RÉSOLUTION OIV-OENO 662H-2022

MÉTHODE DE DÉTERMINATION DU RAPPORT ISOTOPIQUE 18O/16O DE L'EAU DANS LE JUS DE RAISIN

Méthode de type IV

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

VU l'article 2, paragraphe 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 »,

CONSIDÉRANT que la détermination pour le jus de raisin pourrait être réalisée en se basant sur la méthode OIV-MA-AS2-12 du *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*, en y apportant une modification,

DÉCIDE d'introduire la méthode suivante :

MÉTHODE DE DÉTERMINATION DU RAPPORT ISOTOPIQUE 18O/16O DE L'EAU DANS LE JUS DE RAISIN

1. Domaine d'application

La présente méthode permet la détermination du rapport isotopique $^{18}O/^{16}O$ de l'eau dans le jus de raisin après équilibrage avec du CO_2, par spectrométrie de masse de rapport isotopique (SMRI).

2. Définitions

Le rapport isotopique $^{18}O/^{16}O$ est utilisé pour identifier l'eau additionnée au jus de raisin.

3. Principe

La présente méthode est fondée sur l'équilibrage entre le CO_2 et l'eau dans le jus de raisin selon la réaction d'échange isotopique suivante :

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

C16O2 + H218O ⇄ C16O18O + H216O

Après équilibrage, le dioxyde de carbone à l'état gazeux est utilisé pour une analyse par spectrométrie de masse de rapport isotopique (SMRI), où le rapport isotopique $^{18}O/^{16}O$ est déterminé dans le CO_2 résultant de l'équilibrage.

4. Réactifs et matériaux

Les matériaux et consommables sont fonction de la méthode employée. Les systèmes généralement utilisés sont fondés sur l'équilibrage de l'eau dans le jus de raisin avec du CO_2.

Les matériaux de référence, étalons de travail et consommables suivants peuvent être utilisés :

4.1. Matériaux de référence

Nom	Éditeur/Auteur	$\delta^{18}O$ par rapport au V-SMOW
VSMOW2	NIST/IAEA	0 ‰
GISP	NIST	-24,78 ‰
SLAP	NIST/IAEA	-55,5 ‰

4.2. Étalons de travail

4.2.1. Dioxyde de carbone utilisé pour l'équilibrage ; dans le cas d'un système de cylindres à flux continu, un mélange gazeux d'hélium et de dioxyde de carbone peut aussi être utilisé.

4.2.2. Étalons de travail avec des valeurs $\delta^{18}O_{V-SMOW}$ calibrées par rapport à des matériaux de référence internationaux.

4.3. Consommables

Hélium pour analyse (n° CAS : 07440-59-7)

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

Dioxyde de carbone pour analyse, utilisé comme gaz de référence (n° CAS : 00124-38-9)

5. Appareillage

L'appareillage et les interfaces dépendent de la méthode utilisée et peuvent être utilisés comme décrit ci-après.

5.1. Spectromètre de masse de rapport isotopique (SMRI)

Le spectromètre de masse isotopique (SMRI) permet de déterminer les teneurs relatives en ^{18}O du CO_2 en abondance naturelle avec une précision interne de 0,05 ‰, ou préférablement exprimées en valeurs relatives. Le spectromètre de masse utilisé pour mesurer les rapports isotopiques est généralement équipé d'un collecteur triple afin de mesurer simultanément les intensités pour m/z = 44, 45 et 46.

5.2. Équipement et matériel

L'équipement et le matériel doivent satisfaire aux exigences de la méthode ou de l'appareillage utilisé (spécifiées par le fabricant). Cependant, tous les équipements et le matériel pourront être remplacés par des éléments aux performances analogues.

5.2.1. Fioles avec des septums adaptés au système employé

5.2.2. Pipettes volumétriques avec des cônes adaptés

5.2.3. Système thermiquement régulé pour effectuer l'équilibrage à température constante, généralement à ± 1 °C

5.2.4. Pompe à vide (si le système employé l'exige)

5.2.5. Passeur d'échantillons (si le système employé l'exige)

5.2.6. Seringues pour l'échantillonnage (si le système employé l'exige)

5.2.7. Colonne CG pour séparer le CO_2 d'autres gaz élémentaires (si le système employé l'exige)

5.2.8. Dispositif d'extraction de l'eau (par exemple membrane perméable sélective)

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

6. Préparation des échantillons

Les échantillons de jus et matériaux de référence sont utilisés pour l'analyse sans prétraitement. Il convient d'éviter une éventuelle fermentation ; pour ce faire, additionner les échantillons d'acide benzoïque (ou tout autre inhibiteur de fermentation) ou les filtrer au travers d'une membrane d'une porosité de 0,22 µm.

