



RISOLUZIONE OIV-OENO 599-2018

ATTENZIONE: questa risoluzione modifica la seguente risoluzione:

- OIV-OENO 391-2010

DOSAGGIO DELL'ACIDO L-MALICO NEI VINI MEDIANTE METODO ENZIMATICO AUTOMATIZZATO (Metodo di Tipo III)

L'ASSEMBLEA GENERALE,

Visto l'articolo 2, paragrafo 2 iv, dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

Su proposta dalla Sottocommissione "Metodi di analisi",

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

DECIDE di rimuovere l'esempio pratico riguardante l'analisi nella risoluzione OIV-OENO 391/2010 nel momento in cui un metodo automatico riguardante lo stesso analita è adottata

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

DOSAGGIO DELL'ACIDO L-MALICO NEI VINI MEDIANTE METODO ENZIMATICO AUTOMATIZZATO

Metodo di Tipo III

1. Campo di applicazione

Questo metodo consente il dosaggio dell'acido L-malico nei vini mediante analisi enzimatica specifica utilizzando un analizzatore sequenziale automatico. Nell'ambito del presente documento, lo studio collaborativo ha consentito di caratterizzare il metodo su una scala di misura che va da 0,12 a 2,30 g/L.

Nota: Se del caso, spetta a ciascun laboratorio che utilizzi questo metodo ridefinire il campo di applicazione, eventualmente ampliandolo, mediante un lavoro di validazione.

2. Riferimenti normativi

- *Raccolta dei metodi internazionali di analisi* – OIV: Acido L-malico – metodo enzimatico OIV-MA-AS313-11,

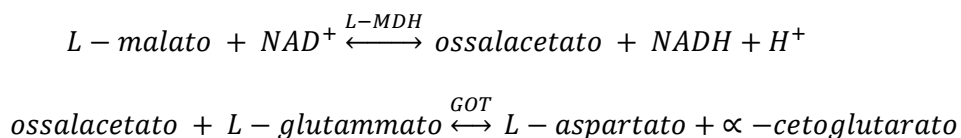
*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

- ISO 78-2: Chimica: modelli per le norme.

3. Principio di reazione

In presenza di nicotinammide adenina dinucleotide (NAD) l'acido L-malico viene ossidato a ossalacetato mediante una reazione catalizzata dalla L-malato deidrogenasi (L-MDH). Poiché l'equilibrio della reazione è spostato verso sinistra (malato) ed è necessario rimuovere l'ossalacetato formato, che viene trasformato in L-aspartato in presenza di L-glutamato. Questa reazione viene catalizzata dalla glutammato-ossalacetato transaminasi (GOT).



Il nicotinammide adenina dinucleotide ridotto (NADH) prodotto viene misurato grazie al suo assorbimento a 340 nm. La concentrazione di NADH misurata è proporzionale alla quantità di acido L-malico.

4. Reagenti e soluzioni di lavoro

Durante l'analisi, salvo indicazioni contrarie, utilizzare esclusivamente reagenti dalla qualità analitica riconosciuta e acqua distillata o demineralizzata o acqua di purezza equivalente.

4.1. Reagenti

- 4.1.1. Acqua per uso analitico (norma ISO 3696), di qualità I o II
- 4.1.2. Glicilglicina – N. CAS 556-50-3
- 4.1.3. Acido glutammico – N. CAS 56-86-0
- 4.1.4. NAD (nicotinammide adenina dinucleotide) – N. CAS 53-84-9
- 4.1.5. L-MDH (L-malato deidrogenasi) – N. CAS 9001-64-3
- 4.1.6. GOT (glutamato- ossalacetato transaminasi) – N. CAS 9000-97-9
- 4.1.7. Acido L-malico di purezza $\geq 95\%$ – N. CAS 97-67-6
- 4.1.8. Facoltativo: Polivinilpirrolidone (PVP) – N. CAS 9003-39-8 (o eventualmente PVPP – N. CAS 25249-54-1)
- 4.1.9. Idrossido di sodio – N. CAS 1310-73-2

Nota 1: Esistono dei kit commerciali per la determinazione dell'acido L-malico. L'utente deve controllarne la composizione per accertarsi che questa comprenda i reagenti menzionati sopra.

