

RÉSOLUTION OIV-OENO 620-2020

DOSAGE DES ALKYLPHÉNOLS DANS LES VINS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE ET SPECTROMETRIE DE MASSE (GC-MS ou GC-MS / MS)

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

VU L'ARTICLE 2, paragraphe 2 b) iv de l'Accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation internationale de la vigne et du vin,

SUR PROPOSITION de la Sous-commission « Méthodes d'analyse »,

DÉCIDE de compléter le *Recueil des [méthodes internationales d'analyse des vins](#) et des goûts* avec la méthode suivante :

DOSAGE DES ALKYLPHÉNOLS DANS LES VINS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE ET SPECTROMETRIE DE MASSE (GC-MS ou GC-MS / MS)

(Méthode de type IV)

1. Domaine d'application

La méthode suivante permet le dosage des molécules suivantes :

	Gamme étudiée
2-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L
4-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L
6-méthyl-2-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L
4-méthyl-2-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L
5-méthyl-2-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L
4,6-di-méthyl-2-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L

2,6-di-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L
2,4-di-tert-butylphénol	1 - 100 µg/L

2. Références normatives

- ISO 78-2 : Chimie - Plans de normes
- ISO 3696 : Eau pour laboratoire à usage analytique
- Résolution OIV OENO 418-2013

3. Principe de la méthode

La méthode décrit d'une part l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée avec un spectromètre de masse, GC-MS, et d'autre part, en chromatographie en phase gazeuse couplée avec un spectromètre de masse en tandem GC-MS/MS. L'extraction de l'échantillon se fait en espace de tête par la technique de micro-extraction sur phase solide (SPME).

4. Réactifs et solutions de travail

Au cours de l'analyse, sauf indications contraires, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau de pureté équivalente

4.1. Réactifs

- 4.1.1. Eau pour usage analytique (norme ISO 3696) qualité I ou II.
- 4.1.2. Ethanol absolu ; (CAS 64-17-5)
- 4.1.3. Chlorure de sodium ; (CAS 7647-14-5)
- 4.1.4. 4-tert-butylphénol D13 ; (CAS 225386-58-3)
- 4.1.5. 4-tert-butylphénol ; (CAS 98-54-4)
- 4.1.6. 2-tert-butylphénol ; (CAS 88-18-6)
- 4.1.7. 4-méthyl-2-tert-butylphénol ; (CAS 2409-55-4)
- 4.1.8. 5-méthyl-2-tert-butylphénol ; (CAS 88-60-8)

4.1.9. 6-méthyl-2-tert-butylphénol ; (CAS 2219-82-1)

4.1.10. 4,6-di-méthyl-2-tert-butylphénol ; (CAS 1879-09-0)

4.1.11. 2,4-di-tert-butylphénol ; (CAS 96-76-4)

4.1.12. 2,6-di-tert-butylphénol ; (CAS 128-39-2)

4.2. Solutions mères

Des solutions mères individuelles à 1g/L sont préparées dans l'éthanol pour chaque alkylphénol ainsi que pour l'étalon interne (par exemple : 4-*tert*-butylphénol D13).

A partir des solutions mères individuelles, des solutions filles mélanges sont préparées dans l'éthanol aux concentrations souhaitées afin de pouvoir couvrir l'ensemble de la gamme de mesure.

4.3. Solutions d'étalonnage

Afin d'assurer le raccordement au plus près au système international d'unités (S.I.) la gamme d'étalonnage doit être réalisée avec des solutions et poudres pures (grade élevés) des différents alkylphénols, préparées par pesée ou volumétrie métrologiquement raccordées au SI.

La gamme d'étalonnage est réalisée dans des solutions à 12% v/v d'éthanol (4.1.2). La gamme de mesure (de 1 à 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), par exemple comporte 5 points. Ces solutions sont préparées au moment de l'analyse et sont à utiliser dans des délais rapides après préparation (quelques heures).

L'équation d'étalonnage obtenue est généralement une fonction quadratique.

5. Appareillage

5.1. GC-MS équipé d'un injecteur "split – splitless" et d'un détecteur à spectromètre de masse ou à spectromètre de masse en tandem

5.2. Colonne capillaire de phase stationnaire apolaire, 5% phénylmethylpolysiloxane (ex: 5MS, 30m x 0,25 mm x 0,25 μm de film) ou équivalente.

