



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI



Desenvolupament i validació de nous mètodes d'anàlisi en vi mitjançant FTIR

Ariadna Ramos Benaiges

Treball de final de Grau

Centre Tecnològic del Vi-VITEC

21 de Juny 2021

Tutor empresa: Dr. Miquel Puxeu Vaqué

Tutor acadèmic: Dr. Luca Guerrini



ÍNDEX

1.RESUM.....	3
ABSTRACT	3
2.OBJECTIU	3
3.INTRODUCCIÓ	4
3.1El vi i els seus paràmetres a determinar	4
3.2El mètode directe/indirecte	5
3.3Espectroscòpia d'infraroig per transformada de Fourier (FTIR)	6
3.4Empresa.....	7
4.PART EXPERIMENTAL	9
4.1 Característiques del equip FTIR	9
4.2. Preparació de la mostra	9
4.3.Àmbit d'aplicació de cada mètode	10
4.4.Ajust rectes a l'equip FTIR	11
4.5 Paràmetres de validació	13
5.RESULTATS	16
5.1.Acidesa total tartàrica	16
5.2.pH	23
5.3 D-glucosa+D-fructosa.....	29
5.4 Àcid L-màlic.....	31
6.CONCLUSIONS	32
CONCLUSION.....	33
7. BIBLIOGRAFÍA	34
9.ANNEXOS	35

1.RESUM

L'espectroscòpia d'infraroig per transformada de Fourier (FTIR) en les darreres dècades ha aportat molts avantatges analítics en l'àmbit de l'anàlisi enològic. Es tracta d'una tècnica ràpida, no destructiva, en la que no és necessari un pretractament de la mostra, més econòmica respecte metodologies tradicionals i sense gran necessitat de personal especialitzat. En l'anàlisi del vi proporciona excel·lents resultats en un gran nombre de paràmetres que permeten l'avaluació de la qualitat de mostos i vins. En el present treball s'ha dut a terme la posada a punt i validació de diferents determinacions mitjançant FTIR que actualment s'analitzen amb mètodes tradicionals.

ABSTRACT

In recent decades Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) has provided many analytical advantages in the field of oenological analysis. FTIR is a fast, non-destructive technique, which does not require sample pre-treatment and highly specialized personnel. Additionally, it is cheaper than traditional methodologies. The application of FTIR in wine analysis enables the acquisition of a large number of parameters that allow the efficient evaluation of the quality of musts and wines. In the current work, FTIR has been implemented and validated in the analysis of different wine parameters, which are currently performed using traditional methods.

2.OBJECTIU

L'objectiu és la validació de la tècnica d'espectroscòpia d'infraroig per transformada de Fourier per a la determinació de diferents paràmetres d'anàlisi d'interès enològic. Aquest objectiu es divideix amb els següents objectius específics:

- Validació dels paràmetres Acidesa Total Tartàrica i pH respecte el mètode directe basats en una valoració potenciomètrica i potencimetria respectivament, ambdós actualment acreditats per ENAC ISO 17025.
- Ajust de la recta a l'equip FTIR de D-glucosa+D-fructosa i àcid L-màlic respecte el mètode directe basat en una reacció enzimàtica i espectroscòpia UV-visible, estant el primer acreditat per ENAC ISO 17025.
- Ajust dels models i avaluació dels principals paràmetres de validació, per proporcionar uns criteris clars per l'acceptació de la posada en servei i evidenciar així la no existència de diferències significatives entre ambdós mètodes.

3.INTRODUCCIÓ

3.1El vi i els seus paràmetres a determinar

El vi és una substància hidroalcohòlica que s'obté del raïm mitjançant la fermentació alcohòlica de raïms frescos, que han estat trepitjats o no, o bé del most d'aquest. Es caracteritza per la seva composició on podem trobar principalment aigua, alcohols com (l'etilic i glicerol), àcids (tartàric, màlic, acètic, làctic, cítric, etc.), polifenols, tanins (que es relacionen amb el seu olor, sabor i color), complexos vitamínics (B1, B2, B3, B6 i C), sucres com la glucosa i fructosa, proteïnes, aminoàcids i substàncies volàtils o aromàtiques (terpens, etil esters, èsters, etc).^{1 2}

Són molts els paràmetres necessaris per tal de determinar la qualitat d'un vi i el control durant la seva elaboració, com per exemple l'acidesa total tartàrica, l'acidesa volàtil, el grau alcohòlic, el pH, el diòxid de sofre lliure i total, contingut de D-glucosa + D-fructosa, àcids com el màlic, làctic i tartàric, entre altres. En el següent treball es centra l'atenció en els paràmetres d'acidesa total tartàrica, pH, el contingut de D-glucosa+ D-fructosa i l'àcid L-màlic .

Per altra banda, l'acidesa total tartàrica d'un vi és la suma de tots els àcids valorables quant es porta el pH a 7 mitjançant una addició d'una solució bàsica estandarditzada. En el vi l'acidesa condiciona l'estabilitat del color i la sensació gustativa, les precipitacions tartàriques, el desenvolupament microbià i els processos d'oxidoreducció entre altres. També forma part de les dades que configuren el grau de maduració del raïm, necessari per determinar el moment òptim de verema. La concentració d'acidesa total tartàrica present en el vi es troba entre uns valors de 3,8 a 11,0 g/l expressat en àcid tartàric.³

La determinació del pH en mostos, vins i derivats és una mesura de la força dels àcids que contenen. Amb el pH estan relacionades les aptituds de conservació d'un vi, la seva resistència a microorganismes contaminants, també el color, el gust, la terbolesa i l'estabilitat del vi. El mètode directe utilitzat en el laboratori es basa en una potenciometria. El pH en mostres de vins esta compres normalment entre 3,00 i 4,00 unitats. Per a l'anàlisi s'utilitza un elèctrode combinat, on es mesura la diferència de potencial entre dos elèctrodes immersos en la mostra. ³

La determinació de D-glucosa i D-fructosa en el vi permet controlar si els sucres del raïm s'han consumit després de la fermentació alcohòlica, també és un paràmetre interessant en el tiratge dels cava i la classificació de diferents productes que s'obtenen del vi. El contingut d'aquest pot trobar-se entre proper a zero per als productes secs fins per sobre de 100 g/l en els productes més dolços. El mètode directe es basa en la reacció enzimàtica i posterior lectura mitjançant la tècnica d'espectroscòpia UV-Visible (mètode enzimàtic), aquesta pot dur-se a terme de forma manual o bé de forma automàtica. ⁴

Finalment, l'àcid L-màlic és un dels àcids més abundants en el vi i és fàcil de metabolitzar pels microorganisme. Aquest àcid proporciona al vi un característic sabor amarg i un gust herbaci i aspror. Aquest tendeix a disminuir quan es produeix una fermentació malolàctica on el principal efecte que produeix en l'elaboració de vins és la reducció de l'acidesa transformant químicament en àcid làctic i anhídrid carbònic un gas mitjançant bacteris làctics existents de forma natural en el raïm o bé inoculades. En el laboratori, la concentració d'àcid L-màlic en diferents matrius es determina mitjançant espectroscòpia

UV-visible amb un mètode enzimàtic. La concentració de l'àcid L-màlic en mostres de vins tranquils es troba en un contingut de 0,0 a 2,0 g/l en algunes ocasions pot arribar a tenir valors més alts.⁴

3.2 El mètode directe/ indirecte

La International Organization of Vine and Wine (OIV), és la referència científica i tècnica del món de la vinya i el vi. La OIV es defineix com una organització intergovernamental de caràcter científic i tècnic, amb una competència reconeguda en el camp de la vinya i el vi, les begudes de base vínica, raïm de taula, les panses i altres productes derivats de la vinya. Aquesta organització regula les definicions de productes, les descripcions de varietats, les pràctiques enològiques, productes enològics i també els mètodes d'anàlisi.⁵

En la descripció dels mètodes d'anàlisi la OIV diferencia clarament entre els mètodes directes, acceptats i amb procediments detallats i els mètodes indirecte, també acceptats i amb procediments detallats però basats en els mètodes directes. Tant és així, que per a l'acreditació de qualsevol dels paràmetres per mètode indirecte en la ISO 17025, és necessari disposar també del mateix paràmetre acreditat per mètode directe.

A nivell pràctic la implementació del mètode indirecte al laboratori té com en tots els mètodes avantatges i inconvenients. En les següents taules s'exposen per una banda els de la utilització de l'espectroscòpia d'infraroig per transformada de Fourier referent al mètode indirecte, i en l'altra els de la utilització d'un mètode directe.⁶

Taula 1 Avantatges i inconvenients de l'anàlisi FTIR

FTIR	
Avantatges	Inconvenients
• La presència del personal format del laboratori no és essencial si es disposa de un autoanalitzador. • Anàlisi simple i ràpid (≤ 1 min/mostra) • Bons resultats en quant a precisió, exactitud i repetibilitat. • Poca quantitat de mostra • No destructiu • Menor utilització de reactius químics. • Poc temps de tractament previ de la mostra excepte en el cas que la mostra estigui molt bruta. • Obtenció de molta informació en poc temps. • Alta resolució • Baix cost anàlisi per mostra	• Limitat per mesurar paràmetres amb concentracions molt baixes. • Cost del instrument. • Cost del manteniment anual. • Depèn de models de calibració i de mètodes de referència estàndard. • En el cas de mostres de vi escumós s'ha de descarbonatar aplicant agitació i pressió de buit.

Taula 2 Avantatges i inconvenients de l'anàlisi mitjançant un mètode directe

Mètode directe	
Avantatges	Inconvenients
• Cost de l'instrument • Cost de manteniment • No presenta limitacions en analitzar analits presents a concentracions baixes • Poc temps de tractament previ de la mostra excepte en el cas de que la mostra estigui molt bruta. • Bons resultats en quant a precisió, exactitud i repetibilitat.	• Posada a punt de l'equip • Ajust de l'elèctrode de pH i comprovació d'aquest en el cas d'una valoració potenciomètrica • Mètode relativament lent • Utilització de més reactius i patrons • Cost anàlisi per mostra més elevat • Volum de mostra • En el cas de mostres de vi escumós s'ha de descarbonar aplicant agitació i pressió de buit.

3.3 Espectroscòpia d'infraroig per transformada de Fourier (FTIR)

El mètode que es vol utilitzar per a complementar les tècniques d'anàlisi directe en tots aquests paràmetres esmentats anteriorment és l'espectroscòpia d'infraroig amb transformada de Fourier (FTIR).

La Transformada de Fourier va ser desenvolupada pel matemàtic francès Jean Baptiste Joseph Fourier (1768-1830). És un mètode comparativament nou utilitzat des dels anys noranta en el sector de l'agroindústria Bertrand i Dufour, 2000, amb aplicacions més recents en begudes fermentades Fayolle, Picque, Perret, Latrille i Corrieu, 1996 i vi Dubernet, 2000; Kupina i Shrikhande, 2003; Patz, David, Thente, Kurbel i Dietrich, 1999.

7

FTIR és una tècnica d'anàlisi espectroscòpica que utilitza una part de l'espectre electromagnètic, concretament longituds d'ona situades entre els 2.500 a 25.000 nm. Aquest interval espectral, pertany a la regió del "Infraroig Mitjà" i és per aquest motiu que també al FTIR se li coneix com a tal. Encara que de forma general aquesta abreviatura és el nom d'una tècnica matemàtica utilitzada per convertir dades numèriques en resultats útils, també s'ha popularitzat aquest terme per tal de denominar aquesta tècnica analítica. FTIR es basa en la diferent absorció de la radiació de l'infraroig que presenten les diferents substàncies presents al vi, així com l'ús d'un model matemàtic estadístic amb un calibratge previ per la quantificació de cada substància o paràmetre a determinar. La transformada de Fourier és un procediment matemàtic que permet trobar la intensitat de la senyal en funció de la longitud d'ona a partir de l'interferograma (Figura 1), i reconstruir l'espectre d'infraroig. Aquest model matemàtic necessita d'un software específic amb una gran potencia estadística. L'espectre generat per un analitzador FTIR proporciona una representació molt exacta de l'espectre de la mostra que s'està analitzant.^{8 9}

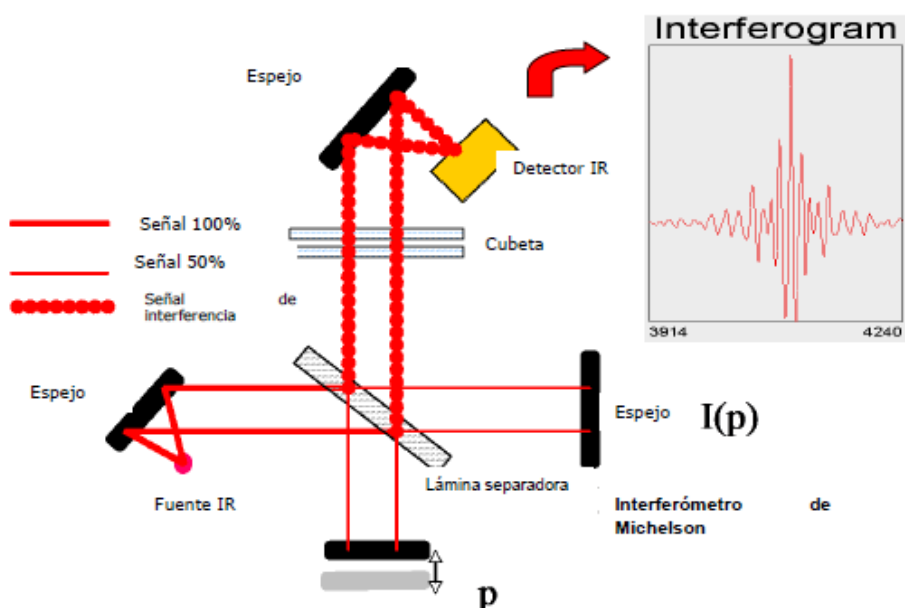


Figura 1 Esquema simplificat d'un interferòmetre

L'anàlisi FTIR també s'ha convertit en una eina molt important per als cellers des que solucions analítiques FOSS va introduir aquesta tècnica d'anàlisi a través de l'aparell Winescan. Més de 20 paràmetres de vi o most actualment poden ser analitzats en menys d'un minut incloent etanol, D-glucosa+D-fructosa, àcid L-màlic, acidesa volàtil, acidesa total, pH, SO₂ lliure i total, entre altres. D'aquesta manera, els enòlegs poden recolzar les seves decisions basades en les apreciacions organolèptiques i experiència, amb dades analítiques disponibles de forma ràpida.¹⁰

Tot i la millora aportada als procediments analítics dels laboratoris vitivinícoles, l'aplicació de la metodologia FTIR únicament pot ser aplicada a analits que absorbeixen a la regió IR provocant vibració dels seus enllaços.¹¹

3.4 Empresa

El treball de fi de grau s'ha dut a terme a VITEC-Centre tecnològic del Vi, sent un centre de suport integral a la R+D+I a nivell regional, nacional i europeu, per al sector vitivinícol.

En aquesta institució es duen a terme des de serveis d'anàlisi, assessorament, serveis tècnics i recerca aplicada per tal de transmetre els resultats al sector vitivinícol. VITEC, a banda del laboratori enològic, presenta diferents àrees per a cada etapa productiva des de viticultura, celler experimentat, microbiologia enològica i anàlisis sensorial amb el desig d'oferir un suport integral al sector.