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

Nota 2: Si raccomanda l'uso del PVP per eliminare un'eventuale azione negativa dei tannini del vino sulle molecole proteiche degli enzimi. Qualora l'uso del PVP non sia efficace, il laboratorio deve accertarsi che non vi sia interferenza dei tannini del vino sugli enzimi.

4.2. Soluzioni di lavoro

4.2.1. Tampone a pH 10 (glicilglicina 0,60 M, acido L-glutammico 0,1 M)

La soluzione può essere la seguente:

- glicilglicina (4.1.2): 4,75 g,
- acido glutammico (4.1.3): 0,88 g,
- PVP (4.1.8): 1 g,
- acqua per uso analitico (4.1.1): 50 mL.

La miscela viene aggiustata a pH 10 con una soluzione di idrossido di sodio 10 M quindi portata a volume di 60 mL con acqua per uso analitico. La soluzione rimane stabile per almeno 4 settimane a una temperatura da 2 a 8 °C (circa).

4.2.2. Soluzione di lavoro R1 (esempio):

- acqua per uso analitico (4.1.1): 12 mL,
- NAD (4.1.4): 420 mg.

La soluzione rimane stabile per almeno 4 settimane a una temperatura da 2 a 8 °C (circa).

Soluzione di lavoro R2 (esempio):

- acqua per uso analitico (4.1.1): 1,2 mL,
- L-MDH (4.1.5): 4800 U,
- GOT (4.1.6): 320 U.

La soluzione si rimane stabile per almeno 4 settimane a una temperatura da 2 a 8 °C (circa).

4.3. Soluzioni di calibrazione

Per assicurare un collegamento quanto più vicino possibile al Sistema internazionale di unità di misura (SI) l'intervallo di calibrazione deve essere realizzato con soluzioni pure di acido L-malico preparate mediante pesata e deve coprire l'intervallo di misura.

5. Apparecchiatura

5.1. Analizzatore

5.1.1. Tipo di apparecchiatura

Analizzatore sequenziale automatico dotato di spettrofotometro con rivelatore ad assorbimento di UV. La temperatura della reazione deve essere regolata in modo accurato (generalmente 37 °C). Le cuvette della reazione sono di vetro, metacrilato o quarzo. Lo strumento è controllato da un programma che ne assicura il corretto funzionamento, l'acquisizione dei dati e i calcoli utili.

5.1.2. Lettura delle assorbanze

La concentrazione degli analiti è direttamente proporzionale alla differenza dell'assorbanza letta allo spettrofotometro. La precisione di lettura dell'assorbanza deve essere minimo di 0,1 unità d'assorbanza (AU). È preferibile non utilizzare valori di assorbanza superiori a 2,0.

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

5.1.3. Precisione dei volumi prelevati

La precisione dei volumi dei reagenti e dei campioni prelevati mediante le pipette dell'analizzatore influisce sul risultato di misura. Si raccomanda di controllare la qualità dei risultati adottando strategie appropriate (ad esempio in base alle linee guida pubblicate dall'OIV).

5.1.4. Durata e temperatura della reazione

Generalmente, la durata della reazione è di 10 minuti e la temperatura è di 37 °C. Alcuni apparecchi possono utilizzare dei valori leggermente diversi.

5.1.5. Utilizzo del bianco del reagente

La lettura dei risultati viene eseguita confrontando l'intensità luminosa assorbita alla lunghezza d'onda scelta di una cuvetta in cui è avvenuta la reazione con quella di una cuvetta in cui non vi è reazione (bianco del reagente).

5.1.6. Lunghezza d'onda

La lunghezza d'onda d'assorbimento massimo del NADH formato dalla reazione è di 340 nm.

5.2. Bilancia

Deve essere calibrata conformemente al Sistema Unitario delle Unità di Misura e avere una sensibilità di 1 mg.

5.3. pH-metro

5.4. Vetreria da laboratorio

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

6. Campionamento

6.1. Preparazione dei campioni per i mosti e i vini fermi

Nella maggior parte dei casi, i campioni dei vini e dei mosti possono essere analizzati senza prepararli. In alcuni casi potrebbe rendersi necessario preparare i campioni:

- per i campioni molto torbidi bisogna eseguire una filtrazione o una centrifugazione,
- per valori che vanno oltre l'intervallo di misura bisogna effettuare una diluizione del campione (manuale o automatica) con acqua per uso analitico.