7. Mode opératoire

Les descriptions ci-après renvoient aux procédures généralement appliquées pour la détermination des rapports isotopiques 18O/16O par équilibrage de l'eau avec un étalon de travail de CO2 puis mesure par SMRI. Ces procédures peuvent être adaptées en fonction des modifications apportées aux matériels et instruments par les fabricants, différents dispositifs d'équilibrage étant disponibles, exigeant différentes conditions de fonctionnement. Deux principales procédures techniques peuvent être utilisées pour introduire le CO_2 dans le SMRI, soit par un système à double entrée, soit par l'utilisation d'un système à flux continu. Les systèmes techniques ainsi que les conditions de fonctionnement correspondantes sont fournis à titre d'exemple.

Remarque : Toutes les valeurs mentionnées pour les volumes, les températures, les pressions et les délais sont fournies à titre purement indicatif. Les valeurs exactes doivent être spécifiées sur la base des caractéristiques techniques des fabricants et/ou déterminées de manière expérimentale.

7.1. Équilibrage manuel

Un volume défini de l'échantillon/étalon est transféré dans un flacon au moyen d'une pipette. Le flacon est ensuite solidement fixé au collecteur.

Chaque collecteur est refroidi à une température inférieure à -80 °C de manière à congeler les échantillons (un collecteur muni de tubes capillaires ne nécessite pas cette étape de congélation). Par la suite, le vide est fait dans tout le système. Une fois qu'un vide stable est établi, le CO_2 gazeux servant d'étalon de travail est introduit dans les différents flacons. Pour le processus d'équilibrage, chaque collecteur est placé dans un bain d'eau thermiquement régulé, généralement à 25 °C ($\pm$1 °C) pendant 12 heures (jusqu'au lendemain). Il est crucial que la température du bain d'eau soit maintenue constante et homogène. Une fois le processus d'équilibrage achevé, le CO_2 obtenu est transféré depuis les flacons vers le côté échantillon du système à double entrée. Les mesures sont prises en comparant plusieurs fois les rapports entre le CO_2 contenu

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

côté échantillon et côté étalon (gaz étalon de référence : CO_2) du système à double entrée.

Cette approche est répétée jusqu'à ce que le dernier échantillon de la séquence ait été mesuré.

7.2. Utilisation d'un appareil d'équilibrage automatique

Un volume défini de l'échantillon/étalon est transféré dans une fiole au moyen d'une pipette.

Les fioles d'échantillon sont fixées au système d'équilibrage et refroidies à une température inférieure à -80 °C de manière à congeler les échantillons (un collecteur muni de tubes capillaires ne nécessite pas cette étape de congélation). Par la suite, le vide est fait dans tout le système.

Une fois qu'un vide stable est établi, le CO_2 gazeux servant d'étalon de travail est introduit dans les fioles. L'équilibre est généralement atteint à une température de 22 $\pm$1 °C à l'issue d'un délai minimal de 5 heures, avec une agitation modérée (le cas échéant). Comme la durée de l'équilibrage est fonction de divers paramètres (par ex. : la géométrie de la fiole, la température, l'agitation, etc.), la durée minimale d'équilibre doit être déterminée de manière expérimentale.

Une fois le processus d'équilibrage achevé, le CO_2 obtenu est transféré depuis les fioles vers le côté échantillon du système à double entrée. Les mesures sont prises en comparant plusieurs fois les rapports entre le CO_2 contenu côté échantillon et côté étalon (gaz étalon de référence : CO_2) du système à double entrée.

Cette approche est répétée jusqu'à ce que le dernier échantillon de la séquence ait été mesuré.

7.3. Préparation manuelle, équilibrage manuel et automatique et analyse par SMRI à double entrée

Un volume défini de l'échantillon/étalon (200 µL par exemple) est transféré dans une fiole au moyen d'une pipette. Les fioles ouvertes sont placées dans une chambre fermée remplie de CO_2 utilisé pour l'équilibrage (4.2.1). Après plusieurs purges pour éliminer toute trace d'air, les fioles sont fermées et placées sur le plateau thermiquement régulé du passeur d'échantillons. L'équilibrage est atteint après au moins 8 heures à 40 °C. Une fois le processus d'équilibrage terminé, le CO_2 obtenu est séché puis transféré du côté échantillon du système à double entrée. Les mesures sont prises en comparant plusieurs fois les pourcentages de CO_2 contenu du côté

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

échantillon et du côté étalon (gaz étalon de référence : CO_2) du système à double entrée.

Cette approche est répétée jusqu'à ce que le dernier échantillon de la séquence ait été mesuré.

