methods, Paris, 13-15 March 2002
- OIV, Recueil des méthodes internationales d’analyse des vins et des moûts, Office International de la Vigne et du Vin; Paris;
- 'International Protocol of Proficiency test for chemical analysis laboratories'. J. AOAC Intern., 1993, 74/4
- normes ISO 5725 et guides ISO 43;
- resolution Oeno 6/99;
- Horwitz W., 1995. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, Pure and Applied Chemistry, 67/2, 331-343.

Legend:

mean the mean of all the data used in the statistical analysis

n total number of sets of data submitted

nc number of results excluded from statistical analysis due to non-compliance

outliers number of results excluded from statistical analysis due to determination as outliers by either Cochran's or Grubbs' tests

n₁ number of results used in statistical analysis

r repeatability limit

S_r the standard deviation of the repeatability

RSD_r the relative standard deviation of the repeatability ($S_r \times 100/\text{MEAN}$).

Ho_r the HORRAT value for repeatability is the observed *RSD_r* divided by the *RSD_r* value estimated from the Horwitz formula using the approximation $r = 0.66R$

R reproducibility limit

S_R the standard deviation of the reproducibility

Ho_R the HORRAT value for reproducibility is the observed *RSD_R* value divided by the *RSD_R* value calculated from

$\text{Ho}_R = \text{RSD}_R(\text{measured})/\text{RSD}_R$

OIV-MMA-AS312-01A: R2009

Table 1: Hydrostatic Balance (HB)

	MEAN	n	outliers	n1	r	sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	no. of replicates	critical difference C/D95
1999/1	11.043	17	1	16	0.0571	0.0204	0.1846	0.1004	0.1579	0.0564	0.5107	0.18	2	0.1080
1999/2	11.247	14	1	13	0.0584	0.0208	0.1854	0.1011	0.1803	0.0644	0.5727	0.21	2	0.1241
1999/3	11.946	16	0	16	0.0405	0.0145	0.1211	0.0666	0.1593	0.0569	0.4764	0.17	2	0.1108
1999/4	7.653	17	1	16	0.0502	0.0179	0.2344	0.1206	0.1537	0.0549	0.7172	0.24	2	0.1057
1999/5	11.188	17	0	17	0.0871	0.0311	0.2780	0.1515	0.2701	0.0965	0.8622	0.31	2	0.1860
1999/6	11.276	19	0	19	0.0846	0.0302	0.2680	0.1462	0.2957	0.1056	0.9365	0.34	2	0.2047
1999/7	8.018	17	0	17	0.0890	0.0318	0.3964	0.2054	0.2573	0.0919	1.1462	0.39	2	0.1764
1999/9	11.226	17	0	17	0.0580	0.0207	0.1846	0.1423	0.2796	0.0999	0.8896	0.45	2	0.1956
1999/10	11.026	17	0	17	0.0606	0.0216	0.1961	0.1066	0.2651	0.0947	0.8588	0.31	2	0.1850
1999/11	7.701	16	1	15	0.0643	0.0229	0.2980	0.1535	0.2330	0.0832	1.0805	0.37	2	0.1616
1999/12	10.987	17	2	15	0.0655	0.0234	0.2128	0.1156	0.1258	0.0449	0.4089	0.15	2	0.0827
2000/1	11.313	16	0	16	0.0986	0.0352	0.3113	0.1699	0.2577	0.0920	0.8135	0.29	2	0.1754
2000/2	11.232	17	0	17	0.0859	0.0307	0.2731	0.1489	0.2535	0.0905	0.8060	0.29	2	0.1740
2000/3	0.679	10	0	10	0.0680	0.0243	3.5773	1.2783	0.6529	0.2332	34.3395	8.10	2	0.4604
2000/4	11.223	16	0	16	0.0709	0.0253	0.2257	0.1230	0.2184	0.0789	0.6951	0.25	2	0.1503
2000/5	7.439	19	1	18	0.0630	0.0225	0.3023	0.1549	0.1522	0.0544	0.7307	0.25	2	0.1029
2000/6	11.181	19	0	19	0.0536	0.0191	0.1710	0.0932	0.2783	0.0994	0.8890	0.32	2	0.1950
2000/7	10.858	16	0	16	0.0526	0.0188	0.1731	0.0939	0.1827	0.0653	0.6011	0.22	2	0.1285
2000/9	12.031	17	1	16	0.0602	0.0215	0.1787	0.0985	0.2447	0.0874	0.7263	0.26	2	0.1704
2000/10	11.374	18	0	18	0.0814	0.0291	0.2555	0.1395	0.2701	0.0965	0.8482	0.31	2	0.1866
2000/11	7.644	18	0	18	0.0827	0.0295	0.3863	0.1988	0.2289	0.0817	1.0694	0.36	2	0.1565
2000/12	11.314	19	1	18	0.0775	0.0277	0.2447	0.1336	0.2421	0.0864	0.7641	0.28	2	0.1667
2001/1	11.415	19	0	19	0.0950	0.0339	0.2971	0.1623	0.2410	0.0861	0.7539	0.27	2	0.1636
2001/2	11.347	19	0	19	0.0792	0.0283	0.2493	0.1361	0.1944	0.0694	0.6119	0.22	2	0.1316
2001/3	11.818	16	0	16	0.0659	0.0235	0.1990	0.1093	0.2636	0.0941	0.7965	0.29	2	0.1834
2001/4	11.331	17	0	17	0.1067	0.0381	0.3364	0.1836	0.1895	0.0677	0.5971	0.22	2	0.1229
2001/5	8.063	19	1	18	0.0782	0.0279	0.3485	0.1797	0.1906	0.0681	0.8442	0.29	2	0.1290

29

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type 1 methods

OIV-MMA-AS312-01A: R2009

Table 2: Electronic Densimetry (ED)

	MEAN	n1	n	outliers	n1	r	sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	no. of replicates	critical difference C/D95
D1999/1	11.019	18	1	17	0.0677	0.0242	0.2196	0.1193	0.1996	0.0713	0.6470	0.23	2	0.1370	
D1999/2	11.245	19	2	17	0.0448	0.0160	0.1423	0.0776	0.1311	0.0468	0.4165	0.15	2	0.0900	
D1999/3	11.967	21	0	21	0.0701	0.0250	0.2091	0.1151	0.1552	0.0554	0.4631	0.17	2	0.1040	
D1999/4	7.643	19	1	18	0.0610	0.0218	0.2852	0.1467	0.1340	0.0479	0.6262	0.21	2	0.0897	
D1999/5	11.188	21	3	18	0.0260	0.0093	0.0829	0.0452	0.2047	0.0731	0.6536	0.24	2	0.1442	
D1999/6	11.303	21	0	21	0.0652	0.0233	0.2061	0.1125	0.1466	0.0523	0.4631	0.17	2	0.0984	
D1999/7	8.026	21	0	21	0.0884	0.0316	0.3935	0.2039	0.1708	0.0610	0.7600	0.26	2	0.1124	
D1999/9	11.225	17	0	17	0.0372	0.0133	0.1183	0.0645	0.1686	0.0602	0.5366	0.19	2	0.1178	
D1999/10	11.011	19	0	19	0.0915	0.0327	0.2969	0.1613	0.1723	0.0615	0.5588	0.20	2	0.1129	
D1999/11	7.648	21	1	20	0.0615	0.0220	0.2872	0.1478	0.1538	0.0549	0.7183	0.24	2	0.1043	
D1999/12	10.999	16	1	15	0.0428	0.0153	0.1389	0.0755	0.2015	0.0720	0.6541	0.23	2	0.1408	
D2000/1	11.248	22	1	21	0.0697	0.0249	0.2212	0.1206	0.1422	0.0508	0.4516	0.16	2	0.0944	
D2000/2	11.240	19	3	16	0.0448	0.0160	0.1424	0.0776	0.1619	0.0578	0.5145	0.19	2	0.1123	
D2000/3	0.526	12	1	11	0.0327	0.0117	2.2185	0.7630	0.9344	0.3337	63.4009	14.39	2	0.6605	
D2000/4	11.225	19	1	18	0.0476	0.0170	0.1514	0.0825	0.1350	0.0482	0.4295	0.15	2	0.0924	
D2000/5	7.423	21	0	21	0.0628	0.0224	0.3019	0.1547	0.2635	0.0941	1.2677	0.43	2	0.1636	
D2000/6	11.175	23	2	21	0.0606	0.0217	0.1938	0.1056	0.1697	0.0606	0.5424	0.20	2	0.1161	
D2000/7	10.845	21	5	16	0.0440	0.0157	0.1449	0.0786	0.1447	0.0517	0.4768	0.17	2	0.0999	
D2000/9	11.983	22	1	21	0.0841	0.0300	0.2507	0.1380	0.2410	0.0961	0.7183	0.26	2	0.1651	
D2000/10	11.356	22	1	21	0.0635	0.0227	0.1997	0.1090	0.1865	0.0666	0.5866	0.21	2	0.1280	
D2000/11	7.601	27	0	27	0.0521	0.0186	0.2448	0.1258	0.1685	0.0602	0.7916	0.27	2	0.1162	
D2000/12	11.322	25	1	24	0.0476	0.0170	0.1503	0.0820	0.1594	0.0569	0.5028	0.18	2	0.1102	
D2001/1	11.427	29	0	29	0.0706	0.0252	0.2207	0.1206	0.1526	0.0545	0.4771	0.17	2	0.1020	
D2001/2	11.320	29	1	28	0.0675	0.0241	0.2128	0.1161	0.1570	0.0561	0.4952	0.18	2	0.1057	
D2001/3	11.826	34	1	33	0.0489	0.0175	0.1476	0.0811	0.1762	0.0629	0.5322	0.19	2	0.1222	
D2001/4	11.339	31	2	29	0.0639	0.0228	0.2012	0.1099	0.1520	0.0543	0.4788	0.17	2	0.1026	
D2001/5	8.058	28	0	28	0.0473	0.0169	0.2098	0.1088	0.2025	0.0723	0.8976	0.31	2	0.1412	

30

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type 1 methods



OTV-MA-AS312-01A: R2009

31

Table 3: Comparison of results between hydrostatic balance and electronic densimetry

	MEAN (HB)	n	outliers	n1		MEAN (ED)	n	outliers	n1	$\Delta TAV(HB-ED)$
1999/1	11.043	17	1	16	D1999/1	11.019	18	1	17	0.024
1999/2	11.247	14	1	13	D1999/2	11.245	19	2	17	0.002
1999/3	11.946	16	0	16	D1999/3	11.967	21	0	21	-0.021
1999/4	7.653	17	1	16	D1999/4	7.643	19	1	18	0.010
1999/5	11.188	17	0	17	D1999/5	11.188	21	3	18	0.000
1999/6	11.276	19	0	19	D1999/6	11.303	21	0	21	-0.028
1999/7	8.018	17	0	17	D1999/7	8.026	21	0	21	-0.008
1999/9	11.226	17	0	17	D1999/9	11.225	17	0	17	0.002
1999/10	11.026	17	0	17	D1999/10	11.011	19	0	19	0.015
1999/11	7.701	16	1	15	D1999/11	7.648	21	1	20	0.052
1999/12	10.987	17	2	15	D1999/12	10.999	16	1	15	-0.013
2000/1	11.313	16	0	16	D2000/1	11.248	22	1	21	0.065
2000/2	11.232	17	0	17	D2000/2	11.240	19	3	16	-0.008
2000/3	0.679	10	0	10	D2000/3	0.626	12	1	11	0.153
2000/4	11.223	18	0	18	D2000/4	11.225	19	1	18	-0.002
2000/5	7.439	19	1	18	D2000/5	7.423	21	0	21	0.016
2000/6	11.181	19	0	19	D2000/6	11.175	23	2	21	0.006
2000/7	10.858	16	0	16	D2000/7	10.845	21	5	16	0.013
2000/9	12.031	17	1	16	D2000/9	11.983	22	1	21	0.049
2000/10	11.374	18	0	18	D2000/10	11.356	22	1	21	0.018
2000/11	7.644	18	0	18	D2000/11	7.601	27	0	27	0.043
2000/12	11.314	19	1	18	D2000/12	11.322	25	1	24	-0.008
2001/1	11.415	19	0	19	D2001/1	11.427	29	0	29	-0.012
2001/2	11.347	19	0	19	D2001/2	11.320	29	1	28	0.027
2001/3	11.818	16	0	16	D2001/3	11.826	34	1	33	-0.008
2001/4	11.331	17	0	17	D2001/4	11.339	31	2	29	-0.008
2001/5	8.063	19	1	18	D2001/5	8.058	28	0	28	0.004
Average difference/ ΔTAV (HB-ED)										0.014
standard deviation on difference										0.036
* round 2000/3 is not taken into account (very low grade)										

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume - Type I methods

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

Table 4: Fidelity parameters

MEAN	Hydrostatic balance	Electronic densimeter
n1	441	557
Weighted repeatability variance	0.309	0.267
r	0.074	0.061
sr	0.026	0.022
Weighted reproducibility variance	2.948	2.150
R	0.229	0.174
sR	0.082	0.062

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

BIBLIOGRAPHY

– *Distillation:*

- HANAK A.. *Chem. Zgt.*. 1932. **56**, 984.
 COLOMBIER L., CLAIR E.. *Ann. Fals. Fraudes*. 1936. **29**, 411.
 POZZI-ESCOT E.. *Ind. Agr. Aliment.*. 1949. **66**, 119.
 JAULMES P.. *Analyse des vins*. 1951. 49.
 SCHNEYDER J.. *Mitt. Klosterneuburg. Rebe und Wein*. 1960. **10**, 228.
 SCHNEYDER J., KASCHNITZ L.. *Mitt. Klosterneuburg. Rebe und Wein*. 1965. **15**, 132.

– *Pycnométrie:*

- JAULMES P.. *Analyse des vins*. 1951. 67.
 JAULMES P.. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*. 1952. **12**, 154.
 JAULMES P.. *Ann. Fals. Fraudes*. 1953. **46**, 84; 1954. **47**, 191.
 JAULMES P., CORDIER Mlle S.. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*. 1956. **16**, 115; 1960. **20**, 137.
 JAULMES P., BRUN Mme S.. *Ann. Fals. Exp. Chim.*. 1963. **56**, 129.

– *Tables alcoométriques:*

- TABLES ALCOOMETRIQUES FRANCAISES. *J.O. Républ. française*. 30 déc. 1884. 6895.
 WINDISCH K., d'après LUNGE G., BERL E.. *Chem. techn. Untersuchungs Methoden*. Berlin 1924. 7e éd.. 1893. **4**, 274.
 OSBORNE N.S., MCKELVY E.C., BEARCE H.W.. *Bull. Bur. of Standards*. Washington. 1913. **9**, 328.
 FROST A.V.. *Recherches dans le domaine du poids spécifique des mélanges d'alcool éthylique et d'eau*. Institut des réactifs chimiques purs. U.R.S.S.. 1930. No. 9. d'après J. SPAEPEN.
 HEIDE C. von der. MANDLEN H.. *Z. Untersuch. Lebensm.*. 1933. **66**, 338.
 KOYALOVICS B.. 8e Conférence générale des Poids et Mesures. Moscou 1933.
 FERTMANN G.I.. *Tables de renseignements pour le contrôle de la fabrication de l'alcool*. Pischerpoomizdat. Moscou 1940.
 REICHARD O.. *Neue Alkohol u. Extract. Tafel 20°/20°*. Verlag Hans Carl. Nürnberg 1951.
 JAULMES P., MARIGNAN R.. *Ann. Fals. Fraudes*. 1953. **46**, 208 et 336.
 SPAEPEN J.. *Rev. de Métrologie*. 1955. 411; *Bull. belge de Métrologie*. 1955. numéro d'avril.
 JAULMES P., BRUN Mme S.. *Ann. Fals. Exp. Chim.*. 1963. **46**, 143; 1965. **48**, 58; 1966. **49**, 35; 1967. **50**, 101-147; *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*. 1966. **26**, 37 et 111.
 JAULMES P., MARIGNAN R.. *Bull. O.I.V.*. 1953. **274**, 28, 32.
 JAULMES P., BRUN Mme S., TEP Y.. *Trav. Soc. Pharm.*. 1968. **28**, 111.
 KAWASAKI T., MINOVA Z., INAMATSU T.. *A new alcoholometric specific gravity table*. National Research of Metrology. Tokio 1967.
 TEP Y.. *Etude d'une table alcoométrique internationale*. Thèse Doc. Pharm. Montpellier. 1968

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

ANNEXE

**validation parameters relating to the measurement of the
ABV of beverages with low alcohol content**

This document presents the results of the validation study corresponding to the method for beverages with low alcohol content (updated).

The study was carried out in accordance with the OIV documents MA-F-AS1-08-FIDMET and MA-F-AS1-09-PROPER.

1/ Samples

Sample no.	1	2	3	4	5	6
Nature	Grape juice	Beverage obtained by dealcoholisation of wine	Beverage obtained by partial dealcoholisation of wine	Partially fermented grape juice	Cider	Wine-based beverage
Approximate value of ABV (% vol.)	< 0.5	0.5	1.5	2.5	4.5	6.5

The samples were sent to the participating laboratories, applying the double-blind principle.

2/ Analyses

Each of the 12 samples received by the laboratories was analysed by simple distillation or steam distillation, according to the two following procedures:

- OIV reference method involving the use of 200 mL and recovery of 200 mL of distillate,
- alternative method involving the use of 200 mL and recovery of 100 mL of distillate.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

3/ Participating laboratories

19 laboratories from different countries took part:

Laboratório CVRVV	4050-501 Porto	Portugal
Laboratório de Análises da CVRA	7006-806 Évora	Portugal
Testing Laboratory CAFIA	603 00 Brno	Czech Republic
Laboratório ASAE - LBPV	1649-038 Lisbon	Portugal
Agroscope - Site de Changins	1260 Nyon 1	Switzerland
Labo SCL de Bordeaux	33608 Pessac	France
Labo SCL de Montpellier	34196 Montpellier	France
Laboratorio Arbitral Agroalimentario	28023 Madrid	Spain
Estación Enológica de Haro	26200 Haro La Rioja	Spain
Instituto dos Vinho do Douro do Porto	4050-253 Porto	Portugal
IVICAM	13700 Tomelloso, Ciudad Real	Spain
INCAVI	08720 Vilafranca del Penedès	Spain
ICQRF Laboratorio di Conegliano/Susegana	31058 Susegana (TV)	Italy
ICQRF Laboratorio di Catania	95122 Catania	Italy
ICQRF Laboratorio di Modena	41100 Modena	Italy
ICQRF laboratorio di Perugia	06128 Perugia	Italy
ICQRF laboratorio di Salerno	84098 Salerno	Italy
ICQRF Laboratorio centrale di Roma	00149 Rome	Italy
Laboratoires DUBERNET	11100 Narbonne	France

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods**

4/ Results

	Sample N° 1		Sample N° 2		Sample N° 3		Sample N° 4		Sample N° 5		Sample N° 6	
	POSITION :											
LAB	2	7	4	11	6	12	5	8	9	10	1	3
A	0,21	0,21	0,55	0,55	1,34	1,34	2,58	2,58	4,59	4,60	6,54	6,50
B	0,11	0,14	0,49	0,50	1,32	1,38	2,60	2,57	4,68	4,72	6,52	6,55
C	0,33	0,28	0,68	0,61	1,43	1,35	2,63	2,60	4,63	4,66	6,58	6,51
D			0,62	0,62	1,38	1,36	2,68	2,67	4,69	4,73	6,62	6,64
E	0,20	0,21	0,55	0,56	1,36	1,40	2,61	2,62	4,67	4,68	6,56	6,55
F	0,18	0,12	0,52	0,51	1,31	1,30	2,56	2,56	4,70	4,66	6,51	6,54
G	0,22	0,22	0,55	0,56	1,37	1,37	2,62	2,62	4,68	4,68	6,58	6,57
H			0,41	0,42	1,25	1,27	2,46	2,49	4,57	4,56	6,39	6,40
I	0,20	0,13	0,54	0,48	1,32	1,28	2,60	2,58	4,62	4,62	6,57	6,55
J	0,24	0,24	0,58	0,60	1,41	1,37	2,63	2,63	4,69	4,67	6,55	6,55
K	0,22	0,22	0,56	0,55	1,35	1,35	2,63	2,63	4,67	4,68	6,59	6,58
L	0,22	0,23	0,56	0,57	1,38	1,36	2,63	2,61	4,66	4,67	6,56	6,57
M	0,18	0,18	0,53	0,53	1,33	1,29			4,66	4,65	6,53	6,52
N	0,22	0,23	0,56	0,57	1,38	1,41	2,26	2,61	4,67	4,67	6,51	6,57
O	0,12	0,19	0,53	0,52	1,33	1,33	2,64	2,62	4,67	4,67	6,51	6,55
P	0,25	0,25	0,57	0,58	1,39	1,41	2,66	2,65	4,70	4,68	6,62	6,62
Q	0,22	0,20	0,55	0,59	1,34	1,33	2,61	2,63	4,65	4,63	6,52	6,54
R	0,21	0,21	0,55	0,52	1,29	1,28	2,52	2,55	4,62	4,56	6,50	6,53
S	0,18	0,17	0,41	0,42	1,38	1,37	2,61	2,58	4,63	4,58	6,51	6,48

Results table obtained for a distillation of 200 mL with a recovery volume of 200 mL. The values in bold correspond to the values rejected by the Cochran test (variance outliers) with a significance level of 2.5% (1-tail test) and by the Grubbs test (means outliers) with a significance level of 2.5% (2-tail test).

Note: The values absent were not provided by the laboratory in question.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

	Sample N° 1		Sample N° 2		Sample N° 3		Sample N° 4		Sample N° 5		Sample N° 6	
LAB	POSITION :											
	2	7	4	11	6	12	5	8	9	10	1	3
A												
B	0,17	0,18	0,52	0,53	1,34	1,36	2,62	2,62	4,62	4,60	6,48	6,52
C	0,25	0,25	0,56	0,62	1,35	1,36	2,50	2,46	4,48	4,44	6,12	6,19
D	0,29	0,29	0,63	0,63	1,43	1,42	2,66	2,65	4,68	4,69	6,58	6,59
E	0,24	0,24	0,58	0,58	1,39	1,39	2,64	2,64	4,66	4,67	6,55	6,57
F	0,21	0,18	0,53	0,53	1,31	1,27	2,41	2,48	4,30	4,31	6,22	5,89
G	0,24	0,24	0,56	0,57	1,35	1,36	2,58	2,57	4,57	4,56	6,46	6,43
H	0,19	0,18	0,48	0,55	1,33	1,32	2,51	2,55	4,59	4,54	6,38	6,42
I	0,25	0,18	0,56	0,53	1,34	1,33	2,62	2,61	4,64	4,64	6,25	6,28
J	0,24	0,24	0,55	0,56	1,31	1,32	2,49	2,53	4,37	4,34	6,14	6,12
K	0,25	0,25	0,57	0,57	1,37	1,38	2,60	2,61	4,60	4,61	6,48	6,38
L	0,24	0,24	0,55	0,55	1,35	1,31	2,52	2,47	4,38	4,31	6,09	6,06
M	0,19	0,20	0,55	0,55	1,34	1,31			4,68	4,67	6,52	6,54
N	0,28	0,26	0,58	0,59	1,28	1,28	2,52	2,47	4,44	4,32	6,01	6,15
O	0,19	0,25	0,57	0,57	1,39	1,39	2,63	2,64	4,66	4,66	6,57	6,57
P	0,25	0,26	0,57	0,57	1,36	1,36	2,58	2,56	4,54	4,53	6,34	6,38
Q	0,24	0,24	0,57	0,57	1,38	1,38	2,63	2,62	4,66	4,67	6,56	6,56
R	0,23	0,23	0,54	0,55	1,32	1,30	2,54	2,56	4,56	4,52	6,40	6,35
S	0,27	0,26	0,55	0,57	1,34	1,34	2,46	2,43	4,53	4,51	6,36	6,36

Results table obtained for a distillation of 200 mL with a recovery volume of 100 mL. The values in bold correspond to the values rejected by the Cochran test (variance outliers) with a significance level of 2.5% (1-tail test) and by the Grubbs test (means outliers) with a significance level of 2.5% (2-tail test).

