

RÉSOLUTION OIV-OENO 622-2019

DOSAGE DE L'ACIDE D-GLUCONIQUE DANS LES VINS ET LES MOÛTS PAR MÉTHODE ENZYMATIQUE AUTOMATISÉE

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

VU l'article 2, paragraphe 2 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 »,

DECIDE de compléter l'annexe A du *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts* avec la méthode suivante :

DOSAGE DE L'ACIDE D-GLUCONIQUE DANS LES VINS ET LES MOÛTS PAR MÉTHODE ENZYMATIQUE AUTOMATISÉE

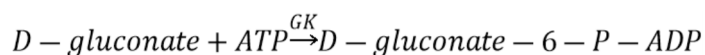
(Méthode type II)

1. Domaine d'application

Cette méthode permet de doser l'acide D-gluconique dans les vins et les moûts par l'intermédiaire d'une analyse enzymatique spécifique réalisée dans un analyseur automatique séquentiel, avec des concentrations de l'analyte situées entre 0,06 g/L et 5,28 g/L (en tenant compte du fait que l'échantillon peut être dilué).

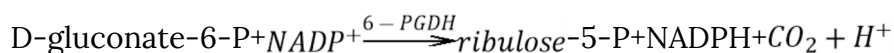
2. Principe

Le D-gluconate présent dans l'échantillon est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) au cours d'une réaction enzymatique catalysée par la gluconate kinase (GK), produisant du D-gluconate-6-phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP).



En présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP), le D-gluconate-6-phosphate est oxydé en ribulose-5-phosphate au cours d'une réaction enzymatique catalysée par la 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGDH). La

quantité de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduite (NADPH) obtenue correspond à la quantité de D-gluconate-6-phosphate, et donc à celle de l'acide D-gluconique.



Le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit (NADPH) est dosé par spectrophotométrie à 340 nm (maximum d'absorption du NADPH). La concentration en NADPH est proportionnelle à la concentration en acide D-gluconique.

3. Réactifs et solutions

3.1. Réactifs :

- 3.1.1. Eau distillée pour laboratoire à usage analytique selon EN ISO 3696
- 3.1.2. PIPES (acide 1,4-pipérazinediéthanesulfonique) (n° CAS 5625-37-6)
- 3.1.3. $\square$ -NADP- Na_2 ($\square$ -nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate, sel disodique) (n° CAS 24292-60-2)
- 3.1.4. $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (chlorure de magnésium hexahydraté) (n° CAS 7791-18-6)
- 3.1.5. ATP- Na_2 (adénosine 5'-triphosphate, sel disodique) (n° CAS 987-65-5)
- 3.1.6. Gluconate kinase (GK) (EC 2.7.1.12)
- 3.1.7. 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGDH) (EC 1.1.1.44)
- 3.1.8. Sel sodique d'acide D-gluconique (n° CAS 527-07-1), pureté $\geq 99\%$
- 3.1.9. NaOH (hydroxyde de sodium) (n° CAS 1310-73-2)
- 3.1.10. PVP K-90 (polyvinylpyrrolidone K-90) (n° CAS 9003-39-8)

3.2. Solutions de travail

- 3.2.1. Réactif 1 : dissoudre 30,2 g de PIPES (3.1.2) (100 mmol/L), 1 g de $\square$ -NADP- Na_2 (3.1.3) (1,3 mmol/L), 5,28 g de NaOH (3.1.9) et 5 g de PVP K-90 (3.1.10) dans 1 L d'eau distillée (3.1.1). Le pH doit être compris entre 6,3 et 6,4. La solution reste stable pendant au moins 4 semaines à 2-8 °C.
- 3.2.2. Réactif 2 : dissoudre 30,2 g de PIPES (3.1.2) (100 mmol/L), 1 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3.1.4), 4,84 g d'ATP- Na_2 (3.1.5) et 7,6 g de NaOH (3.1.9) dans 1 L d'eau distillée (3.1.1). Le pH doit être compris entre 7,0 et 7,2. Ajouter 10 KU de gluconate kinase (3.1.6) et 10 KU

de 6-phosphogluconate déshydrogénase (3.1.7). La solution reste stable pendant au moins 4 semaines à 2-8 °C.

3.3. Solutions d'étalonnage

Les solutions d'étalonnage sont préparées à partir du sel sodique d'acide D-gluconique (3.1.8), par pesée, à des concentrations qui couvrent la gamme linéaire de la méthode (0,01-2 g/L).

Remarque 1 : Les préparations décrites précédemment permettent d'obtenir 1 L de réactif. Il est possible de préparer d'autres volumes en fonction des besoins du laboratoire.

Remarque 2 : Il existe des kits commerciaux pour le dosage de l'acide D-gluconique. L'utilisateur devra vérifier que le kit inclut les réactifs susmentionnés.

4. Appareillage

4.1. Analyseur automatique séquentiel à température contrôlée (environ 37 °C) réglé pour mesurer l'absorbance à 340 nm. L'appareil doit disposer d'un logiciel facilitant l'obtention des données et réalisant les calculs nécessaires.

4.2. Spectrophotomètre ou photomètre permettant une mesure de l'absorbance à 340 nm

4.3. Cuves en verre, quartz ou polyméthacrylate de méthyle

4.4. Verrerie courante de laboratoire (fioles, pipettes, etc.) de classe A

4.5. Micropipettes

4.6. Balance analytique d'une précision de $\pm 0,0001\text{g}$

4.7. pH-mètre

5. Préparation des échantillons

Si nécessaire, suivre la procédure de préparation de l'échantillon correspondant.

