RÉSOLUTION OIV-OENO 479-2017

DÉTERMINATION DES RAPPORTS ISOTOPIQUES $^{13}C/^{12}C$ DU GLUCOSE, FRUCTOSE, GLYCEROL ET ÉTHANOL DANS LES PRODUITS D'ORIGINE VITIVINICOLE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE COUPLÉE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE DES RAPPORTS ISOTOPIQUES

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

AU VU de l'article 2, paragraphe 2 iv de l'accord fondateur de l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin,

SUR PROPOSITION de la Sous-commission des Méthodes d'analyse

DÉCIDE sur proposition de la Commission II "Oenologie" d'introduire la méthode suivante, de type II pour le glucose, fructose et glycérol et de type III pour l'éthanol, au « *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*» :

Titre	Type de méthode
DÉTERMINATION DES RAPPORTS ISOTOPIQUES $^{13}C/^{12}C$ DU GLUCOSE, FRUCTOSE, GLYCEROL ET ÉTHANOL DANS LES PRODUITS D'ORIGINE VITIVINICOLE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE COUPLÉE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE DES RAPPORTS ISOTOPIQUES	**II Et III**

1. Domaine d'application

Cette méthode s'applique aux produits d'origine vitivinicole.

Cette méthode est :

- de type II pour le glucose, fructose et le glycérol
- de type III pour l'éthanol

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

2. Principe

Les échantillons sont injectés après dilution et filtration si nécessaire dans l'appareil de CLHP. Le rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$ des composés est déterminé, après leur oxydation dans une interface liquide, par spectrométrie de masse des rapports isotopiques. Cette interface liquide, symbolisée par l'acronyme "*co*", permet une oxydation chimique de la matière organique en CO_2. Le couplage CLHP-*co*-SMRI permet donc de déterminer simultanément le rapport isotopique des composés suivants : glucose, fructose, glycérol et éthanol.

3. Réactifs

3.1. Eau pure de résistivité ≥ 18 M□ cm de qualité CLHP

3.2. Persulfate d'ammonium – de pureté analytique – [CAS No : 7727-54-0]

3.3. Acide orthophosphorique (concentration 85 %) –de pureté analytique– [CAS No : 7664-38-2]

3.4. Hélium pour analyse, utilisé comme gaz vecteur (CAS 07440-59-7)

3.5. Gaz de référence : CO_2, dioxyde de carbone pour analyse, utilisé comme gaz de référence secondaire (CAS 00124-38-9).

3.6. Standards internationaux

4. Matériel

4.1. Matériel courant de laboratoire

4.2. Appareil de chromatographie liquide haute performance

4.4. Interface liquide pour l'oxydation des composés élués

4.5. Spectromètre de masse des rapports isotopiques

5. Analyse des échantillons

5.1. Préparation des échantillons

Selon les teneurs en sucre, glycérol et éthanol, les échantillons doivent être préalablement dilués avec de l'eau (3.1), afin d'obtenir une concentration observable dans des conditions expérimentales. Selon les concentrations des composés, deux mesures sont nécessaires avec des dilutions différentes.

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

5.2. Exemple de conditions analytiques

1. Durée totale de l'analyse : 20 minutes
2. A titre indicatif, la dilution des jus de raisin et des vins est de l'ordre de 1/200 tandis que celle des moûts concentrés est de l'ordre de 1/500.

CLHP :

Colonne : colonne de type carbohydrate (Ex : Carbohydrate column 700 CH, HyperRez XP Carbohydrate H^+)

Volume injecté : 25 µL

Phase mobile : eau (3.1)

Débit : 0.4 mL/min

T° Colonne : 80 °C

Interface Liquide :

Solution de persulfate d'ammonium (3.2) (15% en masse) et d'acide orthophosphorique (2,5% en volume)

Débit de la pompe péristatique : 0,6 mL/min

Température de chauffage : 93 °C

Flux de l'hélium vecteur : 15 mL/min

Flux de l'hélium de séchage : 50 mL/min

SMRI :