Note: The values absent were not provided by the laboratory in question.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6
No. of laboratories considered	17	19	19	17	19	18
No. of repetitions	2	2	2	2	2	2
Minimum	0.11	0.41	1.25	2.46	4.56	6.48
Maximum	0.33	0.68	1.43	2.68	4.73	6.64
Overall average	0.20	0.54	1.35	2.60	4.65	6.55
Repeatability variance	0.00052	0.00033	0.00050	0.00019	0.00036	0.00047
Reproducibility variance	0.00211	0.00345	0.00190	0.00229	0.00181	0.00147
Inter-laboratory standard deviation	0.043	0.057	0.041	0.047	0.040	0.035
Repeatability standard deviation	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02
r limit	0.06	0.05	0.06	0.04	0.05	0.061
Repeatability CV	11.1	3.3	1.7	0.5	0.4	0.3
Reproducibility standard deviation	0.046	0.059	0.044	0.048	0.043	0.038
R limit	0.130	0.166	0.123	0.135	0.120	0.109
Reproducibility CV	22.5	10.9	3.2	1.8	0.9	0.6
Horwitz RSD _r	3.36	2.90	2.52	2.29	2.09	1.99
Horrat _r	3.3	1.1	0.7	0.2	0.2	0.2
Horwitz RSD _R	5.10	4.39	3.82	3.46	3.17	3.01
Horrat _R	4.4	2.5	0.8	0.5	0.3	0.2

Table: Data obtained for a 200 mL distillate from a 200 mL sample.

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV
Alcoholic strength by volume – Type I methods

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6
No. of laboratories considered	16	15	18	17	17	17
No. of repetitions	2	2	2	2	2	2
Minimum	0.17	0.52	1.27	2.41	4.30	6.01
Maximum	0.29	0.63	1.43	2.66	4.69	6.59
Overall average	0.24	0.56	1.35	2.56	4.55	6.38
Repeatability variance	0.00006	0.00003	0.00016	0.00050	0.00039	0.00135
Inter-laboratory standard deviation	0.03209	0.02496	0.03752	0.07013	0.12167	0.17621
Reproducibility variance	0.001	0.001	0.001	0.005	0.015	0.031
Repeatability standard deviation	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.04
r limit	0.02	0.02	0.04	0.06	0.06	0.104
Repeatability CV	3.2	1.0	0.9	0.9	0.4	0.6
Reproducibility standard deviation	0.033	0.025	0.039	0.072	0.122	0.178
R limit	0.092	0.071	0.109	0.203	0.347	0.504
Reproducibility CV	13.8	4.5	2.9	2.8	2.7	2.8
Horwitz RSD _r	3.27	2.88	2.52	2.29	2.10	2.00
Horrat _r	1.0	0.4	0.4	0.4	0.2	0.3
Horwitz RSD _R	4.96	4.36	3.82	3.47	3.18	3.03
Horrat _R	2.8	1.0	0.8	0.8	0.9	0.9

Table: Data obtained for a 100 mL distillate from a 200 mL sample.

Anexo III



RESOLUCIÓN OIV/OENO 206/2010

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE VINOS Y MOSTOS -REVISIÓN DE LA RESOLUCIÓN OENO 8/95

La ASAMBLEA GENERAL

En vista del artículo 2, apartado 2 IV del Acuerdo del 3 de abril de 2001 por el que se fundó la Organización Internacional de la Viña y el Vino,

Teniendo en cuenta la resolución Oeno 8/1995 adoptada en 1995 sobre el Análisis microbiológico de vinos y mostos

Teniendo en cuenta los trabajos de los expertos de los grupos "Especificación de productos enológicos" y "Microbiología"

DECIDE sustituir la resolución existente por el siguiente método en el compendio de métodos internacionales de análisis de vinos y mostos:

Análisis microbiológico del vino y del mosto

Detección, diferenciación y recuento de microorganismos

Objetivo:

El objetivo del análisis microbiológico es el seguimiento de la fermentación alcohólica o maloláctica y la detección de infecciones microbiológicas, además de la detección de cualquier anomalía, no sólo en el producto final, sino también durante las diferentes fases de producción.

Comentarios

Todos los experimentos se tienen que llevar a cabo en condiciones normales de asepsia microbiológica, usando material esterilizado, cerca de la llama de un mechero de Bunsen, en un recinto de flujo laminar y flameando las bocas de las pipetas, los tubos, los frascos, etc. Antes de realizar los análisis microbiológicos hay que comprobar si las muestras están bien tomadas.

Campo de aplicación:

El análisis microbiológico se puede aplicar a vinos, mostos, mistelas y cualquier otro producto similar, aún cuando hayan variado por actividad bacteriana. Estos métodos también se adaptan al análisis de preparaciones industriales de microorganismos seleccionados, levaduras LSA y bacterias lácticas.

Técnicas de análisis microbiológico:

- 1. Reactivos y material**
- 2. Instalaciones y equipos**
- 3. Muestreo**

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

4. Pruebas de calidad

- 4.1 objetivo
- 4.2 principio
- 4.3 preparación
- 4.3.1 pruebas de calidad del aire
- 4.3.2 pruebas de calidad en incubadora

5. Técnicas de microscopía para la detección, diferenciación de microorganismos y recuento directo de levaduras

- 5.1. Examen microscópico de líquidos o depósitos
- 5.2. Tinción de Gram para la diferenciación de las bacterias aisladas a partir de colonias (véase apartado 6)
- 5.3. Prueba de catalasa para la diferenciación de las bacterias aisladas a partir de colonias (véase apartado 6)
- 5.4. Recuento de células de levadura – Hemocitometría
- 5.5. Recuento de células de levadura – tinción de células de levadura con azul de metileno

6. Recuento de microorganismos por cultivo

- 6.1 Detección, diferenciación y enumeración de microorganismos (recuento en placa)
- 6.2. Cultivo en medio líquido - "Most Probable Number" (MPN, número más probable).

1. REACTIVOS Y MATERIAL

Equipos y material actuales de laboratorio, según aparece en la norma ISO 7218:2007 - Microbiology of food and animal feeding stuffs (Microbiología de alimentos y piensos) - General rules for microbiological examinations (Reglas generales para análisis microbiológicos).

Se recomiendan los siguientes:

- Material y equipo de vidrio habitual de laboratorio, estéril (esterilizado o estéril listo para usar).
- Tubos (de 16x160 mm o similar) con 9 ml de agua de peptona estéril (triptona: 1 g/l) u otros diluyentes que se suelen usar en diluciones de muestras en serie.
- Etanol para flamear esparcadoras y pinzas.
- Solución de peróxido de hidrógeno al 3%.
- Puntas estériles de micropipetas: de 1 y 0,2 ml.
- Varillas de vidrio curvado en forma de L o de triángulo (palos de hockey) o esparcadoras de plástico.
- Pinzas de acero inoxidable de bordes planos.
- Membrana de porosidad 0,2 y 0,45 µm de éster de celulosa estéril (o equivalente), con un diámetro de 47 ó 50 mm, en lo posible con una cuadrícula impresa en la superficie y envasadas por separado.
- Tubos estériles.
- Pipetas estériles de 10 ml.

2. INSTALACIONES Y EQUIPOS

Equipos y material actuales de laboratorio, según aparece en la norma ISO 7218:2007 - Microbiology of food and animal feeding stuffs (Microbiología de alimentos y piensos) - General rules for microbiological examinations (Reglas generales para análisis microbiológicos).

Se recomiendan los siguientes:

- Incubadora microbiológica o campana de flujo laminar. Si no se dispone de este equipo, trabaje cerca de un quemador a gas (a 50 cm de distancia).
- Balanza con una precisión de $\pm 0,01$ g.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

- Autoclave.
- Incubadora, regulable de 25°C a 37°C.
- pH-ímetro, con una precisión de $\pm 0,1$ unidades de pH y un umbral mínimo de medición de $\pm 0,01$ unidades de pH.
- Una o más neveras, puestas a 5 ± 3 °C, y uno o más congeladores con una temperatura inferior a -18 °C, preferiblemente en -24 ± 2 °C.
- Baño termostático puesto a 45 ± 1 °C
- Horno microondas.
- Microscopio óptico.
- Quemador a gas.
- Equipo para recuento de colonias.
- Equipo para cultivos en una atmósfera modificada (un frasco sellado en el que se puede crear la anaerobiosis).
- Equipo de filtrado con filtros de 47 ó 50 mm de diámetro.
- Agitador "Vortex" (de vórtice) o equivalente.
- Autoclave para la esterilización en seco
- Centrífuga
- Bomba de proyección.

3. MUESTREO

La muestra tiene que reproducir la microbiología de toda la masa del mosto o del vino que se va a analizar. En la medida de lo posible, la masa se tiene que homogeneizar antes del muestreo para volver a poner en suspensión los microorganismos que suelen precipitarse en la base del recipiente. En caso de que no se desee la homogeneización, las muestras se tienen que sacar de donde la presencia de los microorganismos sea probable (o sospechosa), como por ejemplo cuando se buscan levaduras en el fondo de tanques o barriles. Sin embargo, en este caso los resultados no serán cuantitativos. Antes de tomar muestras de un grifo, hay que flamearlo y dejar que fluyan de 2 a 3 litros de líquido. La muestra se tiene que poner en un recipiente estéril. La muestra se tiene que conservar refrigerada y debe analizarse lo más rápidamente posible.

Para el análisis microbiológico se necesitan las siguientes cantidades de muestras:

Mosto, mosto en fermentación o vino almacenado: no menos de 250 ml;

Vino embotellado o envasado: no menos de una unidad, sea cual sea su capacidad;

4. PRUEBAS DE CALIDAD

4.1 Objetivo

Con estas pruebas se pretende detectar con antelación el riesgo de infección microbiana.

4.2 Principio

Esta técnica se basa en las variaciones organolépticas y de aspecto (nubes, películas, depósitos, colores inusuales, etc.) que se producen en el vino cuando se lo somete a una cierta aireación y a una determinada temperatura que puedan contribuir a la actividad microbiológica. La naturaleza de las variaciones se tiene que confirmar con exámenes microscópicos.

4.3 Preparación

4.3.1 Pruebas de calidad del aire

Se toma una muestra de 50 ml de vino previamente filtrado con un papel estéril grueso y se coloca en un matraz Erlenmeyer estéril de 150 ml, se tapa con algodón y se deja a temperatura ambiente durante tres días como mínimo. Transcurrido este tiempo se examina el color y la posible presencia de nubes, depósitos y películas. En caso de haber alguno de estos tres elementos o de haberse producido una variación cromática, se realizará un examen microscópico.

4.3.2 Pruebas de calidad en incubadora

Se toma una muestra de 100 ml de vino previamente filtrado con un papel estéril grueso y se coloca en un matraz Erlenmeyer estéril de 300 ml que se tapa con algodón, se mete en una incubadora a 30°C y

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

se examina una vez transcurridas 72 horas. Las variaciones organolépticas o visuales pueden ser un indicador de desarrollo microbiano, lo que exige un examen microscópico.

5. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS PARA LA DETECCIÓN, LA DIFERENCIACIÓN DE MICROORGANISMOS Y EL RECUENTO DIRECTO DE LEVADURAS

5.1 Examen microscópico de líquidos o depósitos

Objetivo:

Con el examen microscópico de líquidos o depósitos en estado fresco se pretende detectar y diferenciar, por su tamaño y su forma, las levaduras de las bacterias que pueda haber. La observación microscópica no permite distinguir los microorganismos viables de los no viables.

Comentario:

Mediante una coloración adecuada (véase más adelante) es posible estimar las levaduras viables.

Principio:

Esta técnica se basa en la observación de microorganismos, cuyo tamaño es del orden de un micrón, gracias al aumento con microscopio.

Preparación:

El examen microscópico se puede hacer directamente del líquido o del depósito.

La observación directa del líquido sólo será útil si la población es lo suficientemente elevada (más de 5×10^5 células/ml).

Si el vino tiene una población inferior de microorganismos, hay que concentrar la muestra. Para ello se centrifugan unos 10 ml del vino homogeneizado a 3.000 - 5.000 rpm. durante 5 a 15 minutos. Después de decantar el sobrenadante, se vuelve a dejar en suspensión el líquido restante en la base del tubo de centrifugación.

Para la observación microscópica se coloca con una pipeta Pasteur o una varilla esterilizada una gota de la muestra de líquido o del depósito homogeneizado en un portaobjetos de vidrio limpio. Se tapa con un cubreobjetos y se coloca sobre el porta del microscopio. La observación se lleva a cabo en un campo claro o, preferentemente, en contraste de fases, que permite una observación en detalle. Por lo general se usa un aumento de x400 a x1.000.

5.2. Tinción de Gram para la diferenciación de las bacterias aisladas a partir de colonias (véase párrafo 6)

Objetivo:

La tinción de Gram se usa para diferenciar las lactobacterias (grampositivas) de las acetobacterias (gramnegativas), además de observar su morfología.

Comentarios

Cabe recordar que la tinción de Gram no basta para extraer conclusiones, dado que puede haber otras bacterias además de las lácticas y las acéticas.

Principio:

Este color se basa en la diferencia de estructura y composición química de las paredes celulares de las bacterias grampositivas y gramnegativas. Las paredes celulares de las gramnegativas, ricas en lípidos, tienen muy poca cantidad de peptidoglicano. Esto permite la penetración de alcohol y la eliminación del complejo violeta de genciana-iodina, dejando la célula sin color, que se vuelve a teñir de rojo con safranina. En cambio, las paredes celulares de las bacterias grampositivas contienen mucho peptidoglicano y una baja concentración de lípidos. Ello hace que la gruesa pared de peptidoglicano y la deshidratación provocada por el alcohol no permitan la eliminación del color violeta o azul oscuro del complejo violeta de genciana-iodina.

La técnica de tinción de Gram admite varias modificaciones. Pierde su utilidad cuando se realiza en un cultivo demasiado antiguo. Por ello la bacteria tiene que estar en una fase de crecimiento exponencial en 24 a 48 horas. La coloración de Gram se realiza previo aislamiento de las colonias y su puesta en cultivo líquido.

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Soluciones:

El agua que se use tiene que ser destilada.

1. Solución de violeta de genciana

Preparación: Pese 2g de violeta de genciana (o violeta cristal), póngalos en un matraz Erlenmeyer de 100 ml y disuélvalos en 20 ml de alcohol al 95%. Disuelva 0,8g de oxalato de amonio en 80 ml de agua destilada. Mezcle las dos soluciones y use la mezcla una vez hayan transcurrido 24 horas. Fíltrela con papel cuando la vaya a usar. Manténgala lejos de la luz, en un matraz oscuro.

2. Solución Lugol:

Preparación: Disuelva 2g de yoduro potásico en una cantidad mínima de agua (4 a 5 ml) y disuelva 1g de iodina en esta solución saturada. Aumente el volumen hasta 300 ml con agua destilada. Manténgala lejos de la luz, en un matraz oscuro.

3. Solución de safranina:

Preparación: Pese 0,5g de safranina en un matraz Erlenmeyer de 100 ml, disuelva con 10 ml de alcohol al 95% y añada 90 ml de agua. Remueva. Manténgala lejos de la luz, en un matraz oscuro.

*Preparación:**Preparación de la muestra*

Haga un subcultivo de bacterias en un medio líquido o sólido. Recoja del depósito las bacterias del cultivo joven (después de centrifugar el cultivo líquido) o directamente del medio sólido con una espiral o con una varilla y mezcle una gota del agua esterilizada.

Ponga la muestra sobre un portaobjetos, esparciendo una gota de la suspensión microbiana. Deje que se seque la muestra y fjela, pasando rápidamente el portaobjetos tres veces por la llama de un mechero de Bunsen o equivalente. Cuando se haya enfriado, proceda con la tinción.

Tinción

Vierta unas pocas gotas de solución de violeta de genciana en la muestra fija. Deje que reaccione durante 2 minutos y lave con agua.

Vierta una o dos gotas de solución Lugol. Deje que reaccione durante 30 segundos. Lave con agua y seque con papel de filtro.

Vierta alcohol al 95% y deje que actúe durante 15 segundos. Enjuague con agua y seque con papel de filtro.

Vierta unas pocas gotas de solución de safranina y deje que actúe durante 10 segundos. Lave con agua y seque con papel de filtro.

Ponga en la muestra una gota de aceite de inmersión.

Con el objetivo de inmersión, observe a través del microscopio en campo claro.

Resultados:

Las lactobacterias quedan de color violeta o azul oscuro (grampositivo). Las acetobacterias quedan de color rojo (gramnegativo).

5.3 Prueba de catalasa para la diferenciación de las bacterias aisladas a partir de colonias (véase párrafo 6)*Objetivo:*

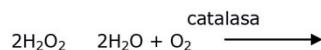
Con esta prueba se pretende distinguir entre las bacterias acéticas y las lácticas. Las levaduras y las acetobacterias tienen una reacción positiva, mientras que las lactobacterias ofrecen una respuesta negativa.

Comentarios

Cabe mencionar que la prueba de catalasa no es suficiente, dado que puede haber otras bacterias además de las lácticas y las acéticas.

Principio:

La prueba de catalasa se basa en la propiedad que tienen los microorganismos aeróbicos para descomponer el peróxido de hidrógeno liberando oxígeno:

*Reactivo:*

Doce volúmenes (3%) de solución de peróxido de hidrógeno

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Preparación: Ponga 10 ml de peróxido de hidrógeno al 30% en volumen en un matraz graduado de 100 ml y llene el resto con agua destilada recién hervida. Agite y guárdelo en la nevera en un matraz oscuro. La solución tiene que estar recién preparada.

Preparación:

Ponga una gota de peróxido de hidrógeno al 3% en volumen en un portaobjetos y añada una pequeña muestra de colonia joven. Si se libera gas, se puede concluir que el cultivo posee la actividad catalasa. A veces es difícil observar de inmediato la liberación del gas, sobre todo en colonias bacterianas. Por ello es aconsejable examinar el cultivo a través de un microscopio (objetivo x10).

5.4. Recuento de células de levadura – Hemocitometría

5.4.1 Campo de estudio

Determinación de la concentración de células de levadura en mostos o vinos en fermentación, y ADY (Active Dry Yeast, o levadura seca activa). Se requiere una elevada concentración de células: como mínimo, 5×10^6 células/ml. En los mostos o vinos en fermentación se puede hacer un recuento directo, la levadura seca activa se tiene que diluir 1.000 o 10.000 veces. Los mostos o vinos con menos células se deben centrifugar (3.000 g, 5 minutos) y el sedimento se puede volver a suspender en un volumen conocido.

5.4.2 Principio

Se coloca una gota de suspensión de células de levadura en la superficie de un portaobjetos con una cámara de recuento. Dicha cámara tiene un volumen definido y su superficie está subdividida en cuadrados. El recuento se realiza con un microscopio, en campo luminoso. Si las células están teñidas, no se indica el contraste de fase.

5.4.3 Reactivos y material

- Hemocitómetro, cámara doble, preferiblemente con pinzas: Bürker, Thoma, Malassez, Neubauer.
- Cubreobjetos del hemocitómetro: los cubreobjetos habituales (de 0,17 mm de ancho) no son aptos para este uso, porque son flexibles y no garantizan una regularidad del ancho de la cámara.
- Pipetas, puntas finas, volumen de 1 y 10 ml.
- Matraz aforado, 100 ml.
- Vaso de precipitados, 250 ml.

5.4.4 Instalaciones y equipos

- Microscopio con iluminación de campo brillante: aumento de 250-500 x. Está contraindicado el contraste de fases.
- Placa magnética y varilla agitadora.

Los hemocitómetros se pueden encontrar con diferentes cámaras de recuento: Bürker, Thoma, Malassez, Neubauer. Confirme la identidad y el volumen de la cámara que se va a usar. Las cámaras Bürker, Thoma y Neubauer tienen 0,1 mm de profundidad, la celda de Malassez 0,2 mm.

La cámara Thoma tiene un cuadrado central grande (1 mm^2), siendo su volumen $0,1 \text{ mm}^3$ (10^{-4} ml). Este cuadrado grande está subdividido en 16 cuadrados, subdivididos a su vez en 16 cuadrados pequeños. Los cuadrados pequeños tienen $0,05 \times 0,05 \text{ mm}$ de lado y $0,1 \text{ mm}$ de profundidad, por lo que el volumen de cada cuadrado pequeño es $0,00025 \text{ mm}^3$ ($25 \times 10^{-8} \text{ ml}$). También puede contar en los cuadrados medianos. Cada cuadrado mediano tiene 16 cuadrados pequeños, de $0,2 \text{ mm}$ de lado y un área de $0,04 \text{ mm}^2$ o un volumen de $4 \times 10^{-6} \text{ ml}$.

La cámara Bürker contiene 9 cuadrados grandes de 1 mm^2 de lado, divididos en 16 cuadrados medianos de $0,2 \text{ mm}$ de lado por líneas dobles con espacios entre ellas de $0,05 \text{ mm}$. La superficie de cada uno de los cuadrados medianos es de $0,04 \text{ mm}^2$ y el volumen de $0,004 \text{ mm}^3$. Los cuadros pequeños formados por líneas dobles tienen una superficie de $0,025 \text{ mm}^2$.

Los cuadrados grandes, medianos y pequeños de las cámaras Neubauer, Thoma y Bürker tienen el mismo tamaño. Los cuadrados medianos de la cámara Bürker no tienen otras líneas dentro; por ello son probablemente las más fáciles de contar.

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

5.4.5 Técnicas de examen

La cámara de recuento y el cubreobjetos tienen que estar limpios y secos antes del uso. Puede que haya que limpiar el área graduada, ya que la suciedad puede falsear el volumen de la muestra. Límpiela con agua desmineralizada o con etanol, y séquela con un papel suave.

Si hay que contar levadura floculante, el medio de suspensión tiene que ser 0,5% de ácido sulfúrico para evitar la floculación, aunque con ello se impide la posibilidad de la tinción con azul de metileno y el recuento de células viables y muertas. La puesta en suspensión puede realizarse por sonicación.

Ponga la muestra en el portaobjetos con una pipeta de punta fina, siguiendo uno de los dos siguientes procedimientos.

Procedimiento 1

Mezcle bien la suspensión de levadura. Si hay que diluir, haga diluciones decimales, como es habitual. Si va a teñir con azul de metileno, hágalo en la muestra más diluida y mezcle 1 ml de muestra con 1 ml de solución de azul de metileno.

Agite sin parar la suspensión de levadura. Tome una muestra con una pipeta de punta fina, expulse de 4 a 5 gotas de suspensión y coloque una pequeña gota de suspensión de levadura (diluida, en caso necesario) en cada una de las áreas graduadas del portaobjetos. Transcurridos 20 segundos, póngale encima el cubreobjetos y presione firmemente con las pinzas. El área de recuento deberá estar totalmente llena, pero no debería llegar nada de líquido al foso.

Procedimiento 2

Coloque el cubreobjetos rígido de forma que ambas cámaras de recuento queden cubiertas por igual. Use las pinzas para presionar el cubreobjetos contra las áreas de base hasta que aparezcan líneas iridiscentes (los anillos de Newton). Si no hay pinzas, no mueva el cubreobjetos cuando llene la cámara. Agite sin parar la suspensión de levadura. Tome una muestra con una pipeta de punta fina, expulse de 4 a 5 gotas de suspensión y deje que fluya una pequeña gota de muestra entre el hemocitómetro y el cubreobjetos. Haga lo mismo en la otra parte del portaobjetos. El área de recuento deberá estar totalmente llena, pero no debería llegar nada de líquido al foso.

Deje reposar durante tres minutos el portaobjetos preparado para que se asienten las células de levadura y, a continuación, colóquelo bajo el microscopio.

Cuente 10 cuadrados medianos en cada área graduada. Establezca un método para evitar contar dos veces el mismo cuadrado. Las células que toquen o queden sobre las líneas de limitación superior o de la derecha no se cuentan. Sólo se cuentan las que quedan sobre las líneas de limitación inferior o de la izquierda. Las células de levadura en germinación se cuentan como una célula si el brote es inferior a la mitad de la célula madre. Si no, se cuentan ambas células.

Para obtener unos recuentos precisos es aconsejable contar entre un total de 200 y 500 células de levadura de media. Los recuentos de ambos lados del portaobjetos deberán coincidir en un 10%. Si se usa una dilución, en el cálculo habrá que emplear el factor de dilución.

5.4.6 Expresión de los resultados

Siendo C el promedio de células contadas en un cuadrado medio de 0,2mm de lado, la población T total de la muestra es:

Expresada como células/ml $T = C \times 0,25 \times 10^6 \times \text{factor de dilución}$

Siendo C el promedio de células contadas en un cuadrado pequeño de 0,05mm de lado, la población de la muestra es:

Expresada como células/ml $T = C \times 4 \times 10^6 \times \text{factor de dilución}$

5.4.7 Referencias

European Brewery Convention. Analytica Microbiologica – EBC. Fachverlag Hans Carl, 2001

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

5.5 Recuento de células de levadura – tinción de células de levadura con azul de metileno

5.5.1 Campo de estudio

Este método permite estimar con rapidez el porcentaje de células viables de levadura no teñidas, ya que las células muertas están teñidas de azul. Este método se puede aplicar a todas las muestras que contengan levadura, excepto los mostos con más de 100 g/l de azúcar. Las bacterias son demasiado pequeñas y su tinción no es visible con este método.