7.4. Utilisation d'un appareil d'équilibrage automatique couplé à un système à flux continu

Un volume défini de l'échantillon/étalon est transféré dans une fiole au moyen d'une pipette.

Les fioles d'échantillon sont placées sur un plateau thermiquement régulé.

À l'aide d'une seringue à gaz, les fioles sont rincées avec un mélange de He et de CO_2.

Le CO_2 demeure dans l'espace de tête des fioles pour l'équilibrage.

La température et le temps nécessaires à l'équilibrage doivent être spécifiés sur la base des caractéristiques techniques des fabricants et/ou déterminés de manière expérimentale. L'équilibre est généralement atteint à une température de 25 $\pm$1 °C à l'issue d'un délai minimal de 18 heures.

Une fois le processus d'équilibrage achevé, le CO_2 obtenu est transféré par le système à flux continu vers la source ionique du spectromètre de masse. Du gaz de référence CO_2 est également introduit dans le SMRI par le système à flux continu. La mesure est prise en fonction du protocole spécifique du matériel employé.

8. Calculs

Les intensités pour m/z = 44, 45, 46 sont consignées pour chaque échantillon et pour les matériaux de référence analysés. Les rapports isotopiques $^{18}O/^{16}O$ sont ensuite calculés par l'ordinateur et le logiciel du SMRI. Dans la pratique, les rapports isotopiques $^{18}O/^{16}O$ sont mesurés par rapport à un étalon de travail préalablement étalonné par rapport au V-SMOW. De légères variations peuvent se produire pendant la mesure en ligne du fait de modifications des conditions instrumentales. Dans ce cas, le $\delta^{18}O$ des échantillons doit être corrigé en fonction de la différence entre la valeur $\delta^{18}O$ de l'étalon de travail et sa valeur assignée, préalablement étalonnée par rapport au V-SMOW. Entre deux mesures de l'étalon de travail, la variation est la correction appliquée aux résultats de l'échantillon, qui sont supposées linéaires. En effet, l'étalon de travail doit être mesuré au début et à la fin de toutes les séries d'échantillons. De ce fait, une correction peut être calculée pour chaque échantillon au moyen d'une

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

interpolation linéaire entre deux valeurs (la différence entre la valeur assignée de l'étalon de travail et les mesures des valeurs obtenues).

$$\delta^{18}O_{V-SMOW} = \left[\frac{(\frac{^{18}O}{^{16}O})_{sample} - (\frac{^{18}O}{^{16}O})_{V-SMOW}}{(\frac{^{18}O}{^{16}O})_{V-SMOW}}\right] \times 1000[\%]$$

La valeur □18O normalisée versus l'échelle V-SMOW/SLAP se calcule par l'équation suivante :

$$\delta^{18}O_{V-SMOW/SLAP} = \left[\frac{\delta^{18}O_{échantillon} - \delta^{18}O_{V-SMOW}}{\delta^{18}O_{V-SMOW} - \delta^{18}O_{SLAP}}\right] \times 55{,}5[\%]$$

9. Caractéristiques de la méthode

La méthode a fait l'objet d'une étude de validation afin d'évaluer sa pertinence pour les matrices en question, en tenant compte de la linéarité, des limites de détection et de quantification, et de l'exactitude de la méthode. Ce dernier paramètre a été déterminé en définissant le niveau de fidélité et de justesse de la méthode.

9.1. Fidélité de la méthode

Les paramètres pris en considération sont la répétabilité et la reproductibilité intralaboratoire. Le tableau 1 indique les valeurs de ces paramètres. La répétabilité est exprimée par le ‰ des mesures répétées dans les mêmes conditions et le même jour pour tous les jus de raisin, et la reproductibilité est exprimée par la moyenne des ‰ des mesures réalisées sur le même échantillon de jus de raisin par deux opérateurs.

9.2. Justesse de la méthode

Le pourcentage de recouvrement a été déterminé en utilisant un échantillon de jus de raisin surchargé avec six concentrations d'eau du robinet, allant de 20 % à 99,5 %. Chaque niveau de concentration a été analysé cinq fois. La justesse est également exprimée en termes de biais en utilisant un matériel de référence et en calculant l'erreur relative.

Tableau 1. Caractéristiques de la méthode

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

	Coefficient de corrélation (r^2)	Répétabilité (n=16) ‰	Reproductibilité (n=7) ‰	Recouvrement (%)± DS	Justesse (MR) (‰)
	0,998	0,20	3,12	101 ± 2,16	0,17

10. Bibliographie

1. OIV. Méthode de détermination du rapport isotopique 18O/16O de l'eau dans le vin et le moût. Méthode OIV-MA-AS2-12.

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022