

REGLAMENTO (CEE) Nº 3220/90 DE LA COMISIÓN

de 7 de noviembre de 1990

por el que se determinan las condiciones de empleo de ciertas prácticas enológicas establecidas en el Reglamento (CEE) nº 822/87 del Consejo

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO :

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Visto el Reglamento (CEE) nº 822/87 del Consejo, de 16 de marzo de 1987, relativo a la organización común del mercado vitivinícola ⁽¹⁾, modificado en último lugar por el Reglamento (CEE) nº 1325/90 ⁽²⁾, y, en particular, el apartado 6 de su artículo 5,

Considerando que para la polivinilpirrolidona y las bacterias lácticas, el Reglamento (CEE) nº 822/87 establece que se determinen las condiciones de empleo ;

Considerando que las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité de gestión del vino,

Artículo 1

1. La polivinilpirrolidona cuyo empleo está previsto en la letra p) del apartado 1 y en la letra y) del apartado 3 del Anexo VI del Reglamento (CEE) nº 822/87 no puede utilizarse más que si cumple las prescripciones que figuran en el Anexo I del presente Reglamento.

2. Las bacterias lácticas cuyo empleo está previsto en la letra q) del apartado 1 y en la letra z) del apartado 3 del Anexo VI del Reglamento (CEE) nº 822/87 no pueden utilizarse más que si cumplen las prescripciones que figuran en el Anexo II del presente Reglamento.

Artículo 2

El presente Reglamento entrará en vigor el tercer día siguiente al de su publicación en el *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*.

Será aplicable a partir del 1 de septiembre de 1990.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 7 de noviembre de 1990.

Por la Comisión

Ray MAC SHARRY

Miembro de la Comisión

⁽¹⁾ DO nº L 84 de 27. 3. 1987, p. 1.

⁽²⁾ DO nº L 132 de 23. 5. 1990, p. 19.

ANEXO I

PRESCRIPCIONES PARA LA PVPP

La polivinilpirrolidona (PVPP) cuyo empleo está previsto en la letra p) del apartado 1 y en la letra y) del apartado 3 del Anexo VI del Reglamento (CEE) n° 822/87 es un polímero poli [1 - (2-oxo - 1-pirrolidiniletieno)] reticulado de forma estadística.

Se obtiene por polimerización de la N-vinil-2-pirrolidona en presencia de un catalizador que es sosa cáustica o una N,N-divinilimidazolidona.

CARACTERES

Polvo ligero, de blanco a blanco amarillento

Insoluble en agua y en los disolventes orgánicos

Insoluble en los ácidos minerales fuertes y en los álcalis.

ENSAYOS

1. Pérdida en la desecación :

Inferior al 5 % en las condiciones siguientes :

Poner 2 g de PVPP en una cápsula de sílice de 70 mm de diámetro ; desecar en estufa a 100-105 °C durante 6 horas. Dejar enfriar en el desecador y pesar.

Observación : Todos los límites fijados a continuación se refieren al producto seco.

2. Cenizas

Peso de las cenizas inferior al 0,5 % en las condiciones siguientes :

Incinerar progresivamente, sin pasar de 500-550 °C, el residuo obtenido en el ensayo 1 y pesar.

3. Arsénico

Inferior a dos partes por millón en las condiciones siguientes : Preparación del producto problema :

Introducir 0,5 g de PVPP en un matraz de vidrio borosilicatado de fondo redondo, colocado sobre un disco con agujero y cuyo cuello se mantenga inclinado.

Añadir 5 ml de ácido sulfúrico puro (RAs) y 10 ml de ácido nítrico puro (RAs) y calentar progresivamente. Cuando la mezcla empieza a ponerse parda, añadir una pequeña cantidad de ácido nítrico siguiendo con el calentamiento, y se hace así sucesivamente hasta que el líquido quede incoloro y que la atmósfera del matraz se llene de humo blanco de SO₃. Dejar enfriar, añadir 10 ml de agua y calentar de nuevo para expulsar los vapores nitrosos hasta obtener humo blanco. Esta operación se vuelve a repetir una segunda vez. Después de una tercera adición de agua, se deja hervir un instante, se enfría y se lleva el volumen a 40 ml con agua.