5.1. Filtrer ou centrifuger les échantillons en cas de présence de particules en suspension.

5.2. Procéder au dégazage des échantillons qui contiennent du dioxyde de carbone au moyen d'une agitation sous vide, d'un bain à ultrasons ou tout autre moyen permettant d'atteindre le degré de dégazage requis.

5.3. Diluer avec de l'eau distillée (3.1.1) les échantillons dont la concentration est supérieure à la limite de linéarité spécifiée (2 g/L). Multiplier la concentration obtenue

par le facteur de dilution.

6. Mode opératoire

Étant donné qu'il est possible d'utiliser divers types d'analyseurs, il est recommandé de suivre rigoureusement les instructions du fabricant. Il en va de même pour les kits enzymatiques commerciaux.

Les procédures à suivre sont celles indiquées ci-après (les volumes ne sont fournis qu'à titre d'exemple).

6.1. Procédure manuelle

6.1.1. Préchauffer les réactifs et le photomètre à 37 °C.

6.1.2. Transférer dans une cuve à l'aide d'une pipette :

	Blanc de réaction (BR)	Étalon/échantillon
Étalon/échantillon	-	33 μ L
Eau distillée	33 μ L	-
Réactif 1	800 μ L	800 μ L

6.1.3. Mélanger et incuber pendant 1 minute à 37 °C. Lire l'absorbance (A1) à 340 nm.

6.1.4. Transférer dans la cuve à l'aide d'une pipette :

Réactif 2	200 μ L	200 μ L
-----------	-------------	-------------

6.1.5. Mélanger et incuber pendant 10 minutes à 37 °C. Lire l'absorbance (A2) du blanc de réaction, de l'étalon et de l'échantillon à 340 nm.

6.2. Procédure automatisée

6.2.1 Introduire les paramètres suivants dans un analyseur automatique conforme aux exigences indiquées au point 4.1 :

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37 °C

Mode d'analyse : 2 points (différentiel)

Volume de l'échantillon : 10 μ L

Volume du réactif 1 : 240 μL

Volume du réactif 2 : 60 μL

6.2.2. Programmer l'analyseur afin qu'il réalise la séquence suivante :

	Blanc de réaction (BR)	Étalon/échantillon
Étalon/échantillon	-	10 μL
Eau distillée	10 μL	-
Réactif 1	240 μL	240 μL

Mélanger, incuber 1-5 minutes et lire l'absorbance (A1). Puis additionner :

Réactif 2	60 μL	60 μL
-----------	------------------	------------------

Mélanger, incuber 10 minutes et lire l'absorbance (A2).

L'appareil réalise des mesures à intervalles réguliers, ce qui permet d'obtenir une cinétique de réaction (fig. 1).

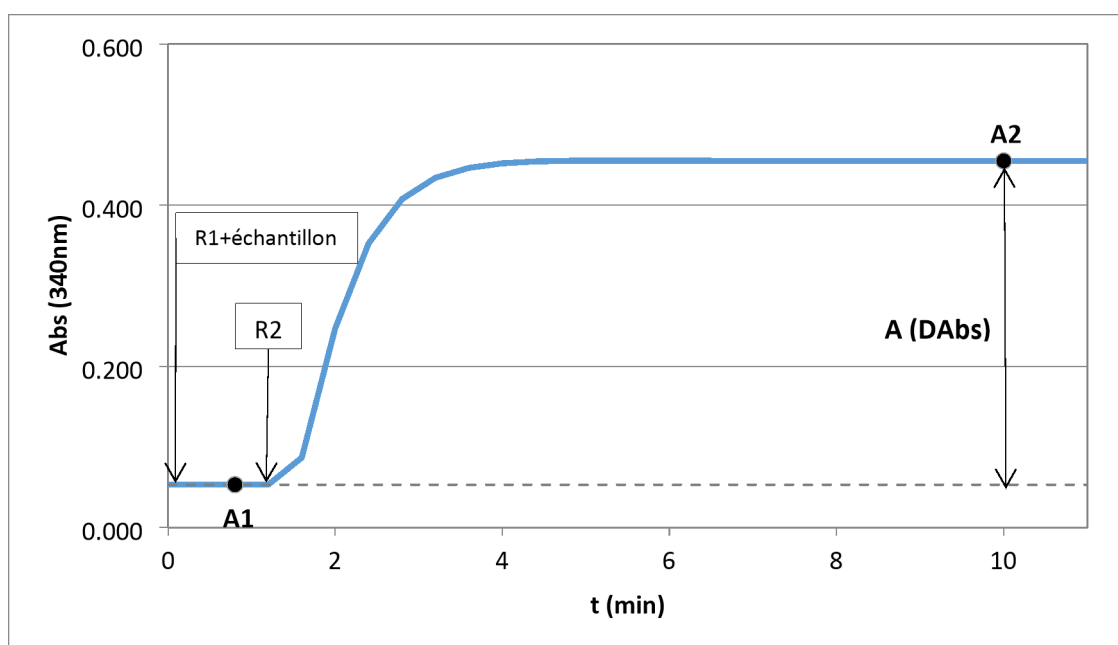


Figure 1 : exemple de cinétique de réaction

6.2.3 Il est recommandé de vérifier l'étalonnage en effectuant trois contrôles répartis dans la plage de mesure. Chaque laboratoire doit établir son propre programme de contrôle de qualité interne, ainsi que des procédures correctives dans l'éventualité où les contrôles ne s'avèrent pas conformes aux tolérances admises.