5.3. Micropipettes 100 μL , 1mL et 10mL étalonnées

5.4. Vial SPME de 20 mL, fermant avec une capsule perforée, et opercule à face téflonée

5.5. Système de microextraction sur phase solide (SPME), avec fibre revêtue d'un film de polydiméthylsiloxane de 100 μm d'épaisseur, ou équivalent

5.6. Balance

Celle-ci doit être raccordée au SI et avoir une précision de 0.1 mg.

5.7. Verrerie de mesure

Les verreries de mesure pour la préparation des réactifs et des solutions de calibrage sont de classe A.

6. Echantillonnage

Un standard interne, le 4-*tert*-butylphénol D13 est utilisé ici l'est à titre d'exemple, et d'autres standards internes sont possibles.

10 mL de vin sont placés dans un flacon SPME en verre de 20 mL (5.4), avec 2 g environ de NaCl (4.1.3), et 50 µl d'une solution de 4-*tert*-butylphénol D13 (standard interne) à 5 mg/L (4.1.4).

Le flacon est scellé avec une capsule perforée et opercule à face téflonée (5.4).

7. Mode opératoire GC/MS

Le mode opératoire est donné à titre d'exemple. La technique GC/MS utilisée permettant des variantes ou des optimisations nécessaires à chaque configuration matérielle.

7.1. Extraction

L'extraction Head Space – SPME se fait pendant 20 minutes à 40°C

7.2. Injection

La désorption de la fibre se fait pendant 10 minutes dans l'injecteur

Injecteur à 260°C en mode splitless

Débit hélium : 1mL/min

7.3. Paramétrage chromatographe en phase gazeuse

Colonne : 5MS UI 30m x 0,25mm x 0,25µm

Ligne de transfert : 300°C

Four : 50°C

Puis 10°C/min jusqu'à 300°C

Puis 300°C pendant 3 minutes

Temps d'analyse : 28,0 minutes

7.4. Acquisition

Température source : 250°C

Température quad : 150°C

Acquisition : SIM

	Tr (min)	Ions de quantification	Ions de qualification
2- <i>tert</i> -butylphénol	8,9	135	107 - 150
4- <i>tert</i> -butylphénol d13 (IS)	9,1	145	113 - 163
4- <i>tert</i> -butylphénol	9,2	135	107 - 150
6-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	9,4	149	164 - 121
4-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	10,0	149	164 - 121
5-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	10,2	149	164 - 121
4,6-diméthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	10,5	163	135 - 178
2,6-di- <i>tert</i> -butylphénol	11,2	191	206 - 192
2,4-di- <i>tert</i> -butylphénol	12,0	191	206 - 192

Tableau 1 : Ions utilisés en spectrométrie de masse.

8. Mode opératoire GC/MSMS

Le mode opératoire est donné à titre d'exemple. La technique GC/MS-MS utilisée permettant des variantes ou des optimisations nécessaires à chaque configuration matérielle.

8.1. Extraction

L'extraction « head space » – SPME se fait pendant 5 minutes à 40°C

8.2. Injection

La désorption de la fibre se fait pendant 8 minutes dans l'injecteur

Injecteur à 250°C en mode Pulsed-split avec un ratio de 2 :1

Débit hélium : 2mL/min

8.3. Paramétrage chromatographe en phase gazeuse

Colonne : 5MS UI 30m x 0,25 mm x 0,25 µm, ou équivalente.

Ligne de transfert : 300°C

Four : 50°C

Puis 25°C/min jusqu'à 130°C

Puis 10°C/min jusqu'à 170°C

Puis 25°C/min jusqu'à 300°C

Puis 300°C pendant 3 minutes

Temps de run : 15,4 minutes

8.4. Acquisition

Température source : 250°C

Température quad : 150°C

Acquisition : MRM

	Tr (min)	Transitions de quantification	Transition de qualification
2- <i>tert</i> -butylphénol	5,0	135>107	150>107 & 150>135
4- <i>tert</i> -butylphénol D13 (IS)	5,1	145>113	163>113 & 163>145
4- <i>tert</i> -butylphénol	5,2	135>107	150>107 & 150>135
6-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	5,3	149>121	164>121 & 164>149
4-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	5,7	149>121	164>121 & 164>149
5-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	5,8	149>121	164>121 & 164>149

4,6-diméthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	6,1	163>135	178>135 & 178>163
2,6-di- <i>tert</i> -butylphénol	6,6	206>191	191>163 & 191>57
2,4-di- <i>tert</i> -butylphénol	7,2	191>57	191>163 & 206>191

Tableau 2 : Ions utilisés en spectrométrie de masse en tandem.

9. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en µg/L.

10. Annexe 1 : Résultats de validation interne

Les performances ont été mesurées avec un plan d'expérience intralaboratoire : 5 matériaux couvrant le domaine d'application de la méthode (1 ; 5 ; 25 ; 50 ; 100µg/L) ont été constitués par formulation, dans une matrice vin synthétique (solution hydroalcoolique à 12 % v/v, 6 g/L acide tartrique, ajustement pH 3,5 avec NaOH 1M)

Chaque matériau est analysé 5 fois en conditions de fidélité intermédiaire avec 2 répétitions à chaque analyse. Les analyses ont été réalisées en septembre et octobre 2018.

Les calculs sont réalisés conformément à résolution OIV CENO 418/2013 : « Guide pratique pour l'évaluation, le contrôle qualité et l'étude des incertitudes d'une méthode d'analyse œnologique ».

GC/MS	CV % (k=2) Fidélité intermédiaire	CVr (%) (k=2) Répétabilité	LQ Validée
2- <i>tert</i> -butylphénol	6,7%	4,3 %	1µg/L
4- <i>tert</i> -butylphénol	7,3%	5,1 %	1µg/L
6-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	12,1%	10,2 %	1µg/L
4-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	6,0%	4,6 %	1µg/L

5-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	6,4%	4,9 %	1µg/L
4,6-diméthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	12,7%	10,5 %	1µg/L
2,6-di- <i>tert</i> -butylphénol	19,5%	14,6 %	1µg/L
2,4-di- <i>tert</i> -butylphénol	11,9%	9,9 %	1µg/L

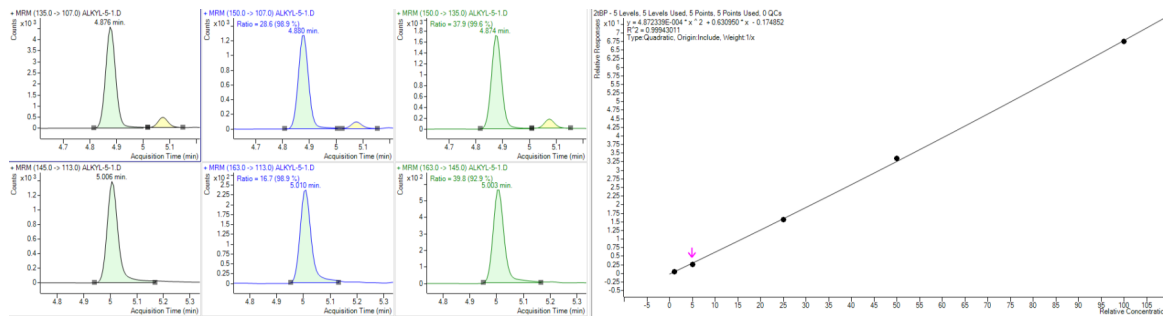
Tableau 3 : Performances obtenues avec la spectrométrie de masse.

GC/MSMS	CV % (k=2) Fidélité intermédiaire	CVr (%) (k=2) Répétabilité	LQ Validée
2- <i>tert</i> -butylphénol	11,3%	10,1 %	1µg/L
4- <i>tert</i> -butylphénol	10,4%	11,0 %	1µg/L
6-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	13,9%	13,5 %	1µg/L
4-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	11,1%	9,6 %	1µg/L
5-méthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	12,3%	10,3 %	1µg/L
4,6-diméthyl-2- <i>tert</i> -butylphénol	13,4%	12,6 %	1µg/L
2,6-di- <i>tert</i> -butylphénol	16,6%	16,8 %	1µg/L
2,4-di- <i>tert</i> -butylphénol	14,5%	12,4 %	1µg/L