VITEC es va crear l'any 2009 com una fundació sense ànim de lucre i es finança a través de la investigació que desenvolupa en projectes de recerca competitiu i dels serveis tecnològics que ofereix al sector. El centre destina tots els ingressos a l'activitat investigadora i a potenciar la innovació vitivinícol per obtenir una millor producció i qualitat vitícol i enològica.

El centre està certificat amb la ISO 9001. Per altra banda, part dels serveis d'anàlisi del Laboratori Enològic i Panell de Cata es troben acreditats per la ISO 17025 per a



l'acreditació de laboratori en els paràmetres bàsics per a la qualificació i exportació del vi.

A més, presenta diverses publicacions des de l'any 2015 en diverses revistes científiques com ara Food Chemistry, Australian Journal of Grapes and Wine Research, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Journal of Food Quality, Food Research International, Grapes and Wine- Advances in Production, Processing, Analysis and Valorization, entre altres.

Els últims 10 anys, VITEC ha estat liderant projectes que han estat finançats a través de projectes competitius per la Comissió Europea, la Generalitat de Catalunya, Ministeri de Ciència i Innovació, entre altres. A continuació es mostren alguns dels últims que han realitzat:

-LIFE PRIORAT+MONTSANT – Eficiència en l'ús dels recursos per a la millora de la sostenibilitat vitivinícola de la comarca del Priorat (2016-2020), *Programa Life +, Comissió Europea*.

-PECT PRIORAT – Priorat-Montsant-Siurana, paisatge agrícola de la muntanya mediterrània. Projecte d'especialització i competitivitat territorial 2016-2020 (PECT PRIORAT (2017-2020), *Projectes d'Especialització i Competitivitat Territorial (PECT 2016), Generalitat de Catalunya*.

-GOVALMAVIN – Valorització de materials tradicionals per a vinificació de vins (2018-2020), Convocatòria d'ajuda a projectes innovadors de Grups Operatius (2017), Ministeri d'Agricultura, Pesca i Alimentació.

-GLOBALVITI – Solució global per millorar la producció vitivinícola davant el canvi climàtic basada en robòtica, tecnologia IT i en estratègies biotecnològiques i de maneig de la vinya (2016-2020), *Programa Estratègic de Consorcis de Recerca Empresarial Nacional (CIEN), CDTI*.

-MICROSEL – Millora de la qualitat i tipicitat sensorial dels vins provinents de Ribera del Duero, Rioja i Rueda mitjançant l'optimització dels aromes secundaris i terciaris, i la seva adequació a les noves demandes del públic nacional i internacional (2016-2020), RETOS COLABORACIÓN 2016, *Ministerio de Economía y Competitividad*.

-RETASTELED – Reducció del deteriorament fotoquímic del vi mitjançant el desenvolupament de noves tecnologies LED pel seu us en celler i linials de venda (2018-2021), *Retos-Colaboración 2017, Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades*.

4.PART EXPERIMENTAL

4.1 Característiques del equip FTIR

Per la realització de tots els assajos, el laboratori disposa d'un equip per l'anàlisi d'infraroig amb transformada de Fourier, les característiques tècniques de l'aparell WineScan (Figura 2) són les següents:

- Font d'alimentació: (100 o 240) VAC $\pm$ 10%- 50/60Hz.
- Consums d'energia: 600 VA màxim durant la mesura, 200 VA en standby.
- Temperatura ambient: 5-35°C.
- Humitat de l'ambient: El 80% RH, cíclic fins el 80% RH quan va de menor a major temperatura.
- Ambient: Pel millor funcionament es col·loca l'instrument sobre una superfície estable lluny de vibració contínua.
- Temps d'anàlisi: Aproximadament 30 segons, 150 s per assajos amb determinació de SO₂ en mode ràpid(min 86 s de hidròlisi).
- Eficàcia de purga: > al 99%.
- Temperatura de la mostra: 5-35 °C (control de temperatura $\pm$ 0.1°C).
- Característiques tècniques del Auto Sampler: font d'alimentació (100 o 240) VAC $\pm$ 10%- 50/60Hz.

El software de l'equip, permet a l'usuari introduir modificacions sobre la programació dels paràmetres instrumentals involucrats en la determinació multi-paramètrica en vi.

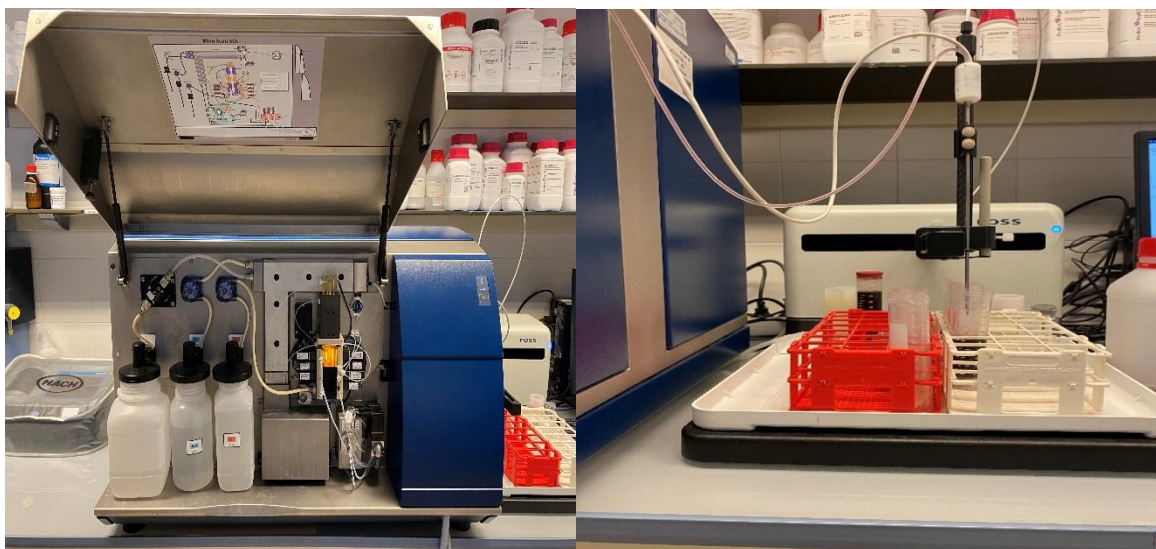


Figura 2 a)Equip FTIR b)FTIR en funcionament



4.2. Preparació de la mostra

La preparació de la mostra consisteix en omplir un tub tipus falcon de capacitat total de 50 mL amb 30 mL de mostra de vi a analitzar al FTIR i es centrifuga a una velocitat de 6000 rpm durant un temps de 7 minuts.

En el cas de les mostres de vi escumós o semi-escumós, s'agafa una partició d'uns 50 mL de mostra i es realitza una descarbonatació aplicant agitació i pressió de buit durant uns 8 minuts per tal d'eliminar el CO₂ i la limitació en la formació de bombolles en el tub de mostra a analitzar.

4.3. Àmbit d'aplicació de cada mètode

- **Acidesa total tartàrica (ATT)**

El paràmetre que es vol determinar és l'acidesa total tartàrica en diferents matrius de vi. La metodologia de referència és un mètode acreditat per ISO 17025 basat en una valoració potenciomètrica utilitzant un elèctrode de pH com a indicador del punt final. El punt d'equivalència es determina en el moment en què s'observa un canvi de color de l'indicador àcid base o bé per mesura potenciomètrica de la mostra durant l'addició de la solució valorant amb NaOH.

El rang de treball es troba entre 3,8 a 11,0 g/l d'àcid tartàric però hi ha definits tres intervals al llarg del rang de treball per l'avaluació dels resultats durant els assajos de control de qualitat intern tots expressant en concentració d'àcid tartàric, són els següents:

Rang baix (RB)= 3,8 a 5,5 g/l

Rang mig (RM)= 5,6 a 7,9 g/l

Rang alt (RA)= 8,0 a 11,0 g/l

- **pH**

El paràmetre que es vol determinar és el pH en diferents matrius de vi, basant en un mètode intern. La metodologia de referència també està acreditada per la ISO 17025 i es basa en una lectura potenciomètrica on es realitza una mesura de la diferència de potencial entre dos elèctrodes immersos en un medi líquid (mostra). Un d'aquests dos elèctrodes mesura el seu potencial en funció del pH del medi líquid, mentre que l'altre elèctrode de referència té un potencial fix conegut.

El rang de treball es troba entre 3,00 i 4,00. Hi ha definits quatre intervals al llarg del rang de treball per l'avaluació dels resultats durant els assajos de control de qualitat intern, són els següents.

Límit de quantificació (LOQ)= 2,99

Rang Baix (RB) = 3,00 -3,30

Rang Mig (RM)= 3,31-3,70

Rang Alt (RA)= 3,71-4,00.

- **D-glucosa + D-fructosa**

El contingut de D-glucosa + D-fructosa en diferents matrius de vi està basat en el mètode intern. La metodologia de referència utilitzada està actualment acreditada per la ISO 17025 i es basa en un mètode enzimàtic seqüencial per espectroscòpia UV-visible, utilitzant un analitzador automàtic.

El rang de treball es troba entre 0,2 a 65,0 g/l de glucosa i fructosa. Hi ha definits els següents intervals al llarg del rang de treball:

Límit de quantificació (LOQ)= 0,20 g/l

Rang baix (RB)= 0,21-1,0 g/l

Rang mig (RM)= 1,1 -6,0 g/l

Rang alt (RA)= 6,1-8,0 g/l

Rang superior (RS)= 8,1-65,0 g/l.

- **Àcid L-màlic**

El paràmetre que es vol determinar és l'àcid L-màlic en diferents matrius de vi, es basa en el mètode intern d'una espectroscòpia UV-visible amb un mètode enzimàtic, utilitzant un analitzador automàtic. El rang de treball es troba entre 0,1 a 2,0 g/l d'àcid L-màlic. Hi ha definits els següents intervals al llarg del rang de treball expressats en unitats de concentració d'àcid L-màlic:

Límit de quantificació (LOQ)= 0,1 g/l

Rang baix (RB)= 0,1- 0,6 g/l

Rang mig (RM)= 0,7-1,2 g/l

Rang alt (RA)= 1,3-2,0 g/l

4.4.Ajust rectes a l'equip FTIR

Els equips de FTIR per a ús enològic venen definits amb uns models a priori robustos creats a partir de l'anàlisi de milers de mostres de diferents característiques i procedència geogràfica. Per aquest motiu primer de tot s'han d'avaluar els models ja existents en l'equip per tal de poder veure quin és el punt de partida de l'equip i observar com s'ajusten els resultats del mètode de referència amb els resultats per FTIR . Un cop comprovat amb el gràfic dels residuals limitat per unes desviacions màximes permeses en cada rang de treball, paràmetre i observant que no s'ajusten bé les mostres, s'ha de realitzar un nou ajust d'una recta a l'equip FOSS del FTIR.

L'ajust amb la pendent i intercepció permet comparar els resultats del WineScan d'una calibració o model de predicció determinat amb els corresponents resultats en funció del mètode de referència típica per la indústria.

Per tal de realitzar l'ajust de la pendent i la intercepció s'utilitzen diverses funcions que es situen en àrees diferents del software FOSS integrator:

- Crear un conjunt de mostres (Sample Set).
- Afegir dades de referència.

-Càlcul de la pendent i intercepció i modificació del model inicial.

Per fer-ho es seleccionen un conjunt de dades representatives del laboratori. Per seleccionar les mostres es té en compte els diferents tipus de matriu de vins tranquils (vi blanc, negre i rosat) i que els resultats estiguin compresos dins de tot el rang de treball de cada paràmetre. L'objectiu per tant, és tenir mostres analitzades per FTIR amb valors d'acidesa total tartàric, pH, D-glucosa + D-fructosa i àcid L-màlic pel seu mètode directe i d'aquesta manera tenir l'espectre i el valor de referència. Es tenen diferents mostres representatives analitzades al FTIR degut a que el laboratori té de rutina i acreditat els paràmetres d'acidesa volàtil i grau alcohòlic i per aquest motiu es disposa de l'espectre i dels valors de referència de diferents paràmetres.

Un cop seleccionades les dades, s'agafen els valors de les mostres de referència del mètode directe basat amb la tècnica utilitzada en el laboratori de cadascun dels paràmetres. Les dades s'introdueixen al programa FOSS del FTIR per tal de realitzar un Sample Set amb mostres de calibració i crear un bon ajust local del model en base les mostres seleccionades. Això inclou materials de referència, mostres internes i de client extern, amb valors de referència assignats a través dels exercicis inter-comparatius, a partir del mètode directe.

Les eines estadístiques de l'equip tenen la possibilitat que amb un conjunt de mostres seleccionat amb resultats de referència assignats, permeten realitzar un ajust canviant la pendent o la intercepció del model actual present a l'equip, així com també el propi equip et dona ja un model canviant aquests dos paràmetres. Per altra banda, el software de l'equip visualitza la detecció de possibles punts discrepants a partir de les desviacions detectades i amb la icona d'un interrogant assenyalen quins són els possibles *outliers* que creu l'equip i permet eliminar-los manualment del Sample Set. També hi ha la possibilitat d'eliminar-los per criteri propi quan algun punt es desvia molt del seu valor de referència.

Un cop eliminats els possibles *outliers* amb els mètodes utilitzats esmentats anteriorment, s'avaluen els valors d'exactitud absoluta i d'exactitud relativa del nou model proposat respecte els del model actual. En la (Figura 3) es mostren els valors que proporciona el programa.

	Propuesto	Actual
Pendiente	0,7760	0,7760
Intercepción (Intercept)	-0,04008 g/l	-0,02650 g/l
Exactitud (abs)	0,1119 g/l	0,1087 g/l
Exactitud (rel)	17,22%	16,73%
Diferencia media	0 g/l	0,01358 g/l
Diferencia media (rel)	0	0,02090
Repetibilidad (abs)	N/A	N/A
Repetibilidad (rel)	N/A	N/A
Correlación	0,9791	

Figura 3 Captura de pantalla del programa d'ajust de la recta al FTIR

Per tal de disposar d'un bon model, el primer que s'ha tingut en compte ha estat la distribució aleatòria dels residuals en tot el rang de treball desitjat, sense presentació de tendències clares i que aquests siguin acceptables per a l'aplicació de cada paràmetre.

Un cop es demostra amb la representació dels residuals tenint en compte el valor obtingut amb el FTIR i el de referència, es confirma que tenim un bon model, quant aquest residuals no superen les desviacions màximes permeses en cada paràmetre. També s'analitzen mostres de materials de referència i altres mostres per acabar de corroborar que tenim un model amb un bon ajust i apte per a ser completament validat.

En el cas en què no es disposen mostres en tot el rang de treball s'ha optat per dopar o bé modificar les concentracions. En el paràmetre d'acidesa total tartàrica per tal de poder tenir un bon ajust de la recta és necessari tenir punts als dos extrems del rang de treball i per aquest motiu s'ha dopat amb una concentració afegida de 2,0 g/L i 4,0 g/L d'àcid tartàric per tal de tenir més mostres amb un contingut elevat d'acidesa total tartàrica.

Pel que fa als paràmetres de pH, D-glucosa + D-fructosa i d'àcid L-màlic es disposaven de diferents mostres en tot el rang de treball i per tant no ha estat necessari dur a terme la realització d'addicions.