7. Calculs

Calculer la concentration en acide-D-gluconique au moyen de la formule suivante :

$$\bullet \quad \frac{(A2 - 0,81 \times A1)_{\text{Muestra}} - (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{RB}}}{(A2 - 0,81 \times A1)_{\text{Muestra}} - (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{RB}}}$$

$$\frac{(A2 - 0,81 \times A1)_{\text{Muestra}} - (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{RB}}}{(A2 - 0,81 \times A1)_{\text{Muestra}} - (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{RB}}}$$

Si l'étalonnage est réalisé avec un point (étalon) et

le blanc de réaction :

$$\frac{(A2 - 0,81 \times A1)_{\text{échantillon}} - (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{BR}}}{(A2 - 0,81 \times A1)_{\text{étalon}} - (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{BR}}} \times F \times g/L_{\text{étalon}} = g/L_{\text{échantillon}}$$

- Si l'étalonnage est réalisé avec une droite d'étalonnage :

$$A = (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{échantillon}} - (A2 - 0,81 \times A1)_{\text{BR}}$$

L'absorbance calculée (A) est interpolée dans la droite d'étalonnage (fig. 2) afin d'obtenir la concentration en acide D-gluconique. Multiplier la concentration obtenue par le facteur de dilution (F).

A1 : absorbance du blanc/de l'étalon/de l'échantillon + réactif 1

A2 : absorbance du blanc/de l'étalon/de l'échantillon + réactif 1 + réactif 2

BR : Blanc de réaction

0,81 : facteur de correction de la dilution du réactif 1 (il est susceptible de varier en fonction des volumes utilisés selon la formule [vol. échantillon + réactif 1] / [vol. échantillon + réactif 1 + réactif 2]).

F : facteur de dilution de l'échantillon (à appliquer le cas échéant)

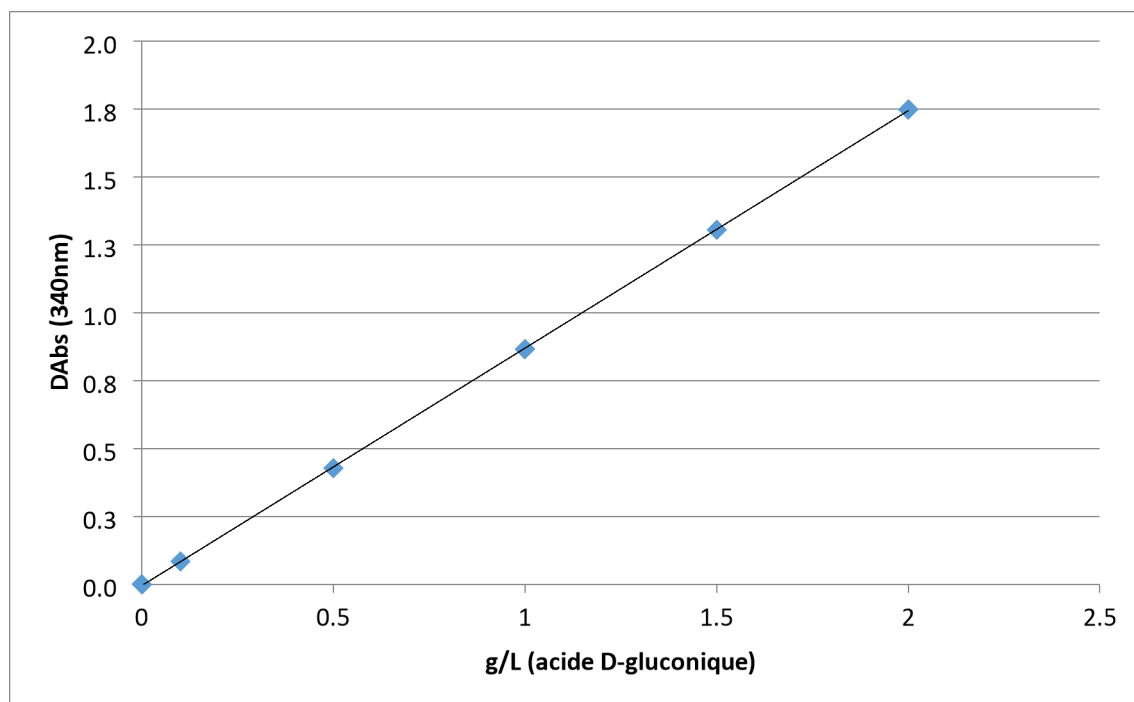


Figure 2 : exemple de droite d'étalonnage

8. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en g/L, avec 2 décimales ou en conformité avec l'incertitude.

9. Caractéristiques de la méthode enzymatique automatisée

9.1. Répétabilité

$$r = 0,0396x + 0,0098$$

où x est la concentration en acide gluconique en g/L

9.2. Reproductibilité

$$R = 0,1226x + 0,0237$$

où x est la concentration en acide gluconique en g/L

9.3. Limite de quantification

LQ validée = 0,06 g/L

ANNEXE

Résultats de l'étude interlaboratoires

1. Étude collaborative

1.1. Laboratoires participants : 19 laboratoires de 6 différents pays.

Laboratoire	Pays
Agroscope	Suisse
Biosystems S.A	Espagne
Bundesamt für Weinbau	Autriche
Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)	Allemagne
Centrolab 2006, S.L	Espagne
Comité Champagne (Comité Interprofessionnel du vin de Champagne, CIVC)	France
Estación de Viticultura y Enología de Navarra (EVENA)	Espagne
Estación de Viticultura y Enología Alcázar de San Juan	Espagne
Estación Enológica de Castilla y León (ITACyL)	Espagne
Estación Enológica de Haro	Espagne
Federal College and Research Institute for Viticulture and Pomology (HBLA)	Autriche

Freixenet S.A	Espagne
Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI)	Espagne
Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto (IVDP)	Portugal
Laboratoires Dicoenos Rhône	France
Laboratoires Dubernet	France
Laboratorio Arbitral Agroalimentario	Espagne
Landesuntersuchungsamt, Institut für Lebensmittelchemie und Arzneimittelprüfung	Allemagne
Miguel Torres, SA	Espagne

Ont été utilisés pour l'analyse 2 × 10 échantillons en double aveugle, avec 1 répétition.