Reactivos (RAs)

- Solución arsénica concentrada (100 mg de arsénico por litro). Pesar exactamente 0,132 g de anhídrido arsenioso previamente desecado a 100 °C e introducir la sustancia en un matraz cónico de 500 ml. Añadir 3 ml de lejía de hidróxido de sodio y 20 ml de agua. Agitar hasta disolución. Neutralizar este licor arsenioso con ayuda de 15 ml de ácido sulfúrico diluido al 10 % (p/p) y añadir agua de bromo saturada (R) hasta que se mantenga el color amarillo de bromo libre (teóricamente 7 ml). Llevar a ebullición para expulsar el exceso de bromo, trasvasar a un matraz aforado de 1 000 ml y enrasar con agua destilada.
- Solución arsénica diluida (1 mg de arsénico por litro). Mezclar :

Solución arsénica concentrada de 100 mg de arsénico por litro	10 ⁻⁴ ml
Agua destilada c.s.p.	1 000 ml

 1 ml de esta solución contiene 1/1 000 de miligramo de arsénico.
- Algodón de acetato de plomo. Sumergir algodón hidrófilo en una solución de acetato de plomo al 5 % (p/v), adicionada de 1 % de ácido acético. Escurrir el algodón y dejarlo secar al aire. Conservar en frasco bien cerrado.
- Algodón hidrófilo desecado en estufa a 100 °C. Conservar en frasco bien cerrado.
- Papel de bromuro mercuríco. En una cubeta rectangular, poner una solución alcohólica de bromuro mercuríco al 5 %. Sumergir en esta solución papel de filtro blanco de 80 g por metro cuadrado, cortado en trozos de 15 × 22 cm y plegado en dos. Escurrir el papel y dejarlo secar en oscuridad, sobre un hilo no metálico. Eliminar el pliegue a lo largo de 1 cm y las bandas inferiores a lo largo de 1 cm. Recortar el papel en cuadrados de 15 × 15 mm ; conservar en frasco bien cerrado, rodeado de papel negro.

6. Solución de cloruro estannoso. Atacar en frío 20 g de estaño puro para análisis, en granalla, con 100 ml de ácido clorhídrico puro, $d = 1,19$. Conservar en presencia de estaño metálico al abrigo del aire, en frasco con tapón de válvula.

7. Solución de yoduro de potasio:

Yoduro de potasio	10 g
Agua, c.s.p.	100 ml

8. Ácido nítrico para la investigación de arsénico (RAs).

Ácido de densidad 1,38 a 20 °C, con un contenido en ácido nítrico HNO_3 entre 61,5 y 65,5 %. No debe dejar residuo fijo superior a 0,0001 %. No debe contener plomo detectable con ditizona, ni más de 1 millonésima de ion cloro, 2 millonésimas de ion sulfúrico, 2 millonésimas de ion ortofosfórico ni 1 cienmillonésima de arsénico.

9. Ácido sulfúrico para la investigación de arsénico (RAs)

Ácido de densidad entre 1,831 y 1,835 a 20 °C, con 95 % como mínimo de ácido sulfúrico H_2SO_4 . No debe dejar residuo fijo superior a 0,0005 %. No debe contener más de 2 millonésimas de metales pesados, 1 millonésima de hierro, 1 millonésima de ion cloro, 1 millonésima de ion nítrico, 5 millonésimas de ion amonio ni 2 cienmillonésimas de arsénico.