Per altra banda, en el cas del paràmetre de D-glucosa+ D-fructosa, s'han realitzat dos ajustos de rectes al FTIR degut a que quan es realitzava únicament una recta s'obtenien resultats satisfactoris entre 1,0 i 65,0 g/l però entre 0,2 i 1,0 g/l no s'arribava a la precisió i exactitud del mètode directe arribant fins el punt que no es pot discriminar entre mostres de 0,2 i de 0,8 amb els residuals que hi ha estipulats en el mètode enzimàtic. Això pot ser degut a que al realitzar una única recta per tot el rang de treball a l'equip està sobresaturat i alhora les mostres a analitzar presenten una matriu molt diferent. D'aquesta manera, s'està arribant al límit de precisió de la tècnica tenint en compte les incerteses associades a les dades de referència i de la variabilitat tant gran de matrius víniques a analitzar. Per aquest motiu s'ha realitzat una recta per al límit de quantificació i rang baix, i una altra pels valors compresos en el rang mig, alt i superior.

Un cop ajustat els models de predicció es realitza una avaluació dels principals paràmetres de validació per tal de proporcionar uns criteris clars per l'acceptació de la posada en servei del nou mètode.

Taula 3 Rectes obtingudes pels diferents paràmetres amb el programari del FTIR

	Acidesa total tartàrica	pH	D-Glucosa+D- Fructosa (LOQ, RB)	D-Glucosa + D- Fructosa (RM,RA,RS)	Àcid L-màlic
Pendent	0,98210	1,12700	0,94070	0,98450	0,77600
Intercepció	0,01848	-0,38110	0,00000	0,00000	-0,04008

4.5 Paràmetres de validació

Per tal de poder utilitzar aquest nou mètode indirecte d'anàlisi per a l'anàlisi de mostres de clients, el laboratori a banda de comprovar que es disposa d'un ajust correcte com s'ha detallat en l'apartat anterior, ha d'assegurar-se que compleix amb els criteris establerts per el laboratori, així com conèixer les limitacions i proporcionar resultats de qualitat als clients. Per aquest motiu és necessari abans de la posada en servei del mètode, realitzar un procés de validació per verificar que el mètode és adequat amb els seus objectius específics i que el laboratori pot obtenir resultats comparables amb el mètode estàndard utilitzat anteriorment.¹²

S'analitzaran per tant els diferents paràmetres de validació amb mostres internes i materials de referència. Els paràmetres que s'utilitzen són els següents:

Repetibilitat

S'avalua la repetibilitat del mètode amb mostres reals. En total es realitzen dotze assajos independents consecutius en cada cas sobre una mateixa mostra en el mínim temps possible, mantenint-se constants les següents variables: tècnic, equip i reactius.

Amb les dades obtingudes primer de tot s'ha de realitzar un test d'*outliers* amb el test de *Grubb* per comprovar que no hi ha cap punt discrepant en el conjunt de mostres. Llavors es calcula el coeficient de variació (CV%) que es compara amb el valor de referència de Horwith calculat a partir de l'equació de Horwith utilitzat per l'avaluació de la precisió en laboratoris i el factor de repetibilitat que es compara amb el valor de referència de la OIV.

Reproductibilitat

S'avalua la reproductibilitat interna del mètode amb mostres reals, amb la realització de dotze assajos espaiats en el temps on es modifica alguna o més d'una de les variables següents: tècnic, equip, reactius i dia.

Amb les dades obtingudes primer de tot s'ha de realitzar un test d'*ouliers* amb el test de *Grubb* per comprovar que no hi ha cap punt discrepant en el conjunt de mostres. Aleshores, es calcula el coeficient de variació (CV%) que es compara amb el valor de referència de Horwith i el factor de reproductibilitat comparat amb el valor de referència de la OIV per tal d'avaluar la precisió del mètode.

Veracitat

La veracitat ens proporciona informació de que els resultats no tinguin errors sistemàtics i siguin comparables amb el mètode de referència i per tant exactes.¹³ Els mètodes emprats per l'estudi de la veracitat són:

- Comparativa mètode de referència amb el paràmetre d'acidesa total tartàrica i pH
- Mostres adicionades amb el paràmetre d'acidesa total tartàrica
- Exercicis Inter-laboratori amb el paràmetre d'acidesa total tartàrica i pH

Amb les mostres adicionades es calcula la recuperació obtinguda i es comparen amb les recomanacions de la AOAC per tal de considerar acceptables els valors obtinguts.

Pel que fa les mostres de referència s'avalua la desviació que hi ha entre els dos mètodes i es considera la incertesa declarada pel proveïdor del servei analític.

En els exercicis Inter-laboratori es realitza una representació gràfica dels z-scores i considerant apte el mètode quan tots els resultats es trobin dins el límit estadístic:

$$-2 < \text{z-score calculat} < 2$$

Es calcula de forma global tant en el mètode de referència com en els exercicis Inter-laboratori el factor recuperació i el z-score. Llavors es realitza un test *t* amb un nivell de confiança del 95% i *n*-2 graus de llibertat per tal de comprovar que quedi aprovada la hipòtesi d'equivalència entre els dos grups de resultats. Per últim es realitza un test *F* amb un nivell de confiança del 95 % i *n,m* graus de llibertats per corroborar que no hi ha diferències significatives entre els dos mètodes i que són comparables.



Linealitat

Es realitza un estudi de la linealitat a partir de mostres adicionades amb una solució mare d'àcid tartàric amb diferents nivells de concentració inicial repartides al llarg de tot el rang de treball del paràmetre d'acidesa total tartàrica, pel que fa en el cas del pH s'estudia la linealitat amb la comparació amb el mètode de referència.

Es calcula en ambdós casos, el model de regressió lineal, el coeficient de correlació i la desviació estàndard residual, de la pendent i de l'ordenada a l'origen.

Incertesa

La incertesa ens informa de la qualitat del resultat ja que ens mostra un interval al voltant del valor estimat dins del qual es troba el valor considerat vertader.¹³

Dins del càlcul intervé la desviació típica de reproductibilitat calculada a partir de les dades experimentals de rutina obtingudes durant els controls de qualitat interns i el component de biaix del mètode calculat a partir dels resultats Inter-laboratori. Es calcula l'estimació de l'incertesa del mètode per cada rang de validació.

5.RESULTATS

Amb l'objectiu de determinar la validesa del mètode per l'àmbit d'aplicació previst, es realitzen diferents sèries d'assajos independents aplicant el mètode analític sota avaluació. A partir dels resultats experimentals obtinguts es realitza el tractament estadístic de les dades i s'avaluen els diferents paràmetres en relació a un criteri d'acceptació establert.

Pel que fa a la validació dels paràmetres D-glucosa+D-fructosa i d'àcid L-màlic en ambdós rangs de validació, actualment únicament s'ha realitzat la feina d'obtenir un ajust correcte de la recta i falta, per tant, només validar-los.

Els resultats analítics obtinguts, informació sobre el tècnic, material en cada assaig, així com el càlcul dels diferents paràmetres estadístics es mostren a l'Annex.

5.1.Acidesa total tartàrica

Repetibilitat

Un cop avaluada la repetibilitat del mètode amb la realització de dotze assajos independents consecutius sobre una mateixa mostra, mantenint constant les variables tècnic, equip i reactiu, es calcula el coeficient de variació (CV%) i la repetibilitat per cada sèrie de dades. Per altra banda, s'eliminen els possibles punts discrepants i els resultats obtinguts es mostren en la següent taula:

Taula 4 Resultats repetibilitat mostres reals

Repetibilitat	Rang baix	Rang mig	Rang alt
CV(%)	0,46	0,23	0,20
CVr(%) Horwith	1.40	1.40	1.40
r	0,05	0,04	0,04
r OIV	0,07	0,07	0,07



Es considera que la precisió del mètode és adequada quan $CV\% < CVr\%$ de Horwith per cada nivell de concentració i quan r calculada sigui inferior a la r OIV. Per tant, s'observa que en mostres reals s'obtenen resultats satisfactoris.¹⁴

Reproductibilitat

Un cop avaluada la reproductibilitat interna del mètode amb la realització de dotze assajos espaiats en el temps on es modifica alguna o més d'una variable. Es calcula el coeficient de variació (CV%) i el factor reproductibilitat del mètode de cada sèrie de dades i un cop eliminats els possibles punts discrepants, es considera que la precisió del mètode és adequada quan $R \leq R$ OIV i quan $CV\% < CVr\%$ de Horwith per cada nivell de concentració.¹⁴

Taula 5 Resultats reproductibilitat mostres reals

Reproductibilitat	Rang baix	Rang mig	Rang alt
CV(%)	0,57	0,31	0,23
CVr(%) Horwith	1,40	1,40	1,40
R	0,07	0,05	0,05
R OIV	0,30-0,40	0,30-0,40	0,30-0,40



Veracitat

- Mostres adicionades

S'avalua la veracitat del mètode a partir de diferents estudis de recuperació sobre mostres reals adicionades amb diferents nivells de concentració i representatives de la variabilitat de matrius possibles.

A partir de mostres reals inicials de vi blanc i negre, s'han dut a terme addicions amb àcid tartàric de 1.0, 2.5, 5.0 i 3.0 g/l de tal forma que les concentracions finals quedin repartides al llarg de tot el rang de treball. En total s'han obtingut un total de 12 mostres posterior a les addicions.

Segons recomanacions de la AOAC, es consideren acceptables els següents valors de recuperació per cada rang de concentració:

RB i RM (95-105) %

RA (97-103) %

Taula 6 Resultats veracitat amb mostres adicionades

Veracitat	Rang baix	Rang mig	Rang alt
Recuperació (%)	100	99	99
Rec. AOAC (%)	95-105	95-105	97-103

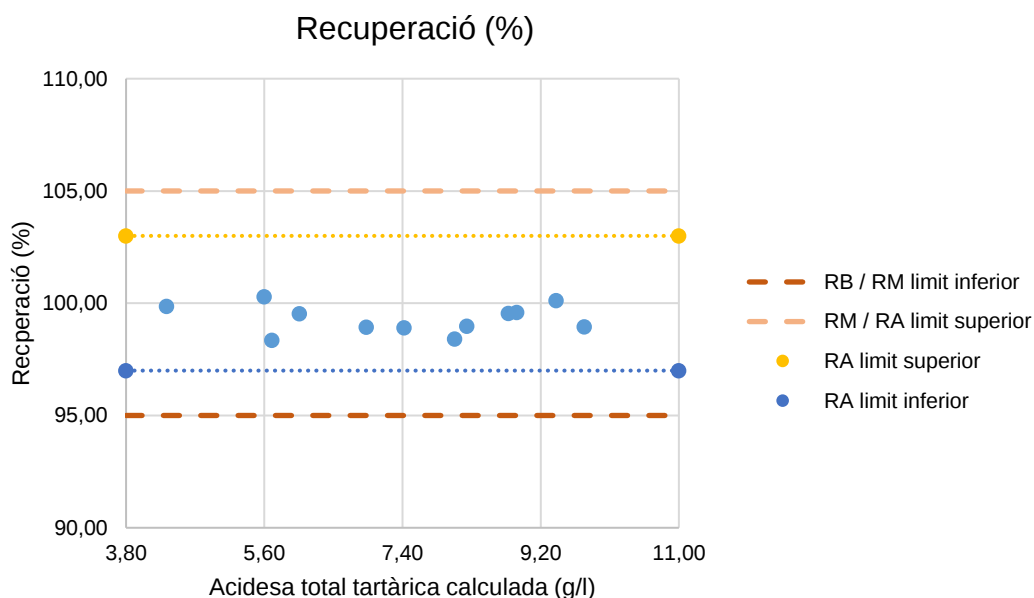


Figura 5 Representació d'acidesa total tartàrica calculada (g/l) vs Recuperació(%)

Com es pot observar en de la representació d'acidesa total tartàrica calculada (g/l) vs la recuperació, en tots els rangs de treball les mostres es troben dins dels límits de desviació màxima permesa en quant a recuperacions que estableix la AOAC.

Amb l'objectiu de contrastar aquest fet, de forma complementaria es representa gràficament els resultats obtinguts per la determinació de l'acidesa total en vi respecte el valor de referència en cada cas. Es calcula el model de regressió lineal i el coeficient de correlació entre el valor observat i el calculat respecte la concentració inicial de la mostra. S'observa per tant, un ajust correcte a la recta de superposició.

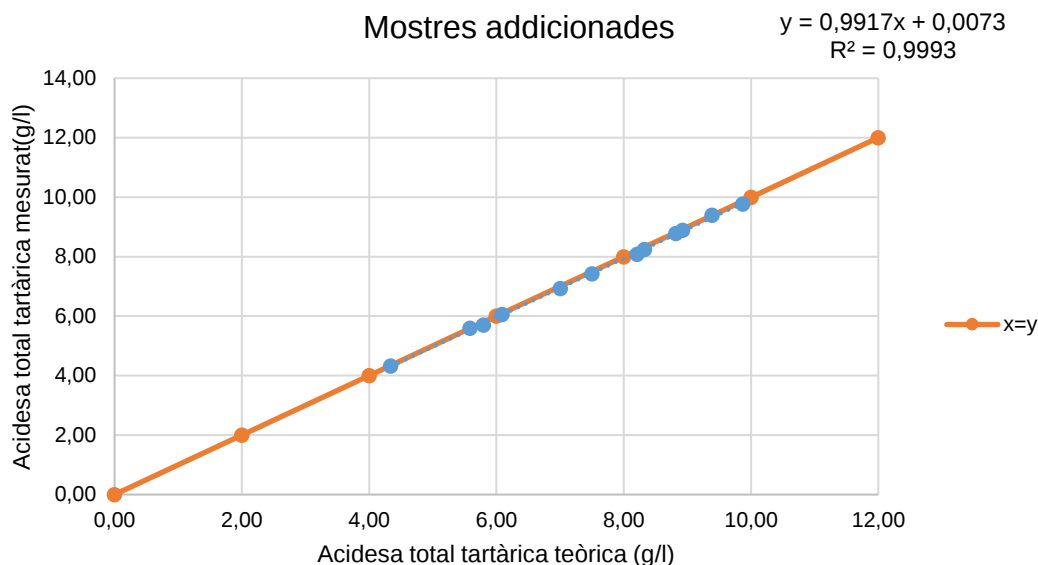


Figura 6 Representació Acidesa total tartàrica teòrica (g/l) vs Acidesa total tartàrica mesurada (g/l)

- Comparativa amb el mètode de referència

Per la comparativa amb un mètode de referència, es realitza una selecció de diferents mostres reals representatives de tota la variabilitat habitual del laboratori enològic i mostres de tots els rang de treball. S'analitzen un total de 24 mostres i es comparen els resultats amb valors de referència obtinguts pel mètode potenciomètric que ha estat en els últims anys validat i acreditat.

En aquest cas, a l'hora d'avaluar les desviacions entre mètodes, s'ha de considerar també la incertesa declarada pel proveïdor del servei analític acreditat.