1.2. Échantillons

Échantillon	Flacon	Type d'échantillon
A	1 / 12	Moscatel
B	2 / 11	Moût concentré
C	3 / 13	Moût sulfité
D	4 / 15	Vin blanc
E	5 / 14	Vin blanc
F	6 / 16	Vin rosé
G	7 / 10	Vin rouge
H	8 / 19	Vin rouge

I	9 / 18	Vin rouge
J	17 / 20	Matrice synthétique

1.3. Résultats méthode automatisé

		A		B		C		D		E		F		G		H		I		J	
		1	12	2	11	3	13	4	15	5	14	6	16	7	10	8	19	9	18	17	20
1	Rép. #1	2,10	2,00	1,00	1,00	0,23	0,23	0,29	0,28	0,10	0,11	2,72	2,72	5,20	5,25	0,15	0,15	0,49	0,48	0,06	0,06
	Rép. #2	2,01	2,02	0,99	1,00	0,22	0,23	0,30	0,29	0,11	0,10	2,70	2,68	5,13	5,18	0,14	0,14	0,48	0,49	0,05	0,06
	□ (9)	2,06	2,01	1,00	1,00	0,23	0,23	0,30	0,29	0,11	0,11	2,71	2,70	5,17	5,22	0,15	0,15	0,49	0,49	0,06	0,06
2	Rép. #1	1,95	2,02	1,02	0,99	0,23	0,23	0,29	0,30	0,10	0,09	2,79	2,72	5,27	5,24	0,13	0,13	0,47	0,46	0,05	0,05
	Rép. #2	2,00	2,10	1,03	1,01	0,23	0,23	0,29	0,30	0,11	0,10	2,75	2,80	5,30	5,20	0,13	0,13	0,47	0,45	0,05	0,05
	□ (2)	1,97	2,06	1,03	1,00	0,23	0,23	0,29	0,30	0,11	0,10	2,77	2,76	5,28	5,22	0,13	0,13	0,47	0,45	0,05	0,05
3	Rép. #1	2,19	2,19	1,06	1,07	0,27	0,28	0,34	0,33	0,13	0,13	2,95	3,06	5,54	5,63	0,08	0,08	0,51	0,50	0,06	0,06
	Rép. #2	2,21	2,30	1,09	1,07	0,27	0,28	0,34	0,34	0,13	0,13	2,95	2,99	5,51	5,68	0,07	0,08	0,49	0,50	0,06	0,06
	□ (3)	2,20	2,24	1,07	1,07	0,27	0,28	0,34	0,34	0,13	0,13	2,95	3,02	5,53	5,66	0,07	0,08	0,50	0,50	0,06	0,06
4	Rép. #1	2,10	2,10	1,02	1,05	0,23	0,24	0,28	0,29	0,10	0,10	2,70	2,80	3,78	3,94	0,13	0,12	0,45	0,46	0,10	0,10
	Rép. #2	2,08	2,12	1,03	1,04	0,24	0,25	0,29	0,29	0,10	0,11	2,72	2,82	3,80	3,98	0,13	0,13	0,45	0,45	0,10	0,10
	□ (4)	2,09	2,11	1,03	1,05	0,24	0,25	0,29	0,29	0,10	0,11	2,71	2,81	3,79	3,96	0,13	0,13	0,45	0,46	0,10	0,10
5	Rép. #1	1,88	1,94	0,98	0,96	0,22	0,33	0,27	0,26	0,10	0,09	2,68	2,58	4,95	4,90	0,11	0,08	0,43	0,42	0,04	0,05
	Rép. #2	2,06	2,12	0,99	1,00	0,24	0,23	0,29	0,29	0,11	0,09	3,08	2,84	5,40	5,30	0,12	0,15	0,47	0,48	0,07	0,06
	□ (5)	1,97	2,03	0,99	0,98	0,23	0,28	0,28	0,28	0,11	0,09	2,88	2,71	5,18	5,10	0,12	0,12	0,45	0,45	0,06	0,06
6	Rép. #1	2,06	2,02	1,00	1,01	0,22	0,23	0,28	0,29	0,10	0,10	2,80	2,78	5,22	5,22	0,12	0,12	0,46	0,46	0,05	0,05
	Rép. #2	1,98	2,01	0,99	1,00	0,22	0,22	0,27	0,28	0,09	0,10	2,75	2,75	5,22	5,22	0,12	0,11	0,45	0,46	0,05	0,05
	□ (6)	2,02	2,02	0,99	1,00	0,22	0,23	0,28	0,29	0,09	0,10	2,78	2,77	5,22	5,22	0,12	0,12	0,45	0,46	0,05	0,05