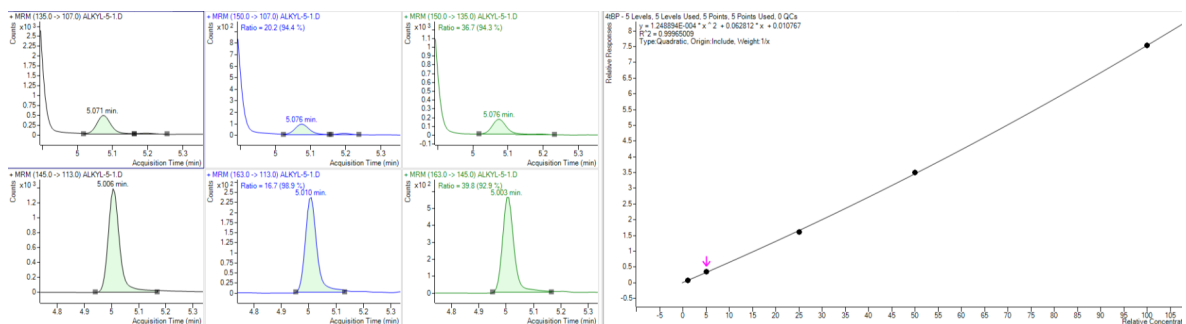
Tableau 4 : Performances obtenues avec la spectrométrie de masse en tandem.