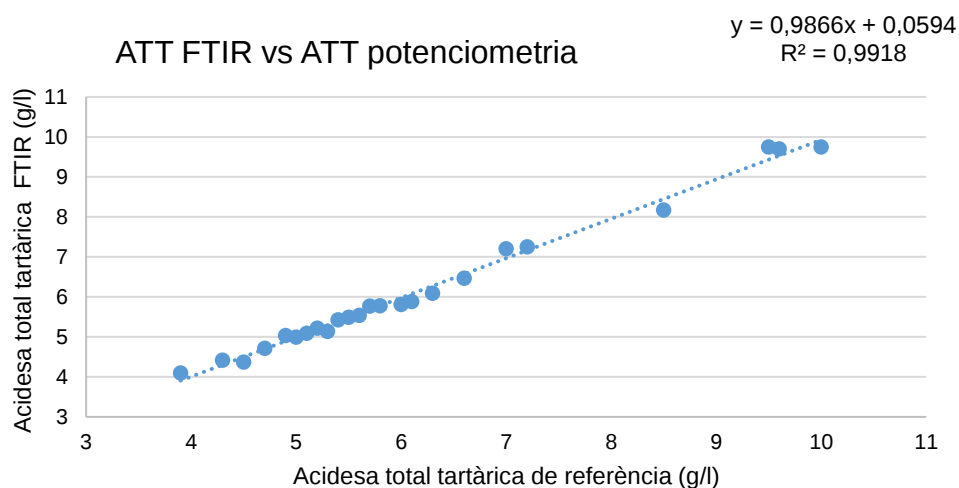


Figura 7 Representació Acidesa total tartàrica de referència (g/l) vs Acidesa total tartàrica FTIR (g/l)

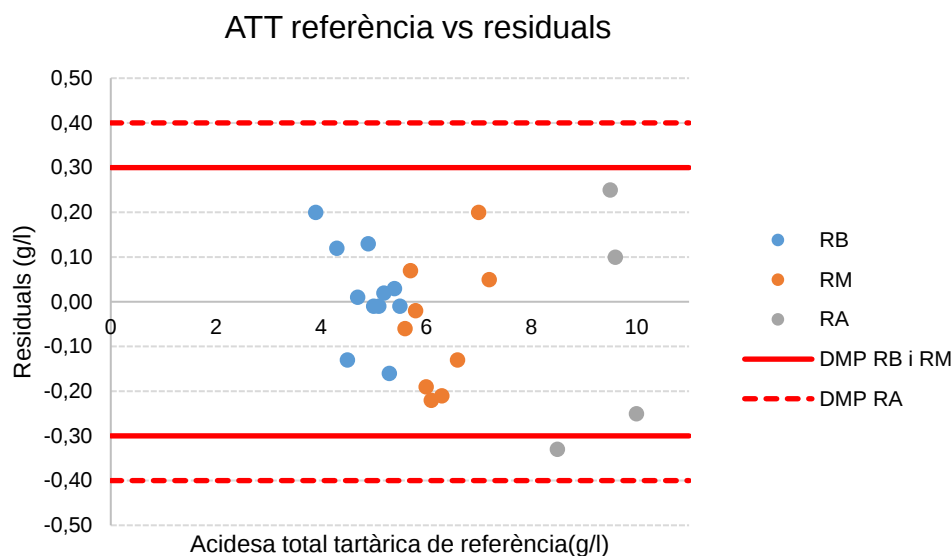


Figura 8 Representació Acidesa total tartàrica per potenciometria (g/l) vs Residuals (g/l)

S'observa per tant, que totes les mostres estan compreses dins les desviacions màximes permeses i que no hi ha diferències significatives entre ambdós mètodes.

- Exercicis Inter-laboratori

S'avalua la veracitat del mètode amb un estudi d'exactitud a partir de resultats obtinguts en exercicis Inter-laboratori. S'avaluen 5 exercicis sobre matriu vi i es realitza una representació gràfica dels Z-score.

Taula 7 Valors obtinguts en la veracitat amb exercicis Inter-laboratoris

Data d'anàlisi	Tècnic	Material de referència	Producte	ATT (g/l)	Valor assignat	SR Inter-lab	Diferència	z-score	Recuperació %
8/4/2021	MBB	MR21.24	Rosat	5,80	5,76	0,19	0,04	0,21	101
		MR21.27	Negre	5,66	5,67	0,19	-0,01	-0,05	100
		MR21.32	Negre	4,68	4,84	0,19	-0,16	-0,84	97
		MR21.33	Blanc	5,78	5,66	0,19	0,12	0,63	102
		MR21.34	Rosat sec	5,20	5,16	0,19	0,04	0,21	101

Els resultats obtinguts queden compresos dins els límits d'acceptació establerts per l'exercici Inter-laboratori ($\pm 2\sigma$), a la vegada que els z-score calculats es mostren inferiors als límits estadístics.

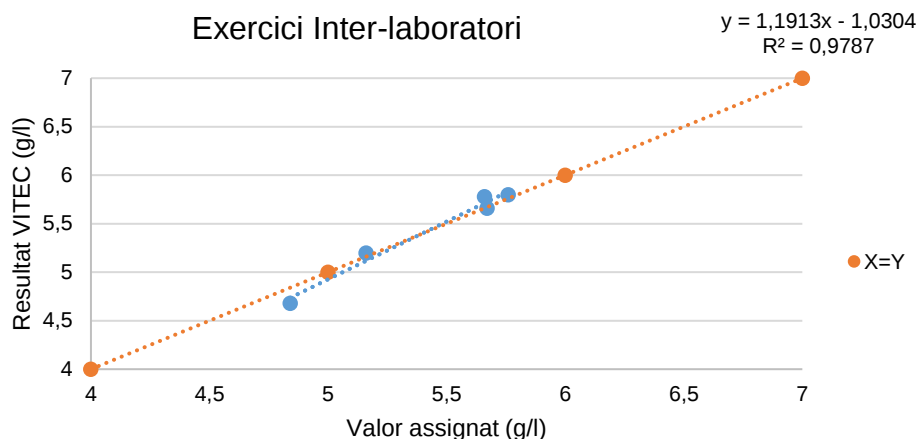


Figura 9 Representació valor assignat (g/l) vs resultat VITEC (g/l)

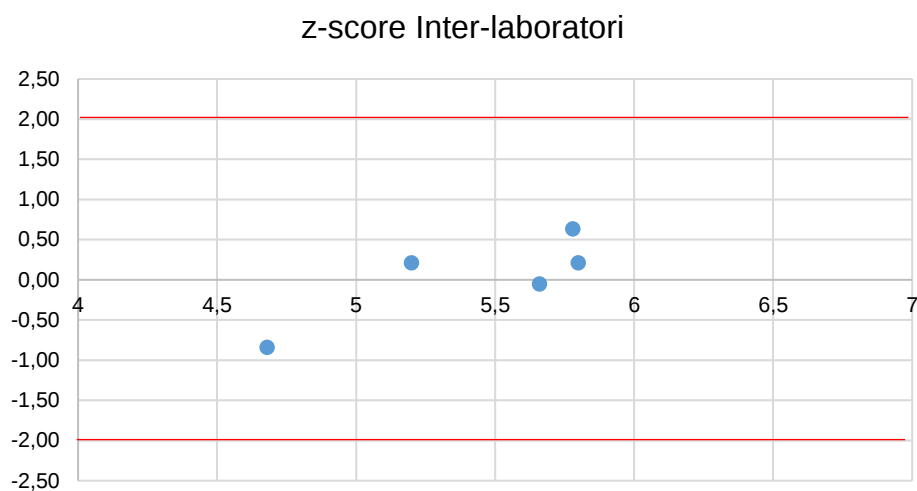


Figura 10 Representació z-score Inter-laboratori

Per altra banda, es calcula de forma global el factor de recuperació i el z-score del mètode, a partir de la mitjana de les desviacions respecte els valors assignats.

Taula 8 Resultats veracitat dels valors globals del factor de recuperació i Z-score

Veracitat	Comparativa Met.ref	Inter- Laboratori
Recuperació(%)	100	100
Rec.AOAC (%)	95-105	95-105
z-score	0,07	-0,10
z-score màx	±2	±2



Els resultats observats presenten bones recuperació i els valors del z-score entren dins l'interval màxim permès.

Finalment, a partir de la prova *t d'Student* pels tres mètodes utilitzats per avaluar la veracitat, per tal de comparar els resultats entre els valors de referència i els obtinguts en el laboratori i comprovar la hipòtesi de linealitat, per comparació amb la recta de superposició ($x=y$) de que la pendent i l'ordenada d'origen no són significativament diferents a 1 i a 0 respectivament. Si l'estadístic *t* calculat resulta ser inferior al valor límit de *t* tabulat, amb un nivell de confiança del 95% i *n*-2 graus de llibertat, la recta de

regressió és equivalent a la recta de superposició $x=y$, i queda provada la hipòtesi de linealitat entre els dos grups de resultats.

Es realitza també la comparació de variàncies de dos grups de població a partir de l'estadístic F calculat. Quan aquest valor és inferior al F tabulat, per un nivell de confiança del 95% i n, m graus de llibertat, s'accepta que els dos grups de resultats no difereixen significativament i són comparables.

Taula 9 Resultats hipòtesis de linealitat i d'equivalència

Veracitat	Mostres addicionades	Comparativa met.ref	Mostres Inter-laboratori
HIPÒTESIS DE LINEALITAT			
PENDENT	0,992	0,987	1,191
ORD.ORIGEN	0,007	0,059	-1,030
R²	0,999	0,992	0,979
S b	0,008	0,019	0,101
S a	0,063	0,122	0,550
t b	1,00	0,70	1,89
t a	0,11	0,49	1,87
t crítica (0,05; n-2)	2,23	2,07	3,18 ✓
HIPÒTESIS D'EQUIVALÈNCIA			
F	0,73	0,96	0,73
F crítica (0,05; n; m)	2,69	2,04	9,12 ✓

S'accepta per tant, la hipòtesis de linealitat i d'equivalència i es conclou que els tres grups de resultats no presenten diferències significatives i són comparables.

Linealitat

Es realitza un estudi de linealitat a partir d'addicions estàndard de mostres adicionades amb valors de concentracions assignats al llarg de tot l'interval del rang de treball. Es determina la concentració inicial i la final en cada cas i es representen gràficament els resultats experimentals dels increments de concentració observats respecte la concentració teòrica adicionada vs disminuïda.

Es calcula el model regressió lineal, el coeficient de correlació i la desviació estàndard residual, de la pendent i de la ordenada a l'origen. A partir de la prova t d'Student es comprova la hipòtesis de linealitat, per comparació amb la recta de superposició ($x=y$), de que la pendent i la ordenada d'origen no són significativament diferents a 1 i a 0 respectivament.

Si l'estadístic t calculat resulta ser inferior al valor límit de t tabulat bilateral, amb un nivell de confiança del 95% i $n-2$ graus de llibertat, la recta de regressió de les mostres adicionades es considera equivalent a la recta de superposició $x=y$ i queda provada la hipòtesi de linealitat.

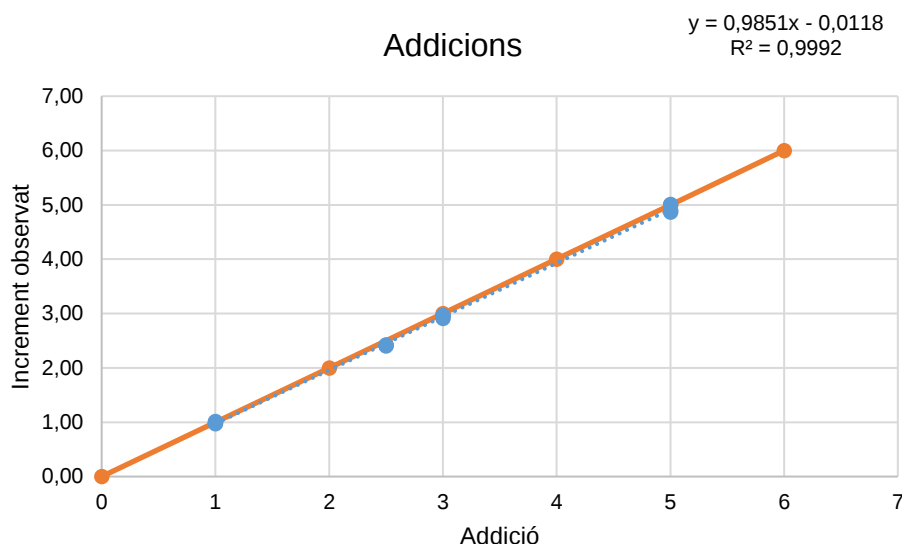


Figura 11 Representació concentració adicionada vs increment observat

Taula 10 Resultat hipòtesis de linealitat

LINEALITAT	
HIPÒTESIS DE LINEALITAT	
PENDENT	0,985
ORD.ORIGEN	-0,012
R ²	0,999
S b	0,009
S a	0,029
t b	1,68
t a	0,41
t crítica(0,05; n-2)	2,23



Estudi d'interferències

Com a possible interferent és la presència de CO_2 ja que es tracta d'una molècula àcida que no forma part de l'acidesa total del vi ja que no es troba totalment integrada en la matriu i si aquest no s'elimina correctament de la mostra provoca una sobre-estimació del resultat. També la generació de bombolles dins el circuit de líquids i cel·la de mesura.

El temps emprat per la descarbonatació també pot resultar en sí un factor d'influència sobre el resultat, ja que un excés d'agitació i pressió de buit pot produir la evaporació parcial de part dels àcids volàtils presents al vi.

També en la preparació de la mostra s'ha d'evitar les possibles interferències de la presència de partícules en suspensió, fet important a tenir en compte, ja que moltes mostres que s'analitzen són mostres per al control de qualitat i seguiment del procés de vinificació en celler, per tant poden ser vins no totalment acabats i/o que no han passat per un procés de filtrat en bodega. Un altre tipus d'interferent és la presència de sucres

i àcids orgànics que contenen aquest tipus de matrius ja que pot arribar a causar un canvi de matriu i de la mesura.¹¹

Aquestes interferències estaven anteriorment avaluades pel laboratori per a les determinacions de grau alcohòlic i acidesa volàtil.

Incertesa

Es calcula l'estimació de la incertesa del mètode per cada rang de validació. Dins el càlcul intervé el component de reproductibilitat Intra-laboratori i el component de biaix del mètode.

La component de reproductibilitat correspon a la desviació típica de reproductibilitat calculada a partir de les dades experimentals de rutina obtingudes durant els controls de qualitat intern. El component de biaix es calcula a partir de les desviacions obtingudes en els assajos sobre mostres Inter-laboratori respecte al valor assignat, tenint en compte les incerteses dels valors assignats a cada material.

Es realitza el càlcul de la incertesa associada a cada rang i la incertesa de forma global considerant conjuntament tota la variabilitat de matrius possibles englobades dins del productes de vi.

Com a factor de cobertura es pren $K=2$ per a un nivell de confiança del 95%.

Taula 11 Resultats incertesa global del mètode

Incertesa (g/l)	Rang baix	Rang mig	Tot el rang
U combinada	0,21	0,07	0,17
U expandida	0,41	0,15	0,36

5.2.pH

Repetibilitat

Un cop avaluada la repetibilitat del mètode amb la realització de dotze assajos independents consecutius sobre una mateixa mostra mantenint constant les variables tècnic, equip i reactiu, es calcula el coeficient de variació (CV%) i el coeficient de repetibilitat (r) per cada sèrie de dades i s'eliminen els possibles punts discrepants els resultats es mostren a la següent taula.¹⁴

Taula 12 Resultats repetibilitat mostres reals

Repetibilitat	LOQ	Rang mig	Rang alt
CV(%)	0,17	0,13	0,00
r	0,01	0,00	0,00
r OIV	0,05	0,05	0,05



S'observa que els valors obtinguts en mostres reals $r \leq r_{OIV}$ i per tant es considera que la precisió del mètode és adequada.