7	Rép. #1	2,02	2,02	0,98	0,99	0,23	0,23	0,29	0,29	0,11	0,11	2,74	2,75	5,28	5,16	0,13	0,13	0,46	0,47	0,05	0,06
	Rép. #2	2,01	2,01	0,98	0,99	0,23	0,23	0,30	0,29	0,11	0,12	2,75	2,74	5,28	5,22	0,14	0,14	0,46	0,47	0,05	0,05
	□ (7)	2,02	2,02	0,98	0,99	0,23	0,23	0,30	0,29	0,11	0,12	2,75	2,75	5,28	5,19	0,14	0,14	0,46	0,47	0,05	0,06
8	Rép. #1	2,09	2,11	1,02	1,01	0,24	0,24	0,29	0,29	0,10	0,09	2,83	2,84	5,20	5,25	0,10	0,10	0,47	0,46	0,05	0,05
	Rép. #2	2,10	2,09	1,00	1,01	0,24	0,23	0,29	0,29	0,10	0,10	2,80	2,78	5,18	5,18	0,10	0,08	0,47	0,47	0,05	0,05
	□ (8)	2,10	2,10	1,01	1,01	0,24	0,24	0,29	0,29	0,10	0,10	2,82	2,81	5,19	5,22	0,10	0,09	0,47	0,47	0,05	0,05
9	Rép. #1	1,94	2,02	1,00	1,00	0,24	0,24	0,29	0,29	0,11	0,11	2,74	2,74	5,15	5,25	0,15	0,15	0,47	0,48	0,06	0,06
	Rép. #2	1,94	2,00	1,00	1,00	0,24	0,24	0,29	0,29	0,11	0,11	2,76	2,74	5,10	5,10	0,14	0,15	0,47	0,47	0,06	0,06
	□ (9)	1,94	2,01	1,00	1,00	0,24	0,24	0,29	0,29	0,11	0,11	2,75	2,74	5,13	5,18	0,15	0,15	0,47	0,48	0,06	0,06
10	Rép. #1	1,95	2,05	1,00	1,00	0,23	0,23	0,29	0,29	0,11	0,10	2,70	2,65	5,20	5,30	0,14	0,14	0,48	0,45	0,05	0,05
	Rép. #2	2,00	2,00	0,99	1,00	0,23	0,25	0,28	0,29	0,10	0,11	2,70	2,75	5,40	5,30	0,13	0,13	0,48	0,46	0,05	0,05
	□ (10)	1,98	2,03	1,00	1,00	0,23	0,24	0,29	0,29	0,11	0,11	2,70	2,70	5,30	5,30	0,14	0,14	0,48	0,46	0,05	0,05
11	Rép. #1	0,10	<0,05	<0,05	<0,05	0,23	0,25	0,29	0,33	0,08	0,10	0,13	0,26	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,06	0,05
	Rép. #2	0,10	<0,05	<0,05	<0,05	0,25	0,24	0,28	0,27	0,08	0,10	0,13	0,26	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,05	0,05
	□ (11)	0,10	-	-	-	0,24	0,25	0,29	0,30	0,08	0,10	0,13	0,26	-	-	-	-	-	-	0,06	0,05
12	Rép. #1	2,49	2,47	1,17	1,16	0,29	0,27	0,38	0,38	0,14	0,13	3,51	3,42	6,37	6,12	0,18	0,18	0,61	0,60	0,06	0,05
	Rép. #2	2,56	2,53	1,16	1,20	0,30	0,28	0,38	0,37	0,14	0,13	3,43	3,32	6,28	6,24	0,18	0,18	0,61	0,60	0,06	0,05
	□ (12)	2,53	2,50	1,17	1,18	0,30	0,28	0,38	0,38	0,14	0,13	3,47	3,37	6,33	6,18	0,18	0,18	0,61	0,60	0,06	0,05
13	13a	2,05	2,06	0,98	0,98	0,22	0,22	0,28	0,27	0,10	0,10	2,76	2,74	5,27	5,18	0,13	0,15	0,46	0,45	0,05	0,05
	13b	2,05	2,06	0,98	0,98	0,22	0,22	0,28	0,27	0,10	0,10	2,76	2,74	5,27	5,18	0,13	0,15	0,46	0,45	0,05	0,05
	□ (13)	2,05	2,06	0,98	0,98	0,22	0,22	0,28	0,27	0,10	0,10	2,76	2,74	5,27	5,18	0,13	0,15	0,46	0,45	0,05	0,05
14	Rép. #1	1,86	1,86	0,96	0,96	0,23	0,24	0,29	0,32	0,11	0,10	2,57	2,64	4,99	5,19	0,17	0,11	0,50	0,39	0,05	0,09
	Rép. #2	1,88	1,86	0,95	0,97	0,23	0,23	0,29	0,32	0,15	0,1	2,56	2,65	5,00	5,10	0,15	0,11	0,45	0,34	0,06	0,05
	□ (14)	1,87	1,86	0,96	0,97	0,23	0,24	0,29	0,32	0,13	0,10	2,57	2,65	5,00	5,15	0,16	0,11	0,48	0,37	0,06	0,07
15	Rép. #1	1,91	1,98	1,11	1,12	0,30	0,31	0,32	0,33	0,10	0,11	3,23	3,13	5,88	6,01	0,13	0,16	0,50	0,52	0,02	0,04
	Rép. #2	1,93	1,99	1,12	1,13	0,31	0,32	0,32	0,34	0,09	0,12	3,24	3,14	5,90	6,08	0,12	0,17	0,51	0,53	0,02	0,04
	□ (15)	1,92	1,99	1,12	1,13	0,31	0,32	0,32	0,34	0,10	0,12	3,24	3,14	5,89	6,05	0,13	0,17	0,51	0,53	0,02	0,04