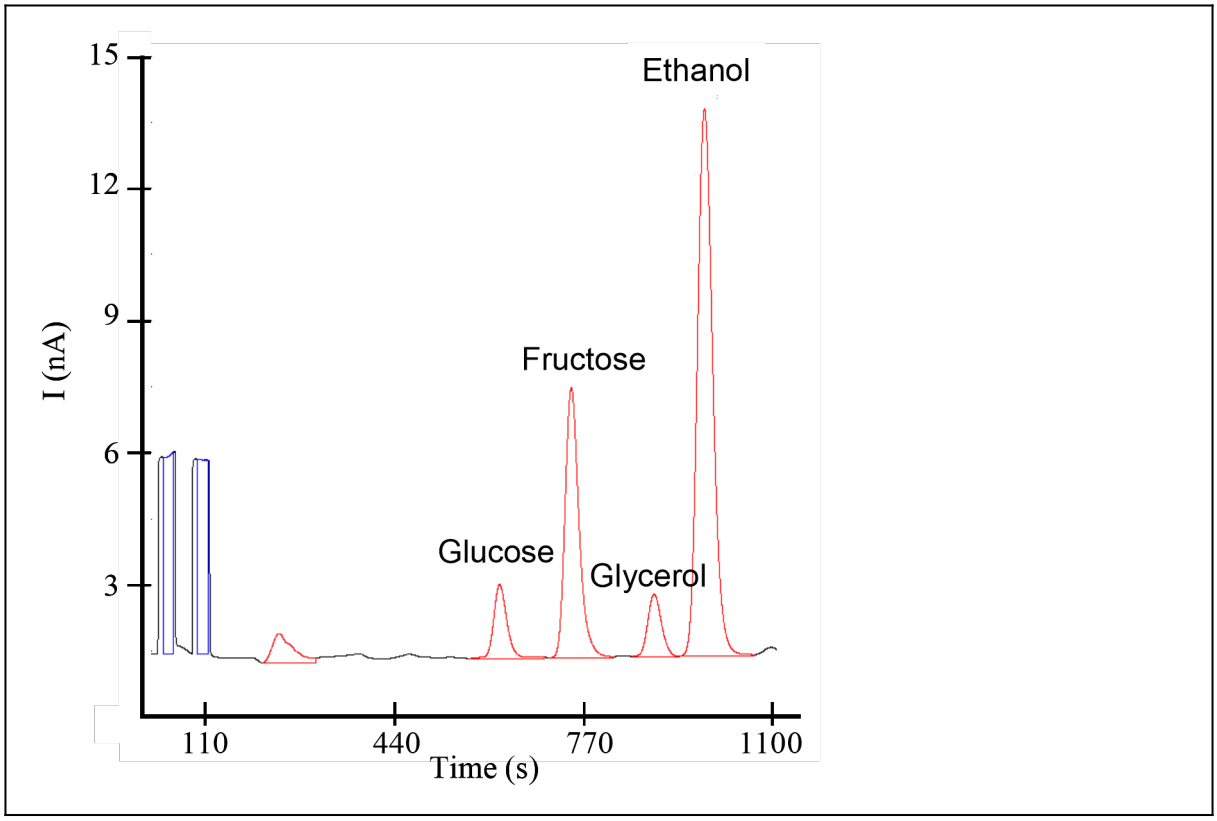
Courant de trappe : 300 µA

5.3. Exemple de chromatogramme

Chromatogramme d'un vin sucré analysé par CLHP-co-SMRI

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017



6. Détermination des rapports isotopiques

Le gaz de référence, le CO_2, est étalonné à partir des standards internationaux commerciaux. Les rapports isotopiques sont exprimés en ‰ par rapport au Pee Dee Belemnite (PDB) et sont définis comme :

$$\delta^{13}C_{Ech}\ (‰) = [(R_{Ech} / R_{St}) - 1] * 10^3$$

avec : Ech : échantillon ; St : standard ; R : rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$

7. Caractéristiques de la méthode

Les caractéristiques de la méthode de mesure des rapports isotopiques du $\delta^{13}C$ du glucose, fructose, glycérol et éthanol par CLHP-*co*-SMRI ont été déterminées à partir des résultats d'une chaine d'analyse inter-laboratoires sur quatre échantillons (vin sec, vin sucré, jus de raisin et moût concentré rectifié). Les résultats obtenus pour chaque composé analysé et chaque type de matrice sont présentés en annexe.

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

8. Bibliographie

1. Cabanero, AI.; Recio, JL.; Rupérez, M. (2008) Isotope ratio mass spectrometry coupled to liquid and gas chromatography for wine ethanol characterization. Rapid Commun. Mass Spectrom. 22 : 3111-3118.
2. Cabanero, AI. ; Recio, JL. ; Rupérez, M. (2010) Simultaneous stable carbon isotopic analysis of wine glycerol and ethanol by by liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. J. Agric. Food Chem. 58: 722-728.
3. Guyon, F. ; Gaillard, L. ; Salagoïty, MH. ; Médina, B. Intrinsic Ratios of Glucose, Fructose, Glycerol and Ethanol $^{13}C/^{12}C$ Isotopic Ratio Determined by HPLC-*co*-IRMS : Toward Determining Constants for Wine Authentication. Anal. Bioanal. Chem. (2011) 401 : 1551-1558.