6.2. Preparazione dei campioni di vini contenenti CO₂

Il campione di vini contenenti CO₂ possono essere caratterizzati dalla presenza di bolle. Pertanto, questi devono essere preventivamente degassati mediante agitazione sottovuoto, sottoponendoli agli ultrasuoni o utilizzando qualsiasi altro mezzo che ne consenta il degasaggio richiesto.

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

7. Procedimento

Dal momento che si possono utilizzare apparecchiature differenti, si raccomanda di seguire scrupolosamente le condizioni d'uso fornite dal produttore. Lo stesso vale anche per i diversi kit enzimatici disponibili in commercio.

Il procedimento è il seguente:

1. Porre il campione (C) nella cuvetta di reazione.
2. Successivamente, introdurre la soluzione di lavoro (R1) (4.2.2) all'interno della cuvetta.
3. Procedere all'omogeneizzazione. Al fine di garantire la stabilità dell'assorbanza, osservare un tempo di latenza. Tale tempo di latenza può durare da 1 a 5 min e viene definito dal laboratorio, in funzione delle caratteristiche dello strumento utilizzato.
4. Aggiungere la soluzione di lavoro R2 (4.2.3) affinché si inneschi la reazione.

A titolo esemplificativo, le quantità per i diversi elementi possono essere:

- campione: 2,5 μ L,
- miscela del tampone (3.2.1) all'80% e R1 (3.2.2) al 20%: 120 μ L,
- R2 (3.2.3): 15 μ L.

Lo strumento informatico esegue tutte le misure a intervalli regolari: ciò consente di ottenere una curva di reazione come quella mostrata in figura 1:

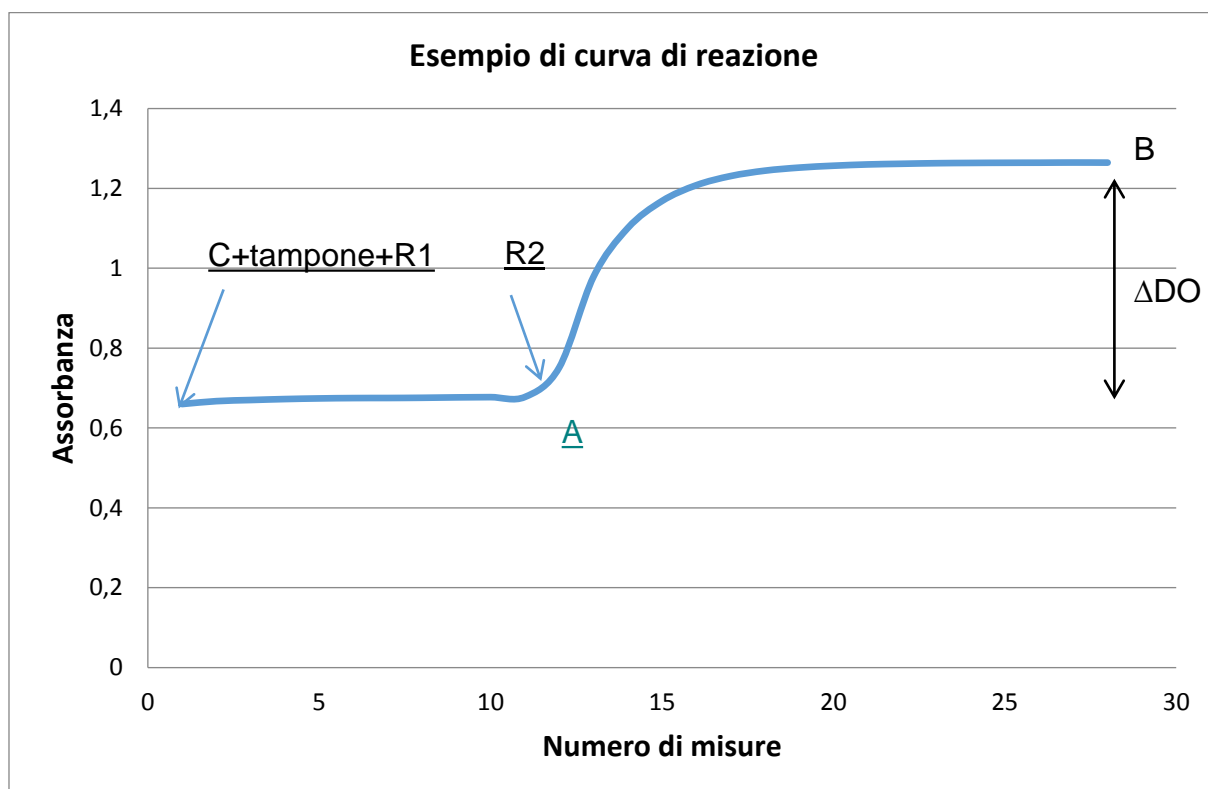


Figura 1: Curva di reazione

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

Lo strumento informatico consente di scegliere i punti di lettura della differenza dell'assorbanza ricercata (ad es., A e B in figura 1).