16	Rép. #1	1,98 1,99	1,00 1,00	0,23 0,23	0,28 0,28	0,10 0,10	2,78 2,82	5,27 5,34	0,13 0,13	0,47 0,47	0,05 0,05
	Rép. #2	2,04 2,08	0,99 1,00	0,23 0,23	0,28 0,28	0,10 0,10	2,79 2,81	5,30 5,28	0,14 0,14	0,47 0,47	0,05 0,05
	$\sigma_{(16)}$	2,01 2,04	1,00 1,00	0,23 0,23	0,28 0,28	0,10 0,10	2,79 2,82	5,29 5,31	0,14 0,14	0,47 0,47	0,05 0,05
17	Rép. #1	2,27 2,22	<i>1,17 1,20</i>	0,27 0,27	0,30 0,29	0,12 0,10	2,75 2,72	5,20 4,95	0,16 0,17	0,46 0,47	0,07 0,07
	Rép. #2	2,24 2,21	<i>1,19 1,19</i>	0,29 0,29	0,29 0,28	0,12 0,11	2,77 2,79	5,05 4,90	0,16 0,12	0,46 0,42	0,08 0,06
	$\sigma_{(17)}$	2,26 2,22	<i>1,18 1,20</i>	0,28 0,28	0,30 0,29	0,12 0,11	2,76 2,76	5,13 4,93	0,16 0,15	0,46 0,45	0,08 0,07
19	Rép. #1	2,08 2,08	1,02 1,00	0,24 0,23	0,29 0,28	0,11 0,10	2,80 2,82	5,40 5,37	0,14 0,15	0,48 0,49	0,06 0,05
	Rép. #2	2,08 2,08	1,01 1,00	0,23 0,24	0,28 0,29	0,10 0,11	2,82 2,80	5,28 5,40	0,14 0,14	0,47 0,47	0,05 0,05
	$\sigma_{(19)}$	2,08 2,08	1,02 1,00	0,24 0,24	0,29 0,29	0,11 0,11	2,81 2,81	5,34 5,39	0,14 0,15	0,48 0,48	0,06 0,05

Tableau des données obtenues. Les valeurs en italique correspondent à des résultats éliminés car aberrants selon le test de Grubbs simple bilatéral appliqué aux valeurs individuelles et le test de Grubbs double (bilatéral, P = 2,5 %) et selon le test de Cochran (unilatéral, P = 2,5 %).

Échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Lab. acceptés	16	15	17	16	16	16	15	15	15	16
Répétitions	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Valeur minimale	1,87	0,96	0,22	0,28	0,09	2,61	5,03	0,07	0,45	0,05
Valeur maximale	2,24	1,12	0,31	0,34	0,12	2,81	5,97	0,18	0,52	0,07
Valeur moyenne (g/L)	2,04	1,01	0,25	0,29	0,10	2,79	5,28	0,13	0,47	0,06
S_r	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,05	0,08	0,01	0,01	0,01
Limite $r = 2\sigma_2 * S_r$	0,09	0,02	0,02	0,02	0,03	0,13	0,22	0,02	0,02	0,02
RSD_r	1,48 %	0,76 %	2,13 %	1,93 %	8,53 %	1,70 %	1,50 %	3,99 %	1,70 %	9,86 %
S reproductibilité (S_R)	0,09	0,04	0,03	0,02	0,01	0,13	0,24	0,03	0,02	0,01

Limite R = $2\sigma_2 \cdot S_R$	0,28	0,11	0,07	0,05	0,06	0,38	0,67	0,07	0,05	0,02
RSD _R	4,63 %	3,96 %	10,57 %	5,89 %	8,91 %	4,81 %	4,50 %	19,21 %	4,09 %	12,49 %
Horwitz RSD _r (%)	3,39 %	3,77 %	4,66 %	4,54 %	5,31 %	3,23 %	2,94 %	5,12 %	4,22 %	5,84 %
HorRat _r	0,44	0,20	0,46	0,43	1,61	0,53	0,51	0,78	0,40	1,69
Horwitz RSD _R (%)	5,08 %	5,65 %	6,99 %	6,81 %	7,96 %	4,85 %	4,40 %	7,68 %	6,34 %	8,75 %
HorRat _R	0,91	0,70	1,51	0,86	1,12	0,99	1,02	2,50	0,65	1,43

S : écart-type / RSD : écart-type relatif / r : limite de répétabilité / R : limite de reproductibilité.