Reproductibilitat

Un cop avaluada la reproductibilitat interna del mètode amb la realització de dotze assajos espaiats en el temps on es modifica alguna o més d'una variable i calcular el valor mig, la desviació estàndard (SD), el coeficient de variació (CV%) i el coeficient de repetibilitat per cada sèrie de dades i eliminats els possibles punts discrepants, es considera que la precisió del mètode és adequada quan $R \leq R_{OIV}$.¹⁴

Pel que fa als resultats obtinguts en mostres reals es demostra que $R \leq R_{OIV}$ i per tant la precisió del mètode és adequada.

Taula 13 Resultat reproductibilitat mostres reals

Reproductibilitat	Rang baix	Rang Mig	Rang alt
CV(%)	0,21	0,17	0,15
R	0,02	0,02	0,02
R OIV	0,05	0,05	0,05



Veracitat

- Comparativa amb mètode de referència

Per la comparativa amb un mètode de referència, es realitza una selecció de diferents mostres reals representatives de tota la variabilitat habitual del laboratori enològic. S'analitzen un total de 58 mostres i es comparen els resultats amb els valors certificats pel mètode potenciomètric validat i acreditat per ENAC ISO 17025 i amb el valor obtingut pel FTIR.

En aquest cas, a l'hora d'avaluar les desviacions entre mètodes, s'ha de considerar també la incertesa declarada pel proveïdor del servei analític acreditat.

Es realitza una avaluació del gràfic de residuals que es mostra en la (Figura 12) entre el valor determinat al laboratori mitjançant FTIR i el resultat proporcionat pel mètode de referència basat en una potenciomètria.

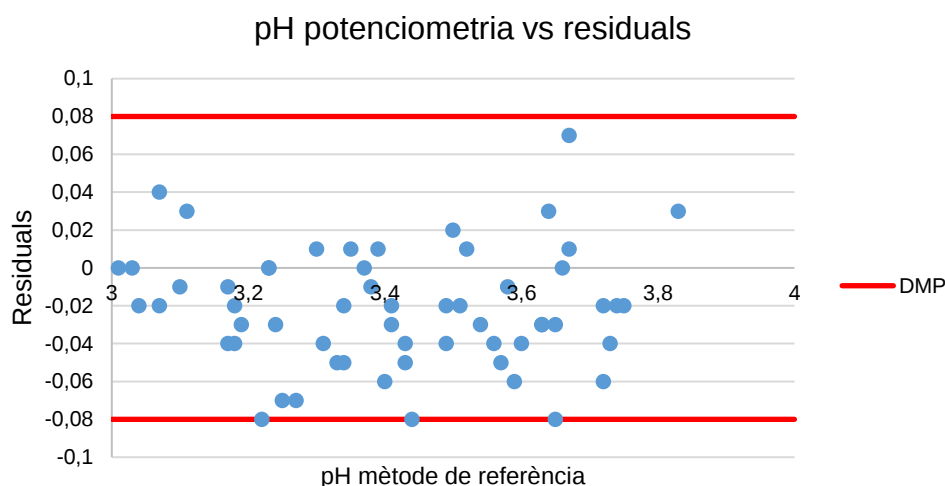


Figura 12 Representació pH mètode de referència vs residuals

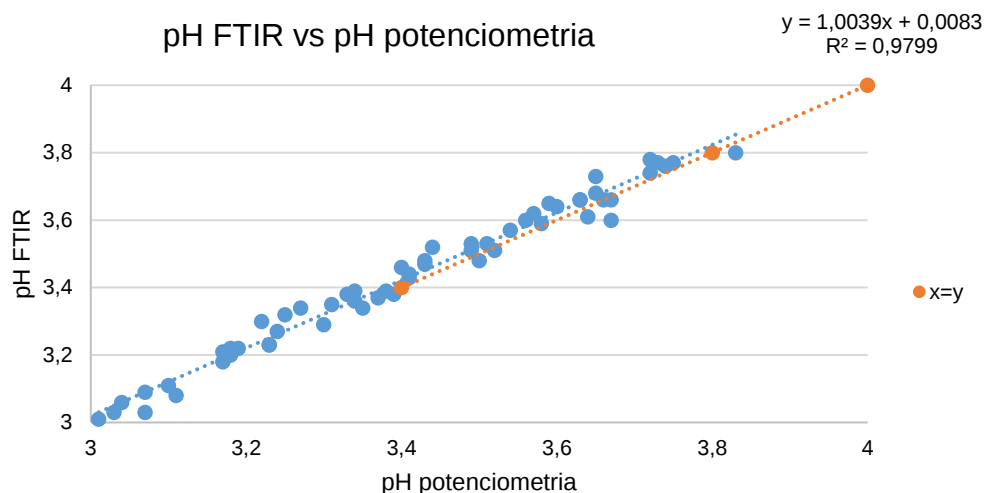


Figura 13 Representació pH potenciometria vs pH FTIR

S'observa que tots els residuals són comparables amb les desviacions compreses dins els límits de desviació màxima permesa.

- Exercicis Inter-laboratori

S'avalua la veracitat del mètode amb un estudi de exactitud a partir de resultats obtinguts en exercicis Inter-laboratori. S'avaluen 4 dels diferents exercicis sobre matriu vi i es realitza una representació gràfica dels z-score es considera apte el mètode sempre i quan tots els resultats es trobin dins el límit estadístic:

$$-2 < \text{z-score calculat} < 2$$

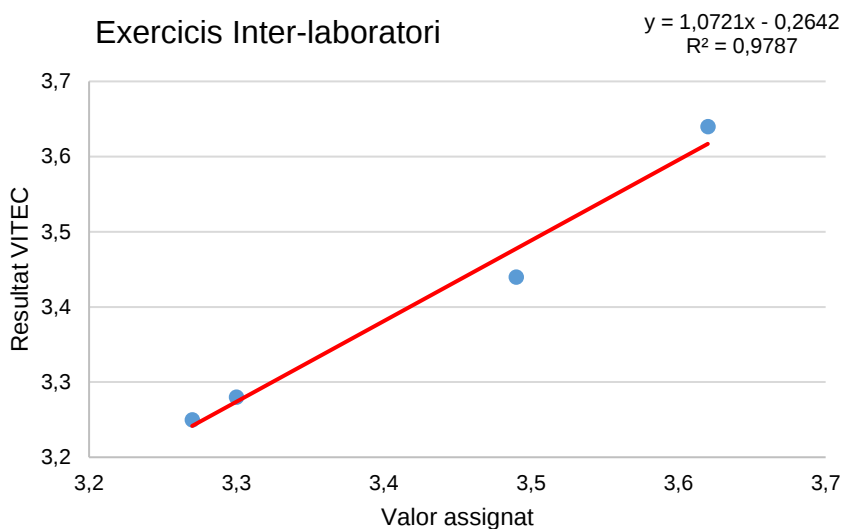


Figura 14 Representació valor assignat vs resultat VITEC

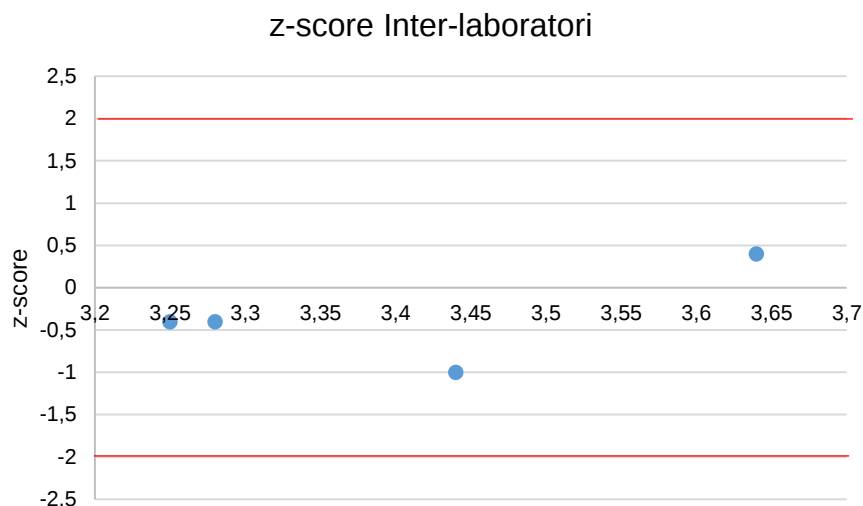


Figura 15 Representació z-score Inter-laboratori

Taula 14 Valors obtinguts en la veracitat amb exercicis Inter-laboratoris

Data d'anàlisi	Tècnic	Mostra	Producte	pH FTIR	pH referència	Sr_inter	Diferència	Z-score	Recuperació%
8-4-2021	MBB	MR21.24	Rosat	3,25	3,27	0,05	-0,02	-0,40	99
		MR21.27	Negre	3,44	3,49	0,05	-0,05	-1,00	99
		MR21.32	Negre	3,64	3,62	0,05	0,02	0,40	101
		MR21.33	Blanc	3,28	3,30	0,05	-0,02	-0,40	99

Es calcula de forma global el z-score del mètode, a partir de la mitjana de les desviacions respecte els valors assignats. De forma anàloga, es calcula el z-score dels assajos realitzats sobre mostres certificades, per la comparativa amb el mètode de referència i exercicis Inter-laboratori.

Taula 15 Valors z-score del mètode de forma global

Veracitat	Comparativa Met.ref	Inter Laboratori
z-score	0,27	-0,35
z-score màx	±2	±2



Finalment, a partir de la prova *t* d'Student es comprova la hipòtesi de linealitat, per comparació amb la recta de superposició ($x=y$) de que la pendent i l'ordenada d'origen no són significativament diferents a 1 i a 0 respectivament. Si l'estadístic *t* calculat resulta ser inferior al valor límit de *t* tabulat bilateral, amb un nivell de confiança del 95% i *n*-2 graus de llibertat, la recta de regressió és equivalent a la recta de superposició $x=y$, i queda provada la hipòtesi de linealitat entre els dos grups de resultats.

Taula 16 Resultats hipòtesis linealitat i hipòtesis d'equivalència

Veracitat	Comparativa met.ref	Mostres Inter-laboratori
HIPÒTESIS DE LINEALITAT		
PENDENT	1,004	1,072
ORD.ORIGEN	0,008	-0,264
R²	0,980	0,979
S b	0,019	0,112
S a	0,066	0,383
t b	0,20	0,64
t a	0,13	0,69
t crítica (0,05; n-2)	2,00	4,30
HIPÒTESIS D'EQUIVÀLENCIA		
F	0,92	0,90
F crítica (0,05; n; m)	1,56	19,16



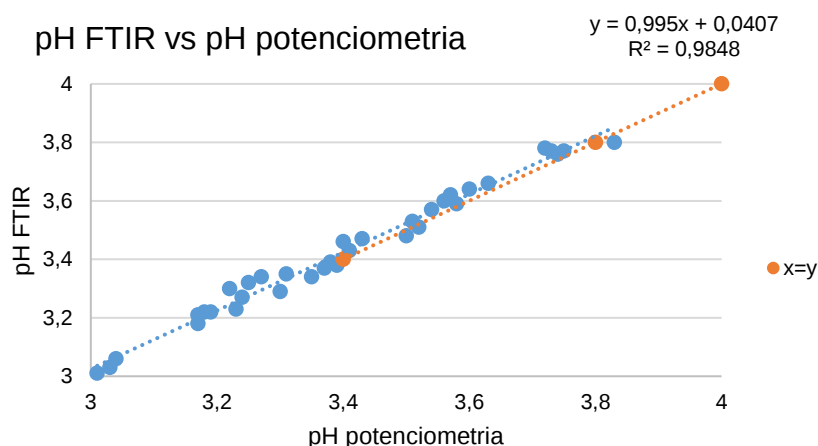
Es realitza la comparació de variàncies dels dos grups de població a partir de l'estadístic F calculat. Quan aquest valor és inferior al F tabulat, per un nivell de confiança del 95% i n, m graus de llibertat, s'accepta que els dos grups de resultats no difereixen significativament i són comparables.

Linealitat

Al no poder portar a terme l'avaluació de la linealitat de la mateixa forma que en el cas de la determinació de pH per potenciometria mitjançant l'anàlisi de solucions tampó en tot el rang de treball per a l'avaluació de la linealitat es realitza amb la comparació de resultats FTIR amb els resultats de potenciometria.

Al ser la tècnica de potenciometria lineal en el rang de treball, es comparen els resultats de FTIR amb potenciometria. Al obtenir-se resultats comparables, es dona la linealitat de la tècnica de FTIR com a validada.

Si l'estadístic t calculat resulta ser inferior al valor límit de t tabulat bilateral, amb un nivell de confiança del 95% i $p-2$ graus de llibertat, la recta de regressió de les mostres addicionades es considera equivalent a la recta de superposició $x=y$ i queda provada la hipòtesi de linealitat.


Figura 16 Representació pH potenciometria vs pH FTIR

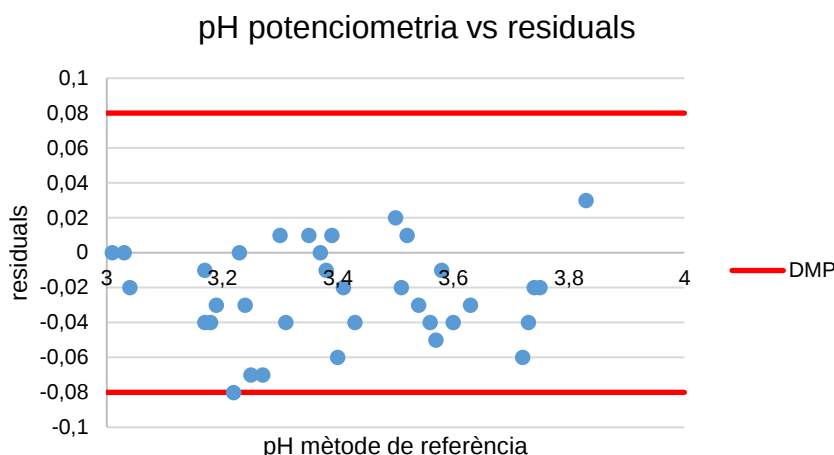


Figura 17 Representació pH mètode de referència vs residuals

Taula 17 Resultat hipòtesi de linealitat

Linealitat	
HIPÒTESIS DE LINEALITAT	
PENDENT	0,995
ORD.ORIGEN	0,041
R ²	0,985
S b	0,022
S a	0,073
t b	0,23
t a	0,55
t crítica(0,05; n-2)	2,03

Si t calculada $< t$ crítica($n-2$, 0,05), queda provada la hipòtesi d'equivalència amb la recta de superposició i s'accepta la resposta lineal del mètode al llarg de tot el rang de treball.

Estudi d'interferències

Degut a la presència produïda pel CO_2 que és una molècula àcida, pot disminuir el pH del vi. A més, el temps utilitzat per la descarbonatació també pot resultar en sí mateix un factor d'influència sobre el resultat final, ja que un excés d'agitació i pressió de buit pot produir la evaporació parcial de part dels àcids volàtils presents al vi i incrementar falsament la mesura del pH.

Aquestes interferències estaven anteriorment avaluades pel laboratori per a les determinacions de grau alcohòlic i acidesa volàtil.

Incertesa

Es calcula l'estimació de la incertesa del mètode per cada rang de validació. Dins el càlcul intervé el component de reproductibilitat Intra-laboratori i el component de biaix del mètode.