10. Solución diluida de ácido sulfúrico al 20 % (v/v).

(36 g H_2SO_4 en 100 ml)

Mezclar:

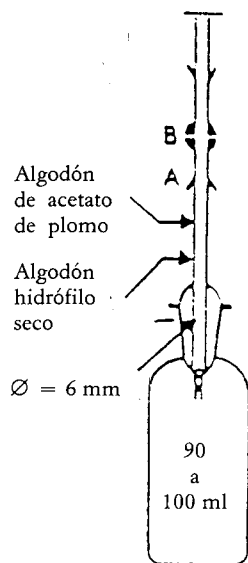
ácido sulfúrico puro (RAs)	200 ml
agua destilada, c.s.p.	1 000 ml

11. Zinc platinado.

Zinc puro, exento de arsénico, en granalla o en cilindros. Platinar este zinc colocándolo en un vaso cilíndrico y recubriéndolo con una solución de cloruro de platino al 1 por 20 000. Después de 2 horas de contacto, lavar el zinc con agua destilada, dejar escurrir el zinc platinado sobre un cuadrado de papel secante en varios espesores, secar y poner en frasco seco.

Hay que comprobar que 5 gramos de este zinc situado en el aparato descrito a continuación con 4,5 ml de ácido sulfúrico puro llevados a 40 ml con agua, a los que se añade después 2 gotas de cloruro estannoso y 5 ml de solución al 10 % de yoduro de potasio, no forma ninguna mancha tras 2 horas al menos sobre el papel de bromuro mercúrico. Hay que comprobar también que 1 μg de arsénico utilizado como se indica más abajo forma una mancha apreciable.

Descripción del aparato:



Utilizar un matraz de 90 a 100 ml cerrado por un tapón de vidrio provisto de un tubo de vidrio de 6 mm de diámetro interior y de 90 mm de longitud. La parte inferior de este tubo está alargada y provista de un orificio lateral (dispositivo antiarrastré). La parte superior termina en una superficie plana esmerilada, perpendicular al eje del tubo. Otro tubo de vidrio del mismo diámetro interior y de 30 mm de longitud, terminado en una superficie plana y esmerilada análoga a la anterior, puede sujetarse a ésta y mantenerse mediante 2 muelles de alambre o 2 brazaletes de caucho (véase figura).

Procedimiento:

En el tubo de salida de gases, colocar, en A, un tapón de algodón hidrófilo seco y después un tapón de algodón de acetato de plomo.

Colocar un cuadrado de papel de bromuro mercúrico entre las dos partes del tubo de salida de gases en B y unir las dos partes del tubo.

En el matraz, poner los 40 ml de líquido sulfúrico, 2 gotas de solución de cloruro de estaño y 5 ml de solución de yoduro de potasio. Esperar 15 minutos. Añadir 5 g de zinc platinado y tapar inmediatamente el matraz con el tubo ya preparado.

Dejar que se realice la salida de gases hasta su agotamiento (2 horas como mínimo). Desmontar el aparato, introducir el cuadrado de papel de bromuro mercúrico en 10 ml de solución de yoduro de potasio durante media hora, agitando de vez en cuando; enjuagar abundantemente y dejar secar.

La mancha marrón o amarilla debe ser invisible, o más pálida que la obtenida en un ensayo paralelo realizado con 1 ml de solución arsenical de 1 μg por ml, adicionada de 4,5 ml de ácido sulfúrico puro y llevada a 40 ml con agua, a los que se añade a continuación 2 gotas de cloruro estannoso y 5 ml de solución al 10 % de yoduro de potasio.

4. Metales pesados

Expresados en plomo, inferiores a 20 partes por millón en las condiciones siguientes :

Disolver las cenizas tras la pesada en 1 ml de ácido clorhídrico puro y 10 ml de agua destilada. Calentar para activar la disolución. Llevar a 20 ml con agua destilada. 1 ml de esta solución contiene la materia mineral de 0,10 g de PVPP.

10 ml de solución de cenizas se ponen en un tubo de ensayo de 160 × 16 con 2 ml de una solución de fluoruro de sodio puro al 4 %, 0,5 ml de amoníaco puro, 3 ml de agua, 0,5 ml de ácido acético puro y 2 ml de solución acuosa saturada de ácido sulfhídrico. No debe producirse precipitado ninguno. Si aparece una coloración parda, debe ser inferior a la presentada por el testigo preparado de la forma siguiente :

En un tubo de ensayo de 160 × 16, poner 2 ml de solución con 0,01 g de plomo (Pb) en 1 l (10 mg Pb por litro), 15 ml de agua, 0,5 ml de fluoruro de sodio al 4 % (m/v), 0,5 ml de ácido acético puro y 2 ml de solución acuosa saturada de ácido sulfhídrico. Este tubo contiene 20 µg de plomo.