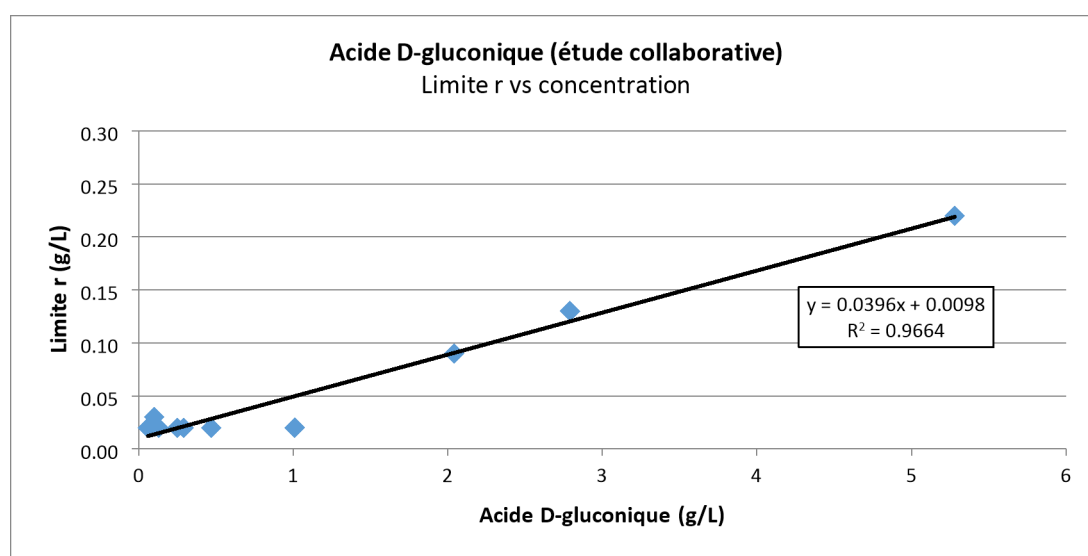


Figure 3 : limite de répétabilité en fonction de la concentration

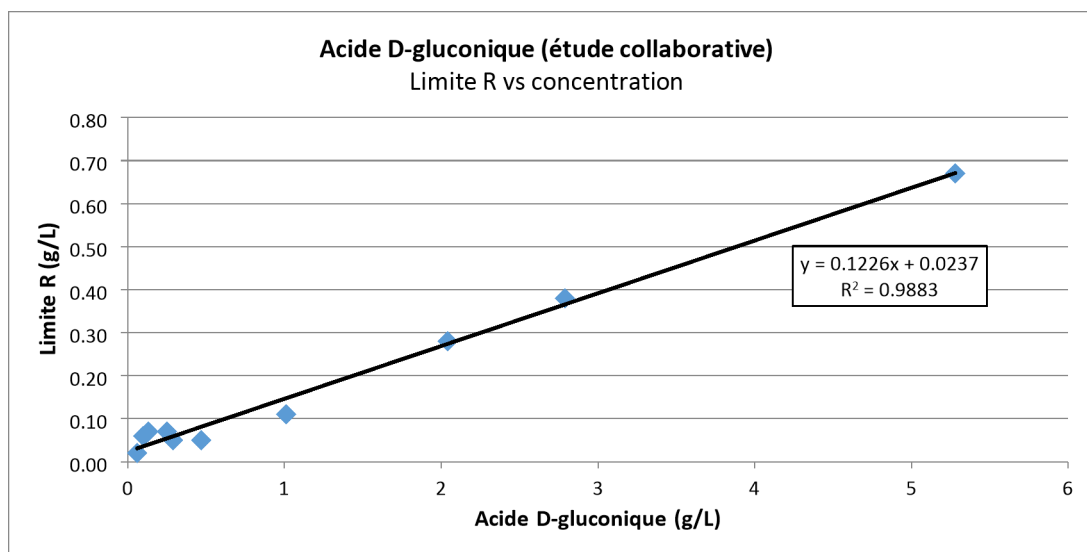


Figure 4 : limite de reproductibilité en fonction de la concentration

1.4. Résultats méthode manuelle

		A		B		C		D		E		F		G		H		I		J	
		1	12	2	11	3	13	4	15	5	14	6	16	7	10	8	19	9	18	17	20
2	Rép. #1	2,05	2,09	1,06	0,99	0,25	0,25	0,34	0,33	0,10	0,12	2,85	2,84	5,32	5,34	0,14	0,13	0,45	0,46	0,05	0,05
	Rép. #2	2,08	2,10	1,03	1,02	0,23	0,26	0,35	0,32	0,09	0,10	2,83	2,86	5,34	5,36	0,15	0,13	0,44	0,45	0,05	0,05
	$\sigma_{(2)}$	2,07	2,10	1,05	1,01	0,24	0,26	0,35	0,33	0,10	0,11	2,84	2,85	5,33	5,35	0,15	0,13	0,45	0,46	0,05	0,05
10	Rép. #1	2,24	2,11	1,01	1,04	0,26	0,26	0,34	0,33	0,11	0,11	3,05	3,19	5,64	5,68	0,14	0,16	0,34	0,41	0,05	0,05
	Rép. #2	2,37	2,24	1,01	1,06	0,25	0,26	0,35	0,34	0,12	0,11	3,10	3,02	5,65	5,78	0,14	0,15	0,33	0,42	0,05	0,05
	$\sigma_{(10)}$	2,31	2,18	1,01	1,05	0,26	0,26	0,35	0,34	0,12	0,11	3,08	3,11	5,65	5,73	0,14	0,16	0,34	0,42	0,05	0,05
18	Rép. #1	2,61	2,54	1,04	0,99	0,27	0,28	0,34	0,34	0,13	0,12	3,44	3,38	5,97	6,22	0,21	0,23	0,44	0,47	0,05	0,05
	Rép. #2	2,57	2,54	0,97	1,01	0,28	0,28	0,35	0,35	0,12	0,12	3,32	3,42	6,04	6,31	0,21	0,21	0,51	0,53	0,05	0,05
	$\sigma_{(18)}$	2,59	2,54	1,00	1,00	0,28	0,28	0,34	0,34	0,12	0,12	3,38	3,40	6,00	6,26	0,21	0,22	0,48	0,50	0,05	0,05

Tableau des données obtenues. Les valeurs en italique correspondent à des résultats éliminés car aberrants selon le test de Grubbs simple bilatéral appliqué aux valeurs individuelles et le test de Grubbs double (bilatéral, $P = 2,5 \%$) et selon le test de Cochran (unilatéral, $P = 2,5 \%$).

Échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Lab. acceptés	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Répétitions	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Valeur minimale	2,05	0,97	0,23	0,32	0,09	2,83	5,32	0,13	0,33	0,05
Valeur maximale	2,61	1,06	0,28	0,35	0,13	3,44	6,31	0,23	0,53	0,05
Valeur moyenne (g/L)	2,29	1,02	0,26	0,34	0,11	3,11	5,72	0,17	0,44	0,05
S_r	0,06	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,11	0,01	0,03	-
Limite $r = 2\sigma^2 * S_r$	0,16	0,07	0,02	0,03	0,02	0,04	0,31	0,03	0,10	-
RSD_r	0,03 %	0,02 %	0,03 %	0,03 %	0,06 %	0,01 %	0,02 %	0,06 %	0,08 %	-
S reproductibilité (S_R)	0,25	0,02	0,02	0,01	0,01	0,27	0,41	0,04	0,06	-
Limite $R = 2\sigma^2 * S_R$	0,70	0,07	0,05	0,03	0,03	0,77	1,14	0,12	0,17	-
RSD_R	0,11 %	0,02 %	0,06 %	0,03 %	0,10 %	0,09 %	0,07 %	0,26 %	0,14 %	-
Horwitz RSD_r (%)	3,33 %	3,76 %	4,62 %	4,44 %	5,24 %	3,18 %	2,90 %	4,94 %	4,27 %	-
$HorRat_r$	0,77	0,60	0,55	0,61	1,09	0,16	0,67	1,21	1,82	-
Horwitz RSD_R (%)	4,99 %	5,64 %	6,92 %	6,66 %	7,86 %	4,77 %	4,35 %	7,41 %	6,41 %	-
$HorRat_R$	2,18	0,42	0,93	0,47	1,30	1,85	1,63	3,46	2,22	-