8. Calcolo dei risultati

L'equazione utilizzata per la determinazione del risultato è:

$$\text{Assorbanza } B - \text{Assorbanza } A)$$

Per poter correlare questo valore di ΔDO alla concentrazione di acido L-malico ricercata, si esegue una calibrazione regolare dello strumento utilizzando delle soluzioni di calibrazione (§4.3) in almeno 3 punti dell'intervallo di misura utilizzato. Nell'esempio fornito in figura 2, la curva di calibrazione ottenuta è una retta che va da 0 a 2 g/L di acido L-malico. In questo caso, per valori più elevati, è preferibile eseguire delle diluizioni sul campione. Inoltre, il bianco del reagente viene realizzato per tutti i reagenti ma non per il campione (punto 0 della calibrazione).

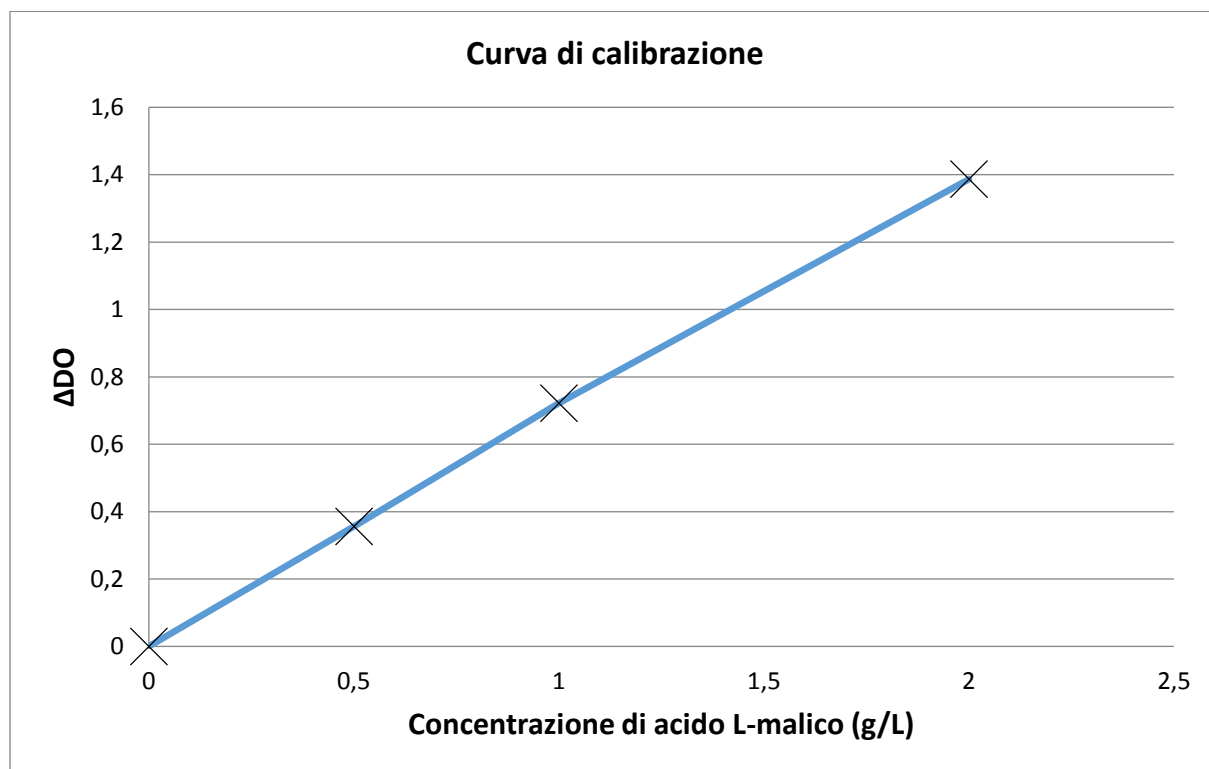


Figura 2: Curva di calibrazione

La curva di calibrazione può essere di ordine 1 ($Concentrazione = a.\Delta DO + b$) o di ordine 2 ($Concentrazione = a.\Delta DO^2 + b.\Delta DO + c$). Qualora si utilizzi una curva di calibrazione di ordine 2, il laboratorio dovrà porre attenzione a limitare l'intervallo di calibrazione per poter far sì che il metodo mantenga una sensibilità sufficiente (rischio di appiattimento della curva con l'aumentare delle concentrazioni).