Comentario: es necesario focalizar bien las células a diferentes profundidades para visualizar bien su tinción con el azul de metileno.

5.5.2 Principio

La actividad reductora de las células de levadura viables transforma el azul de metileno en su derivado incoloro. Las células de levadura muertas se tiñen de azul.

La viabilidad se calcula a partir del cociente entre el número de células viables y el número total de células. El método sobrestima la viabilidad "real" cuando hay menos del 80% de células viables porque no distingue entre células "vivas" y su capacidad para reproducirse (células viables pero no cultivables). Si la concentración de azúcar es superior a 100 g/l, la mayoría de las células son de color azul claro, por lo que no se recomienda este método.

Si el vino tiene un pH bajo y está muy tamponado, la levadura no podrá funcionar correctamente. En este caso hay que hacer el recuento como mínimo en la primera dilución decimal.

5.5.3 Reactivos y material

Solución A: Solución de agua destilada con azul de metileno, 0,1 g/500 ml.

Solución B: KH_2PO_4 , solución de agua destilada, 13,6 g/500 ml.

Solución C: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ solución de agua destilada, 2,4 g/100 ml

Solución D: 498,75 ml de solución B + 1.25 ml de solución C.

Solución E: Mezcle los 500 ml de solución D con 500 ml de solución A para obtener una solución de azul de metileno final tamponada, con un pH aproximado de 4,6.

5.5.4 Instalaciones y equipos

Microscopio, aumentos de 250 a 500 x. Está contraindicado el contraste de fases.

Portaobjetos y cubreobjetos, o hemocitómetro (cámara Thoma, Bürker o Neubauer).

Tubo de ensayo y varilla agitadora.

Pipetas, con punta fina.

5.5.5 Técnicas de examen

Determinación de la viabilidad

Diluya la suspensión de levadura con solución de azul de metileno en un tubo de ensayo hasta que la suspensión tenga aproximadamente 100 células de levadura en un campo microscópico. Coloque una pequeña gota de suspensión bien mezclada en un portaobjetos con su cubreobjetos. Examine microscópicamente con un aumento de 400 a los 10 minutos de contacto con la tintura.

Cuente un total de 400 células, anotando el número de células muertas, rotas, secas y en plasma. Las células de levadura germinadas se cuentan como una célula si el brote es inferior a la mitad de la célula madre. Si el brote es igual o superior a la mitad de la célula madre, se cuentan ambas. Las células teñidas de azul claro se considerarán vivas.

5.5.6 Expresión de los resultados

Siendo T el número total de células y C el número de células azules, el porcentaje de células viables

$$\text{será } \frac{T - C}{T} \times 100$$

5.5.7 Referencias

European Brewery Convention. Analytica Microbiologica – EBC. Fachverlag Hans Carl, 2001

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

6. RECUESTO DE MICROORGANISMOS POR CULTIVO

Objetivo:

Con el recuento de microorganismos por cultivo se pretende evaluar el nivel de contaminación de la muestra, esto es, estimar la cantidad de microorganismos cultivables. De acuerdo con el medio y con las condiciones de cultivo que se usen, se pueden contar cuatro tipos de microorganismos: levaduras, lactobacterias y acetobacterias y mohos.

Principio: El recuento por cultivo se basa en el hecho de que los microorganismos vivos son capaces de multiplicarse en medio nutritivo y en condiciones de incubación adecuadas para formar colonias en el medio solidificado por el agar, o turbidez en medio líquido. En medio agar, una célula produce por multiplicación un cúmulo de células visibles a la vista llamado colonia.

6.1 Detección, diferenciación y enumeración de microorganismos (recuento en placa).

6.1.1 Campo de estudio

Esta norma constituye una guía general para la enumeración de levaduras, mohos y bacterias lácticas y acéticas viables en mostos, mostos concentrados, mostos parcialmente fermentados, vinos (espumosos incluidos) durante su producción y después del embotellado contando las colonias crecidas en un medio sólido después de la incubación correspondiente. El objeto del análisis microbiológico es controlar el proceso de vinificación y evitar la alteración microbiana de mostos o vinos.

6.1.2 Términos y definiciones

Los términos "placa" y "caja de Petri" se usan como sinónimos.

UFC = Unidades Formadoras de Colonias.

6.1.3 Método

El número de microorganismos viables presentes en mostos y vinos se determina esparciendo un pequeño volumen conocido de muestra en la superficie de un medio de cultivo o añadiéndolo según el método de incorporación (ver sección 6.1.7.4) e incubando las placas durante el tiempo necesario en las mejores condiciones posibles para el crecimiento. Cada célula o agrupamiento celular se divide, se agrupa y se hace visible como una colonia. El número de colonias encontradas en la superficie de una placa equivale a las células presentes en la muestra original, por lo que los resultados aparecen como UFC (unidades formadoras de colonias). Si se supone que el número de células de una muestra es elevado, se realizan diluciones decimales seriales hasta obtener colonias de 10 a 300 células por placa. Si se supone que el número de UFC de una muestra va a ser bajo, se recogen sobre la superficie de un filtro estéril de 0,45 a 0,88 μm para las levaduras y 0,22 a 0,45 μm para las bacterias, que a continuación se coloca en la caja de Petri sobre la superficie de un medio de cultivo.

El rango de medición de este método oscila entre < 1 UFC/(volumen analizado) y 10^9 UFC/ml o 10^{10} UFC/g en la muestra original.

6.1.4 Reactivos y material

Tal como se indica en la sección 1 de la resolución, más:

- Tubos (de 16x160 mm o similar) con 9 ml de agua de peptona estéril (triptona: 1 g/l) u otros diluyentes que se suelen usar para la dilución de las muestras (Anexo 4). A continuación exponemos una serie orientativa de tubos necesarios para las siguientes muestras:

Mostos sin fermentar: 4 / muestra.

Mostos en fermentación: 7 / muestra.

Vinos almacenados: 2 / muestra.

- Puntas estériles de micropipetas: de 1 y 0,2 ml.

- Varillas de vidrio curvado en forma de L o de triángulo (asas de Digralsky) o esparcidoras de plástico.

- Cajas de Petri de 90 mm de diámetro (con 15-20 ml de medio de cultivo) (56 cm²) para la técnica de vertido en placa y cajas de 90 o 60 mm (con 6-8 ml de medio de cultivo) para la técnica de filtro de membrana, llenado con una antelación de 18 a 24 horas con 15 a 20 ml de medio de cultivo (se precisan cajas simples o duplicadas para cada muestra analizada):

- Para el recuento de levaduras se usará: YM, YEPD (extracto de levadura peptona dextrosa), agar nutriente WL (Wallerstein Laboratory), agar YM (levadura de malta) o agar TGY (levadura,

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

glucosa, triptona) o equivalente validado si se buscan levaduras sin *Saccharomyces* (Anexo 5 medios de cultivo).

- Para los recuentos de acetobacterias se usará: agar GYC (recuento de levadura de glucosa), G2 o medio Kneifel (Anexo 5 medios de cultivo) o equivalente validado.

- Para los recuentos de lactobacterias se usará: MRS más 20% de zumo de tomate (también de manzana o de uva), agar-ATB (medio para *Oenococcus oeni*), TJB más agar, medio Lafon-Lafourcade, medio 104 o agar-MTB (Anexo 5 medios de cultivo) o equivalente validado.

- Para los recuentos de hongos filamentosos se usará agar modificado Czapek-Dox, agar-DRBC o MEA agregado con tetraciclina (100 mg/l) y estreptomina (100 mg/l). (Anexo 5 medios de cultivo) o equivalente validado.

- Como todos los microorganismos se encuentran juntos en el vino, para hacer un recuento selectivo hay que agregar antibiótico (ver anexo I, medio de cultivo).

6.1.5 Instalaciones y equipos

Tal como se indica en la sección 2 de la resolución.

6.1.6 Muestreo

Tal como se indica en la sección 3 de la resolución.

Para el recuento de placas se necesitan las siguientes cantidades de muestras:

Mosto, mosto en fermentación o vino almacenado: no menos de 250 ml;
Vino embotellado o envasado: no menos de una unidad, sea cual sea su capacidad;

6.1.7 Técnicas de examen

6.1.7.1 Requisitos previos

Todo el material y todos los equipos que se usen en los ensayos deben ser estériles. Todas las operaciones se deberán realizar en condiciones asépticas.

Ponga en marcha la campana de flujo laminar 5 minutos antes de empezar el trabajo para tener un flujo de aire estable y estéril.

6.1.7.2 Esterilización

El medio de cultivo se tiene que esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos como mínimo (20 minutos cuando son grandes volúmenes). Los materiales estériles de un solo uso y el equipo de vidrio se tienen que abrir y usar en la campana de flujo laminar. Sumerja en etanol y flamee las pinzas y el instrumental de esparcimiento antes de usarlos. Los embudos de acero inoxidable se deben flamear con etanol después de cada uso, mientras que los de vidrio y policarbonato hay que meterlos en autoclave antes de cada uso, por lo que de estos últimos tiene que haber el mismo número que muestras de ensayo.

6.1.7.3 Dilución de las muestras (Anexo 1)

Se pipetea un mililitro de muestra en un tubo estéril con 9 ml de agua de peptona. Agite el tubo durante 20 segundos mediante un agitador "Vortex". Esta es la primera dilución (decimal), de la cual se trasvasa 1 ml al siguiente tubo estéril con 9 ml de agua de peptona, consiguiéndose así la segunda dilución. Después de agitar durante 20 segundos, repita la operación las veces que sean necesarias.

A continuación exponemos el número orientativo de diluciones en serie necesarias para las siguientes muestras:

Mostos sin fermentar:	4 diluciones decimales.
Mostos en fermentación:	7 diluciones decimales.
Vinos sin filtrar durante el envejecimiento (recuentos de levadura):	2 diluciones decimales.
Vinos sin filtrar durante el envejecimiento (recuentos de lactobacterias):	6 diluciones decimales.
Vinos filtrados o envasados (embotellados)	Sin dilución.
Mostos concentrados	Diluya 10ml en 100ml de agua de peptona (o 100ml en 1.000ml).

El vino embotellado o filtrado y los mostos concentrados se analizan después de diluirlo en agua de peptona con la técnica de filtro de membrana después de diluirlos en agua de peptona.

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

6.1.7.4 Preparación de placas

Se preparan las diluciones en serie necesarias para las muestras que se van a colocar en placas. Se pueden preparar varias diluciones en serie si hay que colocar muchas muestras en placa, pero cualquiera de ellas tiene que estar en la placa durante los siguientes 20 minutos.

Inocule de la forma siguiente cada placa con 0,1 o 0,2 ml de las tres diluciones más bajas que haya preparado:

Mostos sin fermentar	diluciones -2; -3; -4.
Mostos en fermentación	diluciones -5; -6; -7.
Vinos sin filtrar durante el envejecimiento	diluciones 0; -1; -2.

En caso de duda, inocule un número mayor de diluciones, nunca menor.

En condiciones asépticas (preferentemente en campana de flujo laminar) esparza la muestra en la superficie del medio de cultivo antes de que se absorba el líquido (normalmente en 1-2 minutos) con una varilla de vidrio curvado estéril (asa de Digrafsky) o con una varilla de un solo uso. Para cada placa hay que usar una "asa de Digrafsky" nueva, o la placa se deberá esparcir empezando con la muestra más diluida y seguir con las menos diluidas. Deje las placas unos minutos bajo el flujo de aire estéril hasta que se absorba el líquido.

Nota 1: El hecho de colocar en placa 0,2 ml en lugar de 0,1 ml, tal como se dice con frecuencia, permite un esparcido más rápido y duradero. En los cálculos habrá que considerarlo.

Nota 2: Para contar las levaduras, el crecimiento bacteriano se inhibe añadiendo 50 mg/l de cloranfenicol (o equivalente validado) al medio estéril, después de haberlo tenido en autoclave, y el de mohos se evita añadiendo 150mg/l de bifenilo (o equivalente validado).

Nota 3: Para contar las lactobacterias, el crecimiento de las levaduras se inhibe añadiendo natamicina (pimaricina) (0,1 g/l) (o equivalente validado), y el crecimiento de las acetobacterias se inhibe mediante incubación anaeróbica.

Nota 4: Para contar las acetobacterias, el crecimiento de las levaduras se inhibe añadiendo natamicina (pimaricina) (0,1 g/l) (o equivalente validado) y de las lactobacterias se inhibe con penicilina (12,5 mg/l) (o equivalente validado).

Los antibióticos se añaden después de la esterilización en autoclave.

Si se realiza un estudio concreto de levaduras distintas de la *Saccharomyces*, inocule tal como se describe anteriormente tres placas de agar lisina y tres placas de agar diferencial WL con las diluciones correspondientes

- Método de incorporación (método alternativo).

Prepare y esterilice 15 ml de medio en tubos, y manténgalos en un baño María (o equivalente validado) a 47 ± 1 °C.

Vierta 1 ml de muestra o dilución en una caja de Petri.

Añada 15 ml de medio de cultivo y agite suavemente la caja de Petri hasta obtener una distribución homogénea de microorganismos dentro de la masa del medio.

Deje que se enfríe y se solidifique colocando las cajas de Petri sobre una superficie horizontal fría (el tiempo de solidificación del agar no deberá superar los 10 minutos).

6.1.7.5 Recuento con concentración por filtración con membrana

La porosidad de la membrana tiene que ser de 0,45 ó 0,8 μm para el recuento de levaduras y de 0,2 ó 0,45 μm para el de bacterias. La superficie de la membrana tiene que estar preferentemente cuadrículada para facilitar el recuento de la colonia.

Las placas sobre las que se colocan las membranas pueden tener medio nutritivo agar o una gasa en la que se esparce el medio seco (la gasa se moja en agua estéril justo antes del uso). Algunos fabricantes venden placas estériles con una gasa estéril en la que se vierte el contenido de 2 ml de medio líquido estéril de un solo uso justo antes de empezar a usarlas.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Monte el equipo de filtración en condiciones asépticas y conéctelo al sistema que permitirá realizar el vacío.

Sumerja las pinzas en etanol y fláméelas: cuando se haya extinguido la llama, espere algunos segundos y ponga la membrana con las pinzas en su soporte del equipo de filtración.

Antes de abrir la botella, agítela bien. Sumerja en etanol (1-2 cm) el cuello de la botella cabeza abajo y fláméela para esterilizarla.

Extraiga tres cantidades de cada muestra: 10 ml con una pipeta estéril de 10 ml, 100 ml con una probeta cilíndrica estéril de 100 ml y el resto directamente de la botella si aplica. Para filtrar, vierta el vino en el embudo y active el vacío.

Cuando haya filtrado la cantidad deseada de vino, rompa el vacío, flamee las pinzas, abra el embudo, sujete la membrana con las pinzas, ponga su borde opuesto en el medio sólido de una placa y haga que se adhiera a la superficie del medio, evitando que se formen burbujas debajo.

6.1.7.6 Incubación de muestras

Incube las placas, cabeza abajo, en entorno aerobio, para las levaduras o para las acetobacterias, durante 4 días a 25 ± 2 °C para las levaduras y las acetobacterias. Si la temperatura es < 23 °C, prolongue la incubación un día más. Si es < 20 °C, prolonguela tres días más. La temperatura máxima no puede exceder los 28°C.

En caso de hacer recuentos de levaduras *Brettanomyces* (o *Dekkera*), duplique el tiempo de incubación.

Si se hace un recuento de lactobacterias (LAB), coloque las placas en un frasco o bolsa anaerobia e incube las placas cabeza abajo durante 10 días a 30 ± 2 °C. Si la temperatura es < 28 °C, prolongue la incubación un día más. Si es < 25 °C, prolonguela tres días más. La temperatura máxima no puede exceder los 33°C.

6.1.8 Expresión de los resultados

6.1.8.1 Recuento de colonias de levaduras y bacterias.

Cuente las colonias crecidas en 4 días para las levaduras y las acetobacterias (8 días para levaduras *Brettanomyces/Dekkera*), y 10 días para las lactobacterias. Si fuera necesario, sírvase de un contador de colonias, ignorando las diferentes morfologías de las colonias si va a realizar un recuento total de levaduras, o teniéndolas en cuenta si así lo requiere.

Los medios y las condiciones de incubación son suficientemente específicos para que las colonias visibles a la vista permitan el recuento de los diferentes tipos de microorganismos.

6.1.8.2 Cálculo de resultados.

Los resultados más fiables se obtienen contando placas que contengan entre 10 y 300 colonias [ISO 7218:2007 - Microbiology of food and animal feeding stuffs (Microbiología de alimentos y piensos) - General rules for microbiological examinations (Reglas generales para análisis microbiológicos)].

Calcule el número N de microorganismos presentes en la muestra como una media ponderada de las dos diluciones decimales siguientes usando la siguiente ecuación:

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d}$$

siendo:

$\sum C$ la suma de colonias contadas en las dos cajas seleccionadas de las dos diluciones decimales sucesivas, con una de ellas conteniendo 10 colonias como mínimo.

V es el volumen del inóculo colocado en cada caja, en milímetros.

d es la dilución correspondiente a la primera dilución seleccionada [d=1 cuando se selecciona el producto líquido no diluido (muestra de ensayo)].

En otras palabras, si las placas de dos diluciones decimales consecutivas contienen de 10 a 300 colonias, calcule el número de UFC/ml de cada dilución y haga la media de los dos valores: éste será el valor

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

UFC/ml de la muestra. Si uno de los valores es superior al doble del otro, conserve el inferior como UFC/ml.

Redondee los resultados hasta dos dígitos significativos sólo en el momento de la conversión a UFC/ml, y exprese los resultados como un número entre 1,0 y 9,9 multiplicado por la potencia correspondiente de 10 [ISO 7218: 2007 - Microbiology of food and animal feeding stuffs (Microbiología de alimentos y piensos) - General rules for microbiological examinations (Reglas generales para exámenes microbiológicos)].

Si las muestras se inocularon en series duplicadas y una o dos placas inoculadas con la misma dilución contienen colonias, calcule el promedio de colonias y multiplíquelo por el recíproco del factor de dilución para obtener el número de UFC/ml.

Si no hay placas que contengan de 10 a 300 colonias y todas las placas contienen más de 300 colonias, cuente las menos pobladas. Si contienen menos de 10 colonias/cm², cuente 12 cuadros de 1 cm² y multiplique la media por 56 (el área de una placa de 90mm de diámetro); si las colonias están más pobladas, cuente 4 cuadros de 1 cm² y multiplique la media por 56. Exprese los resultados como "UFC/ml estimadas". No exprese los resultados como TNTC (Too numerous to count, demasiado numerosos para el recuento) siempre que sea posible.

Si las únicas placas con colonias tienen menos de 10 colonias, pero 4 como mínimo, calcule los resultados tal como se expone en el caso general y expréselos como "UFC/ml estimadas".

Si el total es de 3 a 1, la precisión del resultado es demasiado baja, por lo que el resultado se expresará como "(los microorganismos estudiados) están presentes, pero menos de 4 × d UFC/ml".

Si las placas de todas las diluciones de cualquier muestra no tienen colonias, ponga los resultados como "menos de 1/d UFC/ml", pero considere la posible presencia de inhibidores en la muestra.

Cuando emplee la técnica de filtración con membrana, exprese los resultados de la cantidad de líquido filtrado, por ejemplo, UFC/botella, UFC/100 ml, o UFC/10ml.

6.1.9 Incertidumbre de la medición

6.1.9.1 Criterios para el control de los resultados.

Para cada lote de medio se usa una placa como control de esterilidad después de la esterilización. Una placa de cada medio de cultivo usado durante los ensayos se deja abierta en la campana de flujo laminar durante todas las operaciones, a modo de control de esterilidad del entorno de trabajo. Dicha placa se incubará como las inoculadas.

Una muestra se inocula periódicamente por duplicado y la constante experimental K_p se calcula con la siguiente ecuación:

$$K_p = \frac{|C_1 - C_2|}{\sqrt{C_1 + C_2}}$$

siendo C_1 y C_2 los resultados de los dos recuentos.

Si $K_p < 1,96 \approx 2,0$, los resultados son aceptables: la media de los dos recuentos se puede usar como resultado.

Si $2,0 < K_p \leq 2,576 \approx 2,6$, la diferencia de los dos recuentos es crítica, y se tiene que evaluar con cuidado antes de aceptar los resultados como la media de los dos recuentos.

Si $K_p > 2,6$, la diferencia entre los dos recuentos es anómala. El resultado se rechaza y hay que repetir el ensayo. En tal caso, la persona responsable del laboratorio deberá examinar todos los resultados obtenidos después de los últimos aceptables.

6.1.9.2 Incertidumbre de la medición

Si el número de colonias contadas en la placa de recuento es inferior a 10, el resultado es aceptable, pero la población de colonias se considera que sigue la distribución de Poisson. El nivel de confianza de 95% y, en consecuencia, la incertidumbre de medición del recuento estimado realizado en una sola caja de Petri, se consignan en la tabla siguiente.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Número de colonias	Límite de confianza en un nivel de 95%		Error porcentual del límite *	
	Inferior	Superior	Inferior	Superior
1	<1	6	-97	457
2	<1	7	-88	261
3	<1	9	-79	192
4	1	10	-73	156
5	2	12	-68	133
6	2	13	-63	118
7	3	14	-60	106
8	3	16	-57	97
9	4	17	-54	90
10	5	18	-52	84
11	6	20	-50	79
12	6	21	-48	75
13	7	22	-47	71
14	8	24	-45	68
15	8	25	-44	65

*Comparado con el recuento de microorganismos (1ª columna)

Si el recuento de la colonia es >10, el límite de confianza con un nivel de probabilidad p se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$C = C_i \pm K_p \sqrt{C_i}$$

siendo C_i el número de colonias de la placa, y K_p el factor de cobertura. El factor de cobertura es normalmente 2 o 1,96. El valor C se calcula para cada placa y se multiplica por el número de diluciones junto con el resultado del recuento.

6.2. Cultivo en medio líquido - "Most Probable Number" (MPN, número más probable).

6.2.1 Objetivo

El objeto de esta técnica es evaluar el número de microorganismos viables en el vino con alto contenido de partículas sólidas en suspensión o una elevada incidencia de obstrucción.

6.2.2 Principio

Esta técnica se basa en la estimación del número de microorganismos viables en un medio líquido, empezando por el principio de su distribución normal en la muestra.

6.2.3 Diluyentes y medios de cultivo líquidos (Anexos 4 y 5)

6.2.4 Preparación

Se preparan varias diluciones cuantitativas y sucesivas y, a continuación, después de la incubación, una determinada porción de los ensayos no llevará a ningún crecimiento (ensayos negativos), mientras que otros ensayos empezarán a crecer (ensayos positivos). Si la muestra y las diluciones son homogéneas, y si el número de diluciones es lo suficientemente alto, los resultados se pueden tratar estadísticamente, usando las correspondientes tablas (basadas en los cálculos probabilísticos de McCrady) y extrapolar este resultado a la muestra inicial.

6.2.5 Preparación de las diluciones

Empezando con una muestra de vino homogeneizado, prepare una serie de diluciones decimales ($1/10$) en el diluyente.

Tome 1 ml de vino y agréguelo a 9 ml del diluyente en el primer tubo. Homogenice. Tome 1 ml de esta dilución para agregar 9 ml del diluyente en el segundo tubo. Prosiga con este protocolo de dilución hasta la última dilución adecuada de acuerdo con la supuesta población microbiana. Use para cada dilución pipetas esterilizadas. Las diluciones se tienen que hacer hasta la extinción, por ejemplo, hasta la ausencia de desarrollo en las diluciones más bajas (Anexo 2).

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

6.2.6 Preparación de las inoculaciones

Inocule 1 ml de vino y 1 ml de cada una de las diluciones preparadas, mezcladas al mismo tiempo en 3 tubos respectivamente con el medio de cultivo correspondiente (*Anexo 5*). Mezcle bien.

Meta los tubos inoculados en la incubadora a 25°C en el caso de las levaduras (de 3 a 10 días) en condiciones aerobias, y en el caso de lactobacterias, en condiciones anaerobias o microaerófilas (de 8 a 10 días), haciendo observaciones periódicas hasta el último día de la incubación.

6.2.7 Resultados

Todos los tubos que muestren un desarrollo microbiano que lleve a la formación de depósito blanquecino, más o menos evidente, o con una alteración más o menos marcada, se considerarán positivos. Los resultados se tienen que confirmar observando con el microscopio. Especifique el periodo de incubación.

La lectura de los tubos se realiza anotando el número positivo o negativo de tubos de cada combinación de tres tubos (en cada dilución). Así, por ejemplo, "3-1-0" significa: 3 tubos positivos en la dilución 10^0 (vino), 1 en la dilución 10^{-1} y cero en la dilución 10^{-2} .