El component de reproductibilitat correspon a la desviació típica de reproductibilitat calculada a partir de les dades experimentals de rutina obtingudes durant els controls de qualitat intern. El component de biaix es calcula a partir de les desviacions obtingudes en els assajos sobre mostres Inter-laboratori respecte al valor assignat, tenint en compte les incerteses dels valors assignats a cada material.

Es realitza el càlcul de la incertesa associada a cada rang. Es calcula la incertesa de forma global considerant conjuntament tota la variabilitat de matrius possibles englobades dins del producte de vins tranquils.

Com a factor de cobertura es pren $K=2$ per a un nivell de confiança del 95%.

Taula 18 Resultat incertesa

Incertesa (g/l)	Rang mig
U combinada	0,04
U expandida	0,08

5.3 D-glucosa+D-fructosa

Pel que fa al paràmetre de D-glucosa+ D-fructosa, únicament s'ha pogut fer un millor ajust local de la recta per falta de temps però com bé s'ha explicat en l'apartat de l'ajust de la recta en el procediment realitzat, s'han fet dos ajustos de rectes al FTIR ja que al realitzar una única recta amb tot el rang de treball únicament s'obtenien resultats satisfactoris entre 1,0 i 65,0 g/l però entre el límit de quantificació i rang baix de 0,2 i 1,0 g/l no s'arribava a la precisió i exactitud obtinguda pel mètode directe.

L'avaluació dels residuals amb mostres reals mitjançant el valor de referència del mètode enzimàtic i l'obtinguda pel FTIR en la primera recta entre els valors de 0,2 i 1,0g/l ha estat la següent on s'observa una bona distribució aleatòria dels residuals.

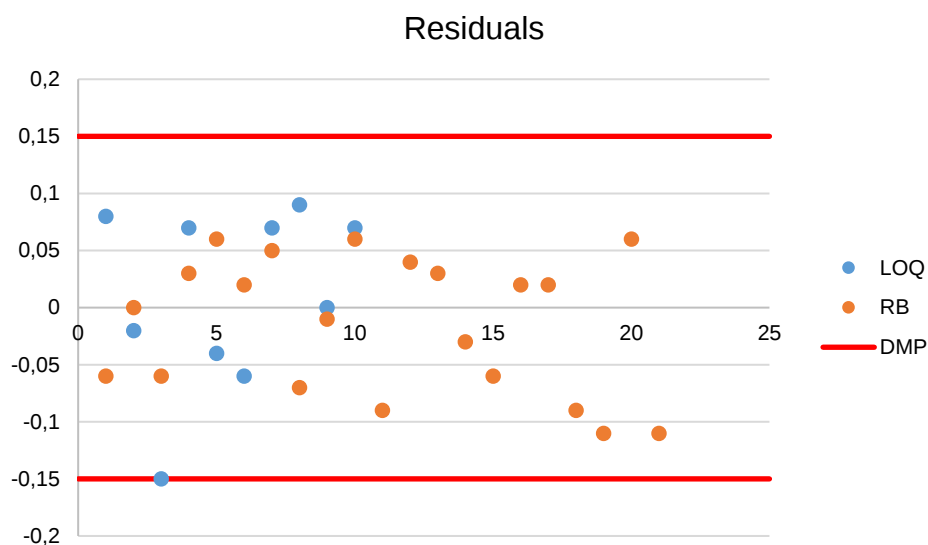


Figura 18 Representació residuals de la recta límit de quantificació i rang baix en el paràmetre D-glucosa+D-fructosa

Per altra banda, en la (Figura 19) es representa la distribució dels residuals en quant a la segona recta per a mostres de rang mig, alt i superior, on també s'obté una bona distribució aleatòria dels residuals així com totes les mostres es troben dins la desviació màxima permesa pel mètode. Es separen en dos gràfics diferents degut a que les desviacions màximes permeses per a rang superior són més superiors i si es representa amb una única figura tots els rangs no s'aprecia bé com estan distribuïdes les mostres.

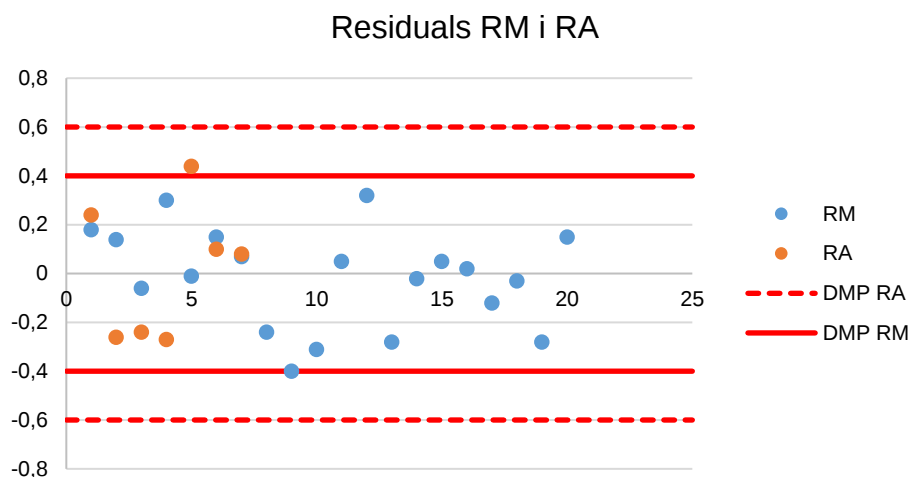


Figura 19 Representació dels residuals de la recta de rang mig i superior en el paràmetre de D-glucosa+D-fructosa.

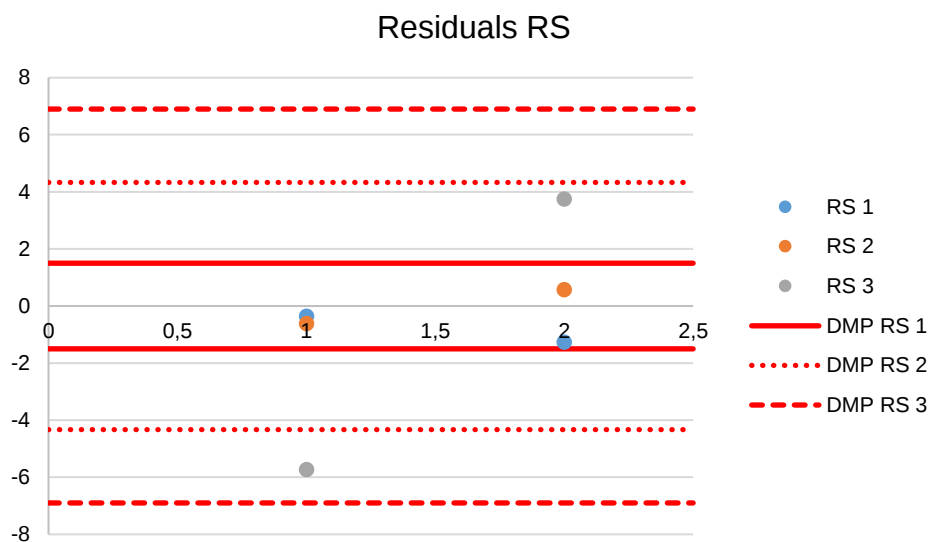


Figura 20 Representació dels residuals de rang superior per al paràmetre D-glucosa+D-fructosa

En ambdós rectes s'observa que es té un major nombre de mostres de vi en el laboratori en el rang baix i rang mig perquè representen els valors majoritaris d'aquest paràmetre, i per la resta de rangs no hi ha tantes mostres degut a aquest motiu.

5.4 Àcid L-màlic

En el paràmetre d'àcid L-màlic s'ha pogut millor l'ajust local existent de l'equip FTIR, però per falta de temps no s'han pogut avaluar els paràmetres de validació. Com es pot observa en la (Figura 21), l'obtenció dels residuals compresos entre les desviacions màximes permeses en tots els rangs de treball d'aquest paràmetre, es pot veure com hi ha una distribució correcta dels residuals i per tant un bon ajust correcte de la recta.

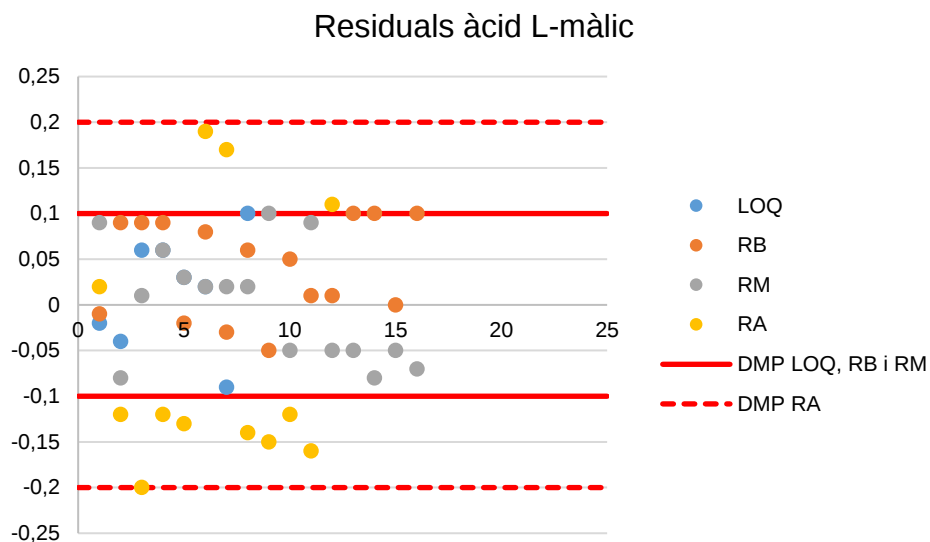


Figura 21 Representació residuals del paràmetre d'àcid L-màlic



6.CONCLUSIONS

Un cop avaluats tots els paràmetres de validació, s'ha demostrat que l'espectroscòpia FTIR és un mètode indirecte capaç de mesurar paràmetres importants presents en el vi obtenint un menor temps d'anàlisi, reducció de l'aportació del personal del laboratori i el consum de productes químics és menor ajudant a disminuir l'impacte ecològic que produeixen la utilització d'aquests de manera rutinària en el laboratori. A partir de tot l'exposat anteriorment es detallen les següents conclusions:

- S'ha millorat significativament l'ajust inicial per a la determinació de l'acidesa total tartàrica del vi i pH mitjançant la tècnica de l'espectroscòpia d'infraroig FTIR.
- Els resultats de validació de la determinació d'acidesa total tartàrica i de pH han estat satisfactoris, comparables amb els del mètode de referència i compleixen amb els requisits definits per la OIV i el propi laboratori.
- Actualment les tècniques d'acidesa total tartàrica i pH es troben en condicions d'acreditació per ENAC en la norma ISO 17025.
- S'ha millorat el model inicial per a la determinació de D-glucosa+ D-fructosa i d'àcid L-màlic mitjançant la tècnica de l'espectroscòpia d'infraroig (FTIR) fins a complir amb les desviacions màximes establertes pel laboratori.
- Per motius temporals, ha estat impossible executar la validació completa de determinació de D-glucosa+ D-fructosa i d'àcid L-màlic atès a la dificultat en la realització de l'ajust inicial.
- A partir de la feina feta es preveu que el laboratori disposi del paràmetre de D-glucosa + D-fructosa i d'àcid L-màlic en condicions d'acreditació en 2 mesos.

Pel que fa al tipus de matriu de vi que s'ha validat es tracta de vins tranquils, degut a que les mostres de vins escumosos i semi-escumosos no s'han obtingut des d'un principi un bon ajust amb la recta de l'equip. I per aquest motiu s'ha decidit què aquest tipus de mostres s'analitzaran amb el mètode directe del laboratori i la resta mitjançant el mètode indirecte.

Per altra banda, un dels desafiaments amb el FTIR és que no és molt adequat per a la determinació de mostres amb una concentració $<0,2$ g/l i per aquest motiu en el cas del paràmetre de D-glucosa i D-fructosa s'ha hagut de realitzar dos rectes per separat per tal de que totes les mostres quedin compreses dins les desviacions màximes permeses.

Finalment, s'ha comprovat que un cop avaluats els diferents paràmetres de validació el mètode es comporta de forma adequada en tot el rang de concentracions habituals i matrius que s'analitzen i es garanteix la validació dels resultats del laboratori.

CONCLUSION

After the evaluation of the validation parameters, it has been shown that FTIR spectroscopy is an indirect method, which allows the measure of important parameters present in the wine. Therefore, this technique enables to obtain a shorter analysis time, reducing the contribution of laboratory staff. Furthermore, on account of FTIR, the consumption of chemicals is lower, which result in a reduction of the ecological impact produced by the routinely use of reagents in the laboratory. Based on all the above, the following conclusions are:

- The initial adjustment for the determination of the whole tartaric acidity of the wine and pH has been significantly improved by means of the FTIR infrared spectroscopy technique.
- The validating results of the determination of total tartaric acidity and pH have been satisfactory, in comparison to those of the reference method and meet the requirements defined by the OIV and the laboratory itself.
- Currently, the techniques of total tartaric acidity and pH are accredited by ENAC in the ISO 17025 standard.
- The initial model for the determination of D-glucose + D-fructose and L-malic acid has been improved using the technique of infrared spectroscopy (FTIR) to comply with the maximum deviations established by the laboratory.
- For being tight on time, it has not been possible to complete the validation of the determination of D-glucose + D-fructose and L-malic acid due to the difficulty in making the initial adjustment.
- After the work completed, it is expected that the laboratory will have accredited the parameter of D-glucose + D-fructose and L-malic acid in 2 months.

The wine matrix that has been validated is only available for still wines, but not for sparkling and semi-sparkling wine, owing to problems with the adjustment of equipment straight line. For this reason it has been decided that this type of samples will be analysed with the direct method of the laboratory and the rest, using the indirect method.

On the other hand, FTIR is challenging because it is not very suitable for the determination of samples with a concentration <0.2 g/l. Consequently, two separate straight lines have been necessary for the parameter of D-glucose and D-fructose, in order to comprise all samples within the maximum allowed deviations..

Finally, it has been verified the method behaves appropriately across the range of usual concentrations and analysed matrices after the evaluation of the different validation parameters. Ultimately, the validation of the laboratory results is guaranteed.