Observación. A esta concentración, el sulfuro de plomo no precipita más que en medio acético ; se podría obtener la precipitación en presencia de 0,05 ml solamente de ácido clorhídrico en 15 ml, pero esta concentración es demasiado delicada para ajustarla exactamente en la práctica.

Al sustituir los 0,5 ml de ácido acético por 0,5 ml de ácido clorhídrico, sólo se haría precipitar el cobre, el mercurio, etc.

El hierro, eventualmente presente, en general en estado férrico, oxida al ácido sulfhídrico dando un precipitado de azufre que enmascara al precipitado coloidal de sulfuro de plomo. Si se añaden 0,5 ml de fluoruro de sodio para complejar el hierro, éste oxida al ácido sulfhídrico más lentamente.

Esta cantidad es suficiente para complejar 1 mg de hierro III. Aumentar la cantidad de fluoruro de sodio si hay más hierro.

Para los productos con calcio, es necesario filtrar tras la adición del fluoruro.

5. Nitrógeno total

Entre 11 y 12,8 % en las condiciones siguientes :

Equipo :

A. El equipo está formado por :

1. Un matraz redondo A de 1 l de vidrio de borosilicato que sirve de caldera, provisto de un embudo con llave para llenarlo. Puede calentarse en horno de gas o eléctrico.
2. Un alargamiento C que sirve para recoger el líquido agotado procedente de la botella lavagases B.
3. Una botella lavagases B de 500 ml de cuello inclinado ; el tubo de llegada debe alcanzar la parte más baja del matraz redondo. El tubo de salida está provisto de una bola antiarrastré que constituye la parte superior de la botella lavagases. Un embudo E con llave permite la introducción del líquido problema y de la lejía alcalina.
4. Un refrigerante de 30 a 40 cm de longitud, vertical, terminado por un bola de boquilla fina.
5. Un matraz cónico de 250 ml para recibir el destilado.

B. Matraz de mineralización, de fondo redondo y de forma ovoide de 300 ml, con cuello largo.

Productos necesarios :

Ácido sulfúrico puro,

Catalizador de mineralización,

Lejía de hidróxido de sodio al 30 % (m/m),

Solución de ácido bórico puro al 40 % (m/v),

Solución de ácido clorhídrico 0,1 N,

Indicador mixto de verde de bromocresol y rojo de metilo.

La caldera ha de estar provista de agua acidulada con 1 por 1 000 de ácido sulfúrico. Es conveniente hacer hervir este líquido antes de la operación, con la llave de purga P abierta para expulsar el CO₂.

Procedimiento :

En el matraz de mineralización, introducir unos 0,20 g de PVPP pesados exactamente. Añadir 2 g de catalizador de mineralización y 15 ml de ácido sulfúrico puro.

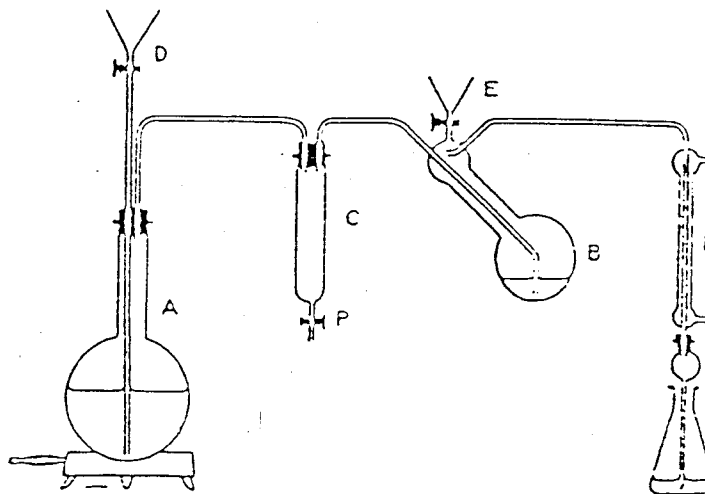
Calentar a fuego directo, con el cuello del matraz inclinado, hasta que la solución sea incolora y que las paredes del matraz estén libres de productos carbonizados.