Cuando hay más de tres diluciones, sólo serán significativos tres de estos resultados. Para seleccionar los resultados que lleven a determinar el "MPN" (número más probable), hay que determinar el "número típico" de acuerdo con los ejemplos de la tabla siguiente:

Tabla

Número de tubos positivos para cada dilución						Número típico
<i>Ejemplo</i>	10	10	10	10	10	
a	3	3	3	1	0	3-1-0
a	3	3	2	0	0	3-2-0
a	3	2	1	0	0	3-2-1
a	3	2	1	0	0	3-0-1
a	3	0	1	0	0	3-2-3
b	3	2	2	1	0	3-2-3
b	3	2	1	1	0	3-2-2
c	2	2	2	2	0	2-2-2
d	0	1	0	0	0	0-1-0

Ejemplo a : tomar la dilución más grande para la cual todos los tubos son positivos y las dos siguientes.
 Ejemplo b : si se nota un resultado positivo para una disolución más grande que la última así elegida, es necesario agregarla a ésta.
 Ejemplo c : si ninguna dilución proporciona tres tubos positivos, tomar las disoluciones correspondientes a los últimos tres tubos positivos.
 Ejemplo d : casos en los que el número de tubos positivos es muy reducido, elegir el número característico de manera que la disolución positiva ocupe el rango de las decenas.

Adaptado de Bourgeois, C.M. et Malcoste, R. *in* : Bourgeois, C.M. et Leveau, J.Y. (1991).

Cálculo del número más probable (MPN)

Teniendo en cuenta el número típico obtenido, el MPN se determina con la tabla A (*Anexo 3*) que se basa en los cálculos probabilísticos de McCrady, considerando la dilución realizada. Si la serie de dilución es 10^0 ; 10^{-1} ; 10^{-2} , la lectura es directa. Si la serie de dilución es 10^1 ; 10^0 ; 10^{-1} , la lectura es 0,1 veces este valor. Si la serie de dilución es 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} , la lectura es 10 veces este valor.

Comentario:

Si hay que aumentar la sensibilidad, se puede usar una concentración del vino de 10^1 . Para obtener esta concentración de microorganismos en 1 ml, centrifugue 10 ml de vino y tome 1 ml de depósito (después de haber tomado 9 ml de líquido en exceso) e inocule de acuerdo con el método anteriormente descrito.

*Certificado conforme
 Tbilisi, 25 de junio de 2010
 El Director General de la OIV
 Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

6.2.8 Expresión de los resultados

El contenido en microorganismos del vino se tiene que expresar en células por ml, en notación científica, con una posición decimal. Si el contenido es inferior a 1,0 células por ml, el resultado se tiene que presentar como "<1,0 células por/ml".

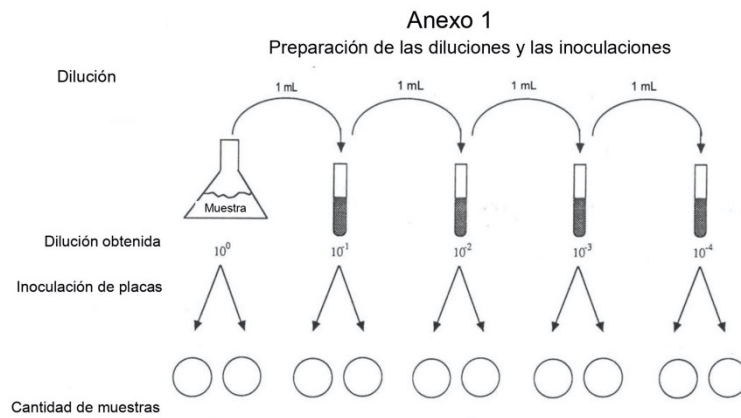
(ver anexos de las páginas siguientes)

7. BIBLIOGRAFÍA

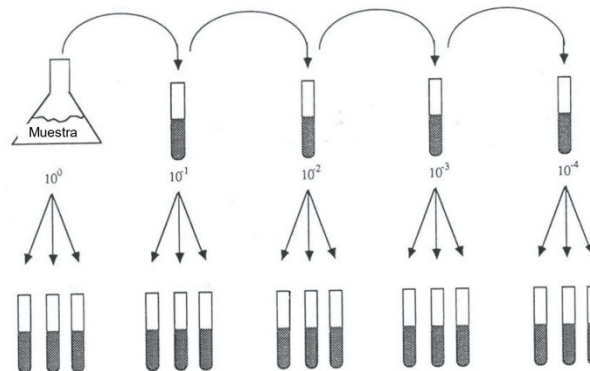
- ISO 4833:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal medium for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30°C.
- ISO 7218:2007 - Microbiology of food and animal feeding stuff - General rules for microbiological examinations.
- ISO 7667:1983. Microbiology - Standard layout for methods of microbiological examination.
- Pallman, C., J. B. Brown, T. L. Olineka, L. Cocolin, D. R. Mills and L. F. Bisson. 2001. Use of WL medium to profile native flora fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 52:198-203;
- A. Cavazza, M. S. Grando, C. Zini, 1992. Rilevazione della flora microbica di mosti e vini. *Vignevini*, 9-1992 17-20.- ANDREWS, W. et MESSER, J. (1990). Microbiological Methods. in : AOAC Official Methods of Analysis, 15th edition, 1, 425-497, Association of Analytical Chemist, Washington.
- BIDAN, P. (1992). Analyses Microbiologiques du Vin. F.V. O.I.V. n° 910, Paris.
- BOURGEOIS, C.M. et LEVEAU, J.Y. (1991). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires, 2ème édition, 3. Le Contrôle Microbiologique Lavoisier, Tec. & Doc., APRIA Ed. Paris.
- CARR, J. G. (1959). Acetic acid bacteria in ciders. *Ann. Rep. Long Ashton Res. Sta.*, 160.
- DE MAN, J. C. (1975). The probability of most probable number. *European Journal of Applied Microbiology*, 1, 67-78.
- LAFON-LAFOURCADE, S. et al. (1980). Quelques observations sur la formation d'acide acétique par les bactéries lactiques. *Conn. Vigne Vin*, 14, 3, 183-194.
- MAUGENET, J. (1962). Les Acétobacter du cidre. Identification de quelques souches. *An. Technol. Agric.*, 11, 1, 45-53.
- PLARIDIS et LAFON-LAFOURCADE, S. (1983). Contrôle microbiologique des vins. *Bull. O.I.V.*, 618, 433-437, Paris.
- RIBÉREAU-GAYON, J. et PEYNAUD, E. (2004). *Traité d'Oenologie*, Tome 2, Librairie Polytechnique CH. Béranger, Paris et Liège.
- Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water (1976). 14th edition, American Public Health Association, Incorporated, New York.
- Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water (1985). 16th edition, American Public Health Association, DC 20005, Washington.
- VAZ OLIVEIRA, M., BARROS, P. et LOUREIRO, V. (1995). Analyse microbiologique du vin. Technique des tubes multiples pour l'énumération de micro-organismes dans les vins - "Nombre le plus probable" (NPP), F.V. O.I.V. n° 987, Paris.
- VAZ OLIVEIRA, M. et LOUREIRO, V. (1993). L'énumération de micro-organismes dans les vins ayant un indice de colmatage élevé, Compte rendu des travaux du groupe d'experts "Microbiologie du Vin" de l'O.I.V., 12ème session, annexe 2, Paris.
- VAZ OLIVEIRA, M. et LOUREIRO, V. (1993). L'énumération de micro-organismes dans les vins ayant un indice de colmatage élevé, 2ème partie, Doc. Travail du groupe d'experts "Microbiologie du Vin" de l'O.I.V., 13ème session, Paris.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI



Anexo 2:
Preparación de las diluciones y las inoculaciones



*Certificado conforme
blisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Anexo 3

TABLA A
«Número más probable» (MPN) para 1 ml de muestra utilizando 3 tubos
con 1 ml, 0,1 ml y 0,01 ml

Tubos positivos				Tubos positivos				Tubos positivos			
1 ml	0,1 ml	0,01 ml	MPN 1 ml	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	MPN 1 ml	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	MPN 1 ml
0	0	0	0,0	2	0	2	2,0	1	1	1	7,5
0	0	1	0,3	2	1	0	1,5	3	1	2	11,5
0	1	0	0,3	2	1	1	2,0	3	1	3	16,0
0	1	1	0,6	2	1	2	3,0	3	2	0	9,5
0	2	0	0,6	2	2	0	2,0	3	2	1	15,0
1	0	0	0,4	2	2	1	3,0	3	2	2	20,0
1	0	1	0,7	2	2	2	3,5	3	2	3	30,0
1	0	2	1,1	2	2	3	4,0	3	3	0	25,0
1	1	0	0,7	2	3	0	3,0	3	3	1	45,0
1	1	1	1,1	2	3	1	3,5	3	3	2	110,0
1	2	0	1,1	2	3	2	4,0	3	3	3	>140,0
1	2	1	1,5	3	0	0	2,5				
1	3	0	1,6	3	0	1	4,0				
2	0	0	0,9	3	0	2	6,5				
2	0	1	1,4	3	1	0	4,5				

Adaptado de "Métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales" (1976)

Anexo 4**Diluyentes:**

Los diluyentes se indican a modo de ejemplo. El agua que se use tiene que ser destilada, doble destilada o desionizada, sin trazas de metales, inhibidores y demás sustancias antimicrobianas.

1. Agua fisiológica

Preparación: Pese 8,5g de cloruro de sodio en un matraz aforado de 1.000 ml. Cuando se haya disuelto en el agua, ajuste el volumen de referencia. Mezcle bien. Filtre. Distribuya 9 ml en tubos de ensayo. Tape con algodón cardado y meta en autoclave durante 20 min. a 121°C.

2. Solución de Ringer 1/4

Preparación: Pese 2,250g de cloruro de sodio, 0,105g de cloruro de potasio, 0,120g de cloruro de calcio (CaCl₂.6H₂O) y 0,050g de carbonato ácido de sodio en un matraz aforado de 1.000 ml. Cuando se haya disuelto en el agua, aumente hasta la marca. Mezcle bien. Distribuya 9 ml en tubos de ensayo. Tape con algodón cardado y meta en autoclave durante 15 min. a 121°C. (Esta solución se vende en los comercios)

3. Agua peptona

Preparación: Pese 1g de peptona en un matraz aforado de 1.000 ml. Cuando se haya disuelto en el agua, ajuste el volumen de referencia. Mezcle bien. Distribuya 9 ml en tubos de ensayo. Tape con algodón cardado y meta en autoclave durante 20 min. a 121°C.

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Anexo 5

Medio de cultivo

El medio de cultivo y los antimicrobianos se indican a modo de ejemplo.

El agua que se use tiene que ser destilada, doble destilada o desionizada, sin trazas de metales, inhibidores y demás sustancias antimicrobianas.

1. Medio de cultivo sólido

Si no se dice lo contrario, se deberá ajustar el pH de todos los medios a 5,5 -6,0

1 MEDIO PARA EL RECuento DE LEVADURAS**1.1 YM (levadura de malta)**

Glucosa	50 g
Peptona	5 g
Extracto de levadura	3 g
Extracto de malta	3 g
Agar-agar	20 g
Ponga agua hasta	1.000 ml

Si fuera necesario, agregue 100 mg de cloranfenicol para inhibir el crecimiento bacteriano y 150 mg de bifenilo para evitar el crecimiento de mohos.

1.2 YEPD (extracto de levadura peptona dextrosa)

Glucosa	20 g
Peptona	20 g
Extracto de levadura	10 g
Agar-agar	20 g
Ponga agua hasta	1000 ml

Si fuera necesario, agregue 100 mg de cloranfenicol para inhibir el crecimiento bacteriano y 150 mg de bifenilo para evitar el crecimiento de mohos.

1.3 Agar nutriente WL (Wallerstein Laboratory)

Glucosa	50 g
Peptona	5 g
Extracto de levadura	4 g
Fosfato dihidrógeno potásico (KH ₂ PO ₄)	0,55 g
Cloruro potásico (KCl)	0,425 g
Cloruro cálcico (CaCl ₂)	0,125 g
Sulfato de magnesio (MgSO ₄)	0,125 g
Cloruro férrico (FeCl ₃)	0,0025 g
Sulfito de manganeso (MnSO ₄)	0,0025 g
Verde de bromocresol	0,022 g
Agar bacteriológico	12 g
Ponga agua hasta	1.000 ml
pH	5,5

El agar diferencial WL se consigue agregando 4 mg/l de cicloheximida a agar nutriente WL.

Si fuera necesario, añada 100 mg de cloranfenicol para inhibir el crecimiento bacteriano.

1.4 Agar lisina ASBC

Solución A:

Levadura con carbón	2,35 g
Ponga agua hasta	100 ml

Esterilice por filtración con membrana.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Solución B:

Lisina HCl	0,5 g
Agar agar	4 g
Ponga agua hasta	100 ml

Esterilice durante 20 minutos a 121 °C.

Si fuera necesario, añada 100 mg de cloranfenicol para inhibir el crecimiento bacteriano.

2 MEDIO PARA EL RECuento DE LACTOBACTERIAS

2.1 M.R.S. + zumo de tomate (o de manzana).

Glucosa	20 g
Peptona	10 g
Extracto de vacuno	8 g
Extracto de levadura	4 g
Fosfato dihidrógeno potásico (KH ₂ PO ₄)	2 g
Acetato de sodio · 3H ₂ O	5 g
Citrato de amonio	2 g
Sulfato de magnesio · 6H ₂ O	0,2 g
Sulfato de manganeso · 4H ₂ O	0,05 g
"Tween 80"	1 ml
Agar agar	12 g
Zumo de tomate (también de manzana o de uva)	200 ml
Ponga agua hasta	1.000 ml
Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.	

2.2 Agar con zumo de tomate

Zumo de tomate (extracto seco de 400 ml)	20 g
Peptona	10 g
Leche peptonizada	10 g
Agar-agar	14 g
Ponga agua hasta	1.000 ml
pH	6,1
Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.	

2.3 Medio ATB modificado o medio *Oenococcus oeni* (antes *Leuconostoc oenos*).

Solución A:

Glucosa	10 g
Extracto de levadura	5 g
Peptona	10 g
Sulfato de magnesio	0,2 g
Sulfato de manganeso	0,050 g
Zumo de tomate (o también de manzana o de uva)	250 ml
Agar agar	12 g
Agua	750 ml

Esterilice en autoclave durante 20 minutos a 121°C.

Solución B:

Cisteína HCl	1 g
Ponga agua hasta	100 ml
pH	4,8

Certificado conforme
Tiblisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

Esterilice por filtración con membrana.

Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, justo antes del uso.

Añada 1 ml de la solución B a 20 ml de la solución A en el momento del uso

2.4 Medio Lafon-Lafourcade

Glucosa	20 g
Extracto de levadura	5 g
Extracto de vacuno	10 g
Peptona	10 g
Acetato de sodio	5 g
Citrato de triamonio	2 g
Sulfato de magnesio · 6H ₂ O	0,2 g
Sulfato de manganeso · 4H ₂ O	0,05 g
"Tween 80"	1 ml
Agar-agar	20 g
Ponga agua hasta	1.000 ml
pH	5,4

Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.

2.5 Medio Dubois (medio 104)

Zumo de tomate	250 ml
Extracto de levadura	5 g
Peptona	5 g
Ácido málico	3 g
Sulfato de magnesio · 6H ₂ O	0,05 g
Sulfato de manganeso · 4H ₂ O	0,05 g
Agar-agar	20 g
Ponga agua hasta	1.000 ml
pH	4,8

Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.

2.6 MTb.

Glucosa	15 g
Extracto de vacuno en polvo Lab-Lemco (Oxoid)	8 g
Caseína hidrolizada	1 g
Extracto de levadura	5 g
Zumo de tomate	20 ml
Acetato de sodio	3 g
Citrato de amonio	2 g
Ácido málico	6 g
Sulfato de magnesio	0,2 g
Sulfato de manganeso	0,035 g
"Tween 80"	1 mg
Vitaminas TC Minimal Eagle, 100x (BD-Difco)	10 ml*
pH (con KOH)	5,0
Ponga agua hasta	1.000 ml

* añadir tras esterilización.

Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

3 MEDIO PARA EL RECuento DE ACETOBACTERIAS

3.1 GYC (recuento de levadura de glucosa)

Glucosa	50 g
Extracto de levadura	10 g
Carbonato de calcio (CaCO ₃)	30 g

Agar 25 g

Ponga agua hasta 1.000 ml

Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, y 12,5 mg/l de penicilina para eliminar el crecimiento de las lactobacterias. después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.

3.2 Medio G2

Extracto de levadura	1,2 g
Fosfato de amonio	2 g
Zumo de manzana	500 ml
Agar	20 g
Ponga agua hasta	1.000 ml
pH	5,0

Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina), y 12,5 mg/l de penicilina para eliminar el crecimiento de las lactobacterias. para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.

3.3 Medio Kneifel

Extracto de levadura	30 g
Etanol	20 ml*
Agar	20 g
Verde de bromocresol 2,2%	1ml
Ponga agua hasta	1.000 ml

* para añadir tras la esterilización.

Agregue 100mg/l de natamicina (pimaricina), y 12,5 mg/l de penicilina para eliminar el crecimiento de las lactobacterias. para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso.

Colonias azules: *Acetobácter*, *Gluconacetobácter*

Colonias verdes: *Gluconobácter*

4 MEDIO PARA EL RECuento DE MOHOS

4.1 Agar modificado Czapek-Dox

Sucrosa	30 g
NaNO ₃	3 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄	0,5 g
KCl	0,5 g
FeSO ₄	0,01g
Agar	15 g
pH final (a 25 °C)	7,3 ± 0,2

Agregue 10 mg/l de cicloheximida para inhibir el crecimiento de levaduras (el crecimiento de levaduras resistentes a la cicloheximida es por lo general más lento que el crecimiento del moho).

Nota: Este medio sólo permite el crecimiento de mohos resistentes a los nitratos.

Agregue tetraciclina (100 mg/l) y estreptomycin (100 mg/l) para inhibir el crecimiento de bacterias.

*Certificado conforme
Tiblisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

4.2 Agar Rosa Bengala + Cloranfenicol + Diclorán (DRBC Agar)

Glucosa	10 g
Peptona	5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄	0,5 g
Rosa Bengala	0,025 g
Diclorán (2,6 dicloro-4-nitroanilina)	0,002g
Solución de cloranfenicol (0,1 g/10ml)*	10 ml
Agar	15 g
pH final (a 25 °C)	5,6 ± 0,2

* Se añadirá tras la esterilización.

4.3 Agar extracto de malta (MEA)

Glucosa	20 g
Extracto de malta	20 g
Peptona	5 g
Agar	15 g
pH final (a 25 °C)	5,5 ± 0,2

Agregue tetraciclina (100 mg/l) y estreptomina (100 mg/l) para inhibir el crecimiento de bacterias.

2. Medio de cultivo líquido

2.1. Para levaduras

Medio YEPD (extracto de levadura peptona dextrosa) + cloranfenicol

Preparación: Pese 10,0g de extracto de levadura (Difco o equivalente), 20g de peptona, 20g de glucosa y 100 mg de cloranfenicol. Disuelva, aumente el volumen hasta 1.000 ml con agua y mezcle.

Distribuya porciones de 5 ml de este medio en los tubos de ensayo y meta en autoclave durante 15 minutos a 121°C.

2.2. Para lactobacterias

Medio MTJ (50% de caldo MRS "lactobacilos de Man Rogosa y Sharpe Broth" + 50% de caldo TJB "zumo de tomate Broth") + actidiona

Preparación: Pese 27,5g de MRS "lactobacilos de Man Rogosa y Sharpe Broth" (Difco o equivalente). Agregue 500 ml de agua, caliente hasta que hierva para conseguir una disolución completa y añada 20,5g de caldo TJB "Zumo de tomate Broth" (Difco o equivalente). Agregue 50g of actidiona. Disuelva con agua para obtener 1.000 ml de solución habiendo corregido primero el pH hasta 5 con ácido clorhídrico 1N y mezcle.

Distribuya porciones de 10 ml de este medio³⁾ en los tubos de ensayo y meta en autoclave durante 15 minutos a 121°C.

3) El volumen de 10 ml se usa en lugar de los 5 ml que se usan para las levaduras debido a la mayor sensibilidad de las lactobacterias al oxígeno.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

ANEXO 6: RECONOCIMIENTO DE MICROORGANISMOS

6.1 Reconocimiento de colonias de levadura con agar nutriente WL.

Aunque el uso de este medio no pretende ser un método para identificar especies, para los laboratorios no especializados puede suponer una forma rápida y barata de prever el género de las levaduras viables y cultivables. Después de 4 días de incubación, evalúe la morfología de la colonia de la siguiente forma (Pallman, C., J. B. Brown, T. L. Olineka, L. Cocolin, D. A. Mills y L. F. Bisson. 2001. Use of WL medium to profile native flora fermentations. American Journal of Enology and Viticulture 52:198-203; A. Cavazza, M. S. Grando, C. Zini, 1992. Rilevazione della flora microbica di mosti e vini. Vignevini, 9-1992 17-20):

- **Saccharomyces** spp.: las colonias crecen bien durante 4 días en agar nutriente WL, produciendo colonias circulares de color crema a verde pálido. Las diferentes sombras de color no indican necesariamente la presencia de diferentes cepas, sino la presencia de pequeños mutantes; las colonias tienen protuberancias cónicas o redondas, su superficie es lisa y opaca, y su consistencia butírica. No crece en agar lisina.
- **Torulaspóra** spp.: las colonias son similares a las de *Saccharomyces* spp. Crece en agar lisina.
- **Hanseniaspora** spp. (*Kloeckera* spp.) Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo colonias verde oscuro, planas, lisas y de consistencia butírica. Crece en agar lisina y en agar diferencial WL.
- **Candida stellata** Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo colonias verde guisante, lisas y de consistencia butírica; se van poniendo oscuras por el centro a medida que envejecen. Crece en agar lisina.
- **Saccharomyces** spp. Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo colonias verde claro, suaves, de consistencia butírica y convexas. Crece en agar lisina, pero no en agar diferencial WL. *Nota: sus células, vistas al microscopio, son muy grandes (hasta 25 µm).*
- **Schizosaccharomyces pombe** Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo colonias milimétricas, lisas y de color verde oscuro. Crece en agar lisina. *Nota: sus células se reconocen fácilmente en el microscopio debido a su típica división por escisión.*
- **Rhodotorula** spp. Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo colonias de consistencia butírica rosa oscuro, de superficie suave y mucosa. Crece en agar lisina.
- **Metschnikowia** spp. Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo pequeñas colonias claras, suaves y de consistencia butírica. Un pigmento rojizo se difumina en el medio por debajo de las colonias. Crece en agar lisina.
- **Pichia membranifaciens** Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo colonias convexas grisáceas o azuladas, de superficie basta y pulverulenta. Crece en agar lisina.
- **Pichia anomala** (antes *Hansenula anomala*) Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo colonias color crema o azuladas que se azulean claramente después de 8 días. Las colonias son circulares, la superficie es suave y la consistencia butírica, pero a veces claramente mucosa. Crece en agar lisina.
- **Dekkera** spp. o **Brettanomyces** spp. Crece en agar nutriente WL en 8 días, produciendo pequeñas colonias en forma de cúpula, color crema, suaves y butíricas. Produce una gran cantidad de ácido acético, claramente perceptible por el olor, poniendo el medio de color amarillo. Crece en agar lisina y en agar diferencial WL. El crecimiento en este último medio hace posible distinguirlo de *Zygosaccharomyces bailii*. *Nota: Se puede confirmar mediante examen microscópico: Dekkera tiene células pequeñas, algunas de ellas con la típica forma de ojiva.*
- **Zygosaccharomyces bailii** Crece en agar nutriente WL en 4 días, produciendo pequeñas colonias circulares de color crema, lisas y de consistencia butírica. Crece en agar lisina, pero no en agar diferencial WL. A menudo se ve un halo amarillento alrededor de las colonias jóvenes. *Nota: Cuando crece en vino embotellado, produce agrupaciones marrones de 0,5 a 1 mm. Sus células no tienen forma de ojiva.*
- **Las acetobacterias** crecen en agar nutriente WL con colonias que van de pequeñas a milimétricas, color verde oscuro brillante, muy positivas al ensayo de la catalasa. (*Nota – Este medio no es apropiado para su recuento*).
- **Las lactobacterias** crecen en agar nutriente WL en 10 días con colonias milimétricas, claras, catalasa-negativas. (*Nota – Este medio no es apropiado para su recuento*).