Annexe

Traitement statistique de la chaine d'analyse CLHP-*co*-SMRI

Pour la détermination de la fidélité de la méthode (répétabilité et reproductibilité)

Liste des laboratoires classes par ordre alphabétique des pays d'origine.

Pays	Laboratoire
Allemagne	INTERTEK
Allemagne	UNI DUE
Allemagne	ELEMENTAR
Allemagne	QSI
Allemagne	LVI

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

Belgique	IRMM
Chine	CNRIFFI
Espagne	MAGRAMA
France	SCL-33
Italie	FLORAMO
Japon	AKITA Univ.
Rép. Tchèque	SZPI

Réponses :
12 laboratoires / 14 réponses
Traitement des résultats de la chaine inter-laboratoires selon ISO 5725-2
Echantillons:

- 1 vin sec (Vin A)
- 1 vin sucré (Vin B)
- 1 moût concentré rectifié (MCR)
- 1 Jus de raisin

Conditions d'analyse :
Chaque échantillon analysé en double (répétabilité) et double aveugle (reproductibilité)
Expression des résultats en ‰ vs PDB
Fidélité sur la mesure du Glucose
Répétabilité et Reproductibilité

	Vin B	MCR	Jus de Raisin
Nombre de Laboratoires	12	12	12

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND
© OIV 2017

Nombre de réponses	14	13	14
Nombre de réponses retenues (élimination des aberrants)	13	13	12
Valeur Minimale	-26.33	-25.04	-25.78
Valeur Maximale	-23.72	-23.74	-24.62
Valeur Moyenne	-25.10	-24.24	-25.19
Variance de répétition	0.02	0.01	0.01
Ecart type de répétabilité (S_r)	0.14	0.10	0.09
Limite de répétabilité (r ‰)	0.40	0.29	0.24
Variance de reproductibilité	0.39	0.14	0.11
Ecart type de reproductibilité (S_R)	0.62	0.38	0.33
Limite de reproductibilité (R ‰)	1.77	1.06	0.94

Fidélité sur la mesure du Fructose
Répétabilité et Reproductibilité

	Vin B	MCR	Jus de Raisin
Nombre de Laboratoires	12	11	12
Nombre de réponses	14	13	14
Nombre de réponses retenues (élimination des aberrants)	13	13	13
Valeur Minimale	-25.56	-24.19	-25.33

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

Valeur Maximale	-24.12	-23.19	-23.98
Valeur Moyenne	-24.87	-23.65	-24.56
Variance de répétition	0.02	0.03	0.02
Ecart type de répétabilité (S_r)	0.14	0.16	0.14
Limite de répétabilité (r ‰)	0.40	0.46	0.39
Variance de reproductibilité	0.15	0.10	0.18
Ecart type de reproductibilité (S_R)	0.39	0.32	0.42
Limite de reproductibilité (R ‰)	1.10	0.90	1.19

Fidélité sur la mesure du Glycérol
Répétabilité et Reproductibilité

	Vin A	Vin B
Nombre de Laboratoires	12	12
Nombre de réponses	12	12
Nombre de réponses retenues (élimination des aberrants)	11	11
Valeur Minimale	-32.91	-30.74
Valeur Maximale	-30.17	-28.27
Valeur Moyenne	-31.75	-29.54
Variance de répétition	0.13	0.04
Ecart type de répétabilité (S_r)	0.36	0.19

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

Limite de répétabilité (r ‰)	1.03	0.55
Variance de reproductibilité	0.57	0.37
Ecart type de reproductibilité (S_R)	0.76	0.61
Limite de reproductibilité (R ‰)	2.14	1.72

Fidélité sur la mesure de l'Ethanol

Répétabilité et Reproductibilité

	Vin A	Vin B
Nombre de Laboratoires	12	12
Nombre de réponses	11	12
Nombre de réponses retenues (élimination des aberrants)	10	12
Valeur Minimale	-27.85	-27.60
Valeur Maximale	-26.50	-26.06
Valeur Moyenne	-27.21	-26.82
Variance de répétition	0.03	0.03
Ecart type de répétabilité (S_r)	0.16	0.17
Limite de répétabilité (r ‰)	0.47	0.47
Variance de reproductibilité	0.16	0.23
Ecart type de reproductibilité (S_R)	0.40	0.47
Limite de reproductibilité (R ‰)	1.14	1.34

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017