Tras enfriamiento, diluir con 50 ml de agua y enfriar; introducir este líquido en la botella lavagases B mediante el embudo E; añadir seguidamente de 40 a 50 ml de lejía de sosa al 30 %, con el fin de obtener una clara alcalinización del líquido y arrastrar el amoníaco mediante el vapor; recoger el destilado en 5 ml de solución de ácido bórico, situados previamente en el matraz cónico de recepción con 10 ml de agua y con el extremo de la ampolla sumergido en el líquido. Añadir 1 o 2 gotas de indicador mixto y recoger de 70 a 100 ml de destilado.

Valorar el destilado con la solución 0,1 N de ácido clorhídrico hasta viraje al violeta rosado del indicador.

1 ml de solución 0,1 N de ácido clorhídrico corresponde a 1,4 mg de nitrógeno.

Equipo para la destilación del amoníaco en corriente de vapor de agua (según Parnas y Wagner)



Las llaves P y E pueden sustituirse por un manguito plástico con pinza de Mohr

6. Solubilidad en medio acuoso

Inferior a 0,5 % en las condiciones siguientes :

Introducir 10 g de PVPP en un matraz redondo de 200 ml con 100 ml de agua destilada. Agitar y dejar en contacto durante 24 horas. Filtrar a través de filtro de 2,5 µ de porosidad y, después, por filtro de 0,8 µ de porosidad. El residuo seco dejado por la evaporación del filtrado, al baño maría, debe ser inferior a 50 mg.

7. Solubilidad en medio ácido y alcohólico

Inferior al 1 % en las condiciones siguientes :

Introducir 1 g de PVPP en un matraz redondo con 500 ml de la mezcla siguiente :

Ácido acético	3 g
Etanol	10 ml
Agua c.s.p.	100 ml

Dejar en contacto durante 24 horas. Filtrar por filtro de 2,5 µ de porosidad y, después, por filtro de 0,8 µ de porosidad. Concentrar el filtrado al baño maría. Terminar la evaporación al baño maría en una cápsula de sílice de 70 mm de diámetro previamente tarada. El residuo dejado por la evaporación en seco debe ser inferior a 10 mg, teniendo en cuenta el residuo dejado eventualmente por la evaporación de 500 ml de la mezcla ácido acético-etanol.

8. Eficacia de la PVPP respecto a la adsorción de los compuestos fenólicos

El porcentaje de actividad determinada según las condiciones siguientes debe ser igual o superior al 30 %.

A. Reactivos :

1. Solución de hidróxido de sodio 0,1 N
2. Solución de ácido salicílico 0,1 N

(13,81 g de ácido salicílico se disuelven en 500 ml de metanol y se diluyen en 1 l de agua).

B. Procedimiento :

1. Pesar de 2 a 3 gramos de PVPP en un erlenmeyer de 250 ml y anotar el peso W, con una precisión de 0,001 g.
2. Calcular el extracto seco de la muestra (porcentaje de sólidos) y anotar P en porcentaje con precisión de un decimal.
3. Añadir la solución de ácido salicílico 0,1 N según la fórmula :

$$43 \times W \times P = \text{ml que deben añadirse}$$
4. Cerrar el matraz y agitar durante 5 minutos.
5. Pasar la mezcla a 25 °C a un embudo con filtro colocado sobre un buchner unido a un matraz de 250 ml ; hacer el vacío hasta que se haya obtenido un filtrado suficiente para poder tomar 50 ml (el filtrado debe ser claro).
6. Pipetear 50 ml del filtrado y ponerlos en un matraz erlenmeyer de 250 ml.
7. Determinar con una solución de sosa 0,1 N el punto de neutralización con fenolftaleína y anotar el volumen Vs.
8. Valorar 50 ml de una solución de ácido salicílico (testigo) de la misma manera y anotar el volumen Vb.