*Certificado conforme
Tiflisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

6.2 Reconocimiento de colonias de lactobacterias.

Las colonias de lactobacterias son translúcidas y de un tamaño comprendido entre una punta de aguja y algunos mm. Son grampositivas y catalasa-negativas. *Oenococcus oeni* crece en cadenas cortas, los pediococos forman tétradas, y los diplococos y los lactobacilos forman bacilos largos o cortos.

6.3 Reconocimiento de colonias de acetobacterias.

Las colonias de acetobacterias son catalasa-positivas y gramnegativas, y producen una gran cantidad de ácido: esto se puede ver por una clara zona alrededor de sus colonias en medios que contienen carbonato de calcio o por un color diferente si el medio contiene un indicador de pH. Sus células son cocci o bacilli, por lo general un poco mayores que lactobacterias.

*Certificado conforme
Tbilisi, 25 de junio de 2010
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general*

Federico CASTELLUCCI

Anexo IV

Análisis químico: Azúcares	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Sustancias reductoras (A 4 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS311-01A
Glucosa y fructosa (método enzimático) (revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS311-02
Determinación de azúcares en mostos y vinos por cromatografía de líquidos de alta resolución (Resolución Oeno 552/2016)	OIV-MA-AS311-03
Estabilización de mostos para detectar agregados de sacarosa (A 5)	OIV-MA-AS311-04
Determinación de la distribución del deuterio en el etanol derivado de la fermentación de mostos de uva, mostos de uva concentrados, azúcar de uva (mostos de uva concentrados rectificadas) y vinos por resonancia magnética nuclear (snifnmr/rmfnfs)	OIV-MA-AS311-05
Poliol derivados de azúcares (Oeno 9/2006)	OIV-MA-AS311-06
Glucosa y fructosa (pHmetría) (Oeno 10/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS311-07
Glucosa, fructosa y sacarosa (pHmetría) (Oeno 11/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS311-08

Análisis químico: Alcoholes	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Método para la determinación de la relación de isótopos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ del glicerol en los vinos mediante cromatografía en fase gaseosa o cromatografía de alta resolución en fase líquida acoplada a espectrometría de masas de relación isotópica (gc-c-irms o hplc-	OIV-AS312-07
Bebidas de baja graduación alcohólica (Resolución Oeno 566/2016)	OIV-MA-AS312-01A

Graduación alcohólica por volumen (hidrómetro, refractometría) (A2 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS312-01B
Tablas de corrección (A2)	OIV-MA-AS312-02
Determinación del metanol en el vino por cromatografía de gases Resolución OIV-OENO 480-2014	OIV-MA-AS312-03A
Metanolo (colorimetría) (A 41, modificato da 377/2009)	OIV-MA-AS312-03B
Glicerol y 2,3- butanodiol (A 21 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS312-04
Glicerol (método enzimático) (<i>Recueil</i> OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS312-05
Determinación de la relación isotópica del etanol (Oeno 17/2001)	OIV-MA-AS312-06

Análisis químico: Ácidos	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Acidez total (Oeno 551/2015)	OIV-MA-AS313-01
Acidez volátil (A 11 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-02
Acidez fija (A 11 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-03
Ácidos orgánicos: HPLC (<i>Recueil</i> OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-04
Ácido tartárico (gravimetría) (A 12 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-05A
Ácido láctico, método enzimático (<i>Recueil</i> OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-07
Ácido cítrico, método químico (A 29)	OIV-MA-AS313-08
Ácido cítrico, método enzimático (<i>Recueil</i> OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-09
Ácido málico total: método usual (A 33 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-10

Ácido L-málico: método enzimático (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-11
Ácido D-málico: método enzimático, concentraciones bajas (Oeno 16/2002 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-12B
Ácido L-ascórbico (espectrofluorimetría) (A 28 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-13A
Ácido sórbico (espectrofotometría) (A 30 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-14A
Ácido sórbico (GC) (A 30 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS313-14B
Acido sorbico (TLC) (A 30, modificato da 377/2009)	OIV-MA-AS313-14C
pH (A31 revisado según Oeno 438-2011)	OIV-MA-AS313-15
Ácido orgánico: cromatografía iónica (Oeno 23/2004)	OIV-MA-AS313-16
Ácido siquímico (Oeno 33/2004)	OIV-MA-AS313-17
Ácido sórbico (electroforesis capilar) (Oeno 4/2006)	OIV-MA-AS313-18
Ácidos orgánicos y sulfato (electroforesis capilar) (Oeno 5/2006)	OIV-MA-AS313-19
Ácidos sórbico, benzoico, salicílico (Oeno 6/2006)	OIV-MA-AS313-20
Ácido metatartárico (Oeno 10/2007)	OIV-MA-AS313-21
Determinación de ácido L-ascórbico y ácido D-isoascórbico mediante HPLC (Oeno 11/2008)	OIV-MA-AS313-22
Identificación de ácido L-tartárico (Oeno 12/2008)	OIV-MA-AS313-23

Análisis químico: Gas

<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Dióxido de carbono (A 39 modificado por Oeno 21/2003 y completado con	OIV-MA-AS314-01

Oeno 3/2006 revisado según 377/2009)	
Medición de sobrepresión en vinos espumosos (Oeno 21/2003)	OIV-MA-AS314-02
Determinación de la relación entre isótopos de carbono 13c/12c en el co2 de los vinos espumosos: método que usa la espectrometría de masa por relación de isótopos (IRMS) – modificación resolución OIV-OENO 512-2014	OIV-MA-AS314-03
Dióxido de carbono (método manométrico) (Oeno 2/2006)	OIV-MA-AS314-04

Análisis químico: Otros compuestos orgánicos	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Cuantificación de potenciales residuos alergénicos de proteínas de agentes de clarificación en vinos (Oeno 427-2010 modificado por OIV-COMEX 502-2012)	OIV- -MA-AS315-23
Acetaldehído (etanal) (A 37 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-01
Acetato de etilo (GC) (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-02A
Acetato de etilo (análisis por titulación) (revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-02B
Diglucósido de malvidina (A 18 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-03
Carbamato de etilo (Oeno 8/98 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-04
Hidroximetilfulfural (colorimetría) (A 19 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-05A
Hidroximetilfulfural (HPLC) (A 19 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-05B
Cianoderivados (Oeno 4/94 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-06
Edulcorantes artificiales (TLC: sacarina, ciclamato, Dulcin y P-4000) (A 36 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-07A

Endulzantes artificiales (TLC: sacarina, ciclamato y Dulcin) (A 36 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-07B
Colorantes artificiales (A 43 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-08
Dietilenglicol (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS315-09
Ocratoxina A (Oeno 16/2001 revisado según Oeno 349-2011)	OIV-MA-AS315-10
Determinación mediante HPLC de nueve antocianos principales en vinos tintos y rosados (Oeno 22/2003; Oeno 12/2007)	OIV-MA-AS315-11
Proteaginosas (Oeno 24/2004)	OIV-MA-AS315-12
Determinación de lisozima mediante HPLC (Oeno 8/2007)	OIV-MA-AS315-14
Determinación de 3-metoxipropano-1,2-diol y digliceroles cíclicos (Oeno 11/2007)	OIV-MA-AS315-15
Determinación de 2,4,6-tricloroanisole liberable en el vino (Oeno 296/2009)	OIV-MA-AS315-16
Determinación de la presencia y contenido de policlorofenoles y policloroanisoles en vinos, tapones de corcho, madera y bentonitas utilizados como trampas atmosféricas (Oeno 374/2009)	OIV-MA-AS315-17
Análisis de aminas biogénicas en mostos y vinos HPLC (Oeno 346/2009)	OIV-MA-AS315-18
Determinación de glutatión (Oeno 345/2009)	OIV-MA-AS315-19
Determinación de compuestos α -dicarbonílicos de vino mediante HPLC tras derivación (Oeno 386A-2010)	OIV-MA-AS315-20
Determinación de compuestos α -dicarbonílicos de vino mediante GC tras derivación (Oeno 386B-2010)	OIV-MA-AS315-21
Determinación de carboximetil celulosa en vinos blancos (Oeno 404-2010)	OIV-MA-AS315-22

Determinación de la Lisozima en el Vino por Electroforesis Capilar de Alta Resolución (Oeno 385/2012)	OIV-MA-AS315-24
Determinación de las aminas biógenas en el vino por cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de fotodiodos (OIV-OENO 457-2014)	OIV-MA-AS315-25
Determinación de la lisozima en el vino por cromatografía líquida de alta resolución (OIV-OENO 458-2014)	OIV-MA-AS315-26
Análisis de los compuestos volátiles del vino por cromatografía de gases (Resolución Oeno 553/2016)	OIV-MA-AS315-27

Otros compuestos inorgánicos	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Arsénico (AAS) (A 14/2002 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-01A
Arsénico (AAS) (A 34 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-01B
Nitrógeno total (A 40 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-02A
Nitrógeno total, Método Dumas (Oeno 13/2002 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-02B
Boro (A 44 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-03
Anhídrido sulfuroso (análisis por titulación) (A 17 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-04A
Anhídrido sulfuroso (yodometría) (A 17 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-04B
Anhídrido sulfuroso (método molecular) (A 17 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-04C
Anhídrido sulfuroso, zumo de uva (A 17 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-05
Mercurio, fluorescencia atómica (Oeno 15/2002 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS323-06
Análisis multielemental utilizando ICP-MS (OIV-Oeno 344-2010)	OIV-MA-AS323-07

Uso del Método de Extracción Quechers para la determinación de Pesticidas en el Vino (Oeno 436/2012)	OIV-MA-AS323-08
Métodos para la Determinación de Natamicina en el Vino (Oeno 461/2012)	OIV-MA-AS323-09
Metodo de Detección de Ftalatos en el Vino por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (Oeno 477/2013)	OIV-MA-AS323-10

Compuestos inorgánicos: Aniones	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Bromuro total (A 23 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS321-01
Cloruros (A 15 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS321-02
Fluoruros (A 22; Oeno 22/2004)	OIV-MA-AS321-03
Fósforo total (A 16 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS321-04
Sulfatos (gravimetría) (A 14 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS321-05A

Compuestos inorgánicos: Cationes	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Amonio (A 20 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-01
Potasio (AAS) (A 8 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-02A
Potasio (espectrometría de emisión atómica de llama) (A 8 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-02B
Sodio (AAS) (A 25 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-03A
Sodio (espectrometría de emisión atómica de llama) (A 25 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-03B
Calcio (A 26 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-04

Hierro (AAS) (A 9 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-05A
Hierro (colorimetría) (A 9 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-05B
Cobre (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-06
Magnesio (A 26)	OIV-MA-AS322-07
Zinc (A 45)	OIV-MA-AS322-08
Plata (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-09
Cadmio (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS322-10
Plomo (criterios para métodos) (Oeno 7/2006)	OIV-MA-AS322-12
Análisis de Elementos Minerales en Vinos por Icp/Aes (Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo) (Oeno 478/2013)	OIV-MA-AS322-13

Análisis microbiológico	
<i>Título</i>	<i>Referencia</i>
Análisis microbiológico (Oeno 206-2010)	OIV-MA-AS4-01
Detección de conservantes e inhibidores de la fermentación (Prueba de la fermentación) (A35; Oeno 6/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS4-02A
Detección de conservantes e inhibidores de la fermentación (Detección de los siguientes ácidos: sórbico, benzoico, p-clorobenzoico, salicílico, p-hidroxibenzoico y sus ésteres) (A35; Oeno 6/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS4-02B
Detección de conservantes e inhibidores de la fermentación (Detección de derivados monohalogenados del ácido acético) (A35; Oeno 6/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS4-02C

Detección de conservantes e inhibidores de la fermentación (determinación de policarbonato de etilo) (A35; Oeno 6/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS4-02D
Detección de conservantes e inhibidores de la fermentación (Examen de ácido dehidroacético) (A35; Oeno 6/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS4-02E
Detección de conservantes e inhibidores de la fermentación (Azida de sodio mediante HPLC) (A35; Oeno 6/2006 revisado según 377/2009)	OIV-MA-AS4-02F
Numeración de las levaduras de la especie <i>brettanomyces bruxellensis</i> mediante qpcr	OIV-MA-AS4-03

Anexo V



Endress y Hauser S.A., Carrer del Danubi 18-20, E-08174 Sant Cugat del Vallès

LEF INGENIEROS, S.L.
Sra. Ana M^a López
C/ Francesc Macià 25
08755 CASTELLBISBAL - BARCELONA

OFERTA

Número : **2014507485**
Versión : REVISION 01
Fecha : 16.10.2019
Cliente n^o : 44001209

SU SOLICITUD : Oferta instrumentación

Sra. Ana M^a López

De acuerdo con lo solicitado, adjunto nos es grato cursarles nuestra mejor oferta de los materiales/servicios que se especifican.

Sin otro particular quedamos a su disposición para cualquier aclaración que precisen y aprovechamos la ocasión para saludarles muy atentamente.

ENDRESS Y HAUSER, S.A.

Vendedor Inside : Cardona Soley, Xavier
Teléfono : + 34 93 1026 113
e-mail: xavier.cardona@endress.com

Ingeniero de Ventas: Manuel Zulaica

Oficina Barcelona:
Carrer del Danubi 18-20
08174 Sant Cugat del Vallès
Tel. 934803366 Fax 934733839

Oficina Madrid:
Acanto 22, 8^o, oficina 8-3
E-28045 Madrid
Tel. 915633634 Fax 914110526

Oficina Bilbao:
Gran Via 19-21, 2^o, 209
E-48001 Bilbao
Tel. 944538023 Fax 944535747

Oficina Valencia:
Av. Cortes Valencianas 58, E. Sorolla, 5^o
E-46015 Valencia
Tel. 963467296 Fax 963465251

Oficina Sevilla:
Avda. de la Innovación s/n
Edif. Renta Sevilla, planta 9^o G
41020 Sevilla
Tel. + 34 954 99 70 69
Fax + 34 954 90 34 39

Internet: <http://www.endress.com>
Registro Mercantil de Barcelona, Tomo 20327, Hoja núm. B-4839. Inscripción 1, Folio núm. 0199. C.I.F.: A-59382762



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 2

Resumen

Pos.	Ctd.	Código artículo	El tiempo de entrega	Precio Unidad EUR	Precio total EUR
010	6	PMP51-MRH8/190 PMP51-AA11JA1MGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	2.972,28
020	5	PMP51-MRH8/139 PMP51-AA11JA1MGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	2.476,90
030	1	PMP51-5NP1/1M6 PMP51-AA11JA1HGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	495,38
040	2	PMP51-F1K6/1J5 PMP51-AA11JA1SGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	990,76
050	1	PMP51-F1K6/210 PMP51-AA11JA1SGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	495,38
060	1	PMP51-5NP1/125 PMP51-AA11JA1HGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	495,38
070	1	PMP51-F1K6/220 PMP51-AA11JA1SGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	495,38
080	1	PMP51-MRH8/115 PMP51-AA11JA1MGJGCJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	3 semana(s)	495,38	495,38
090	3	PMD55-3A3R8/101 PMD55-AA21BA67GGJHA4A1A+ N3Z1 Deltabar M PMD55	4 semana(s)	895,15	2.685,45
110	1	5W4C2H-QQR9/0 5W4C2H-AAELHA0AUD2K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C2H, DN200 8"	5 semana(s)	1.734,53	1.734,53
115	1	5W4C1H-UC49/0 5W4C1H-AAELHA0AUD3K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C1H, DN100 4"	4 semana(s)	1.392,28	1.392,28
120	11	5W4C1F-UUC9/0 5W4C1F-AAELHA0AUD3K0M+ ADL1Z1	bajo pedido	1.587,33	17.460,63

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 3

		Promag W 400, 5W4C1F, DN150 6"			
130	1	5W4C80-KL94/0 5W4C80-AAELHA0AUD3K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C80, DN80 3"	4 semana(s)	1.314,74	1.314,74
140	1	5W4C2F-HJN6/0 5W4C2F-AAELHA0AUD2K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C2F, DN250 10	5 semana(s)	2.262,93	2.262,93
150	1	DTT31-A2A111AE2AAB Flowphant T DTT31	2 semana(s)	302,00	302,00
160	4	FMR20-13E0/0 FMR20-AAPBMWDEWFE1+ Z1 Micropilot FMR20	3 semana(s)	519,01	2.076,04
170	19	FTL31-1DQ4/0 FTL31-AA4U2AAWBJ+ Z1 Liquiphant FTL31	bajo pedido	144,00	2.736,00
180	1	FTL51C-AB8KKBK2E4AA Liquiphant M FTL51C	6 semana(s)	701,81	701,81
190	2	TR12-ABA1SBLA0000 Termoresistencia TR12	3 semana(s)	371,03	742,06
200	6	CUS52D-1250/0 CUS52D-AA1BA3+ Z1 Turbimax CUS52D	4 semana(s)	2.181,72	13.090,32
210	6	CUA252-10V6/0 CUA252-AAB111+ Z1 Flowfit CUA252	6 semana(s)	833,74	5.002,44
220	6	CM442-35H0/0 CM442-AAM1A2F010A+ AD Liquiline CM442	5 semana(s)	876,32	5.257,92
230	1	CPF82D-7PA11 Orbipac CPF82D Memosens	2 semana(s)	269,18	269,18
240	1	CYK10-A051 Cable de Medida CYK10 Memosens	2 semana(s)	128,42	128,42
250	1	CM442-35H0/0 CM442-AAM1A2F010A+ AD Liquiline CM442	3 semana(s)	876,32	876,32
260	2	CPF81D-7LH11	2 semana(s)	268,26	536,52

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 4

		Orbipac CPF81D Memosens			
270	2	CYK10-A051 Cable de Medida CYK10 Memosens	2 semana(s)	128,42	256,84
280	2	CM442-35H0/0 CM442-AAM1A2F010A+ AD Liquiline CM442	3 semana(s)	876,33	1.752,66
290	3	CLS21D-C1E1 Condumax W CLS21D	3 semana(s)	755,45	2.266,35
300	3	CYK10-A051 Cable de Medida CYK10 Memosens	2 semana(s)	128,42	385,26
310	3	CM442-35H0/0 CM442-AAM1A2F010A+ AD Liquiline CM442	3 semana(s)	876,32	2.628,96
				Total	74.776,50
				IVA 21,000%	15.703,07
				Total (IVA incluido)	90.479,57

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 5

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

Oferta efectuada sin todos los datos necesarios por lo que se ha de confirmar la configuración de los equipos en caso de pedido

TRANSMISORES DE PRESIÓN

0010	6	UD	PMP51-MRH8/190 PMP51-AA11JA1MGJGCA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	2.972,28
------	---	----	--	--------	----------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/PMP51

Transmisor de Presión, piezorresistivo.
Diseño compacto.
Aplicación: Presión/Nivel.
Membrana de Proceso: Metal, soldada.
:: Fácil operación en campo.
:: Construcción Modular

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
Valor superior del rango 3,500 bar
Indicación 2º valor Ninguno
Amortiguación [s] 2
For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!
Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326

.
. .
. .
. .
. .
AA Homologación: Zona no clasificada
I Señal de salida: 4-20mA
I Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica
J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
1M Rango del Sensor: 4bar/400kPa/60psi relativos, 40mH2O/133ftH2O/1600inH2O Sobrepresión: 28bar/2.8MPa/420psi
G Precisión de referencia: Estándar

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 6

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver especific. adicional		
		G CJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L		
		A Material de membrana: 316L		
		1 Fluido de lleando: Aceite de silicona		
		Z1 >> Marcaje: TAG, ver especificación adicional		
		Codigo comodín: 90262020		
		País de Origen: DE		
		CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado		
		IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado		
		RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		

Plazo de entrega: 3 semana(s)

NOTA, configurados con (confirmar):

- Salida 4-20 mA
- Conexión a proceso Rosca G ½"
- Sin certificado de calibración o de materiales 3.1
- Para zona segura
- Con display para lectura local
- Membrana en INOX 316L (confirmar compatibilidad de materiales)

0020	5	UD PMP51-MRH8/139 PMP51-AA11JA1MGJGCA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	2.476,90
------	---	---	--------	----------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/PMP51

Transmisor de Presión, piezorresistivo.
Diseño compacto.
Aplicación: Presión/Nivel.
Membrana de Proceso: Metal, soldada.
:: Fácil operación en campo.
:: Construcción Modular

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 7

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
 Valor superior del rango 2,500 bar
 Indicación 2º valor Ninguno
 Amortiguación [s] 2
 For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!
 Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326
 .
 .
 .
 .
 .
 AA Homologación: Zona no clasificada
 I Señal de salida: 4-20mA
 I Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica
 J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
 A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
 1M Rango del Sensor: 4bar/400kPa/60psi relativos, 40mH2O/133ftH2O/1600inH2O Sobrepresión: 28bar/2.8MPa/420psi
 G Precisión de referencia: Estándar
 J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver específic. adicional
 GCJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L
 A Material de membrana: 316L
 I Fluido de llenado: Aceite de silicona
 Z1 >> Marcaje: TAG, ver especificación adicional

Código comodín: 90262020
 País de Origen: DE
 CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado
 IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
 RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 8

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

0030	1	UD PMP51-5NP1/1M6 PMP51-AA11JA1HGJGCA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	495,38
------	---	---	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/PMP51

Transmisor de Presión, piezorresistivo.
Diseño compacto.
Aplicación: Presión/Nivel.
Membrana de Proceso: Metal, soldada.
:: Fácil operación en campo.
:: Construcción Modular

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
Valor superior del rango 0,750 bar
Indicación 2º valor Ninguno
Amortiguación [s] 2
For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!
Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326

- AA Homologación: Zona no clasificada
- 1 Señal de salida: 4-20mA
- 1 Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica
- J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
- A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
- 1H Rango del Sensor: 1bar/100kPa/15psi relativos, 10mH2O/33ftH2O/400inH2O Sobrepresión: 10bar/1MPa/150psi
- G Precisión de referencia: Estándar
- J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver especific. adicional
- GCJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L
- A Material de membrana: 316L
- 1 Fluido de llenado: Aceite de silicona
- Z1 >> Marcaje: TAG, ver especificación adicional

Código comodín: 90262020
País de Origen: DE
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 9

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

Plazo de entrega: 3 semana(s)

0040	2	UD PMP51-F1K6/1J5 PMP51-AA11JA1SGJGCA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	990,76
------	---	---	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/PMP51

Transmisor de Presión, piezorresistivo.
Diseño compacto.
Aplicación: Presión/Nivel.
Membrana de Proceso: Metal, soldada.
:: Fácil operación en campo.
:: Construcción Modular

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
Valor superior del rango 11,000 bar
Indicación 2º valor Ninguno
Amortiguación [s] 2
For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!
Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326

- AA Homologación: Zona no clasificada
- 1 Señal de salida: 4-20mA
- 1 Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica
- J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
- A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
- 1S Rango del Sensor: 40bar/4MPa/600psi relativos, 400mH2O/1334ftH2O/16000inH2O Sobrepresión: 160bar/16MPa/2400psi
- G Precisión de referencia: Estándar
- J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver específico. adicional
- GCJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L
- A Material de membrana: 316L
- 1 Fluido de llenado: Aceite de silicona
- Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificación adicional

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 10

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

Codigo comodín: 90262020
País de Origen: DE
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

0050	1	UD PMP51-F1K6/210 PMP51-AA11JA1SGJGJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	495,38
------	---	---	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.endress.com/PMP51

Transmisor de Presión, piezorresistivo.
Diseño compacto.
Aplicación: Presión/Nivel.
Membrana de Proceso: Metal, soldada.
:: Fácil operación en campo.
:: Construcción Modular

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
Valor superior del rango 13,000 bar
Indicación 2º valor Ninguno
Amortiguación [s] 2
For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!
Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326

- AA Homologación: Zona no clasificada
- 1 Señal de salida: 4-20mA
- 1 Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica
- J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
- A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
- 1S Rango del Sensor: 40bar/4MPa/600psi relativos, 400mH2O/1334ftH2O/16000inH2O Sobrepresión: 160bar/16MPa/2400psi
- G Precisión de referencia: Estándar

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 11

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver especific. adicional		
		GCJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L		
		A Material de membrana: 316L		
		1 Fluido de llenado: Aceite de silicona		
		Z1 >> Marcaje: TAG, ver especificación adicional		
		Codigo comodín: 90262020		
		País de Origen: DE		
		CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado		
		IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado		
		RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		
		Plazo de entrega: 3 semana(s)		
0060	1	UD PMP51-5NP1/125 PMP51-AA11JA1HGJGJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	495,38
		Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/PMP51		
		Transmisor de Presión, piezorresistivo. Diseño compacto. Aplicación: Presión/Nivel. Membrana de Proceso: Metal, soldada. :: Fácil operación en campo. :: Construcción Modular		
		additional specification		
		Valor inferior del rango	0,000 bar	
		Valor superior del rango	1,000 bar	
		Indicación 2º valor	Ninguno	
		Amortiguación [s]	2	
		For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!		
		Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326		
		AA Homologación: Zona no clasificada		
		1 Señal de salida: 4-20mA		
		1 Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica		