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) García Gallego, J. *Maridaje, Enología y Cata de Vinos*, Primera.; IC Editorial Innovación cualificación profesional: ANTEQUERA, 2008; Vol. 1.
- (2) Segarra, O. *La Cultura Del Vino*, Editorial Amat SL.; Barcelona, 2003.
- (3) Maynard Andrew Amerine, C. S. O. *Análisis de Vinos y Mostos*; Acibia: California, 1976; Vol. 1.
- (4) Jackson, R. S. Chemical Constituents of Grapes and Wine. In *Wine Science*; Elsevier, 2020; pp 375–459.
- (5) OIV - International Organisation of Vine and Wine <https://www.oiv.int/> (accessed 2021 -06 -01).
- (6) *Instrumentation and Sensors for the Food Industry*, 2nd ed.; Kress-Rogers, E., Brimelow, C., Eds.; Woodhead Publishing, 2001; Vol. 1.
- (7) Boulet, J. C.; Williams, P.; Doco, T. A Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study of Wine Polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 2007, 69 (1), 79–85.
- (8) Bauer, R.; Nieuwoudt, H.; Bauer, F. F.; Kossmann, J.; Koch, K. R.; Esbensen, K. H. *FTIR Spectroscopy for Grape and Wine Analysis*; UTC, 2008; Vol. 07.
- (9) Castellucci, F. *Directrices Sobre Los Analizadores Por Infrarrojos En Enología*; Tbilisi, 2010.
- (10) FOSS IBERIA S.A.U. *Foss En El Sector Vitivinícola*; Barcelona, 2019.
- (11) Moreira, J. L.; Santos, L. Spectroscopic Interferences in Fourier Transform Infrared Wine Analysis. In *Analytica Chimica Acta*; 2004; Vol. 513, pp 263–268.
- (12) Castellucci, F. Recomendaciones armonizadas para la validación de métodos de análisis en un solo laboratorio. Resolución OENO 8/2005.
- (13) Maroto, A.; Boqué, R.; Riu, J.; Rius, F. X. *INCERTESA I PRECISIÓ*; Tarragona.
- (14) Diario Oficial de la Unión Europea. Lista y descripción de los métodos de análisis contemplados en el artículo 120 octies, párrafo primero, del Reglamento (CE) n o 1234/2007 del Consejo (1) [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:52010XC0219\(05\)&from=ES](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:52010XC0219(05)&from=ES) (accessed 2021 -05-17).

ANNEX 1: Resultats validació d'acidesa total tartàrica

-Repetibilität

35

-Reproductibilitat

Reproductibilitat ATT_FTIR									
RANG BAIX					RANG MIG				
Data	Codi	Tipus	Tècnic	RESULTAT (g/l)	Data	Codi	Tipus	Tècnic	RESULTAT (g/l)
8/4/2021	M284	B	MBB	4,17	8/4/2021	M285	B	MBB	6,09
9/4/2021	M284	B	MBB	4,22	9/4/2021	M285	B	MBB	6,08
9/4/2021	M284	B	VSP	4,17	9/4/2021	M285	B	VSP	6,06
9/4/2021	M284	B	NEC	4,17	9/4/2021	M285	B	NEC	6,06
9/4/2021	M284	B	MPV	4,18	9/4/2021	M285	B	MPV	6,03
9/4/2021	M284	B	MBB	4,14	9/4/2021	M285	B	MBB	6,05
9/4/2021	M284	B	VSP	4,16	9/4/2021	M285	B	VSP	6,08
9/4/2021	M284	B	NEC	4,17	9/4/2021	M285	B	NEC	6,07
9/4/2021	M284	B	MPV	4,15	9/4/2021	M285	B	MPV	6,06
9/4/2021	M284	B	MBB	4,21	12/4/2021	M285	B	MBB	6,09
12/4/2021	M284	B	VSP	4,19	12/4/2021	M285	B	VSP	6,05
12/4/2021	M284	B	NEC	4,17	12/4/2021	M285	B	NEC	6,04
12/4/2021	M284	B	MBB	4,21	12/4/2021	M285	B	MBB	6,08
MITJANA DESV. EST					MITJANA DESV. EST				
CV (%)					CV (%)				
0,57					0,31				
CV r horwith (%)					CV r horwith (%)				
1,4					1,4				
REPRODUCIBILITAT					REPRODUCIBILITAT				
OIV 0,3 B&R / 0,4 N					OIV 0,3 B&R / 0,4 N				
0,07					0,05				
DMP					DMP				
0,30					0,40				
MATERIAL					MATERIAL				
MOSTRA REAL					MOSTRA REAL				
B					B				
Valor					Valor				
G-calculat					G-calculat				
4,170					6,090				
-0,322					1,337				
4,220					6,080				
1,773					0,811				
4,170					6,060				
-0,322					-0,243				
4,170					6,060				
-0,322					-0,243				
4,180					6,030				
0,097					-1,824				
4,140					6,050				
-1,580					-0,770				
4,160					6,080				
-0,742					0,811				
4,170					6,070				
-0,322					0,284				
4,150					6,060				
-1,161					-0,243				
4,210					6,090				
1,354					1,337				
4,190					6,050				
0,516					-0,770				
4,170					6,040				
-0,322					-1,297				
4,210					6,080				
1,354					0,811				
Los valores en negrita son valores atípicos					Los valores en negrita son valores atípicos				

Los valores en negrita son valores atípicos

Los valores en negrita son valores atípicos

Los valores en negrita son valores atípicos



-Veracitat amb mostres adicionades

FTIR									
Data	Tècnic	Mostra	Tipus	ATT	Adició	ATT dil·	ATT mesurada	Teòrica	RECUPERACIÓ %
20/4/2021	VSP	M295i	B	3,37	1	3,34	4,33	4,34	99,85
20/4/2021	VSP	M293i	B	4,63	1	4,58	5,60	5,58	100,29
22/4/2021	MBB	M295i	B	3,38	2,5	3,30	5,70	5,80	98,35
22/4/2021	MBB	M293i	B	4,62	2,5	4,50	6,93	7,00	98,94
20/4/2021	VSP	M294i	N	5,14	1	5,09	6,06	6,09	99,53
22/4/2021	MBB	M294i	N	5,13	2,5	5,00	7,42	7,50	98,91
28/5/2021	MBB	M328i	B	5,49	3	5,33	8,24	8,33	98,98
31/5/2021	MBB	M329i	N	6	3	5,82	8,78	8,82	99,55
31/5/2021	MBB	M330i	N	6,11	3	5,93	8,89	8,93	99,59
22/4/2021	MBB	M293i	B	4,62	5	4,39	9,40	9,39	100,12
22/4/2021	MBB	M294i	N	5,13	5	4,87	9,77	9,87	98,95
22/4/2021	MBB	M295i	B	3,38	5	3,21	8,08	8,21	98,40

-Veracitat amb mostres de referència

Data	Tècnic	Mostra	Tipus	Resultat FTIR (g/l)	Valor refe_Potenc	incertesa	Recu %	Desviació valor ref	ZSCORE
20/1/2021	MBB	M-21-0449	B	4,10	3,90	0,30	105,13	0,20	0,67
18/3/2021		M-21-2716	B	4,42	4,30	0,30	102,79	0,12	0,40
9/2/2021		M-21-1270	B	4,37	4,50	0,30	97,11	-0,13	-0,43
22/1/2021		M-21-0559	N	4,71	4,70	0,30	100,21	0,01	0,03
3/2/2021		M-21-1026	N	5,03	4,90	0,30	102,65	0,13	0,43
9/3/2021		M-21-2348	B	4,99	5,00	0,30	99,80	-0,01	-0,03
18/1/2021		M-21-0342	N	5,09	5,10	0,30	99,80	-0,01	-0,03
9/3/2021		M-21-2346	R	5,22	5,20	0,30	100,38	0,02	0,07
11/3/2021		M-21-2521	B	5,14	5,30	0,30	96,98	-0,16	-0,53
3/2/2021		M-21-1022	B	5,43	5,40	0,30	100,56	0,03	0,10
9/3/2021		M-21-2327	R	5,49	5,50	0,30	99,82	-0,01	-0,03
26/2/2021		M-21-2045	B	5,54	5,60	0,30	98,93	-0,06	-0,20
11/3/2021		M-21-2459	N	5,77	5,70	0,30	101,23	0,07	0,23
11/3/2021		M-21-2522	N	5,78	5,80	0,30	99,66	-0,02	-0,07
9/3/2021		M-21-2350	N	5,81	6,00	0,30	96,83	-0,19	-0,63
11/3/2021		M-21-2490	B	5,88	6,10	0,30	96,39	-0,22	-0,73
8/3/2021		M-21-2301	N	6,09	6,30	0,30	96,67	-0,21	-0,70
9/3/2021		M-21-2349	N	6,47	6,60	0,30	98,03	-0,13	-0,43
23/3/2021		M-21-2899	N	7,20	7,00	0,30	102,86	0,20	0,67
11/2/2021		M-21-1506	N	7,25	7,20	0,30	100,69	0,05	0,17
9/3/2021		M-21-2328	R	8,17	8,50	0,40	96,12	-0,33	-0,83
8/3/2021		M-21-2273	N	9,75	9,50	0,40	102,63	0,25	0,63
8/3/2021		M-21-2278	B	9,70	9,60	0,40	101,04	0,10	0,25
4/3/2021		M-21-2239	N	9,75	10,00	0,40	97,50	-0,25	-0,63
Mitjana							100	-0,02	-0,07
Desv.est							2	0,15	

-Linealitat

FTIR										
Data	Tècnic	Mostra	Tipus	ATT	Addició	ATT dil·	ATT mesurada	Teòrica	RECUPERACIÓ %	Increment mesurat
20/4/2021	VSP	M295i	B	3,37	1	3,34	4,33	4,34	99,85	0,99
20/4/2021	VSP	M293i	B	4,63	1	4,58	5,60	5,58	100,29	1,02
22/4/2021	MBB	M295i	B	3,38	2,5	3,30	5,70	5,80	98,35	2,40
22/4/2021	MBB	M293i	B	4,62	2,5	4,50	6,93	7,00	98,94	2,43
20/4/2021	VSP	M294i	N	5,14	1	5,09	6,06	6,09	99,53	0,97
22/4/2021	MBB	M294i	N	5,13	2,5	5,00	7,42	7,50	98,91	2,42
28/5/2021	MBB	M328i	B	5,49	3	5,33	8,24	8,33	98,98	2,91
31/5/2021	MBB	M329i	N	6	3	5,82	8,78	8,82	99,55	2,96
31/5/2021	MBB	M330i	N	6,11	3	5,93	8,89	8,93	99,59	2,96
22/4/2021	MBB	M293i	B	4,62	5	4,39	9,40	9,39	100,12	5,01
22/4/2021	MBB	M294i	N	5,13	5	4,87	9,77	9,87	98,95	4,90
22/4/2021	MBB	M295i	B	3,38	5	3,21	8,08	8,21	98,40	4,87

**-Incertesa**

PT Scheme Test Production	17-Wines, 17b-Still 620-2/2021, 46-2/2021 68-0117, 68-0117	17-Wines, 17b-Still 621-3/2021, 47-3/2021 72-0217, 72-0217	17-Wines, 17b-Still 622-4/2021, 48- 69-0117, 69-0117	MR.21.24	MR.21.26	MR.21.27	MR.21.32	MR.21.33	MR.21.34
				Dry Rose wine 15-0817	Sparkling 47-0317	Red wine 63-10117	Red wine 66-0117	White wine 70-0217	Dry Rose 13-0817
Product	Red wine, Red wine	White wine, White wine	Red wine, Red wine						
	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY	TOTAL ACIDITY
CRITERE / CRITERION	ATIF	ATIF	ATIF	ATIF	ATIF	ATIF	ATIF	ATIF	ATIF
Unité / Unit	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹	meq.l ⁻¹
VALEUR ASSIGNEE / ASSIGNED VALUE									
x _{pt}	69,6	61,4	71,1	78,8	90,4	75,5	64,5	75,4	63,3
u(x _{pt})	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3
s(x _{pt})	2,1	2,6	2,6	2,6	2,9	2,4	2,2	2,6	2,7
p(x _{pt})	130	123	128	121	110	122	121	118	116
APTITUDE / PROFICIENCY									
σ _{pt}	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	3,5
VT	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	7,0
Max	74,6	66,4	76,1	81,8	95,4	80,5	69,5	80,4	71,3
Min	64,6	56,4	66,1	71,8	85,4	70,5	59,5	70,4	57,3
P _D	1	5	5	8	13	2	4	5	4
LAB.									
v B7980									
Méthode / Method									
x	69,2	61,2	70,6	77,3	90,6	75,4	62,4	77,0	69,3
z-score	-0,16	-0,08	-0,20						
v									
Méthode / Method									
x									
z-score									
DESVIACIÓ	0,4	0,2	0,5	1,5	-0,2	0,1	2,1	-1,6	-6,0
DESVIACIÓ ²	0,2	0,0	0,3	2,3	0,0	0,0	4,6	2,6	36,2
x _{pt} (g/l)	5,22	4,61	5,34	5,91	6,78	5,67	4,84	5,66	4,75
u(x _{pt}) (g/l)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
s _{pt} (g/l)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,26
x (g/l)	5,19	4,59	5,30	5,80	6,80	5,66	4,68	5,78	5,20
z-score	-0,16	-0,08	-0,2	-0,61	0,08	-0,03	-0,86	0,65	1,72
	RB	RB	RB	RM	RM	RM	RB	RB	RB
DESVIACIÓ	-0,03	-0,02	-0,04	-0,11	0,02	-0,01	-0,16	0,12	0,45
DESVIACIÓ ²	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,03	0,01	0,20
INCERTESA ERM _ BIPEA		INCERTESA ERM _ BIPEA (RB)		INCERTESA ERM _ BIPEA (RM)		INCERTESA ERM _ BIPEA (RM)		INCERTESA ERM _ BIPEA (RM)	
MC sesgo	0,1701	MC sesgo	0,2029	MC sesgo	0,0666	MC sesgo	0,0666	MC sesgo	0,0666
Ū ref	0,0208	Ū ref	0,0200	Ū ref	0,0225	Ū ref	0,0225	Ū ref	0,0225

INCERTESA _ U TÍPICA REPRO INTRALABO + U BIAIX

RANG BAIX (3,8 - 5,5)		RANG MIG (5,6-7,9)		TOT EL RANG
U _R	0,03	U _R	0,02	0,03
MC biaix	0,20	MC biaix	0,07	0,17
Ū ref	0,02	Ū ref	0,02	0,02
U biaix	0,20	U biaix	0,07	0,17
U combinada	0,21	U combinada	0,07	0,17
K	2	K	2	2
U exp.	0,41	U exp.	0,15	0,35

ANNEX 2: Resultats validació pH

-Repetibilitat

REPETIBILITAT_pH_FTIR									
LOQ				RANG MIG				RANG ALT	
Data	Codi	Tipus	Tècnic	RESULTAT pH	Data	Codi	Tipus	Tècnic	RESULTAT pH
8/4/2021	M288	B	MBB	2,92 2,92 2,92 2,92 2,91 2,92 2,91 2,92 2,92 2,92 2,91 2,91	8/4/2021	M284	B	MBB	3,45 3,45 3,44 3,45 3,44 3,45 3,44 3,45 3,45 3,45 3,45 3,45
				MITJANA DESV. EST					MITJANA DESV. EST
				CV (%)					CV (%)
				DMP					DMP
				REPETIBILITAT r OIV					REPETIBILITAT r OIV
				MATERIAL TIPUS					MATERIAL TIPUS
				MOSTRA REAL B					MOSTRA REAL N
				Valor					Valor
				G-calculat					G-calculat
				2,92 2,92 2,92 2,92 2,91 2,92 2,91 2,92 2,92 2,92 2,91 2,91					3,84 3,84 3,84 3,84 3,84 3,84 3,84 3,84 3,84 3,84 3,84 3,84
				0,68 0,68 0,68 0,68 -1,35 0,68 -1,35 0,68 0,68 0,68 -1,35 -1,35					0,96 0,96 0,96 0,96 0,96 0,96 0,96 0,96 0,96 0,96 0,96 0,96
				Los valores en negrita son valores atípicos					Los valores en negrita son valores atípicos