S : écart-type / RSD : écart-type relatif / r : limite de répétabilité / R : limite de

reproductibilité. Les paramètres statistiques ont été calculés en prenant en compte les résultats des trois laboratoires.

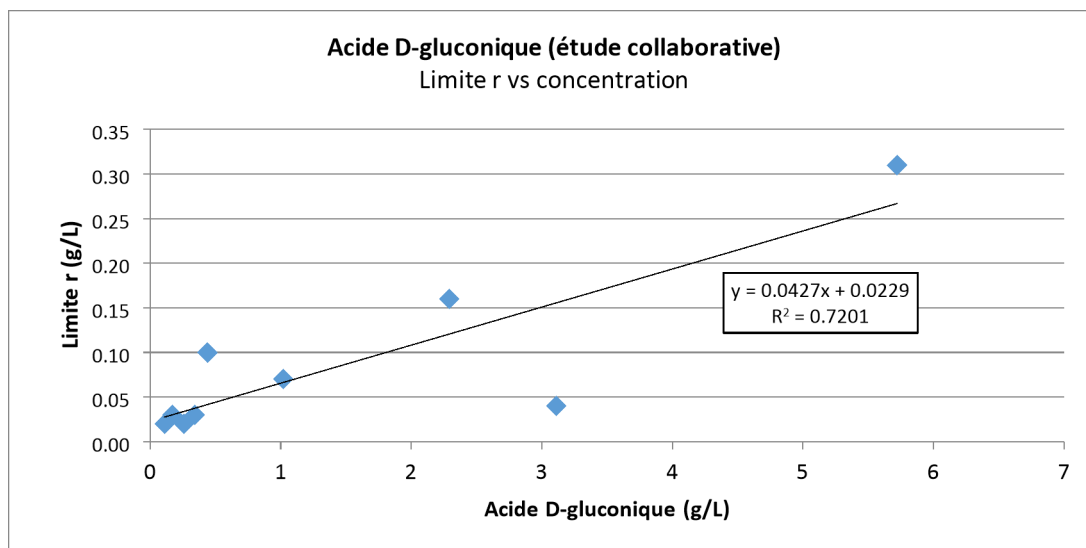


Figure 5 : limite de répétabilité en fonction de la concentration

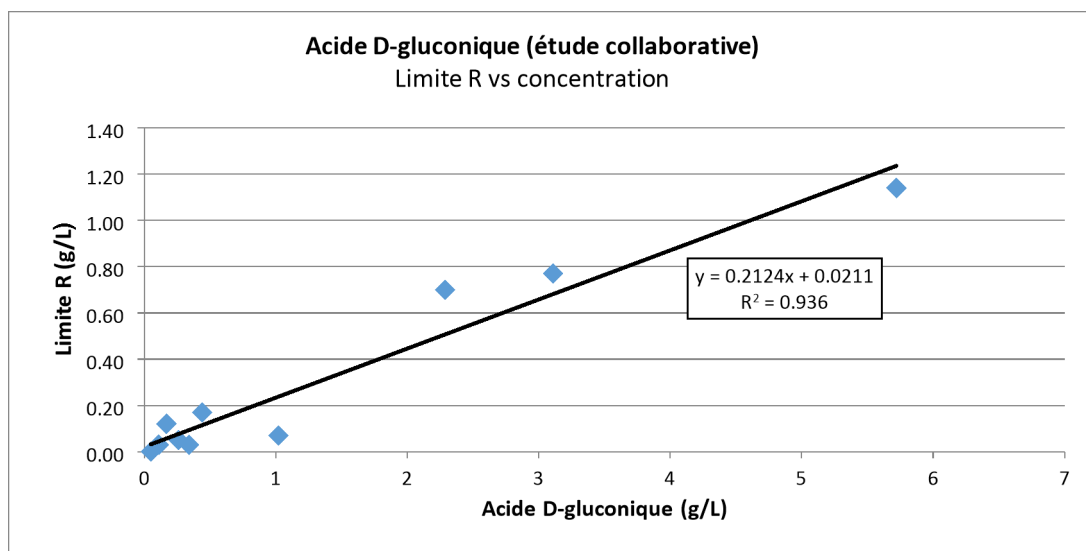


Figure 6 : limite de reproductibilité en fonction de la concentration

2. Bibliographie

1. Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV), *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*. Vol. 1 et 2, 2019.
2. Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV), « Étude collaborative », *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*, OIV-MA-AS1-07 : R2000.
3. Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV), « Protocole pour la planification, la conduite et l'interprétation des études de performance des méthodes d'analyse », *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*, OIV-MA-AS1-09 : R2000.
4. ISO 13528:2015 (E), Protocol for the design, conducts and interpretation of collaborative studies, deuxième édition.
5. Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H., et Nury, F. S. *Wine analysis and production*, Van Nostrand Reinhold, 1^{ère} édition, 31 décembre 1990.