C. Cálculo :

$$\% \text{ actividad} = \frac{V_b - V_s}{V_b} \times 100$$

Observación :

Todos los límites establecidos en los puntos 2 a 8 se refieren al producto seco.

9. N-vinilpirrolidona libre — no debe exceder del 0,1 %**Método**

Suspender 4,0 g de la muestra en 30 ml de agua, agitar durante 15 minutos, pasar a través de un filtro de placa de vidrio filtrado de 9 a 15 µm (tipo G4) a un matraz cónico de 250 ml. Lavar el residuo con 100 ml de agua, añadir 500 mg de acetato de sodio a los filtrados combinados y valorar con yodo 0,1 N hasta estabilización del color del yodo. Añadir 3,0 ml suplementarios de yodo 0,1 N, dejar reposar 10 minutos y valorar el exceso de yodo con hiposulfito sódico 0,1 N ; añadir 3 ml de almidón SE (sustancia de ensayo) hasta acercarse al punto de viraje. Realizar una determinación en blanco. El consumo de yodo no será superior a 0,72 ml, lo que corresponde al 0,1 % máximo de vinilpirrolidona.

10. N'N-divinilimidazol libre — no debe sobrepasar 2 mg por kilogramo**Principio :**

Determinación por cromatografía en fase gaseosa en columna capilar de la migración de N'N-divinilimidazol libre en un disolvente (acetona) a partir de PVP insoluble.

Solución de patrón interno :

En 500 ml de acetona, disolver 100 mg de nitrilo de ácido heptanoico (nitrilo de ácido enántico) pesado con precisión de 0,1 mg.

Preparación de la muestra :

Pesar de 2 a 2,5 g de polímero con precisión de 0,2 mg y pasarlos a un erlenmeyer de 50 ml. Con ayuda de una pipeta, añadir 5 ml de solución de patrón interno y, después, 20 ml de acetona. Agitar la mezcla durante 4 horas ; dejar reposar y estabilizar después durante al menos 15 horas y analizar el líquido sobrenadante por cromatografía en fase gaseosa.

Solución de calibración :

Pesar 25 mg de N,N'-divinilimidazol libre con precisión de 0,2 mg y pasarlos a un matraz ; llevar a 100 ml con acetona. Con ayuda de una pipeta, transferir 2,0 ml de esta solución a otro matraz aforado de 50 ml y enrasar con acetona. Pasar 2 ml de esta solución a otro matraz, añadir 5 ml de la solución de patrón interno (véase más arriba) y llevar a 25 ml con acetona.

Condiciones de la cromatografía en fase gaseosa :

- Columna : *DB-Wax* (sílice fundida) capilar (Carbowax reticulada — 20 ml), 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interior, 0,5 µm de espesor de la película.
- Programación de la temperatura de la columna : 140 °C a 240 °C, 4° por minuto.
- Inyector : Inyector *split*, 220 °C
Efluente *split* 30 ml.
- Dectector : Detector termoiónico (optimizado según las instrucciones del fabricante), 250 °C.
- Gas portador : Helio, 1 bar (sobrepresión).
- Cantidad inyectada : 1 µl de solución sobrenadante de la muestra o de solución de calibración.

Procedimiento:

Determinación fiable del factor de calibración para las condiciones específicas de análisis gracias a inyecciones repetidas de solución de calibración. Análisis de la muestra. El contenido en N,N'-divinilimidazolidina en el PVP insoluble no debe ser superior al 0,1 %.

Cálculo del factor de calibración:

$$f = \frac{W_D A_{St}}{W_{St} A_D}$$

W_D = cantidad utilizada en mg de N,N'-divinilimidazolidina

W_{St} = cantidad en mg de patrón interno

A_{St} = área bajo el pico del patrón interno

A_D = área bajo el pico de la N,N'-divinilimidazolidina

Cálculo del contenido en N,N'-divinilimidazolidina

$$C_D = \frac{1\,000 f A_D W_{St}}{A_{St} W_S} \text{ (mg/kg)}$$

C_D = concentración en mg/kg de la N,N'-divinilimidazolidina

f = factor de calibración

A_D = área bajo el pico de la N,N'-divinilimidazolidina

W_{St} = cantidad en miligramos de patrón interno añadido a la muestra

A_{St} = área bajo el pico del patrón interno

W_S = cantidad en gramos de muestra utilizada.