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 12

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
 A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
 1H Rango del Sensor: 1bar/100kPa/15psi relativos,
 10mH2O/33ftH2O/400inH2O Sobrepresión:
 10bar/1MPa/150psi
 G Precisión de referencia: Estándar
 J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver
 especific. adicional
 GCJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L
 A Material de membrana: 316L
 1 Fluido de llenado: Aceite de silicona
 Z1 >> Marcaje: TAG, ver especificación adicional

Codigo comodín: 90262020
 País de Origen: DE
 CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
 IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
 RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

0070	1	UD PMP51-F1K6/220 PMP51-AA11JA1SGJGJA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	495,38
------	---	---	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/PMP51

Transmisor de Presión, piezorresistivo.
 Diseño compacto.
 Aplicación: Presión/Nivel.
 Membrana de Proceso: Metal, soldada.
 :: Fácil operación en campo.
 :: Construcción Modular

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 13

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
 Valor superior del rango 11,500 bar
 Indicación 2º valor Ninguno
 Amortiguación [s] 2
 For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!
 Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326

AA Homologación: Zona no clasificada
 1 Señal de salida: 4-20mA
 1 Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica
 J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
 A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
 1S Rango del Sensor: 40bar/4MPa/600psi relativos, 400mH2O/1334ftH2O/16000inH2O Sobrepresión: 160bar/16MPa/2400psi
 G Precisión de referencia: Estándar
 J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver específic. adicional
 GCJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L
 A Material de membrana: 316L
 1 Fluido de llenado: Aceite de silicona
 Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificación adicional

Código comodín: 90262020
 País de Origen: DE
 CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado
 IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
 RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

0080	1	UD	PMP51-MRH8/115 PMP51-AA11JA1MGJGCA1+ Z1 Cerabar M PMP51	495,38	495,38
------	---	----	--	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/PMP51

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 14

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

Transmisor de Presión, piezorresistivo.
Diseño compacto.
Aplicación: Presión/Nivel.
Membrana de Proceso: Metal, soldada.
:: Fácil operación en campo.
:: Construcción Modular

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
Valor superior del rango 3,000 bar
Indicación 2º valor Ninguno
Amortiguación [s] 2
For 4-20mA (analog) output, push buttons only on electronics!
Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326

- AA Homologación: Zona no clasificada
- 1 Señal de salida: 4-20mA
- 1 Indicador, operación: LCD, pulsador en indicador/electrónica
- J Cabezal: F31 Alu, mirilla vidrio
- A Conexión eléctrica: Prensa M20, IP66/68 NEMA4X/6P
- 1M Rango del Sensor: 4bar/400kPa/60psi relativos, 40mH2O/133ftH2O/1600inH2O Sobrepresión: 28bar/2.8MPa/420psi
- G Precisión de referencia: Estándar
- J Calibración; Unidad: Presión personalizada; ver especific. adicional
- GCJ Conexión Proceso: Rosca ISO228 G1/2 EN837, 316L
- A Material de membrana: 316L
- 1 Fluido de llendo: Aceite de silicona
- Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificación adicional

Codigo comodín: 90262020
País de Origen: DE
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

NOTA:



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 15

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

- Certificado de materiales 3.1 en los PMP51 añadir 82,50 € a cada equipo

TRANSMISOR DE PRESIÓN DIFERENCIAL

0090	3	UD	PMD55-3A3R8/101 PMD55-AA21BA67GGJHA4A1A+ N3Z1 Deltabar M PMD55	895,15	2.685,45
------	---	----	---	--------	----------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/PMD55

Transmisor de Presión Diferencial,
sensor piezoresistivo
Diseño compacto.
Aplicaciones: Presión/Nivel/Caudal.
Membrana: Metal, soldada.
:: Fácil operación en campo.
:: Construcción Modular

additional specification

Valor inferior del rango 0,000 bar
Valor superior del rango 0,800 bar
Indicación 2º valor Ninguno
Amortiguación [s] 2
DA63M-AB2BBB, FNPT1/2, IEC61518-1, PTFE 71345516
Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326

AA Homologación: Zona no clasificada
2 Señal de Salida: 4-20mA HART
1 Display, Operación: LCD, pulsadores en display/electrónica
B Cabezal: F30 Alu, mirilla vidrio
A Entrada de Cable: Prensaestopas M20, IP66/67 NEMA4X/6P
6 Presión Nominal PN: 70bar/7MPa/1015psi
7G Rango Nominal del Sensor: 1bar/100kPa/15psi
G Precisión: Estándar
J Calibración; Unidades: Presión Customizada, ver especificación adicional
HA4 Conexión a Proceso: 1/4"-18 NPT IEC61518 UNF 7/16"-20, C22.8 instalación línea impulso vertical Alignment 90deg

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 16

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
A		Material de la Membrana: 316L		
1		Fluido de Relleno: Aceite de Silicona		
A		Juntas: FKM Viton		
N3		>> Accesorio Montado: 3 válvulas manifold 316L, ver especific. adicional		
Z1		>> Marcaje: TAG, ver especificación adicional		
Codigo comodín:		90262020		
País de Origen:		DE		
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado				
IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado				
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado				

Plazo de entrega: 4 semana(s)

NOTA, configurado con (confirmar)

- o Para zona segura
- o Señal de salida 4-20 mA HART
- o Con display
- o Montado con manifold de 3 válvulas y conexión a proceso NPT ½"
- o Membrana INOX 316L (confirmar compatibilidad de materiales)
- o Juntas de Vitón
- o Líquido de relleno Aceite Silicona

CAUDALIMETROS

- Se ha calculado el diámetro en función del caudal
- Caudal nominal 120 m³/h - DN150 (PN16)
- Caudal nominal 290 m³/h - DN200 (PN10)
- Caudal nominal 200 m³/h - DN150 (PN16)
- Caudal nominal 90 m³/h - DN100 (PN16)
- Caudal nominal 40 m³/h - DN80 (PN16)
- Caudal nominal 410 m³/h - DN250

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 17

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
0110	1	UD 5W4C2H-QQR9/0 5W4C2H-AAELHA0AUD2K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C2H, DN200 8" Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/5W4C Medidor Electromagnético de Caudal Versión Inline Especialmente diseñado para agua y agua residual en las condiciones más exigentes. Certif. Internacionales de Agua Potable Longitud de Montaje: Según DVGW/ISO Resistente a corrosión. Mismo cabezal para versión compacta y remota. :: Certificado contra corrosión (opcional); estado transmisor para W+ WW. y servidor de web integrado. :: Apto para montaje enterrado o sumergido en agua (opcional)	1.734,53	1.734,53

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 18

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

additional specification

Formato de Display 1 value, max. size
 Lectura Display Valor 1 Volume flow
 Lectura Display Valor 2 None
 Lectura Display Valor 3 None
 Lectura Display Valor 4 None
 Amortiguación de Display 0,00000 s
 Totalizador 1
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Totalizador 2
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Totalizador 3
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Señal de salida de corriente 1 Volume flow
 Span de corriente 4...20 mA NAMUR
 Valor 0/4 mA 0,00000 m3/h
 Valor 20 mA 300,00000 m3/h
 Modo seguro señal de salida 4-20mA Max.
 Amortiguación Salida 1 1,00000 s
 Modo de operación Pulse
 Asignar salida pulsos 1 Volumen caudal
 Valor de pulso (por pulso) 0,05000 m3
 Amplitud del Pulso 100,000 ms
 Modo de fallo seguro salida pulsos No pulses
 Tag grabado en placa de Acero Inoxidable 50105107

- AA Homologación: Zonas no clasificadas
- E Diseño: Fijado brida
- L Alimentación: 100-240VAC/24VAC/DC
- H Señales de Salida, Entradas: 4-20mA HART, pulso/frec., salida conmutada
- A Versión: Compacto, Alu, recubierto
- 0 Cable, Versión Remota: No aplicable
- A Entrada de Cable: Prensaestopas M20
- U Recubrimiento Interno: Poliuretano
- D2K Conexión a Proceso: PN10, Acero Carbono, Bridas EN1092-1
- 0 Electrodo: 1.4435/316L



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 19

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		M Calibración: 0,5%, 3 puntos AD > Idioma de Operación: Español L1 > > Homologación Adicional: Certificado KTW/W270 para Agua Potable Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificaciones adicionales Código comodín: 90261021 País de Origen: FR CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado		
		Plazo de entrega:	5 semana(s)	
0115	1	UD 5W4C1H-UC49/0 5W4C1H-AAELHA0AUD3K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C1H, DN100 4" Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/5W4C Medidor Electromagnético de Caudal Versión Inline Especialmente diseñado para agua y agua residual en las condiciones más exigentes. Certif. Internacionales de Agua Potable Longitud de Montaje: Según DVGW/ISO Resistente a corrosión. Mismo cabezal para versión compacta y remota. :: Certificado contra corrosión (opc.) y servidor de web integrado. :: Apto para montaje enterrado o sumergido en agua (opcional)	1.392,28	1.392,28

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 20

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

additional specification

Formato de Display	1 value, max. size		
Lectura Display Valor 1	Volume flow		
Lectura Display Valor 2	None		
Lectura Display Valor 3	None		
Lectura Display Valor 4	None		
Amortiguación de Display	0,00000	s	
Totalizador 1			
Unit		dm3	
Modo Operación Totalizador	Net flow total		
Modo contra fallos	Stop		
Totalizador 2			
Unit		dm3	
Modo Operación Totalizador	Net flow total		
Modo contra fallos	Stop		
Totalizador 3			
Unit		dm3	
Modo Operación Totalizador	Net flow total		
Modo contra fallos	Stop		
Señal de salida de corriente 1	Volume flow		
Span de corriente	4...20 mA NAMUR		
Valor 0/4 mA	0,00000	dm3/min	
Valor 20 mA	1.200,00000	dm3/min	
Modo seguro señal de salida 4-20mA	Max.		
Amortiguación Salida 1	1,00000	s	
Modo de operación	Pulse		
Asignar salida pulsos 1	Volumen caudal		
Valor de pulso (por pulso)	10,00000	dm3	
Amplitud del Pulso	100,000	ms	
Modo de fallo seguro salida pulsos	No pulses		
RFID TAG, sello acero inoxidable	71282146		

- AA Homologación: Zonas no clasificadas
- E Diseño: Fijado brida
- L Alimentación: 100-240VAC/24VAC/DC
- H Señales de Salida, Entradas: 4-20mA HART, pulso/frec., salida conmutada
- A Versión: Compacto, Alu, recubierto
- 0 Cable, Versión Remota: No aplicable
- A Entrada de Cable: Prensaestopas M20
- U Recubrimiento Interno: Poliuretano
- D3K Conexión a Proceso: PN16, Acero Carbono, Bridas EN1092-1
- 0 Electroodos: 1.4435/316L



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 21

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		M Calibración: 0,5%, 3 puntos AD > Idioma de Operación: Español L1 > > Homologación Adicional: Certificado KTW/W270 para Agua Potable Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificaciones adicionales Código comodín: 90261021 País de Origen: FR CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado CH: GKV Anexo 1 y 2, no listado IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		
		Plazo de entrega:	4 semana(s)	
0120	11	UD 5W4C1F-UUC9/0 5W4C1F-AAELHA0AUD3K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C1F, DN150 6" Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/5W4C Medidor Electromagnético de Caudal Versión Inline Especialmente diseñado para agua y agua residual en las condiciones más exigentes. Certif. Internacionales de Agua Potable Longitud de Montaje: Según DVGW/ISO Resistente a corrosión. Mismo cabezal para versión compacta y remota. :: Certificado contra corrosión (opc.); transmisor de última generación para W+ WW. :: Apto para montaje enterrado o sumergido en agua (opcional)	1.587,33	17.460,63

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 22

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

additional specification

Formato de Display 1 value, max. size
 Lectura Display Valor 1 Volume flow
 Lectura Display Valor 2 None
 Lectura Display Valor 3 None
 Lectura Display Valor 4 None
 Amortiguación de Display 0,00000 s
 Totalizador 1
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Totalizador 2
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Totalizador 3
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Señal de salida de corriente 1 Volume flow
 Span de corriente 4...20 mA NAMUR
 Valor 0/4 mA 0,00000 m3/h
 Valor 20 mA 150,00000 m3/h
 Modo seguro señal de salida 4-20mA Max.
 Amortiguación Salida 1 1,00000 s
 Modo de operación Pulse
 Asignar salida pulsos 1 Volumen caudal
 Valor de pulso (por pulso) 0,02500 m3
 Amplitud del Pulso 100,000 ms
 Modo de fallo seguro salida pulsos No pulses
 Tag grabado en placa de Acero Inoxidable 50105107

AA Homologación: Zonas no clasificadas
 E Diseño: Fijado brida



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 23

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		L Alimentación: 100-240VAC/24VAC/DC H Señales de Salida, Entradas: 4-20mA HART, pulso/frec., salida conmutada A Versión: Compacto, Alu, recubierto 0 Cable, Versión Remota: No aplicable A Entrada de Cable: Prensaestopas M20 U Recubrimiento Interno: Poliuretano D3K Conexión a Proceso: PN16, Acero Carbono, Bridas EN1092-1 0 Electrodo: 1.4435/316L M Calibración: 0.5%, 3 puntos AD > Idioma de Operación: Español L1 >> Homologación Adicional: Certificado KTW/W270 para Agua Potable Z1 >> Marcaje: TAG, ver especificaciones adicionales		
		Código comodín: 90261021 País de Origen: FR CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado CH: GKV Anexo 1 y 2, no listado IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		
		Plazo de entrega a confirmar		
0130	1	UD 5W4C80-KL94/0 5W4C80-AAELHA0AUD3K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C80, DN80 3"	1.314,74	1.314,74
		Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/5W4C Medidor Electromagnético de Caudal Versión Inline Especialmente diseñado para agua y agua residual en las condiciones más exigentes. Certif. Internacionales de Agua Potable Longitud de Montaje: Según DVGW/ISO Resistente a corrosión. Mismo cabezal para versión compacta y remota.		

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 24

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

:: Certificado contra corrosión
(opcional); estado transmisor para W+ WW.
:: Apto para montaje enterrado o
sumergido en agua (opcional)

additional specification

Formato de Display 1 value, max. size
Lectura Display Valor 1 Volume flow
Lectura Display Valor 2 None
Lectura Display Valor 3 None
Lectura Display Valor 4 None
Amortiguación de Display 0,00000 s
Totalizador 1
Unit dm3
Modo Operación Totalizador Net flow total
Modo contra fallos Stop
Totalizador 2
Unit dm3
Modo Operación Totalizador Net flow total
Modo contra fallos Stop
Totalizador 3
Unit dm3
Modo Operación Totalizador Net flow total
Modo contra fallos Stop
Señal de salida de corriente 1 Volume flow
Span de corriente 4...20 mA NAMUR
Valor 0/4 mA 0,00000 dm3/min
Valor 20 mA 750,00000 dm3/min
Modo seguro señal de salida 4-20mA Max.
Amortiguación Salida 1 1,00000 s
Modo de operación Pulse
Asignar salida pulsos 1 Volumen caudal
Valor de pulso (por pulso) 5,00000 dm3
Amplitud del Pulso 100,000 ms
Modo de fallo seguro salida pulsos No pulses
Tag grabado en placa de Acero Inoxidable 50105107

- AA Homologación: Zonas no clasificadas
- E Diseño: Fijado brida
- L Alimentación: 100-240VAC/24VAC/DC
- H Señales de Salida, Entradas: 4-20mA HART,
pulso/frec., salida conmutada
- A Versión: Compacto, Alu, recubierto
- 0 Cable, Versión Remota: No aplicable
- A Entrada de Cable: Prensaestopas M20



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 25

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		U Recubrimiento Interno: Poliuretano D3K Conexión a Proceso: PN16, Acero Carbono, Bidas EN1092-1 0 Electrodo: 1.4435/316L M Calibración: 0,5%, 3 puntos AD > Idioma de Operación: Español L1 > > Homologación Adicional: Certificado KTW/W270 para Agua Potable Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificaciones adicionales Código comodín: 90261021 País de Origen: FR CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado CH: GKV Anexo I y 2, no listado IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		
		Plazo de entrega:	4 semana(s)	

0140	1	UD 5W4C2F-HJN6/0 5W4C2F-AAELHA0AUD2K0M+ ADL1Z1 Promag W 400, 5W4C2F, DN250 10" Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/5W4C Medidor Electromagnético de Caudal Versión Inline Especialmente diseñado para agua y agua residual en las condiciones más exigentes. Certif. Internacionales de Agua Potable Longitud de Montaje: Según DVGW/ISO Resistente a corrosión. Mismo cabezal para versión compacta y remota. :: Certificado contra corrosión (opcional); estado transmisor para W+ WW. :: Apto para montaje enterrado o sumergido en agua (opcional).	2.262,93	2.262,93
------	---	--	----------	----------

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 26

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

additional specification

Formato de Display 1 value, max. size
 Lectura Display Valor 1 Volume flow
 Lectura Display Valor 2 None
 Lectura Display Valor 3 None
 Lectura Display Valor 4 None
 Amortiguación de Display 0,00000 s
 Totalizador 1
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Totalizador 2
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Totalizador 3
 Unit m3
 Modo Operación Totalizador Net flow total
 Modo contra fallos Stop
 Señal de salida de corriente 1 Volume flow
 Span de corriente 4...20 mA NAMUR
 Valor 0/4 mA 0,00000 m3/h
 Valor 20 mA 500,00000 m3/h
 Modo seguro señal de salida 4-20mA Max.
 Amortiguación Salida 1 1,00000 s
 Modo de operación Pulse
 Asignar salida pulsos 1 Volumen caudal
 Valor de pulso (por pulso) 0,05000 m3
 Amplitud del Pulso 100,000 ms
 Modo de fallo seguro salida pulsos No pulses
 Tag grabado en placa de Acero Inoxidable 50105107

- AA Homologación: Zonas no clasificadas
- E Diseño: Fijado brida
- L Alimentación: 100-240VAC/24VAC/DC
- H Señales de Salida, Entradas: 4-20mA HART, pulso/frec., salida conmutada
- A Versión: Compacto, Alu, recubierto
- 0 Cable, Versión Remota: No aplicable
- A Entrada de Cable: Prensaestopas M20
- U Recubrimiento Interno: Poliuretano
- D2K Conexión a Proceso: PN10, Acero Carbono, Bridas EN1092-1
- 0 Electrodo: 1.4435/316L



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 27

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		M Calibración: 0,5%, 3 puntos AD > Idioma de Operación: Español L1 > > Homologación Adicional: Certificado KTW/W270 para Agua Potable Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificaciones adicionales		
		Código comodín: 90261021 País de Origen: FR CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado CH: GKV Anexo 1 y 2, no listado IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		

Plazo de entrega: 5 semana(s)

NOTA CAUDALÍMETROS, se han configurado con (confirmar)

- o Versión compacta
- o Para zona segura
- o Señal de salida 4-20 mA HART + Pulsos + Conmutada
- o Electrodo INOX 316L
- o Conexión a proceso Bridas

Para certificado de materiales 3.1 añadir 112,34 €

Detector de caudal

0150	1	UD DTT31-A2A111AE2AAB Flowphant T DTT31	302,00	302,00
------	---	---	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/DTT31

Detector de caudal, inteligente,
programable.
Sensor: Calorimétrico
Protección:
con conector eléctrica M16× 1,5 o
NPT1/2":IP 65
con M12 × 1: IP 66

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 28

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		Etiqueta metal 71072708		
		.		
A		Homologación: Zona no clasificada		
2		Conexión eléctrica: Conector ISO4400 M16x1.5		
A		Alimentación; Señal de Salida: 18-30VDC; 1 salida Contactos PNP		
1		Display: Digital		
1		Aplicación; Rango de Medida: Líquido, -20...85oC, 0.03-3m/s		
1		Ajuste: En campo		
AE		Conexión a Proceso: G1/2 rosca macho ISO228, 316L		
2A		Longitud Inserción L; Diámetro D: 30 mm; 6mm		
A		Opción Adicional;Certificado Materiales: Versión Básica; Certificado no incluido		
B		Versión: Estándar. Documentacion en Inglés		
A		> > > Marcaje: TAG, metal		

Codigo comodín: 90328900
País de Origen: DE
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 2 semana(s)

NOTA, equipo configurado con, confirmar

o Conexión a proceso Rosca G ½"
o Longitud de inserción 30 mm
o Señal de salida PNP
o Para Zona segura

Certificado de materiales 3.1 añadir 48,08 €

NIVEL

Para la medida en continuo

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 29

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
0160	4	UD FMR20-13E0/0 FMR20-AAPBMWDEWFE1+ Z1 Micropilot FMR20	519,01	2.076,04
		<p>Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/FMR20</p> <p>Nivel, radar, sin contacto y sin mantenimiento. Equipo económico. Aplicación: líquidos base agua (DC > 4). :: Medida fiable; condiciones variables de producto, presión temperatura, gases, vapores... :: Sensor inundable: IP68/NEMA6P. Tag grabado en placa de Acero Inox. 52006326</p> <p>.</p> <p>.</p> <p>.</p> <p>AA Homologación: Zona no clasificada P Alimentación; salida; operación: 2 hilos; 4-20mA HART; HART/Bluetooth (App) configuración BM Antena; máx.. rango medida: 40mm/1-1/2"; 10m líquido -40oC...80oC/-40#176oF WDE Con. Proceso parte posterior; Material: Rosca G1 ISO228; PVDF WFE Conexión Proceso Frontal; Material: Rosca ISO228 G1-1/2; PVDF 1 Longitud cable: 5m/16ft Z1 > > Marcaje: TAG, ver especificación adicional</p> <p>Codigo comodín: 90261029 País de Origen: DE CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado</p>		

Plazo de entrega: 3 semana(s)

NOTA, se oferta configurado (confirmar)

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 30

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		"	Radar FMR20	
		"	Para zona segura	
		"	"4-20 mA HART con configuración mediante Bluetooth (App)	
		"	"Conexión a proceso Rosca G 1" y Rosca G 1-1/2" (conexión trasera y delantera)	
		"	Ofertado con 5 m de cable	

DETECTOR DE NIVEL

Versión 316L

0170	19	UD	FTL31-1DQ4/0 FTL31-AA4U2AAWBJ+ Z1 Liquiphant FTL31	144,00	2.736,00
------	----	----	---	--------	----------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/FTL31

Detector de Nivel, vibratorio
Aplicación: Líquidos
Alta precisión en la detección de nivel
:: Diseñado para montaje en espacio reducido
:: Seguridad en la aplicación:
No afectado por naturaleza del fluido

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 32

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		"	316L ofertados con	
		o	Zona segura	
		o	Salida PNP	
		o	Conexión a proceso Rosca G 1/2"	
		Certificado de materiales añadir 52,54 €		
		DETECTOR DE NIVEL PARA		
		"	Hipoclorito	
		"	Hidróxido de sodio	
		"	Ácido sulfúrico	
		"	Bisulfito	
0180	1	UD FTL51C-AB8KBK2E4AA Liquiphant M FTL51C	701,81	701,81
		Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/FTL51C		
		Detector de Nivel/Medidor de Densidad, Vibratorio Sensor y Tubo de Extensión recubiertos. Aplicación: Líquidos. Detección de Nivel: :: Punto de actuación milimétrico :: Aplicaciones Seguras: Immune a la naturaleza del líquido No afectado por adherencias. Medida de Densidad: Continua :: Directamente en tanque/tubería		
	A	Homologación: Zona no clasificada		
	B8K	Conexión Proceso: DN25 PN25/40, ECTFE> 316L Brida EN1092-1 (DIN2527)		
	BK	Long. sonda: tipo: 150 mm; ECTFE		
	2	Electrónica; salida: FEL52; SIL PNP 3 hilos 10-55V DC		
	E4	Caja, entrada cable: F16 Poliéster NEMA 4X; Rosca 1/2" NPT		
	A	Opción adicional 1: No incluida		
	A	Opción adicional 2: No incluida		
		Codigo comodín:	90261029	

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 33

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

País de Origen: DE
CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 6 semana(s)

NOTA, configurados como (confirmar)

" ECTFE ofertados con
o Zona segura
o Conexión a proceso Brida DN25
o Señal de salida PNP

Certificado de materiales 3.1 añadir 85,44 €

TEMPERATURA

0190	2	UD	TR12-ABA1SBLA0000 Termoresistencia TR12	371,03	742,06
------	---	----	---	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/TR12