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

Il valore finale ottenuto deve essere moltiplicato per l'eventuale coefficiente della diluizione utilizzata.

9. Espressione dei risultati

I risultati sono espressi in g/L di acido L-malico, con due cifre decimali.

10. Precisione

Riproducibilità interlaboratorio

$RSD_R = 5\%$ (a partire da 1 g/L)

$CV_R\% (k=2) = 2 \cdot RSD_R = 10\%$ (a partire da 1 g/L)

Ripetibilità

$RSD_r = 2\%$ (a partire da 1 g/L)

$CV_r\% (k=2) = 2 \cdot RSD_r = 4\%$ (a partire da 1 g/L)

Limite di quantificazione

LOQ validato = 0,12 g/L

(Concentrazione in cui $CV_R\% (k=2) = 60\%$)

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

ALLEGATO
Risultati dei test interlaboratorio

Studio collaborativo

Allo studio collaborativo organizzato nel 2016 hanno partecipato 16 laboratori di diversi paesi.

Laboratorio	Paese
Miguel Torres S.A.- Finca Mas La Plana	SPAGNA
Estación Enológica de Castilla y León	SPAGNA
INGACAL -Consellería do Medio Rural Estación de Viticultura e Enoloxía de Galicia	SPAGNA
Estación Enológica de Haro	SPAGNA
Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes	PORTOGALLO
Laboratoires Dubernet	FRANCIA
Laboratoire Diœnos Rhône	FRANCIA
Laboratoire Natoli	FRANCIA
SCL Montpellier	FRANCIA
Agricultural institute of Slovenia	SLOVENIA
Fachbereich: Wein, Weinüberwachung - Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe	GERMANIA
HBLAuBA Wein - und Obstbau	AUSTRIA
Landesuntersuchungsamt Mainz	GERMANIA
Hochschule GEISENHEIM University Institut Weinanalytik und Getränkeforschung	GERMANIA
Unità Chimica Vitienologica e Agroalimentare - Centro Trasferimento Tecnologico - Fondazione Edmund Mach	ITALIA
Unione Italiana Vini soc. Coop.	ITALIA