ANEXO II**BACTERIAS LÁCTICAS****Prescripciones**

Las bacterias lácticas cuyo empleo se prevé en la letra q) del apartado 1 y en la letra z) del apartado 3 del Anexo VI del Reglamento (CEE) n° 822/87 deben pertenecer a los géneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus* o *Pediococcus*. Deben transformar el ácido málico del mosto o del vino en ácido y no dar gusto extraño.

Tienen que haberse aislado de uvas, mostos, vinos o productos elaborados a partir de la uva. El nombre del género, de la especie y de la referencia de la cepa deberán indicarse en la etiqueta, así como el origen y el seleccionador de la cepa.

Las manipulaciones genéticas de bacterias lácticas estarán sujetas a autorización previa.

Forma

Se utilizarán bien en forma líquida, bien en forma congelada o bien en forma de polvo obtenido por liofilización, en cultivo puro o en cultivo asociado.

Bacterias inmovilizadas

El soporte de un preparado de bacterias lácticas inmovilizadas debe ser inerte y debe admitirse su utilización en la elaboración del vino.

Controles

— Químico :

Los mismos requisitos sobre las sustancias investigadas que en los otros preparados enológicos, especialmente los metales pesados.

— Microbiológico :

- el contenido en bacterias lácticas viables debe ser superior o igual a $10^8/g$ o $10^7/ml$;
- el contenido en bacterias lácticas de una especie diferente de la cepa o cepas indicadas debe ser inferior al 0,01 % de las bacterias lácticas totales viables ;
- el contenido en bacterias aerobias debe ser inferior a 10^3 por gramo de polvo o por mililitro ;
- el contenido en levaduras totales debe ser inferior a 10^3 por gramo de polvo o por mililitro ;
- el contenido en mohos debe ser inferior a 10^3 por gramo de polvo o por mililitro.

Aditivos

Los aditivos que intervengan en la preparación del cultivo de bacterias lácticas o en su reactivación deben ser sustancias de utilización admisible en los productos alimentarios y deberán figurar en la etiqueta.

Fecha de producción

Deberán figurar en la etiqueta la fecha de salida de la fábrica de producción.

Utilización

El fabricante deberá indicar el modo de empleo o el método de reactivación.

Conservación

Deberán figurar claramente en la etiqueta las condiciones de almacenamiento.

Métodos de análisis :

- bacterias lácticas : medio A ⁽¹⁾, B ⁽²⁾ o C ⁽³⁾ con el método de utilización de la cepa indicado por el productor,
- bacterias aerobias : medio Bacto-Agar,
- levaduras : medio de Malt-Wickerham,
- mohos : medio de Malt-Wickerham o Czapeck.

(¹)	Extracto de levadura	5	g
	Extracto de carne	10	g
	Peptona tripsica	15	g
	Acetato de sodio	5	g
	Citrato de amonio	2	g
	Tween 80	1	ml
	MnSO ₄	0,050	g
	MgSO ₄	0,200	g
	Glucosa	20	g
	Agua	1 000	ml
	pH	5,4	
(²)	Zumo de tomate	250	ml
	Extracto de levadura Difco	5	g
	Peptona	5	g
	Ácido L-málico	3	g
	Tween 80	1	gota
	MgSO ₄	0,050	g
	MnSO ₄	0,050	g
	Aguas	1 000	ml
	pH	4,8	
(³)	Glucosa	5	g
	Triptona Difco	2	g
	Peptona Difco	5	g
	Extracto de hígado	1	g
	Tween 80	0,05	g
	Zumo de tomate diluido 4,2 veces y filtrado por Whatman n° 1	1 000	ml
	pH con H ₃ PO ₄ o KOH	5,5	
	Glucosa	20	g