-Reproductibilitat

REPRODUCTIBILITAT _pH_ FTIR														
RANG BAIX				RANG MIG				RANG ALT						
Data	Codi	Tipus	Tècnic	RESULTAT pH	Data	Codi	Tipus	Tècnic	RESULTAT pH	Data	Codi	Tipus	Tècnic	RESULTAT pH
8/4/2021	M285	B	MBB	3.39	8/4/2021	M284	B	MBB	3.45	8/4/2021	M290	N	MBB	3.84
9/4/2021	M285	B	MBB	3.19	9/4/2021	M284	B	MBB	3.45	9/4/2021	M290	N	MBB	3.84
9/4/2021	M285	B	VSP	3.19	9/4/2021	M284	B	VSP	3.45	9/4/2021	M290	N	VSP	3.83
9/4/2021	M285	B	NEC	3.19	9/4/2021	M284	B	NEC	3.45	9/4/2021	M290	N	NEC	3.93
9/4/2021	M285	B	MPV	3.19	9/4/2021	M284	B	MPV	3.44	9/4/2021	M290	N	MPV	3.83
9/4/2021	M285	B	MBB	3.18	9/4/2021	M284	B	MBB	3.44	9/4/2021	M290	N	MBB	3.83
9/4/2021	M285	B	VSP	3.18	9/4/2021	M284	B	VSP	3.45	9/4/2021	M290	N	VSP	3.83
9/4/2021	M285	B	NEC	3.18	9/4/2021	M284	B	NEC	3.45	9/4/2021	M290	N	NEC	3.83
9/4/2021	M285	B	MPV	3.19	9/4/2021	M284	B	MPV	3.45	9/4/2021	M290	N	MPV	3.82
12/4/2021	M285	B	MBB	3.20	12/4/2021	M284	B	MBB	3.46	12/4/2021	M290	N	MBB	3.84
12/4/2021	M285	B	VSP	3.19	12/4/2021	M284	B	VSP	3.45	12/4/2021	M290	N	VSP	3.83
12/4/2021	M285	B	NEC	3.20	12/4/2021	M284	B	NEC	3.46	12/4/2021	M290	N	NEC	3.83
12/4/2021	M285	B	MBB	3.19	12/4/2021	M284	B	MBB	3.45	12/4/2021	M290	N	MBB	3.83
MITJANA				3.19	MITJANA				3.45	MITJANA				3.83
DESV. EST				0.01	DESV. EST				0.01	DESV. EST				0.01
CV (%)				0.21	CV (%)				0.17	CV (%)				0.15
DMP				0.08	DMP				0.08	DMP				0.08
REPRODUCTIBILITAT				0.02	REPRODUCTIBILITAT				0.02	REPRODUCTIBILITAT				0.02
R OIV				0.05	R OIV				0.05	R OIV				0.05
MATERIAL				MOSTRA REAL	MATERIAL				MOSTRA REAL	MATERIAL				MOSTRA REAL
TIPUS				B	TIPUS				B	TIPUS				N
Valor				G-calculat	Valor				G-calculat	Valor				G-calculat
3.390				3.306	3.450				0.000	3.840				0.028
3.190				-0.261	3.450				0.000	3.840				0.028
3.190				-0.261	3.450				0.000	3.830				-0.332
3.190				-0.261	3.450				0.000	3.930				3.262
3.190				-0.261	3.440				-1.732	3.830				-0.332
3.180				-0.439	3.440				-1.732	3.830				-0.332
3.180				-0.439	3.450				0.000	3.830				-0.332
3.180				-0.439	3.450				0.000	3.830				-0.332
3.190				-0.261	3.450				0.000	3.820				-0.691
3.200				-0.082	3.460				1.732	3.840				0.028
3.190				-0.261	3.450				0.000	3.830				-0.332
3.200				-0.082	3.460				1.732	3.830				-0.332
3.190				-0.261	3.450				0.000	3.830				-0.332
3.190				-0.261	3.450				0.000	3.830				-0.332
Los valores en negrita son valores atípicos					Los valores en negrita son valores atípicos					Los valores en negrita son valores atípicos				



-Veracitat amb mostres de referència

Data	Tècnic	Mostra	Tipus	Resultat FTIR	Valor refe_Potenc	incertesa	Recu %	Desviació valor ref	ZSCORE
20/5/2021	MBB	M-21-4775	N	3,01	3,01	0,08	100	0	0,00
20/5/2021		M-21-4790	N	3,03	3,03	0,08	100	0	0,00
20/5/2021		M-21-4786	N	3,06	3,04	0,08	101	-0,02	0,25
20/5/2021		M-21-4783	N	3,03	3,07	0,08	99	0,04	-0,50
20/5/2021		M-21-4792	N	3,09	3,07	0,08	101	-0,02	0,25
20/5/2021		M-21-4778	N	3,11	3,1	0,08	100	-0,01	0,12
25/5/2021		M-21-4886	N	3,08	3,11	0,08	99	0,03	-0,37
14/5/2021		M-21-4626	N	3,18	3,17	0,08	100	-0,01	0,13
25/5/2021		M-21-4842	N	3,21	3,17	0,08	101	-0,04	0,50
20/5/2021		M-21-4774	N	3,22	3,18	0,08	101	-0,04	0,50
20/5/2021		M-21-4793	N	3,2	3,18	0,08	101	-0,02	0,25
20/5/2021		M-21-4780	N	3,22	3,19	0,08	101	-0,03	0,38
20/5/2021		M-21-4782	N	3,3	3,22	0,08	102	-0,08	1,00
20/5/2021		M-21-4779	N	3,23	3,23	0,08	100	0	0,00
25/5/2021		M-21-4848	N	3,23	3,23	0,08	100	0	0,00
20/5/2021		M-21-4770	N	3,27	3,24	0,08	101	-0,03	0,37
17/5/2021		M-21-4657	B	3,32	3,25	0,08	102	-0,07	0,87
19/5/2021		M-21-4721	B	3,34	3,27	0,08	102	-0,07	0,87
14/5/2021		M-21-4624	N	3,29	3,3	0,08	100	0,01	-0,12
25/5/2021		M-21-4854	N	3,35	3,31	0,08	101	-0,04	0,50
17/5/2021		M-21-4652	B	3,38	3,33	0,08	102	-0,05	0,62
17/5/2021		M-21-4651	B	3,39	3,34	0,08	101	-0,05	0,63
25/5/2021		M-21-4845	N	3,36	3,34	0,08	101	-0,02	0,25
25/5/2021		M-21-4887	B	3,34	3,35	0,08	100	0,01	-0,13
20/5/2021		M-21-4777	N	3,37	3,37	0,08	100	0	0,00
17/5/2021		M-21-4644	N	3,39	3,38	0,08	100	-0,01	0,13
25/5/2021		M-21-4841	B	3,38	3,39	0,08	100	0,01	-0,13
19/5/2021		M-21-4722	B	3,46	3,4	0,08	102	-0,06	0,75
19/5/2021		M-21-4719	N	3,43	3,41	0,08	101	-0,02	0,25
25/5/2021		M-21-4850	N	3,44	3,41	0,08	101	-0,03	0,37
25/5/2021		M-21-4847	N	3,47	3,43	0,08	101	-0,04	0,50
25/5/2021		M-21-4856	N	3,48	3,43	0,08	101	-0,05	0,62
25/5/2021		M-21-4846	N	3,52	3,44	0,08	102	-0,08	1,00
25/5/2021		M-21-4844	N	3,53	3,49	0,08	101	-0,04	0,50
26/5/2021		M-21-4854	N	3,51	3,49	0,08	101	-0,02	0,25
12/5/2021		M-21-4531	N	3,48	3,5	0,08	99	0,02	-0,25
19/5/2021		M-21-4704	N	3,53	3,51	0,08	101	-0,02	0,25
12/5/2021		M-21-4529	N	3,51	3,52	0,08	100	0,01	-0,13
17/5/2021		M-21-4647	N	3,57	3,54	0,08	101	-0,03	0,37
14/5/2021		M-21-4621	N	3,6	3,56	0,08	101	-0,04	0,50
17/5/2021		M-21-4649	N	3,62	3,57	0,08	101	-0,05	0,63
19/5/2021		M-21-4725	N	3,59	3,58	0,08	100	-0,01	0,12
25/5/2021		M-21-4853	N	3,65	3,59	0,08	102	-0,06	0,75
19/5/2021		M-21-4733	N	3,64	3,6	0,08	101	-0,04	0,50
14/5/2021		M-21-4622	B	3,66	3,63	0,08	101	-0,03	0,38
14/5/2021		M-21-4625	N	3,66	3,63	0,08	101	-0,03	0,38
19/5/2021		M-21-4720	B	3,61	3,64	0,08	99	0,03	-0,38
17/5/2021		M-21-4643	N	3,73	3,65	0,08	102	-0,08	1,00
25/5/2021		M-21-4849	N	3,68	3,65	0,08	101	-0,03	0,38
25/5/2021		M-21-4852	B	3,66	3,66	0,08	100	0	0,00
19/5/2021		M-21-4724	N	3,66	3,67	0,08	100	0,01	-0,12
25/5/2021		M-21-4855	N	3,6	3,67	0,08	98	0,07	-0,87
17/5/2021		M-21-4648	N	3,74	3,72	0,08	101	-0,02	0,25
28/5/2021		M-21-5062	N	3,78	3,72	0,08	102	-0,06	0,75
25/5/2021		M-21-4851	N	3,77	3,73	0,08	101	-0,04	0,50
17/5/2021		M-21-4645	N	3,76	3,74	0,08	101	-0,02	0,25
14/5/2021		M-21-4623	N	3,77	3,75	0,08	101	-0,02	0,25
27/5/2021		M-21-4978	N	3,8	3,83	0,08	99	0,03	-0,38

**-Linealitat**

Data	Tècnic	Mostra	Tipus	Resultat FTIR	Valor refe_Potenc	incertesa	Recu %	Desviació valor ref	ZSCORE
20/5/2021	MBB	M-21-4775	N	3,01	3,01	0,08	100	0	0,00
20/5/2021		M-21-4790	N	3,03	3,03	0,08	100	0	0,00
20/5/2021		M-21-4786	N	3,06	3,04	0,08	101	-0,02	0,25
14/5/2021		M-21-4626	N	3,18	3,17	0,08	100	-0,01	0,13
25/5/2021		M-21-4842	N	3,21	3,17	0,08	101	-0,04	0,50
20/5/2021		M-21-4774	N	3,22	3,18	0,08	101	-0,04	0,50
20/5/2021		M-21-4780	N	3,22	3,19	0,08	101	-0,03	0,38
20/5/2021		M-21-4782	N	3,3	3,22	0,08	102	-0,08	1,00
20/5/2021		M-21-4779	N	3,23	3,23	0,08	100	0	0,00
20/5/2021		M-21-4770	N	3,27	3,24	0,08	101	-0,03	0,37
17/5/2021		M-21-4657	B	3,32	3,25	0,08	102	-0,07	0,87
19/5/2021		M-21-4721	B	3,34	3,27	0,08	102	-0,07	0,87
14/5/2021		M-21-4624	N	3,29	3,3	0,08	100	0,01	-0,12
25/5/2021		M-21-4854	N	3,35	3,31	0,08	101	-0,04	0,50
25/5/2021		M-21-4887	B	3,34	3,35	0,08	100	0,01	-0,13
20/5/2021		M-21-4777	N	3,37	3,37	0,08	100	0	0,00
17/5/2021		M-21-4644	N	3,39	3,38	0,08	100	-0,01	0,13
25/5/2021		M-21-4841	B	3,38	3,39	0,08	100	0,01	-0,13
19/5/2021		M-21-4722	B	3,46	3,4	0,08	102	-0,06	0,75
19/5/2021		M-21-4719	N	3,43	3,41	0,08	101	-0,02	0,25
25/5/2021		M-21-4847	N	3,47	3,43	0,08	101	-0,04	0,50
12/5/2021		M-21-4531	N	3,48	3,5	0,08	99	0,02	-0,25
19/5/2021		M-21-4704	N	3,53	3,51	0,08	101	-0,02	0,25
12/5/2021		M-21-4529	N	3,51	3,52	0,08	100	0,01	-0,13
17/5/2021		M-21-4647	N	3,57	3,54	0,08	101	-0,03	0,37
14/5/2021		M-21-4621	N	3,6	3,56	0,08	101	-0,04	0,50
17/5/2021		M-21-4649	N	3,62	3,57	0,08	101	-0,05	0,63
19/5/2021		M-21-4725	N	3,59	3,58	0,08	100	-0,01	0,12
19/5/2021		M-21-4733	N	3,64	3,6	0,08	101	-0,04	0,50
14/5/2021		M-21-4622	B	3,66	3,63	0,08	101	-0,03	0,38
28/5/2021		M-21-5062	N	3,78	3,72	0,08	102	-0,06	0,75
25/5/2021		M-21-4851	N	3,77	3,73	0,08	101	-0,04	0,50
17/5/2021		M-21-4645	N	3,76	3,74	0,08	101	-0,02	0,25
14/5/2021		M-21-4623	N	3,77	3,75	0,08	101	-0,02	0,25
27/5/2021		M-21-4978	N	3,8	3,83	0,08	99	0,03	-0,38

**-Incertesa**

PT Scheme Test Production	17-Wines, 17b-Still 620-2/2021, 46- 68-0117, 68-0117	17-Wines, 17b-Still 621-3/2021, 47- 72-0217, 72-0217	17-Wines, 17b-Still 622-4/2021, 48-4/2021 69-0117, 69-0117	17-Wines, 17b-Still wines 623-5/2021, 49-5/2021 18-0817, 18-0817	MR.21.24	MR.21.26	MR.21.27	MR.21.32	MR.21.33
					Dry Rose 15-0817	Sparkling 47-0317	Red wine 63-10117	Red wine 66-0117	White wine 70-0217
Product	Red wine, Red wine	White wine, White wine	Red wine, Red wine	Dry rosé wine, Dry rosé wine					
	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH
CRITERE / CRITERION	pHIF	pHIF	pHIF	pHIF	pHIF	pHIF	pHIF	pHIF	pHIF
Unité / Unit									
VALEUR ASSIGNEE / ASSIGNED VALUE									
x_{μ}	3,63	3,48	3,70	3,30	3,27	3,20	3,49	3,62	3,30
$u(x_{\mu})$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$s(x_{\mu})$	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03
$p(x_{\mu})$	133	128	136	141	126,00	114,00	129,00	131,00	120,00
APTITUDE / PROFICIENCY									
σ_{μ}	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05
VT	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08	0,10	0,10
Max	3,73	3,58	3,80	3,40	3,37	3,30	3,57	3,72	3,40
Min	3,53	3,38	3,60	3,20	3,17	3,10	3,41	3,52	3,20
p_0	3	3	2	1	2,00	8,00	9,00	3,00	3,00
LAB.									
v B7980									
Méthode / Method									
x	3,57	3,42	3,72	3,28	3,3	3,2	3,4	3,6	3,3
z-score	-1,20	-1,20	0,40	-0,40	-0,40	-0,60	-1,25	0,40	-0,40
v									
Méthode / Method									
x									
z-score									
DESVIACIÓ	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
DESVIACIÓ ²	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

INCERTESA	ERM	BIPEA
-----------	-----	-------

MC se sgo	0,0374
Ū ref	0,0000

INCERTESA _ U TÍPICA REPRO INTRALABO + U BIAIX

-	RANG MIG (3,00 - 4,00)	-
-	U _k 0,01	-
-	MC biaix 0,04	-
-	Ū ref 0,00	-
-	U biaix 0,04	-
-	U combinada 0,04	-
-	K 2	-
-	U exp. 0,08	-