Con record de compresión ajustable
Vaina de tubo según DIN 43772/2+ 3.
Sensor interno sustituible, MgO.
Rango de medida máximo: -200...600oC.
(dependiendo de la configuración).

additional specification

Valor inferior del rango 40,000- °C
Valor superior del rango 150,000 °C
Acción Fallo (1= bajo< 3.6 mA 2= alto) 2
Configuración Sensor DoblePV = CH1; CH2 not
Conexión Cables (1= Muelle, 2= Tornil) 1
Etiqueta metal 71072708

A Homologación: Zona no clasificada
B Cabezal; Entrada de Cable: TA30A Alu, IP66/68; M20

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 34

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

A Diámetro de Vaina; Material: 9mm; 316L; DIN43772-2
 1 Conexión a Proceso; Material: TA50, G1/2; 316
 S Forma del Sensor: Recto
 B Longitud de Inmersión L: 180 mm
 L Transmisor: TMT82 (HART); Rango de Temperatura a especificar
 A RTD; hilos; rango medida; clase: 1xPt100 WW; 3; -200...+ 600oC; A
 0 Certificado de Materiales: No incluido
 0 Certificado de Pruebas: No incluido
 0 Certificado de Calibración: No incluido
 0 Opción Adicional: No incluida
 TZ1 >>> Marcaje: TAG, grabado en placa de metal

Codigo comodín: 90251980
 País de Origen: IT
 CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
 IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
 RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

NOTA, configurados como, confirmar:

- o Conexión a proceso Rosca G 1/2" (mediante racor deslizante)
- o Longitud libre máxima de inserción ~ 145 mm
- o Señal de salida 4-20 mA HART
- o Para zona segura

Certificado de materiales añadir 57,50 €
 Certificado de calibración a tres puntos añadir 112,15 €

0200	6	UD CUS52D-1250/0 CUS52D-AA1BA3+ Z1 Turbimax CUS52D	2.181,72	13.090,32
------	---	---	----------	-----------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/CUS52D

Sensor para rangos bajos de turbidez
 en aplicaciones de agua limpia (potable,

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 35

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

agua de proceso).
Conformidad con norma ISO 7027.
Válido para todas las aplicaciones en
planta de aguas.
::Versión Inline e Inmersión
:: Tecnología Memosens
:: Compatible con Liquiline CM44
Etiqueta acero inox. 30 x 59 mm 71097850

AA Homologación: Zonas no clasificadas
1 Sistema de Medida: ISO 7027, IR
B Conexión a Proceso: Clamp 2"
A Cable: Fixed cable, crimp sleeves
3 Longitud de Cable: 7m
Z1 >> Marcaje: TAG, ver especificación adicional

Código comodín: 90275000
País de Origen: DE
CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 4 semana(s)

0210	6	UD CUA252-10V6/0 CUA252-AAB111+ Z1 Flowfit CUA252	833,74	5.002,44
------	---	--	--------	----------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/CUA252

Cámara de Flujo PE, para sensor de
turbidez CUS52 versión clamp.
Aplicaciones en planta de aguas,
agua limpia (agua potable, agua de
proceso).
PE apto para agua potable

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 37

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

:: Sensores precalibrados
 :: Construcción Modular
 :: Ampliable
 AA Homologación: Zona no clasificada
 M1 Señal de Entrada: 1 Sensor Digital
 A2 Comunicaciones: 2x salida 0/4..20mA, HART
 F0 Características Adicionales: Ninguna
 1 Alimentación: 100...230VAC (50/60Hz)
 0 Entrada de Cable: Métrica
 A Set de Entrada de Cable: Incluido
 AD > Idioma de Operación: Español

 Código comodín: 90278011
 País de Origen: DE
 CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado
 IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
 RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 5 semana(s)

MEDIDA REDOX

Conjunto Redox compuesto por:

"

Electrodo Redox, conexión a proceso Rosca NPT ¼"

"

Cable de 5 m

"Transmisor para un sensor con salida 4-20 mA y alimentación 220 V AC

0230	1	UD	CPF82D-7PA11 Orbipac CPF82D Memosens	269,18	269,18
------	---	----	--	--------	--------

Enlace a la información del producto:

www.es.endress.com/CPF82D

Electrodo combinado de Redox

Tecnología Memosens

Señal: Digital

Diafragma: PTFE

Referencia: Gel, Doble cámara

7 Versión: Básica

PA Rango, Aplicación: ORP, Platino, 0-80oC.

1 Longitud de Inserción: 23 mm + Protector del

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 38

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
	1	electrodo Homologación: Zona no clasificada		
		Codigo comodín: 90279050 País de Origen: US		
		Plazo de entrega: 2 semana(s)		
0240	1	UD CYK10-A051 Cable de Medida CYK10 Memosens	128,42	128,42
		Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/CYK10		
		Aplicación: Sensores digitales inductivos Memosens con conector. Límites de Temperatura: -20...135oC		
	A	Homologación: Zona no clasificada		
	05	Longitud del Cable: 5m		
	1	Conexión del Cable: Extremos pelados		
		Codigo comodín: 85442000 País de Origen: DE CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		
		Plazo de entrega: 2 semana(s)		
0250	1	UD CM442-35H0/0 CM442-AAM1A2F010A+ AD Liquiline CM442	876,32	876,32
		Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/CM442		
		Transmisor de Análisis de Líquidos Multiparamétrico + Multicanal aplicable para Control de procesos,		

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 39

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

pH/Redox,
Conductividad, Turbidez, Oxígeno (DO),
Cloro, SAC, Nitratos, Amonio.
Sensores Digitales; Tecnología Memosens
Navegador + Pulsadores, Display Gráfico
Sensores + Módulos enchufables, Tarjeta
SD, Data Logger, Relé alarma, Caja con
Protección IP66+ IP67 NEMA 4X
Fácil de usar y mantener:
:: Sensores precalibrados
:: Construcción Modular
:: Ampliable

AA Homologación: Zona no clasificada
M1 Señal de Entrada: 1 Sensor Digital
A2 Comunicaciones: 2x salida 0/4..20mA, HART
F0 Características Adicionales: Ninguna
1 Alimentación: 100..230VAC (50/60Hz)
0 Entrada de Cable: Métrica
A Set de Entrada de Cable: Incluido
AD > Idioma de Operación: Español

Codigo comodín: 90278011
País de Origen: DE
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

MEDIDA DE pH

Conjunto d pH formado por

"

Electrodo pH, conexión a proceso Rosca NPT ¼"

"

Cable de 5 m

"Transmisor para un sensor con salida 4-20 mA y alimentación 220 V AC

0260	2	UD	CPF81D-7LH11 Orbipac CPF81D Memosens	268,26	536,52
------	---	----	--	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/CPF81D



Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 40

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

Señal transmisor: Digital
Diafragma: PTFE
Doble cámara
7 Versión: Básica
LH Rango aplicación: 0-14pH; 0-110oC
1 Longitud inserción: 23 mm + Protector del electrodo
1 Homologación: Zona no clasificada

Codigo comodín: 90279050
País de Origen: US
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado
Sujeto a las US Export Administration Regulations - EAR99

Plazo de entrega: 2 semana(s)

0270	2	UD CYK10-A051 Cable de Medida CYK10 Memosens	128,42	256,84
------	---	--	--------	--------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/CYK10

Aplicación: Sensores digitales inductivos Memosens con conector.
Límites de Temperatura: -20...135oC
A Homologación: Zona no clasificada
05 Longitud del Cable: 5m
1 Conexión del Cable: Extremos pelados

Codigo comodín: 85442000
País de Origen: DE
CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 2 semana(s)

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 41

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

0280	2 UD	CM442-35H0/0 CM442-AAM1A2F010A+ AD Liquiline CM442	876,33	1.752,66
------	------	---	--------	----------

Enlace a la información del producto:

www.es.endress.com/CM442

Transmisor de Análisis de Líquidos
Multiparamétrico + Multicanal
aplicable para Control de procesos,
pH/Redox,
Conductividad, Turbidez, Oxígeno (DO),
Cloro, SAC, Nitratos, Amonio.
Sensores Digitales; Tecnología Memosens
Navegador + Pulsadores, Display Gráfico
Sensores + Módulos enchufables, Tarjeta
SD, Data Logger, Relé alarma, Caja con
Protección IP66+ IP67 NEMA 4X
Fácil de usar y mantener:
:: Sensores precalibrados
:: Construcción Modular
:: Ampliable

AA Homologación: Zona no clasificada
M1 Señal de Entrada: 1 Sensor Digital
A2 Comunicaciones: 2x salida 0/4..20mA, HART
F0 Características Adicionales: Ninguna
1 Alimentación: 100..230VAC (50/60Hz)
0 Entrada de Cable: Métrica
A Set de Entrada de Cable: Incluido
AD > Idioma de Operación: Español

Código comodín: 90278011
País de Origen: DE
CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 3 semana(s)

MEDIDA DE CONDUCTIVIDAD
Conjunto formado por:

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 42

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		" Sensor para un rango 10 µS/cm hasta 20 mS/cm " Cable de 5 m de longitud "Transmisor para un sensor con salida 4-20 mA y alimentación 220 V AC		
0290	3	UD CLS21D-C1E1 Condumax W CLS21D Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/CLS21D Célula de Conductividad de 2 electrodos Tecnología Memosens Señal: Digital Materiales: PES; Titanio; Grafito C Rango medida; constante célula: 0.01-20.0mS/cm; k= 1 1E Conexión a Proceso: Rosca G 1"; PES 1 Homologación: Zonas no clasificadas Codigo comodín: 90279050 País de Origen: DE CE: REG n° 428/2009 Anexo I, no listado IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado Plazo de entrega: 3 semana(s)	755,45	2.266,35
0300	3	UD CYK10-A051 Cable de Medida CYK10 Memosens Enlace a la información del producto: www.es.endress.com/CYK10 Aplicación: Sensores digitales inductivos Memosens con conector. Límites de Temperatura: -20...135oC A Homologación: Zona no clasificada 05 Longitud del Cable: 5m 1 Conexión del Cable: Extremos pelados	128,42	385,26

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 43

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
-----	----------	--------------------------------	----------------------	----------------

Codigo comodín: 85442000
País de Origen: DE
CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado
IR: REG (UE) Nº267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado
RU: REG (UE) Nº 833/2014 Anexo II, no listado

Plazo de entrega: 2 semana(s)

0310	3	UD	CM442-35H0/0 CM442-AAM1A2F010A+ AD Liquiline CM442	876,32	2.628,96
------	---	----	---	--------	----------

Enlace a la información del producto:
www.es.endress.com/CM442

Transmisor de Análisis de Líquidos
Multiparamétrico + Multicanal
aplicable para Control de procesos,
pH/Redox,
Conductividad, Turbidez, Oxígeno (DO),
Cloro, SAC, Nitratos, Amonio.
Sensores Digitales; Tecnología Memosens
Navegador + Pulsadores, Display Gráfico
Sensores + Módulos enchufables, Tarjeta
SD, Data Logger, Relé alarma, Caja con
Protección IP66+ IP67 NEMA 4X
Fácil de usar y mantener:
:: Sensores precalibrados
:: Construcción Modular
:: Ampliable

AA Homologación: Zona no clasificada
M1 Señal de Entrada: 1 Sensor Digital
A2 Comunicaciones: 2x salida 0/4..20mA, HART
F0 Características Adicionales: Ninguna
1 Alimentación: 100...230VAC (50/60Hz)
0 Entrada de Cable: Métrica
A Set de Entrada de Cable: Incluido
AD > Idioma de Operación: Español

Codigo comodín: 90278011
País de Origen: DE
CE: REG nº 428/2009 Anexo I, no listado

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 44

Pos	Cantidad	Código Artículo Descripción	Precio unidad EUR	Importe EUR
		IR: REG (UE) N°267/2012 An II & 2015/1861 An VIIB, no listado RU: REG (UE) N° 833/2014 Anexo II, no listado		
		Plazo de entrega: 3 semana(s)		
			Total	74.776,50
			IVA 21,000%	15.703,07
			Total (IVA incluido)	90.479,57

Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta Nº. 2014507485 / REVISION 01

Página 45

CONDICIONES PARTICULARES DE SUMINISTRO OFERTA Nº 2014507485

PORTES:

DAP Delivered at place Incoterm 2010

SERVICIOS LOGÍSTICOS:

Nuestros Servicios Logísticos pueden incluir:

- Transporte
- Manipulación
- Embalaje estándar
- Marcaje estándar
- Seguimiento del envío

VALIDEZ OFERTA:

1 mes desde su envío.

IMPUESTOS:

I.V.A. 21 %

FORMA DE PAGO:

60 días, día 20

DOCUMENTACIÓN:

Ver condiciones Generales.

CONDICIONES GENERALES DE VENTA:

<http://www.es.endress.com/es/terminos-condiciones-venta>


Fecha: 16.10.2019
LEF INGENIEROS, S.L.

Oferta N°. 2014507485 / REVISION 01

Página 46

De acuerdo con el Reglamento General de Protección de Datos, estamos obligados a informarle cuando recopilamos sus datos personales.

Cumplimos con esta obligación de información con la Declaración de Protección de Datos que se puede descargar en: <https://www.es.endress.com/RGPD>

Item		Code Number	Description	Qty	List price	Discount	Price Total	Delivery Time exw	
Version: 2020/01/01									
		OFFER				No.20200511-00			
Date: 14/05/2020		FROM: ESCO Danfoss S.A. Calendula, Edificio I Miniparcs III 93, 28109 Madrid Spain			ORIGINATOR: Miguel Gómez				
TO: Germán Fañanás LEF Ingenieros RFQ Ref:		Internal Sales Co-Ordinator Telephone No. E-Mail			Danfoss Customer Service SER +34 911 98 61 00 csciberia@danfoss.com				
Manager: Miguel Gómez Mobile Tel: +34 680 327 982 Direct Tel: - Ref: mail: miguel.gomez@danfoss.com									
Customer specification 380 V 50 Hz III ph		Danfoss Suggestion Operation conditions as per attached selection tool				Notes Requires control by VFD for both HP pump and iSave			
HIGH PRESSURE PUMPS & ACCESSORIES									
1	180B3048	APP0.6	Axial piston pump w. integrated flushing valve Duplex/ Super Duplex 20 - 80 barg	1	1.373,53	25,00%	1.030,15	4 Weeks	
2	180Z0068	90S-4, 4-pole, B3B5	3x400V/50Hz IE3 Electrical Motors IEC 90 1,1 kW	1	283,71	25,00%	212,78		
3	180Z0044	APP0.6 - APP3.5	Coupling kit Plastic housing B5, Dentex coupling IEC 90, ø200/ø24	1	125,73	25,00%	94,30		
4	asp1		Assembly + packaging SWP 0.6-3.5 asp1	1	351,41	25,00%	263,56		
5									
6									
7									
8									
Sub total price:							EUR	1.600,79	
Skids quantity:								1	
Sub total HP Pumps price:							EUR	1.600,79	
iSave® ENERGY RECOVERY DEVICE & ACCESSORIES									
1									
2									
Sub total price:							EUR	-	
Skids quantity:								1	
Sub total ERP price:							EUR	-	
APP & iSave® CONNECTION HOSES									
1									
2									
3									
4									
Sub total price:							EUR	-	
Skids quantity:								1	
Sub total price:							EUR	-	
TOOLS / COMMISSIONING & SERVICE									
1									
2									
3									
Sub total price:							EUR	-	
FREIGHTCOST									
1			FREIGHTCOST BY TRUCK DAP PENINSULA (1,5 % of Total Value of the order)	1	24,01		24,01	1 Week	
Your total price:							EUR	1.624,80	
<p>*Documentation: Pumps and iSaves are delivered with standard documentation: 3.1 Performance test certificate, IOM and EU Declaration of conformity *Data sheets and GA drawings can be supplied upon request *Other requirements for test and documentation can be offered against extra cost</p> <p>Delivery terms: All prices are Ex Works Nordborg Denmark, Incoterms 2000 If the delivery time has to be shorter please ask for possibility. Payment terms: Prepayment or by agreement Validity: 3 months from date Terms and conditions: According to Danfoss standard terms and conditions.</p> <p>Please send your order to miguel.gomez@danfoss.com csciberia@danfoss.com referring to our quotation number</p> <p>Best regards Miguel Gómez Danfoss A/S, High Pressure Pumps</p> <p>THE ABOVE PRICES DO NOT INCLUDE V.A.T. AND MAY BE SUBJECT TO VARIATION IN ACCORDANCE WITH NOTE 8.1 OF OUR GENERAL CONDITIONS OF SALE</p>									



Cliente: Lef Ingenieros.
Proyecto: Planta piloto evaporación cero residuos
Fecha: 08/08/2014
Ref HRS: P10398
Documento: Operación planta piloto

HRS Heat Exchangers
10-12 Caxton Way, Watford Business Park - Watford, Herts. - WD18 8JY - United Kingdom - Tel: +44 1923 232335.
C/ Castillo de la Concepción, 14, Pol. Ind. San Martín - 30564 Lorquí (Murcia) - Spain - Tel: +34 968 676 157.
info@hrs-he.com - www.hrs-heatexchangers.com



Introducción.

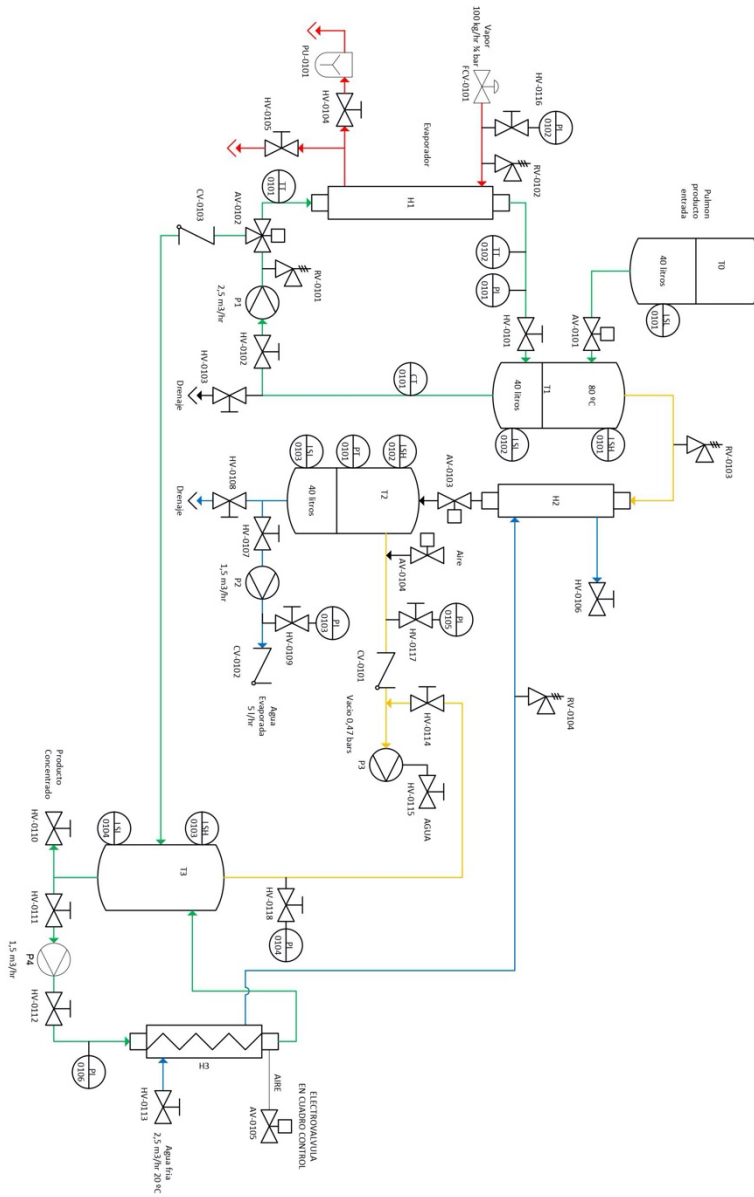
Este manual describe los pasos a seguir para realizar una prueba de evaporación – cristalización de forma correcta. En la descripción se refiere a muchos elementos (válvulas, Instrumentacion, equipos) que vienen nombrados en el esquema de flujo en la siguiente página.

La planta contiene equipos categorizados como equipos a presión según la norma Europa PED. La planta tiene que ser operado por personal cualificado.

Antes de proceder en operar la planta, se recomienda el estudio de este manual, para obtener los conocimientos necesarios para operar la planta de forma segura.

Se recomienda el uso de elementos de protección personal: gafas de seguridad, calzado de seguridad, guantes de protección (las superficies externas de los equipos de la planta pueden alcanzar temperaturas hasta 80-120 °C).

Esquema de flujo planta piloto.



HRS Heat Exchangers
 10-12 Caxton Way, Watford Business Park - Watford, Herts. - WD18 8JY - United Kingdom - Tel: +44 1923 232335.
 C/ Castillo de la Concepción, 14, Pol. Ind. San Martín - 30564 Lorquí (Murcia) - Spain - Tel: +34 968 676 157.
info@hrs-he.com - www.hrs-heatexchangers.com

**Elementos planta piloto.**

Los equipos principales de la planta piloto son:

Tanques:

- T0: Tanque atmosférico para producto a evaporar.
- T1: Tanque separación vapor-líquido.
- T2 Tanque de condensados.
- T3: Tanque de producto concentrado / cristalizado.

Bombas:

- P1: Bomba de recirculación evaporador.
- P2: Bomba de extracción condensados.
- P3: Bomba de vacío.
- P4: Bomba de recirculación producto cristalizado.

Intercambiadores:

- H1: Evaporador.
- H2: Condensador.
- H3: Cristalizador de superficie rascada.

Válvulas e instrumentación: según esquema.

**Preparación prueba:**

- Asegurar que todos los servicios están conectados correctamente: aire comprimido, electricidad, vapor, agua de enfriamiento.
- Comprobar que las válvulas en los fondos de depósitos están cerrados: HV0103, HV0108, HV0110, AV0101.
- Asegurar que hay caudal de agua hacia la bomba de vacío: Abrir HV0115.

-1- Llenar producto.

- Llenar manualmente tanque T0 con producto a evaporar hasta máximo de nivel visual.

-2- Poner vacío.

- Asegurar que las siguientes válvulas están abiertas: AV0103.
- Asegurar que las siguientes válvulas están cerradas: HV0114.
- Arrancar bomba P4 (cuadro eléctrico).
- Poner consigna para el nivel de vacío deseado (cuadro eléctrico).
- Comprobar que el nivel de vacío se alcanza en PI0105 y que se está controlando el nivel mediante electroválvula AV0104.

-3- Llenar T1.

- Asegurar que las siguientes válvulas están abiertas: HV0101, HV0102.
- Asegurar que AV0102 está abierta, es decir, el flujo de P1 irá en dirección de H1.
- Abrir válvula AV0101, el producto pasa de T0 a T1. Llenar T1 hasta nivel máximo (LSH0102).
- Cerrar AV0101.

-4- Recircular producto.

- Arrancar P1 (cuadro eléctrico). El producto empieza a recircular P1 => H1 => T1 => P1

-5- Poner agua enfriamiento.

- Asegurar que las siguientes válvulas están abiertas: HV01113 y HV0106 y que haya caudal de agua circulando de H3 a H2.

**-6- Poner en marcha el vapor, precalentamiento, evaporación.**

- Elegir camino de evacuado de condensados. Abrir HV0105 o HV0104 (siempre una abierta y otra cerrada). Por defecto elegir evacuación vía HV0104 hacia purgador.
- Abrir FCV0101 poco a poco para conseguir una presión de vapor de 1 barabs aproximadamente (PI0102).

A partir de este momento tenemos producto en recirculación y vapor entrando en la camisa del evaporador. Poco a poco el producto se calentara hasta alcanzar el punto de ebullición. La temperatura de ebullición varía con el nivel de vacio elegido.

Es importante que la presión en el circuito de recirculación siempre sea algo superior a la presión de vacio (para evitar formación de burbujas en el tubo de H1). Para esto podemos cerrar un poco HV0101 (generar contra presión) pero nunca cerrar de todo.

Cuando el producto alcanza la temperatura de evaporación se generan los primeros vapores que van hacia condensador H2. En este momento ya pasa agua de enfriamiento por su camisa, así que los vapores generados se condensaran y entraran en tanque T2.

Mediante los niveles visuales podemos seguir el progreso. Poco a poco bajara el nivel en T1 y sube el nivel en T2.

-7- Rellenar T1.

- Cuando el nivel T1 alcanza su mínimo volveremos a cargar producto desde T0 abriendo válvula AV0101 y cerrar después.
- Si no queda producto en T0 se vuelve a reponer antes (manualmente).

-8- Vaciar T2.