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

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

Campione		A		B		C		D		E		F		G		H		I		J	
Posizione		1	9	2	13	3	4	5	15	6	10	16	20	7	11	12	17	8	19	14	18
Labo3	rip#1	1,12	1,09	2,16	2,21	0,08	0,08	1,38	1,39	0,16	0,16	0,05	0,04	0,07	0,06	1,31	1,35	1,24	1,27	0,07	0,07
	rip#2	1,15	1,11	2,18	2,11	0,08	0,09	1,35	1,41	0,16	0,16	0,05	0,04	0,06	0,06	1,32	1,30	1,23	1,24	0,07	0,07
Labo6	rip#1	0,99	0,95	2,28	2,31	0,04	0,02	1,44	1,47	0,05	0,08	0,04	0,04	0,06	0,04	1,38	1,46	1,34	1,19	0,04	0,03
	rip#2	0,93	0,93	2,15	2,16	0,05	0,03	1,23	1,37	0,08	0,09	0,03	0,05	0,03	0,04	1,28	1,30	1,20	1,28	0,03	0,03
Labo7	rip#1	1,10	1,10	2,28	2,33	0,01		1,44	1,52	0,12	0,10		0,01			1,38	1,41	1,33	1,30	0,01	0,02
	rip#2	1,13	1,13	2,35	2,33	0,03	0,04	1,47	1,49	0,14	0,13			0,02	0,02	1,40	1,43	1,32	1,33	0,02	0,03
Labo9	rip#1	1,14	1,10	2,27	2,21	0,06	0,10	1,43	1,48	0,19	0,19	0,02	0,02	0,05	0,06	1,35	1,38	1,27	1,28	0,05	0,08
	rip#2	1,15	1,20	2,20	2,23	0,10	0,06	1,50	1,51	0,15	0,14	0,03	0,01	0,09	0,11	1,31	1,37	1,22	1,28	0,04	0,06
Labo12	rip#1	1,12	1,12	2,34	2,32	0,06	0,02	1,47	1,54	0,14	0,14	0,04	0,03	0,03	0,03	1,37	1,37	1,29	1,31	0,06	0,04
	rip#2	1,12	1,12	2,38	2,34	0,07	0,01	1,46	1,46	0,16	0,19	0,04	0,05	0,03	0,04	1,32	1,33	1,28	1,30	0,06	0,04
Labo13	rip#1	1,11	1,09	2,12	2,26	0,04	0,02	1,44	1,45	0,12	0,14	0,01	0,01	0,03	0,03	1,45	1,33	1,29	1,29	0,02	0,02
	rip#2	1,18	1,17	2,20	2,29	0,03	0,01	1,47	1,50	0,11	0,12			0,02	0,03	1,39	1,38	1,32	1,33		0,01
Labo14	rip#1	1,32	1,30	2,66	2,68			1,69	1,67	0,08	0,08					1,65	1,60	1,51	1,52		
	rip#2	1,30	1,30	2,63	2,68			1,67	1,67	0,08	0,08					1,61	1,60	1,51	1,53		
Labo15	rip#1	1,18	1,19	2,29	2,42	0,06	0,05	1,41	1,50	0,16	0,16	0,04	0,04	0,08	0,08	1,33	1,39	1,26	1,30	0,07	0,07
	rip#2	1,13	1,20	2,21	2,42	0,05	0,05	1,49	1,52	0,16	0,16	0,04	0,04	0,08	0,08	1,38	1,39	1,27	1,28	0,07	0,07
Labo16	rip#1	1,22	1,22	2,52	2,48			1,63	1,62	0,09	0,09					1,50	1,53	1,47	1,45		
	rip#2	1,21	1,20	2,45	2,55			1,62	1,61	0,09	0,09	0,03				1,52	1,51	1,44	1,45		
Labo17	rip#1	1,14	1,14	2,22	2,22	0,07	0,08	1,51	1,50	0,17	0,17	0,07	0,07	0,11	0,11	1,34	1,35	1,28	1,27	0,09	0,09
	rip#2	1,13	1,15	2,17	2,20	0,08	0,08	1,46	1,47	0,18	0,17	0,08	0,07	0,12	0,12	1,31	1,34	1,28	1,29	0,09	0,09
Labo18	rip#1	1,10	1,11	2,14	2,13	0,18	0,18	1,42	1,52	0,28	0,28	0,16	0,16	0,19	0,19	1,33	1,38	1,27	1,31	0,17	0,18
	rip#2	1,10	1,13	2,19	2,16	0,18	0,18	1,44	1,51	0,27	0,27	0,16	0,16	0,19	0,19	1,33	1,38	1,29	1,33	0,17	0,18
Labo19	rip#1	1,13	1,19	2,20	2,23	0,08	0,08	1,47	1,44	0,17	0,19	0,07	0,08	0,11	0,11	1,36	1,30	1,27	1,26	0,10	0,10
	rip#2	1,15	1,22	2,21	2,23	0,08	0,09	1,48	1,45	0,18	0,19	0,07	0,08	0,12	0,11	1,33	1,30	1,28	1,24	0,09	0,10
Labo20	rip#1	1,17	1,20	2,27	2,27	0,04	0,05	1,50	1,48	0,17	0,17	0,04	0,03	0,07	0,07	1,33	1,34	1,28	1,29	0,07	0,06
	rip#2	1,17	1,20	2,27	2,27	0,04	0,05	1,50	1,48	0,17	0,17	0,04	0,03	0,07	0,07	1,34	1,34	1,28	1,29	0,07	0,06
Labo21	rip#1	1,10	1,12	2,30	2,47	0,05	0,05	1,45	1,49	0,11	0,10	0,05	0,05	0,05	0,05	1,46	1,44	1,33	1,41	0,05	0,05
	rip#2	1,09	1,16	2,28	2,50	0,05	0,05	1,49	1,51	0,09	0,11	0,05	0,05	0,05	0,05	1,43	1,46	1,34	1,37	0,05	0,05
Labo22	rip#1	1,08	1,07	2,35	2,31	0,04	0,03	1,46	1,45	0,11	0,12	0,01	0,02	0,03	0,03	1,35	1,35	1,26	1,31	0,03	0,02
	rip#2	1,06	1,08	2,30	2,31	0,04	0,04	1,51	1,46	0,12	0,12	0,01	0,03	0,04	0,03	1,35	1,34	1,28	1,25	0,01	0,01