11. Annexe 2 : Exemples de chromatogrammes et de courbes d'étalonnage

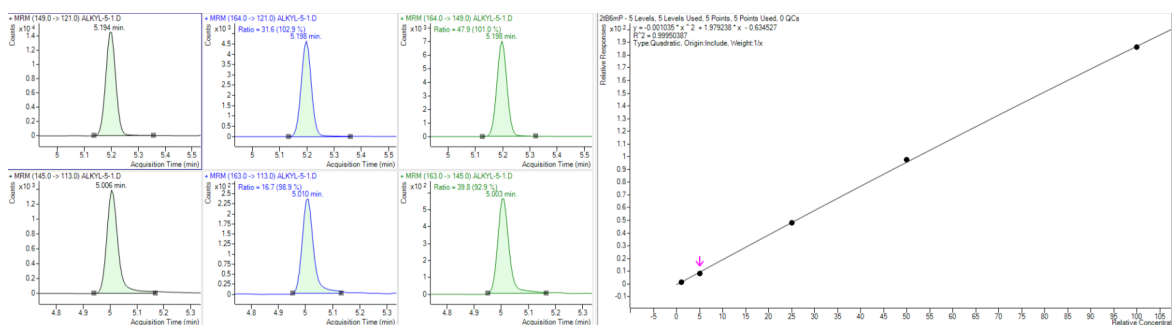
11.1. 2-*tert*-butylphénol



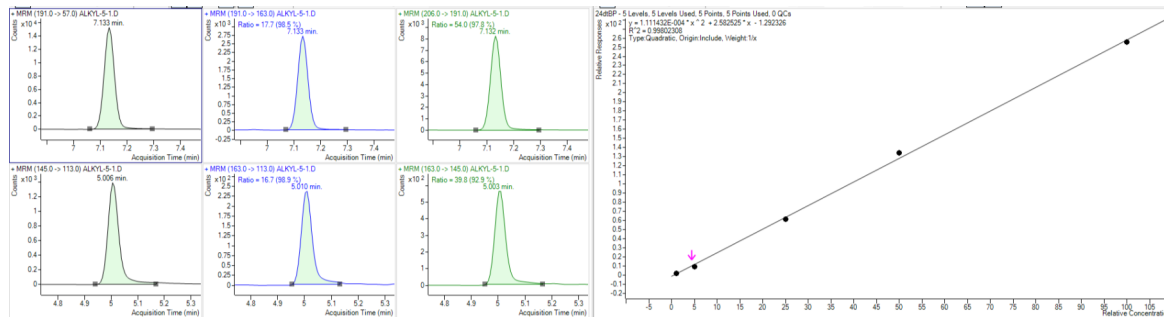
11.2. 4-*tert*-butylphénol



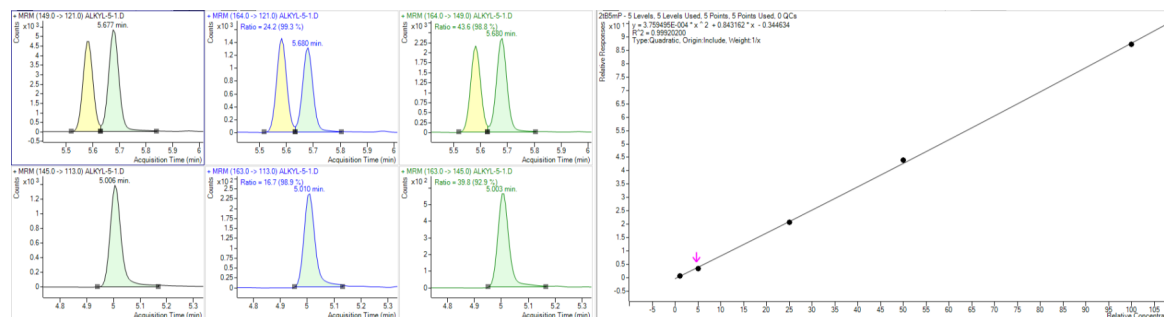
11.3. 6-méthyl-2-*tert*-butylphénol



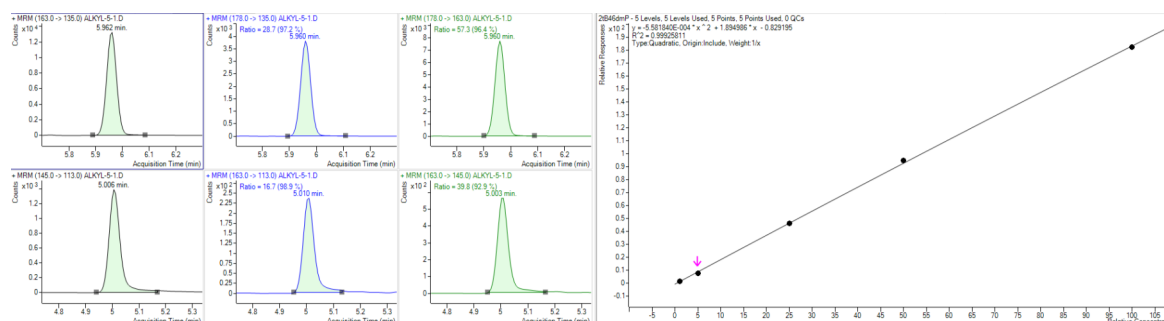
11.4. 4-méthyl-2-*tert*-butylphénol



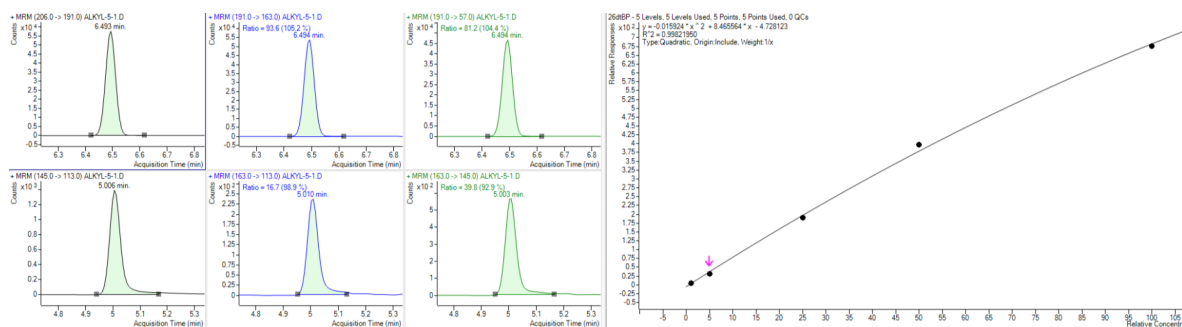
11.5. 5-méthyl-2-*tert*-butylphénol



11.6. 4,6-diméthyl-2-*tert*-butylphénol



11.7. 2,6-di-*tert*-butylphénol



11.8. 2,4-di-*tert*-butylphénol