- Iniciar cuando T2 alcanza nivel máximo (LSH 0102).
- Cerrar AV0103 (para no romper vacio en zona de evaporación).
- Asegurar que HV0107 está abierta.
- Arrancar P2.
- El agua es evacuado hasta alcanzar nivel mínimo LSL0103.
- Parar P2.
- Abrir AV0103.

-9- Evacuar producto concentrado.

Durante el proceso de evacuación vigilaremos la concentración del producto midiendo su conductividad con CT0101. Cuando está T1 lleno con producto a su máxima conductividad definida debemos evacuar el producto hacia el tanque de concentrado T3. Condiciones a cumplir: LSH0101 alto y máximo valor medido en CT0101 (consigna por definir).

- Cerrar AV0102. Esta válvula es de 3 vías. P1 bombea hacia T3 en vez de T1 hasta alcanzar nivel mínimo LSL01012.
- Abrir AV0102 para volver a recircular hacia T1.
- Repetir paso -7-

-10- Cristalizar producto.

En tanque T3 cristalizamos producto mediante enfriamiento.

- Asegurar que las siguientes válvulas están abiertas: HV0111, HV0112.
- Arrancar bomba P4 (cuadro)
- Arrancar el sistema de rascado de H3 (cuadro AV0105). El producto recircula por P3 => H3 => T3 => P3 y se enfría en H3. Poco a poco bajara la temperatura y se formaran los cristales.
- Se puede ayudar el proceso de enfriamiento mediante vacio: abrir HV0114: el vacio causa evaporación de parte del agua. La energía para evaporar viene del propio producto cuya temperatura bajará.

-11- Evacuar producto cristalizado.

- Abrir HV0110 para evacuar los cristales.
- A un tercio de altura de T3 se encuentra una válvula manual que permite recoger el líquido restante que está saturado. Este líquido se debe retornar a T0 (manualmente).

Los pasos -3- (llenar T0), -7- (Rellenar T1), -8- (Vaciar T2), -9- (Evacuar producto concentrado) y -11- (Evacuar producto cristalizado) se debe repetir continuamente. Según bajan los niveles se repone producto. Según llegamos a niveles máximos y concentración máxima descargamos producto y/o agua condensado. De esta forma simulamos el proceso de concentración con residuo cero:

- Pre calentamiento producto.
- Evaporación producto.
- Condensación de vapor.
- Extracción de producto saturado.
- Cristalización.
- Obtención cristales.
- Retorno liquido saturado al inicio de evaporación.

-12- Terminación de la prueba.

- Cerrar FCV0101. Cortar suministro de vapor.
- Parar el control de nivel de vacío. Abrir AV0104. Quitando el vacío, se para el proceso de evaporación. Parar P3.
- Abrir HV0110, vaciar contenido T3.
- Parar P4.
- Para sistema rascado H3.
- Vaciar T2. Mediante bomba P2 o abrir HV0108.
- Comprobar que la evaporación ha terminado: que no haya caudal de condensado saliendo por HV0108.
- Cortar suministro agua de enfriamiento. Cerrar HV0113.
- Parar P1.
- Vaciar T1: abrir HV0103. Con cuidado, el producto puede estar caliente todavía. Considera un tiempo de espera antes de vaciar T1 para que el producto tiene tiempo a enfriarse.
- Vaciar T0: abrir AV0101. El producto pasa de T0 a T1 y sale por HV0103.



-13- Limpieza planta.

- Llenar T0 y T1 con agua (enjuague)
- Recircular agua por H1 durante 20 minutos (para disolver restos)
- Pasar agua a T3 cambiando posición AV0102).
- Recircular agua con P4 durante 20 minutos.
- Arrancar sistema de rascado de H3 (disolver restos).
- Vaciar tanques T1, T0 y T3 usando válvulas de drenaje o bombas P2 y P4.

En el caso que haya suciedad en el condensador H2 recomendamos lo siguiente: limpieza con vapor:

- Abrir AV0103 y HV0108
- Poner el agua en T1 a evaporación.
- Los vapores generados pasan por H2 y salen por HV0108. Hay que tener cuidado porque los vapor que salen pueden causar quemaduras. Evita el contacto directo con el flujo de vapor.
- Hacer pasar cinco minutos.
- Cerrar FCV0101.
- Esperar un tiempo prudente antes de vaciar el agua en T2: puede estar a temperatura alta.

Repite el ciclo de llenado las veces que sea necesario para conseguir una limpieza total.

Anexo VI



Plaça Àgora, 2-3. Passeig Sunyer, 4-5.
08720 Vilafranca del Penedès 43202 Reus
Tel. +34 93 890 02 11 Tel. +34 977 32 83 32
Fax: +34 93 890 03 54 Fax: +34 977 33 16 55



Laboratory authorized to realize
Official analyses in the wine sector
Regalement (CE) N° 1308/2013

Butlletí d'Anàlisi

Només estan emparats per l'acreditació, els assajos expressament identificats com a tals

Cient : ODIRLAB, DESARR. Y APLICAC. DE LA OSMOSIS DIRECTA Núm. butlletí : 92184 Reg. Sortida : 42377

NIF : B63391940

Mostra Núm. : V2001289

Adreça : LOTERO 44, 5-2

Data recepció : 11/02/2020

Població : 08029 BARCELONA (BARCELONA)

Inici anàlisi : 26/02/2020

Anàlisi finalitzat : 05/03/2020

Identificació : Vi negre/Vino tinto/Red wine
A

Proforma : 32729

Determinació	Resultat	Cm.	Mètode
(V) - Alcohols superiors:	.		GC-FID
(V) - 2-butanol	0.01 mg/L		FID-GC
(V) - Alcohols superiors	33 mg/L		FID-GC
(V) - 2-metil-1-propanol	55 mg/L		FID-GC
(V) - 1-Butanol	1 mg/L		FID-GC
(V) - Alcohol isoamílic	272 mg/L		FID-GC
(V) - Acidesa total, exp. en àc. tartàric. Emparat per l'acreditació d'ENAC	5.1 ±0.2 g/L		PNT-V/R008 Valoració Àcid-Base
(V) - Àcid acètic. Emparat per l'acreditació d'ENAC	0.52 ±0.05 g/L		PNT-V/R082,Enzim.-Espectrofot.
(V) - Àcid cítric	<0.1 g/L		Enzimàtic
(V) - Àcid L-Làctic	2.0 g/L		Enzimàtic
(V) - Àcid L-màlic	<0.1 g/L		Enzimàtic
(V) - Grau alcohòlic volumètric adquirit. Emparat per l'acreditació ENAC.	13.48 ±0.13 %vol		PNT-V/R085 Densimetria electr.
(V) - Índex de Folin-Ciocalteu	47		Espectrofotomètric
(V) - Sucres (G+F), exp. en glucosa+fructosa. Emparat per l'acreditació d'ENAC	1.5 ±0.3 g/L		PNT-V/R012 rev. 03, Enzim.-Espectrofot UV-VIS
(V) - Diòxid de sofre total. Emparat per l'acreditació d'ENAC	<7 mg/L	[1]	PNT-V/R006, Iodometria potenciom
(V) - Diòxid de sofre lliure. Emparat per l'acreditació d'ENAC	18 ±4		PNT-V/R006, Iodometria potenciom
(V) - Tanins	1.9 g/L		Espectrofotomètric

[1]: Resultat Diòxid de Sofre Lliure obtingut és: 3 mg/L. No emparat per l'acreditació ENAC



Plaça Àgora, 2-3. Passeig Sunyer, 4-6.
 08720 Vilafranca del Penedès 43202 Reus
 Tel. +34 93 890 02 11 Tel. +34 977 32 83 32
 Fax: +34 93 890 03 54 Fax: +34 977 33 16 55



Generalitat de Catalunya
 Departament d'Agricultura,
 Ramaderia, Pesca i Alimentació



Laboratory authorized to realize
 Official analyses in the wine sector
 Regalement (CE) N° 1308/2013

Butlletí d'Anàlisi



Només estan emparats per l'acreditació, els assajos expressament identificats com a tals

Client : ODIRLAB, DESARR. Y APLICAC. DE LA OSMOSIS DIRECTA NIF : B63391940 Adreça : LOTERO 44, 5-2 Població : 08029 BARCELONA (BARCELONA)	Núm. butlletí : 92184 Reg. Sortida : 42377 Mostra Núm. : V2001289 Data recepció : 11/02/2020 Inici anàlisi : 26/02/2020 Anàlisi finalitzat : 05/03/2020
Identificació : Vi negre/Vino tinto/Red wine A	Proforma : 32729

La mostra fou facilitada pel propi client. L'anàlisi només dona fe de la mostra rebuda.
 No es pot reproduir aquest butlletí, excepte en la seva totalitat, sense l'aprovació escrita del laboratori
 La incertesa expandida s'ha calculat com a $U = K \cdot u$ ($K = 2$) i correspon a un nivell de confiança del 95%.

Butlletí emès per :

(V) - Laboratori de Vilafranca del Penedès

05 de març del 2020

RESPONSABLE(S) TÈCNIC(S):

FINA CAPDEVILA MESTRES



Signat digitalment per INCAVI





Plaça Àgora, 2-3. Passeig Sunyer, 4-6.
08720 Vilafranca del Penedès 43202 Reus
Tel. +34 93 890 02 11 Tel. +34 977 32 83 32
Fax: +34 93 890 03 54 Fax: +34 977 33 16 55



Laboratory authorized to realize
Official analyses in the wine sector
Regaleme (CE) N° 1308/2013



Butlletí d'Anàlisi

Només estan emparats per l'acreditació, els assajos expressament identificats com a tals

Client : ODIRLAB, DESARR. Y APLICAC. DE LA OSMOSIS DIRECTA NIF : B63391940 Adreça : LOTERO 44, 5-2 Població : 08029 BARCELONA (BARCELONA)	Núm. butlletí : 92185 Reg. Sortida : 42377 Mostra Núm. : V2001290 Data recepció : 11/02/2020 Inici anàlisi : 26/02/2020 Anàlisi finalitzat : 05/03/2020
Identificació : Vi blanc/Vino blanco/White wine B	Proforma : 32729

Determinació	Resultat	Mètode
(V) - Alcohols superiors:	.	GC-FID
(V) - 2-butanol	0.01 mg/L	FID-GC
(V) - Alcohols superiors	52 mg/L	FID-GC
(V) - 2-metil-1-propanol	20 mg/L	FID-GC
(V) - 1-Butanol	1 mg/L	FID-GC
(V) - Alcohol isoamílic	170 mg/L	FID-GC
(V) - Acidesa total, exp. en àc. tartàric. Emparat per l'acreditació d'ENAC	5.1 ±0.2 g/L	PNT-V/R008 Valoració Àcid-Base
(V) - Àcid acètic. Emparat per l'acreditació d'ENAC	0.28 ±0.04 g/L	PNT-V/R082, Enzim.-Espectrofot.
(V) - Àcid cítric	0.2 g/L	Enzimàtic
(V) - Àcid L-Làctic	<0.1 g/L	Enzimàtic
(V) - Àcid L-màlic	2.4 g/L	Enzimàtic
(V) - Grau alcohòlic volumètric adquirit. Emparat per l'acreditació ENAC.	13.71 ±0.13 %vol	PNT-V/R085 Densimetria electr.
(V) - Índex de Folin-Ciocalteu	5	Espectrofotomètric
(V) - Sucres (G+F), exp. en glucosa+fructosa. Emparat per l'acreditació d'ENAC	0.6 ±0.2 g/L	PNT-V/R012 rev. 03, Enzim.-Espectrofot UV-VIS
(V) - Diòxid de sofre lliure. Emparat per l'acreditació d'ENAC	10 ±2 mg/L	PNT-V/R006, Iodometria potenciom
(V) - Diòxid de sofre total. Emparat per l'acreditació d'ENAC	74 ±11 mg/L	PNT-V/R006, Iodometria potencio.
(V) - Tanins	108 mg/L	Espectrofotomètric

La mostra fou facilitada pel propi client. L'anàlisi només dona fe de la mostra rebuda.
No es pot reproduir aquest butlletí, excepte en la seva totalitat, sense l'aprovació escrita del laboratori
La incertesa expandida s'ha calculat com a $U = K \cdot u$ ($K = 2$) i correspon a un nivell de confiança del 95%.

Butlletí emès per : (V) - Laboratori de Vilafranca del Penedès
05 de març del 2020

RESPONSABLE(s) TÈCNIC(s):

FINA CAPDEVILA MESTRES



Signat digitalment per INCAVI





Plaça Àgora, 2-3. Passeig Sunyer, 4-6.
08720 Vilafranca del Penedès 43202 Reus
Tel. +34 93 890 02 11 Tel. +34 977 32 83 32
Fax: +34 93 890 03 54 Fax: +34 977 33 16 55



Generalitat de Catalunya
Departament d'Agricultura,
Ramaderia, Pesca i Alimentació



Laboratory authorized to realize
Official analyses in the wine sector
Regalement (CE) N° 1308/2013



Butlletí d'Anàlisi

Només estan emparats per l'acreditació, els assajos expressament identificats com a tals

Client : ODIRLAB, DESARR. Y APLICAC. DE LA OSMOSIS DIRECTA Núm. butlletí : 92186 Reg. Sortida : 42377
NIF : B63391940
Adreça : LOTERO 44, 5-2
Població : 08029 BARCELONA (BARCELONA)

Mostra Núm. : V2001291

Data recepció : 11/02/2020
Inici anàlisi : 26/02/2020
Anàlisi finalitzat : 05/03/2020

Identificació : Vi blanc/Vino blanco/White wine
C

Proforma : 32729

Determinació	Resultat	Mètode
(V) - Alcohols superiors:	.	GC-FID
(V) - 2-butanol	0.01 mg/L	FID-GC
(V) - Alcohols superiors	35 mg/L	FID-GC
(V) - 2-metil-1-propanol	14 mg/L	FID-GC
(V) - 1-Butanol	1 mg/L	FID-GC
(V) - Alcohol isoamílic	123 mg/L	FID-GC
(V) - Acidesa total, exp. en àc. tartàric. Emparat per l'acreditació d'ENAC	4.4 ±0.2 g/L	PNT-V/R008 Valoració Àcid-Base
(V) - Àcid acètic. Emparat per l'acreditació d'ENAC	0.25 ±0.04 g/L	PNT-V/R082,Enzim.-Espectrofot.
(V) - Àcid cítric	0.2 g/L	Enzimàtic
(V) - Àcid L-Làctic	<0.1 g/L	Enzimàtic
(V) - Àcid L-màlic	1.2 g/L	Enzimàtic
(V) - Grau alcohòlic volumètric adquirit. Emparat per l'acreditació ENAC.	11.76 ±0.12 %vol	PNT-V/R085 Densimetria electr.
(V) - Índex de Folin-Ciocalteu	4	Espectrofotomètric
(V) - Sucres (G+F), exp. en glucosa+fructosa. Emparat per l'acreditació d'ENAC	2.3 ±0.3 g/L	PNT-V/R012 rev. 03, Enzim.-Espectrofot UV-VIS
(V) - Diòxid de sofre total. Emparat per l'acreditació d'ENAC	55 ±9 mg/L	PNT-V/R006, Iodometria potenciom
(V) - Diòxid de sofre lliure. Emparat per l'acreditació d'ENAC	11 ±3 mg/L	PNT-V/R006, Iodometria potenciom
(V) - Tanins	128 mg/L	Espectrofotomètric

La mostra fou facilitada pel propi client. L'anàlisi només dona fe de la mostra rebuda.

No es pot reproduir aquest butlletí, excepte en la seva totalitat, sense l'aprovació escrita del laboratori

La incertesa expandida s'ha calculat com a $U = K \cdot u$ ($K = 2$) i correspon a un nivell de confiança del 95%.

Butlletí emès per :

(V) - Laboratori de Vilafranca del Penedès

05 de març del 2020

RESPONSABLE(S) TÈCNIC(S):

Anna Capdevila

FINA CAPDEVILA MESTRES




Signat digitalment per INCAVI





Plaça Àgora, 2-3. Passeig Sunyer, 4-6.
 08720 Vilafranca del Penedès 43202 Reus
 Tel. +34 93 890 02 11 Tel. +34 977 32 83 32
 Fax: +34 93 890 03 54 Fax: +34 977 33 16 55



 Laboratory authorized to realize
 Official analyses in the wine sector
 Regalement (CE) N° 1308/2013

Butlletí d'Anàlisi

Cient: ODIRLAB, DESARR. Y APLICAC. DE LA OSMOSIS DIRECTA NIF: B63391940 Adreça: LOTERO 44, 5-2 Població: 08029 BARCELONA (BARCELONA)	Núm. butlletí: 92181 Reg. Sortida: 42377 Mostra Núm.: V2001286 Data recepció: 11/02/2020 Inici anàlisi: 26/02/2020 Anàlisi finalitzat: 05/03/2020
Identificació: Beguda alc. de baixa graduació, BRA o aromatitzada de vi D	Proforma: 32729


Determinació	Resultat	Cm.	Mètode
(V) - Alcohols superiors:	.		GC-FID
(V) - 2-butanol	0.01 mg/L		FID-GC
(V) - Alcohols superiors	26 mg/L		FID-GC
(V) - 2-metil-1-propanol	54 mg/L		FID-GC
(V) - 1-Butanol	1 mg/L		FID-GC
(V) - Alcohol isoamílic	265 mg/L		FID-GC
(V) - Acidesa total, exp. en àc. tartàric	4.8 g/L		Valoració àcid-base
(V) - Acidesa volàtil, exp. en àc. acètic	0.34 g/L		Enzimàtic
(V) - Grau alcohòlic volumètric adquirit	8.91 %vol		Densimetria electrònica
(V) - Diòxid de sofre lliure	<7 mg/L	[1]	Iodometria
(V) - Diòxid de sofre total	20 mg/L		Iodometria
(V) - Àcid cítric	0.1 g/L		Enzimàtic
(V) - Àcid L-Làctic	1.8 g/L		Enzimàtic
(V) - Àcid L-màlic	<0.1 g/L		Enzimàtic
(V) - Índex de Folin-Ciocalteu	54		Espectrofotomètric
(V) - Sucres Totals (G+F+S), exp. en glucosa+fructosa	1.8 ±0.3 g/L		PNT-V/R012, Enzim.-Espectrofot UV-VIS
(V) - Tanins	1.8 g/L		Espectrofotomètric

[1]: Resultat Diòxid de Sofre Lliure obtingut és: 4 mg/L. No emparat per l'acreditació ENAC

La mostra fou facilitada pel propi client. L'anàlisi només dona fe de la mostra rebuda.
 No es pot reproduir aquest butlletí, excepte en la seva totalitat, sense l'aprovació escrita del laboratori

Butlletí emès per: (V) - Laboratori de Vilafranca del Penedès
 05 de març del 2020

RESPONSABLE(S) TÈCNIC(S):



FINA CAPDEVILA MESTRES



Signat digitalment per INCAVI





Plaça Àgora, 2-3. Passeig Sunyer, 4-6.
 08720 Vilafranca del Penedès 43202 Reus
 Tel. +34 93 890 02 11 Tel. +34 977 32 83 32
 Fax: +34 93 890 03 54 Fax: +34 977 33 16 55



Generalitat de Catalunya
 Departament d'Agricultura,
 Ramaderia, Pesca i Alimentació



Laboratory authorized to realize
 Official analyses in the wine sector
 Regalement (CE) N° 1308/2013

Butlletí d'Anàlisi

Client : ODIRLAB, DESARR. Y APLICAC. DE LA OSMOSIS DIRECTA	Núm. butlletí : 92182	Reg. Sortida : 42377
NIF : B63391940	Mostra Núm. : V2001287	
Adreça : LOTERO 44, 5-2	Data recepció : 11/02/2020	
Població : 08029 BARCELONA (BARCELONA)	Inici anàlisi : 26/02/2020	
Identificació : Beguda alc. de baixa graduació, BRA o aromatitzada de vi E	Anàlisi finalitzat : 28/02/2020	
Proforma : 32729		

Determinació	Resultat	Cm.	Mètode
(V) - Alcohols superiors:	.		GC-FID
(V) - 2-butanol	0.01 mg/L		FID-GC
(V) - Alcohols superiors	36 mg/L		FID-GC
(V) - 2-metil-1-propanol	17 mg/L		FID-GC
(V) - 1-Butanol	1 mg/L		FID-GC
(V) - Alcohol isoamílic	151 mg/L		FID-GC
(V) - Acidesa total, exp. en àc. tartàric	5.0 g/L		Valoració àcid-base
(V) - Acidesa volàtil, exp. en àc. acètic	0.20 g/L		Enzimàtic
(V) - Grau alcohòlic volumètric adquirit	8.47 %vol		Densimetria electrònica
(V) - Àcid cítric	0.3 g/L		Enzimàtic
(V) - Àcid L-Làctic	<0.1 g/L		Enzimàtic
(V) - Àcid L-màlic	2.1 g/L		Enzimàtic
(V) - Índex de Folin-Ciocalteu	5		Espectrofotomètric
(V) - Sucres Totals (G+F+S), exp. en glucosa+fructosa	0.9 ±0.2 g/L		PNT-V/R012, Enzim.-Espectrofot UV-VIS
(V) - Tanins	112 mg/L		Espectrofotomètric
(V) - Diòxid de sofre total	83 mg/L		Iodometria
(V) - Diòxid de sofre lliure	<7 mg/L	[1]	Iodometria

[1]: Resultat Diòxid de Sofre Lliure obtingut és: 6 mg/L. No emparat per l'acreditació ENAC

La mostra fou facilitada pel propi client. L'anàlisi només dona fe de la mostra rebuda.
 No es pot reproduir aquest butlletí, excepte en la seva totalitat, sense l'aprovació escrita del laboratori

Butlletí emès per :

(V) - Laboratori de Vilafranca del Penedès

05 de març del 2020

RESPONSABLE(s) TÈCNIC(s):

Signat digitalment per INCAVI

FINA CAPDEVILA MESTRES





Plaça Àgora, 2-3. Passeig Sunyer, 4-6.
08720 Vilafranca del Penedès 43202 Reus
Tel. +34 93 890 02 11 Tel. +34 977 32 83 32
Fax: +34 93 890 03 54 Fax: +34 977 33 16 55



Laboratory authorized to realize
Official analyses in the wine sector
Regalement (CE) N° 1308/2013

Butlletí d'Anàlisi

Cient: ODIRLAB, DESARR. Y APLICAC. DE LA OSMOSIS DIRECTA	Núm. butlletí: 92183	Reg. Sortida: 42377
NIF: B63391940	Mostra Núm.: V2001288	
Adreça: LOTERO 44, 5-2	Data recepció: 11/02/2020	
Població: 08029 BARCELONA (BARCELONA)	Inici anàlisi: 26/02/2020	
	Anàlisi finalitzat: 28/02/2020	
Identificació: Beguda alc. de baixa graduació, BRA o aromatitzada de vi F		
	Proforma: 32729	

Determinació	Resultat	Mètode
(V) - Alcohols superiors:	.	GC-FID
(V) - 2-butanol	0.01 mg/L	FID-GC
(V) - Alcohols superiors	21 mg/L	FID-GC
(V) - 2-metil-1-propanol	10 mg/L	FID-GC
(V) - 1-Butanol	1 mg/L	FID-GC
(V) - Alcohol isoamílic	94 mg/L	FID-GC
(V) - Acidesa total, exp. en àc. tartàric	4.2 g/L	Valoració àcid-base
(V) - Acidesa volàtil, exp. en àc. acètic	0.18 g/L	Enzimàtic
(V) - Àcid cítric	0.2 g/L	Enzimàtic
(V) - Àcid L-Làctic	<0.1 g/L	Enzimàtic
(V) - Àcid L-màlic	1.1 g/L	Enzimàtic
(V) - Índex de Folin-Ciocalteu	4	Espectrofotomètric
(V) - Sucres Totals (G+F+S), exp. en glucosa+fructosa	2.7 ±0.4 g/L	PNT-V/R012, Enzim.-Espectrofot UV-VIS
(V) - Grau alcohòlic volumètric adquirit	7.00 %vol	Densimetria electrònica
(V) - Tanins	120 mg/L	Espectrofotomètric
(V) - Diòxid de sofre total	65 mg/L	Iodometria
(V) - Diòxid de sofre lliure	10 ±2 mg/L	Iodometria

La mostra fou facilitada pel propi client. L'anàlisi només dona fe de la mostra rebuda.
No es pot reproduir aquest butlletí, excepte en la seva totalitat, sense l'aprovació escrita del laboratori

Butlletí emès per:

(V) - Laboratori de Vilafranca del Penedès

05 de març del 2020

RESPONSABLE(S) TÈCNIC(S):

FINA CAPDEVILA MESTRES



Signat digitalment per INCAVI