Tavola dei dati ottenuti. I valori in grassetto corrispondono ai valori rifiutati secondo il test di Cochran (valori aberranti per la varianza) con un livello di significatività del 2,5% (test unilaterale) e secondo il test di Grubbs (valori aberranti per le medie) con un livello di significatività del 2,5% (test bilaterale).

Nota: I valori mancanti non sono stati forniti dai relativi laboratori.

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

Campione	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N. di laboratori presi in considerazione	15	15	12	14	13	13	12	12	12	12
N. di ripetizioni	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Minimo	0,95	2,15	0,03	1,38	0,08	0,01	0,02	1,32	1,25	0,02
Massimo	1,31	2,66	0,08	1,68	0,28	0,08	0,19	1,45	1,36	0,10
Media complessiva	1,14	2,30	0,05	1,49	0,14	0,04	0,07	1,36	1,29	0,05
Varianza della ripetibilità	0,001	0,003	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000
Scarto tipo interlaboratorio	0,08	0,14	0,02	0,07	0,05	0,02	0,05	0,04	0,03	0,03
Varianza della riproducibilità	0,006	0,021	0,001	0,006	0,003	0,000	0,002	0,002	0,001	0,001
Scarto tipo di ripetibilità	0,03	0,05	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	0,01
Limite r	0,07	0,15	0,04	0,08	0,02	0,02	0,01	0,07	0,06	0,02
RSD _r di ripetibilità	2,2%	2,4%	25,0%	2,0%	6,2%	15,4%	7,4%	1,9%	1,6%	14,5%
Scarto tipo di riproducibilità	0,08	0,14	0,02	0,08	0,05	0,02	0,05	0,04	0,04	0,03
Limite R	0,22	0,41	0,07	0,21	0,16	0,06	0,14	0,12	0,10	0,08
RSD _R di riproducibilità	6,9%	6,2%	46,9%	5,0%	39,1%	57,5%	71,2%	3,2%	2,8%	53,1%
Horwitz RSD _r	3,66	3,29	5,81	3,51	5,02	6,13	5,57	3,56	3,59	5,81
Horrat _r	0,61	0,72	4,30	0,57	1,24	2,52	1,33	0,53	0,45	2,49
Horwitz RSD _R	5,55	4,99	8,80	5,32	7,60	9,29	8,44	5,40	5,44	8,81
Horrat _R	1,25	1,25	5,33	0,95	5,14	6,19	8,43	0,59	0,51	6,02

Tavola dei risultati ottenuti

Nota: I risultati ottenuti per i campioni C, F, G e J devono essere interpretati con cautela a causa del livello molto basso di concentrazione, inferiore al limite di quantificazione dei laboratori.

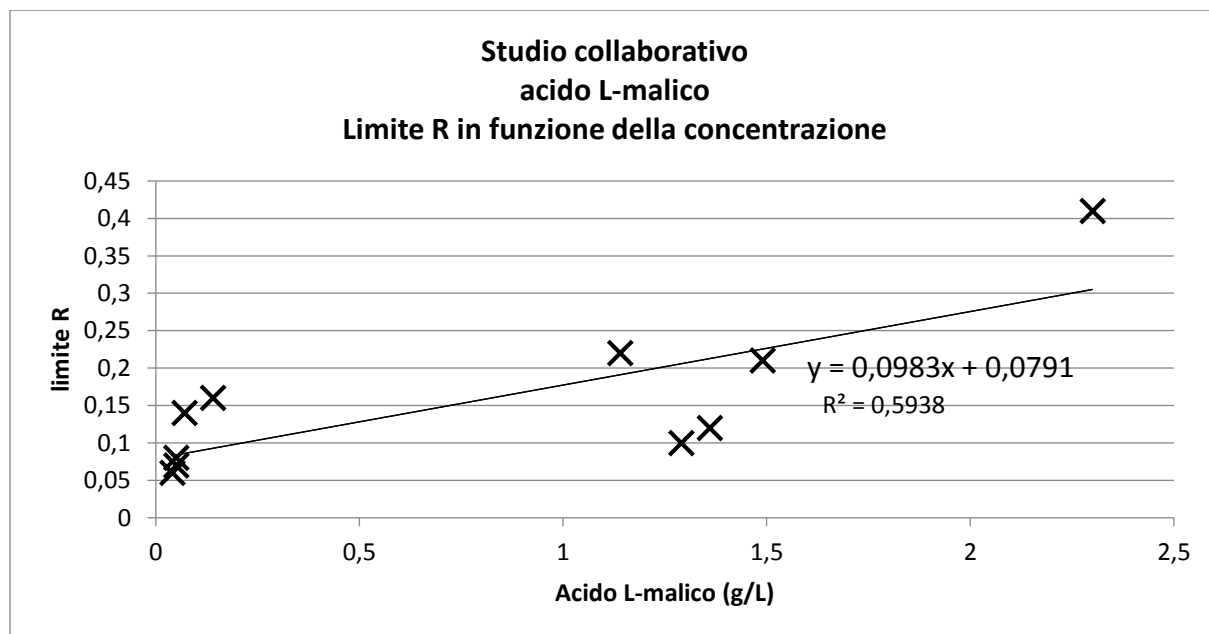


Figura 3: Limite R in funzione della concentrazione

*Esemplare certificato conforme
Punta del Este, il 23 novembre 2018
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

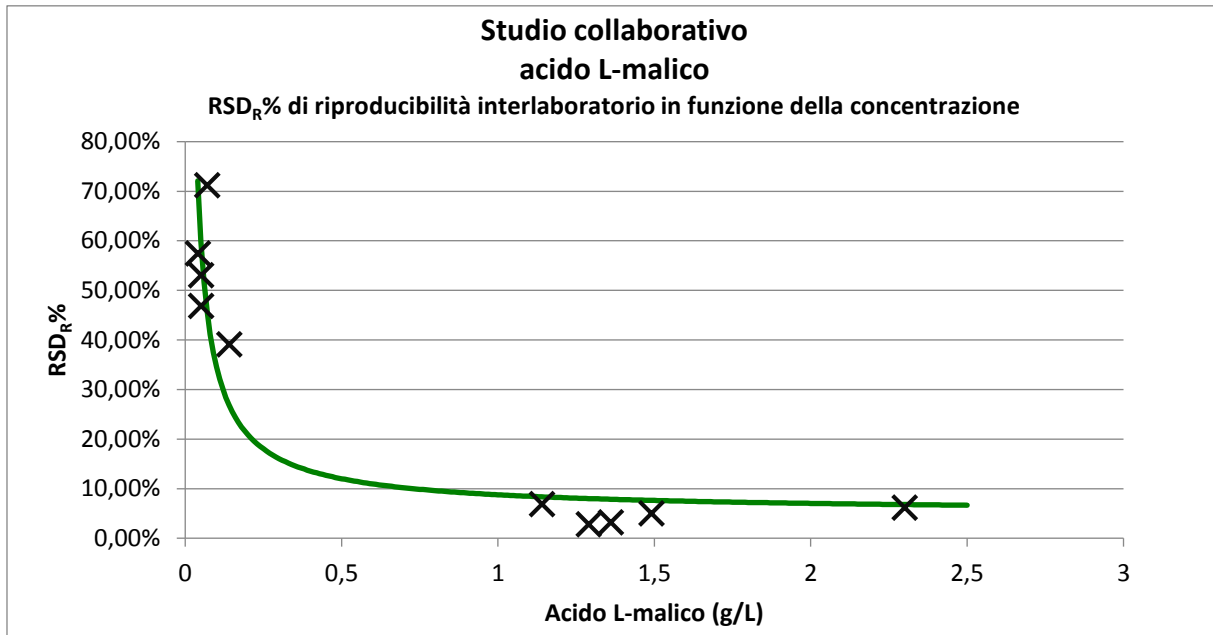


Figura 4: RSD_R% in funzione della concentrazione.
 Modellizzazione: $RSD_R\% = 3,763 \cdot C^{(-0,895)} + 5$

*Esemplare certificato conforme
 Punta del Este, il 23 novembre 2018
 Il Direttore Generale dell'OIV
 Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND