

RÉSOLUTION OIV-OENO 636-2021

DETERMINATION QUALITATIVE DES EDULCORANTS DANS LE VIN PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (CL-SM)

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 d'introduire la méthode suivante dans *le Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts* :

Détermination qualitative des édulcorants dans le vin par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (CL-SM)

Méthode Type IV

1. Domaine d'application

La présente méthode est adaptée pour la détermination de la présence de cinq édulcorants artificiels (aspartame, acésulfame potassium, cyclamate de sodium, saccharine et sucralose), ainsi que de l'édulcorant naturel stéviolside, dans les vins blancs, rosés et rouges.

2. Définitions

ESI : ionisation par électrospray

CL : chromatographie en phase liquide

CL-SM : chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

m/z : rapport masse sur charge

SM : spectrométrie de masse

SM/SM : mode d'acquisition de la spectrométrie de masse mesurant les ions d'un produit

Q-TOF : spectrométrie de masse à analyseur quadripolaire et à temps de vol

RP : phase inverse

TR : temps de rétention

CLUHP : chromatographie en phase liquide ultra-haute performance

3. Principe

Le vin est analysé directement par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (système CL-SM). Dans la chromatographie en phase liquide (CL), la séparation est réalisée en utilisant une colonne en phase inversée (RP) et la détection est accomplie par spectrométrie de masse (SM) en fonction du rapport masse sur charge (m/z) des composés. Les données de la SM combinées au temps de rétention (TR) sont utilisées pour l'identification et la quantification des édulcorants.

4. Réactifs et matériel

4.1. Réactifs

4.1.1. Acétonitrile, pureté $\geq 99,95$ % (n° CAS : 75-05-8)

4.1.2. Eau purifiée : $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, $\text{COT} \leq 5 \text{ }\mu\text{g/L}$

4.1.3. Acide formique, pureté $\geq 98,0$ % (n° CAS : 64-18-6)

4.1.4. Aspartame, pureté $\geq 99,0$ % (n° CAS : 22839-47-0)

4.1.5. Acésulfame K, pureté $\geq 99,9$ % (n° CAS : 55589-62-3)

4.1.6. Cyclamate de sodium, pureté $\geq 99,8$ % (n° CAS : 139-05-9)

4.1.7. Saccharine, pureté $\geq 99,0$ % (n° CAS : 81-07-2)

4.1.8. Sucralose, pureté $\geq 98,0$ % (n° CAS : 56038-13-2)

4.1.9. Stéviolside, pureté $\geq 95,0$ % (n° CAS : 57817-89-7)

4.1.10. Vins représentatifs des matrices de travail et préalablement contrôlés comme étant dépourvus de tout édulcorant, afin d'être utilisés pour la préparation des solutions d'étalonnage et des étalons

4.2. Préparation de la solution (à titre d'exemple)

Les étalons et solutions d'étalonnage sont conservés au réfrigérateur à environ 6°C . Les solutions d'aspartame sont instables dans les médias acides, et elles doivent donc être fraîchement préparées chaque fois que l'étalon est analysé.

4.2.1. Solutions étalons

Les solutions étalons individuelles à 1 g/L sont par exemple préparées en dissolvant

10,0 mg de chaque édulcorant dans des fioles jaugées de 10 mL, complétées au trait de jauge avec de l'eau (4.1.2) ou une solution d'éthanol à 12 % v/v.

4.2.3. Étalons

Les étalons sont préparés et analysés par CL-SM comme tout autre échantillon (voir point 6).

Les étalons sont préparés dans le vin (4.1.10) en diluant la quantité appropriée de solution étalon (4.2.1) permettant d'obtenir des concentrations de 50 µg/L, 100 µg/L, 500 µg/L et 1000 µg/L de chaque édulcorant.

En cas de nécessité d'une performance accrue de la méthode, il est recommandé de procéder à l'étalonnage avec la même matrice que celle à évaluer.

5. Appareillage

5.1. Filtres seringues : membrane en polypropylène à pores de 0,2 µm, de 25 mm de diamètre

5.2. Verrerie de laboratoire, à savoir fioles volumétriques de classe A

5.3. Balance analytique d'une résolution de $\pm 0,0001$ g

5.4. Micropipettes pour des volumes allant de 5 à 1000 µL

5.5. Instrument de chromatographie en phase liquide à haute performance couplé à un spectromètre de masse

5.5.1. Il est possible d'utiliser des systèmes standards de CLHP et de CLUP en réglant les conditions de la séparation chromatographique en conséquence.

5.5.2. Diverses configurations du système SM sont possibles, tels que quadripôle, piège ionique, temps de vol, ainsi que des systèmes hybrides.

6. Préparation des échantillons

Chaque échantillon de vin est préparé par filtration à l'aide d'un filtre seringue (5.1) avant l'injection.

Les échantillons sont préalablement dégazés si nécessaire, en utilisant par exemple un bain à ultrasons ou un barbotage à l'azote. Si les concentrations ne coïncident pas avec la plage d'étalonnage, les échantillons devraient être dilués.

Il est possible d'obtenir une performance accrue en intégrant des étapes supplémentaires à la préparation des échantillons, telles que la dilution (en fonction de la sensibilité de l'instrument), la purification des échantillons et l'extraction.

7. Mode opératoire

La description suivante, fournie à titre d'exemple, se réfère à un instrument de CLUHP-Q-TOF équipé d'une source d'ESI. Des modifications peuvent devoir être réalisées selon le type d'équipement et les prescriptions du fabricant.

7.1. Analyse CL

- Phase mobile A : eau purifiée (4.1.2) contenant 0,1 % d'acide formique (4.1.3)
- Phase mobile B : acétonitrile (4.1.1) contenant 0,1 % d'acide formique (4.1.3)
- Volume d'injection : 2 μ L
- Température de l'échantillonneur : 10 °C
- Colonne : RP C8 2,1 mm x 100 mm, 1,9 μ m
- Température du four de la colonne : 30 °C
- Gradient :

Temps min	Débit mL/min	% A	% B
0	0,4	90	10
3	0,4	60	40
3	0,4	1	99
4	0,4	1	99
4	0,8	1	99
5,5	0,8	1	99
5,5	0,5	90	10
9,5	0,5	90	10

Temps min	Débit mL/min	% A	% B
9,5	0,4	90	10
10	0,4	90	10

7.2. Paramètres de la spectrométrie de masse

- ESI : ionisation négative
- Température de la source : 200 °C
- Tension capillaire : 3000 V
- Mode d'acquisition : dissociation induite par collision en mode large bande (bbCID)
 - Cela consiste en une acquisition alternée de spectres en modes balayage intégral et SM-SM (acquisition des ions du précurseur et du produit respectivement)
- Énergie de collision : 30 eV
- Fréquence d'acquisition du spectre : 2,0 Hz
- Débit du gaz sec : 8 L/min
- Pression du nébuliseur : $2,0 \times 10^5$ Pa (2,0 bar)

8. Identification

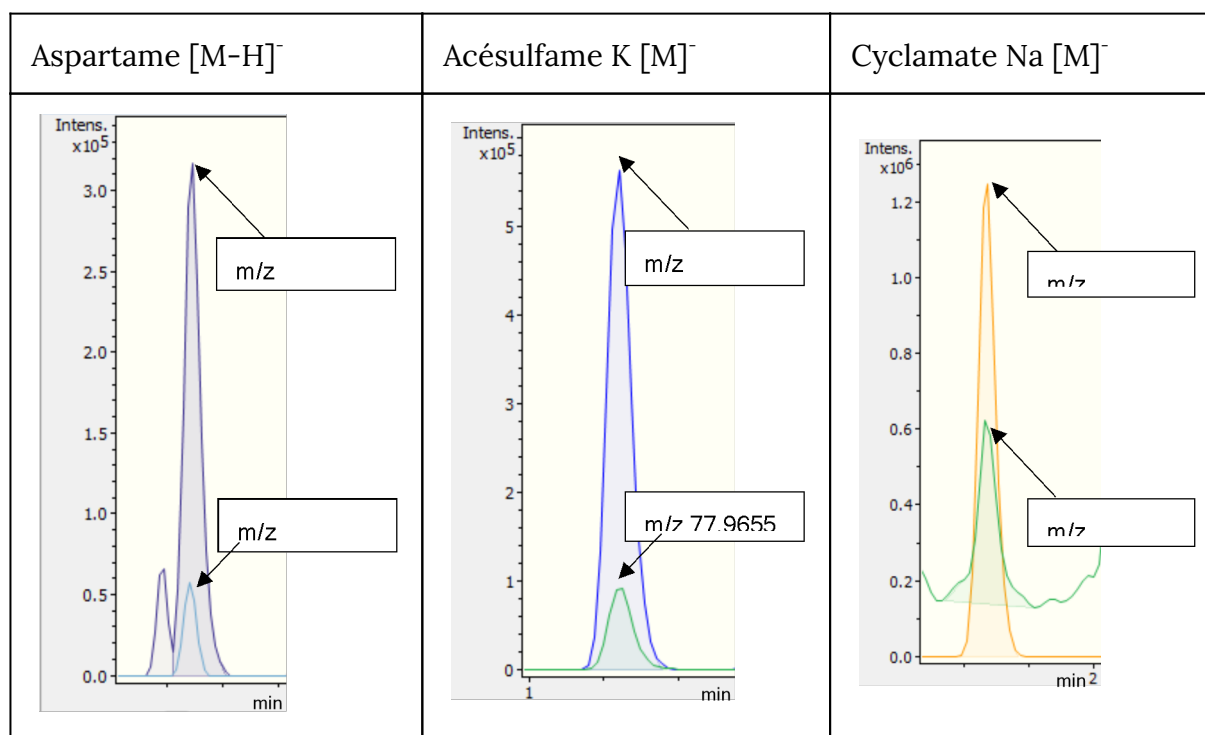
L'identification des édulcorants est confirmée en utilisant un étalon pour chaque composé (4.1.4, 4.1.5, 4.1.6, 4.1.7, 4.1.8 et 4.1.9). Les données orientatives récoltées pour la confirmation du pic sont le temps de rétention TR (pouvant varier en fonction des paramètres chromatographiques) et la m/z des ions du précurseur et du produit (Tableau 1).

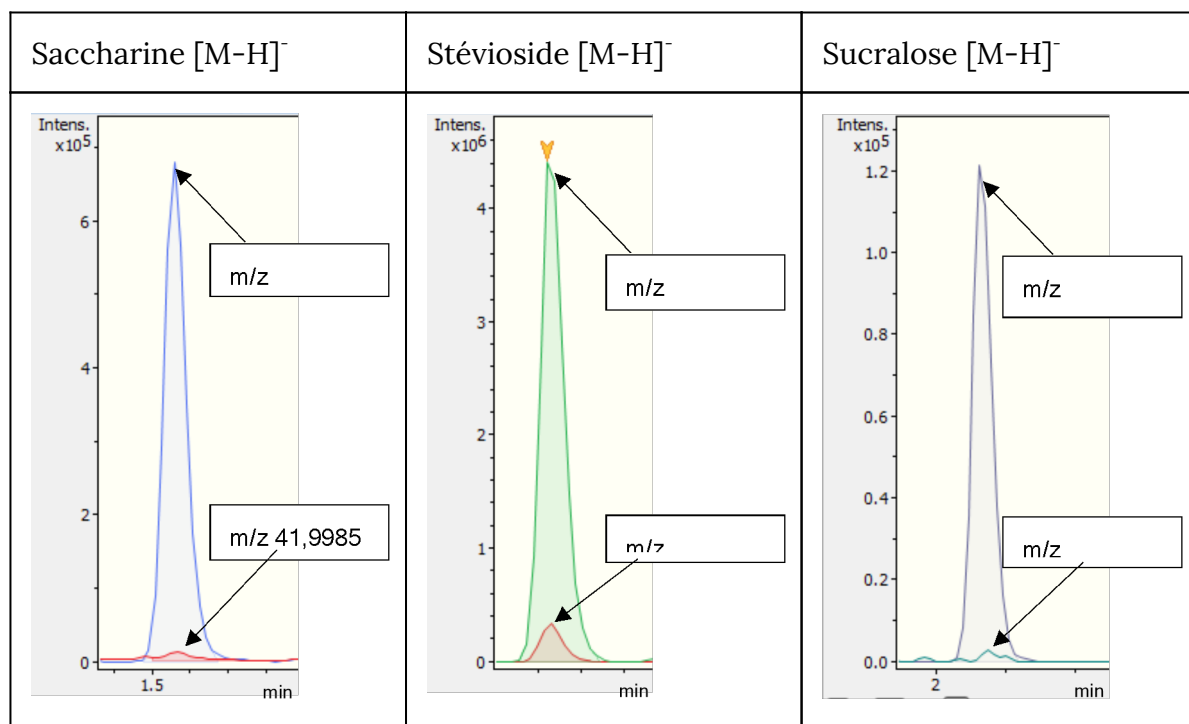
Tableau 1. Données d'identification des édulcorants : TR, m/z du précurseur et m/z du produit

Édulcorant	TR min	Ion	<i>m/z</i> du précurseur	<i>m/z</i> du produit
Acésulfame K	1,24	[M] ⁻	<u>161,9867</u>	77,9655
Aspartame	2,30	[M-H] ⁻	<u>293,1143</u>	261,0881
Cyclamate Na	1,66	[M] ⁻	<u>178,0543</u>	79,9574
Saccharine	1,55	[M-H] ⁻	<u>181,9917</u>	41,9985
Sucralose	2,14	[M-H] ⁻	<u>395,0073</u>	359,0306
Stévioside	3,63	[M-H] ⁻	803,3707	<u>641,3026</u>

Note : Les ions utilisés pour la quantification sont soulignés dans le Tableau 1.
Les signaux ioniques sont suivis avec les chromatogrammes des ions extraits avec une tolérance de ± 3 mDa (Figure 1).

Figure 1. Confirmation des pics du précurseur et du produit pour un étalon à 250 $\mu\text{g/L}$





Remarque : Un exemple de sensibilité pour un étalon de faible concentration et d'autres transitions sont fournis en annexe.

9. Calculs

Les résultats sont calculés à partir de la courbe d'étalonnage obtenue avec la quantité (µg/L) fonction de l'aire du pic de chaque édulcorant :

$$C = \frac{A_e - Int}{P}$$

où C est la concentration de l'édulcorant (µg/L), A_e l'aire du pic de l'échantillon, Int l'ordonnée à l'origine de la courbe d'étalonnage et P la pente de la courbe d'étalonnage.

10. Résultats

Les concentrations sont exprimées en µg/L, sans décimales.

11. Validation interne

11.1. Matrices

La validation a été réalisée en utilisant un total de 43 vins différents : 20 vins rouges, 10 vins rosés et 13 vins blancs. Ces vins ont été choisis à partir de plusieurs régions, de manière à obtenir une grande variabilité au niveau des caractéristiques, permettant une approche exhaustive. Les principales caractéristiques des vins sont résumées dans le tableau ci-après.

Tableau 2. Principales caractéristiques des matrices

	Vins rouges (R)	Vins rosés (Ro)	Vins blancs (W)
Régions	Alentejo 4	Douro 3	Açores 1
	Bairrada 1	Vinho Verde 1	Alentejo 2
	Dão 3	Autre ⁽¹⁾ 6	Dão 1
	Douro 4		Douro 1
	Lisboa 1		Lisboa 1
	Valladolid 1		Vinho Verde 4
	Autre ⁽¹⁾ 6		Autre ⁽¹⁾ 3
Titre alcoométrique volumique % v/v	12,1-17,2	9,8-12,6	8,7-13,6
Teneur en sucres g/L (glucose + fructose)	0,5-108,0	0,7-28,8	0,2-17,1
Acidité totale g/L (acide tartrique)	4,6-6,4	4,7-6,0	5,2-7,1

pH	3,5-3,8	3,2-3,5	3,2-3,4
Intensité	2,4-16,2	0,1-0,5	0,03-0,29 ⁽²⁾

⁽¹⁾ Sans indication géographique

⁽²⁾ Absorbance à 420 nm au lieu de l'intensité

12. Linéarité

La méthode s'est révélée linéaire dans une plage de concentration située entre 50 µg/L et 1000 µg/L.

12.1. Étalonnage

Au total, 14 étalonnages indépendants ont été réalisés, avec 6 vins rouges, 4 vins rosés et 4 vins blancs. Trois approches différentes ont été envisagées pour chaque composé en considérant :

- un étalonnage unifié pour toutes les matrices,
- deux groupes de matrices comptant un groupe pour les vins blancs et un deuxième pour les autres vins (vins rouges et vins rosés),
- trois groupes de matrices comptant des vins blancs, des vins rosés et des vins rouges.

Les résultats optimisés de l'étude de validation sont présentés ci-après. Conditions d'étalonnage choisies : pour l'acésulfame, la saccharine et le sucralose, les fonctions d'étalonnage et les calculs postérieurs ont été réalisés en considérant un groupe pour les vins blancs et un deuxième groupe pour les autres matrices (vins rouges et vins rosés) ; pour l'aspartame, le cyclamate et le stéviolside, trois groupes de matrices ont été considérés (vins rouges, vins rosés et vins blancs).

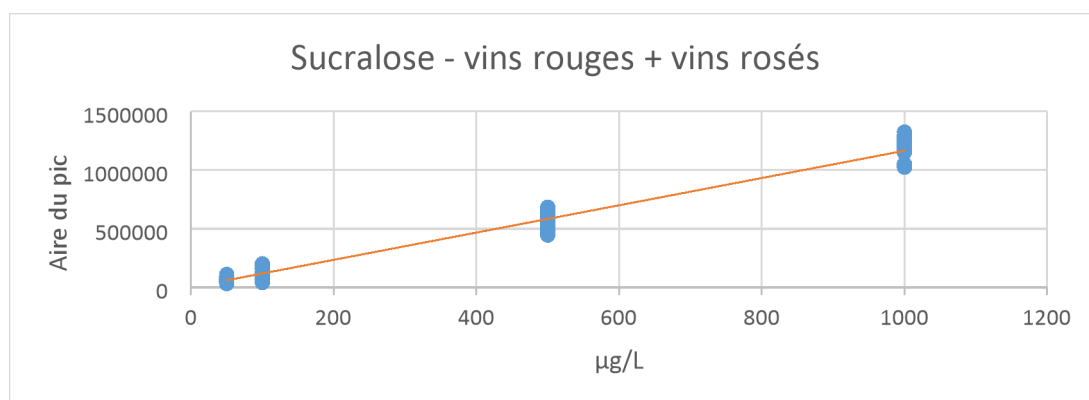
Tableau 3. Schéma d'étalonnage pour chacun des composés

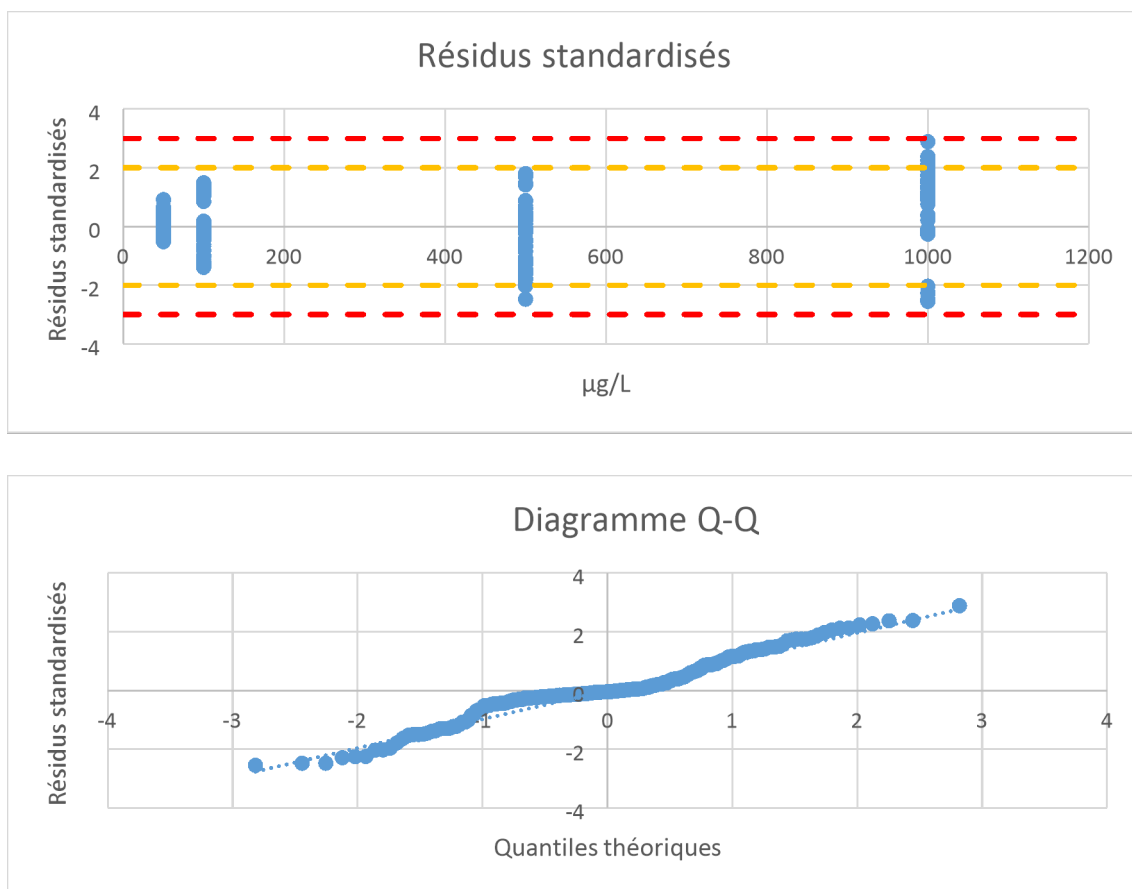
Étalonnages	Individuel	Combiné
-------------	------------	---------

Matrices	Vins blancs	Vins rosés	Vins rouges	Vins rouges + vins rosés
Acésulfame	X			X
Aspartame	X	X	X	
Cyclamate	X	X	X	
Saccharine	X			X
Stévioside	X	X	X	
Sucralose	X			X

Compte tenu de l'hétéroscédasticité et de la distribution normale des résidus, les moindres carrés pondérés ont été employés comme modèle de régression. À titre d'exemple, le cas du sucralose pour le groupe des vins rouges et des vins rosés dans une plage de concentration de 50 µg/L à 1000 µg/L est présenté ci-après

Figure 2. Courbe d'étalonnage, résidus standardisés et diagramme Q-Q pour l'étalonnage combiné vins rouges + vins rosés pour le sucralose





jaune	2× écart type
rouge	3× écart type

12.2. Limites de détection et limites de quantification

Les limites de quantification ont été calculées à partir des courbes d'étalonnage.

Tableau 4. LD et LQ obtenues pour chaque composé

LD (mg/L)			LQ (mg/L)		
Vins blancs	Vins rosés	Vins rouges	Vins blancs	Vins rosés	Vins rouges

Acesulfame K	0,003	0,003		0,011	0,011	
Aspartame	0,004	0,006	0,004	0,014	0,019	0,014
Cyclamate Na	0,002	0,005	0,004	0,006	0,015	0,014
Saccharin	0,002	0,005		0,006	0,016	
Stevioside	0,002	0,002	0,005	0,005	0,005	0,016
Sucralose	0,014	0,007		0,048	0,022	

12.3. Répétabilité

La répétabilité a été évaluée à trois niveaux de fortification : 50 µg/L, correspondant à la limite de notification, 250 µg/L et 1000 µg/L. Cette évaluation est basée sur huit répétitions d'injection à chaque niveau de fortification et pour chaque matrice.

Les tableaux ci-après présentent les valeurs de répétabilité obtenues pour chaque édulcorant, comprenant la concentration moyenne mesurée dans chaque échantillon, l'écart type (ET), l'écart type relatif (RSD_r%) et la valeur HorRat de répétabilité [HorRat (r)].

Tableau 5. Valeurs de répétabilité pour l'acésulfame potassium aux trois niveaux de fortification

Acésulfame	Vins blancs (W)								
Échantillon	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9
Moyenne µg/L	45	42	49	233	207	240	1036	926	1060
Écart type	1,4	2,1	0,8	3,3	5,2	2,6	13,2	13,7	15,8
Recouvrement %	89 %	84 %	98 %	93 %	83 %	96 %	104 %	93 %	106 %
RSD _r %	3,2 %	5,0 %	1,6 %	1,4 %	2,5 %	1,1 %	1,3 %	1,5 %	1,5 %
HorRat (r)	0,13	0,20	0,06	0,07	0,13	0,05	0,08	0,09	0,09

Acésulfame	Vins rosés (Ro)								
Échantillon	Ro1	Ro2	Ro3	Ro4	Ro5	Ro6	Ro7	Ro8	Ro9
Moyenne $\mu\text{g/L}$	49	52	53	248	248	247	1063	1091	1097
Écart type	2,0	1,2	1,4	2,9	3,5	3,9	14,1	13,2	15,5
Recouvrement %	98 %	104 %	107 %	99 %	99 %	99 %	106 %	109 %	110 %
RSDr %	4,1 %	2,3 %	2,6 %	1,2 %	1,4 %	1,6 %	1,3 %	1,2 %	1,4 %
HorRat (r)	0,17	0,09	0,10	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09

Acésulfame	Vins rouges (R)								
Échantillon	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Moyenne $\mu\text{g/L}$	56	50	57	275	241	260	1195	1064	1160
Écart type	1,2	2,0	1,4	3,2	5,1	4,3	13,8	14,5	10,0
Recouvrement %	112 %	101 %	115 %	110 %	96 %	104 %	120 %	106 %	116 %
RSDr %	2,1 %	3,9 %	2,4 %	1,2 %	2,1 %	1,6 %	1,2 %	1,4 %	0,9 %
HorRat (r)	0,08	0,16	0,10	0,06	0,11	0,08	0,07	0,09	0,05

Tableau 6. Valeurs de répétabilité pour l'aspartame aux trois niveaux de fortification

Aspartame	Vins blancs (W)								
Échantillon	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9

Moyenne µg/L	34	51	45	237	231	235	981	973	982
Écart type	7,3	4,2	6,7	27,5	7,6	10,9	29,0	18,0	23,2
Recouvrement %	68 %	101 %	91 %	95 %	92 %	94 %	98 %	97 %	98 %
RSDr %	21,6 %	8,3 %	14,7 %	11,6 %	3,3 %	4,6 %	3,0 %	1,8 %	2,4 %
HorRat (r)	0,87	0,33	0,59	0,59	0,17	0,24	0,19	0,12	0,15

Aspartame	Vins rosés (Ro)								
Échantillon	Ro1	Ro2	Ro3	Ro4	Ro5	Ro6	Ro7	Ro8	Ro9
Moyenne µg/L	38	42	41	200	211	210	833	905	916
Écart type	3,0	2,9	4,3	6,8	5,2	5,9	20,9	34,0	22,5
Recouvrement %	75 %	85 %	82 %	80 %	84 %	84 %	83 %	90 %	92 %
RSDr %	8,0 %	6,9 %	10,6 %	3,4 %	2,5 %	2,8 %	2,5 %	3,8 %	2,5 %
HorRat (r)	0,32	0,28	0,43	0,17	0,13	0,14	0,16	0,24	0,15

Aspartame	Vins rouges (R)								
Échantillon	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Moyenne µg/L	46	51	50	227	254	230	956	1099	1013
Écart type	8,6	3,2	8,1	16,9	10,4	7,3	21,8	39,0	20,2
Recouvrement %	92 %	103 %	100 %	91 %	102 %	92 %	96 %	110 %	101 %

RSDr %	18,5 %	6,3 %	16,2 %	7,4 %	4,1 %	3,2 %	2,3 %	3,5 %	2,0 %
HorRat (r)	0,74	0,25	0,65	0,38	0,21	0,16	0,14	0,22	0,13

Tableau 7. Valeurs de répétabilité pour le cyclamate de sodium aux trois niveaux de fortification

Cyclamate	Vins blancs (W)								
Échantillon	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9
Moyenne µg/L	51	50	50	261	247	246	1092	1040	1045
Écart type	1,0	1,4	1,4	2,8	4,2	3,5	12,2	17,7	14,4
Recouvrement %	103 %	100 %	101 %	104 %	99 %	99 %	109 %	104 %	105 %
RSDr %	1,9 %	2,9 %	2,9 %	1,1 %	1,7 %	1,4 %	1,1 %	1,7 %	1,4 %
HorRat (r)	0,08	0,12	0,11	0,05	0,09	0,07	0,07	0,11	0,09

Cyclamate	Vins rosés (Ro)								
Échantillon	Ro1	Ro2	Ro3	Ro4	Ro5	Ro6	Ro7	Ro8	Ro9
Moyenne µg/L	42	42	44	232	228	233	982	992	1002
Écart type	1,6	1,3	0,8	2,8	4,4	4,5	14,9	6,0	12,9
Recouvrement %	84 %	85 %	88 %	93 %	91 %	93 %	98 %	99 %	100 %
RSDr %	3,9 %	3,0 %	1,7 %	1,2 %	2,0 %	1,9 %	1,5 %	0,6 %	1,3 %
HorRat (r)	0,16	0,12	0,07	0,06	0,10	0,10	0,10	0,04	0,08

Cyclamate	Vins rouges (R)								
Échantillon	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Moyenne $\mu\text{g/L}$	51	55	54	250	265	243	1069	1160	1086
Écart type	1,2	1,3	1,4	5,5	5,2	4,2	27,4	13,9	18,4
Recouvrement %	103 %	110 %	108 %	100 %	106 %	97 %	107 %	116 %	109 %
RSDr %	2,4 %	2,4 %	2,6 %	2,2 %	2,0 %	1,7 %	2,6 %	1,2 %	1,7 %
HorRat (r)	0,10	0,10	0,10	0,11	0,10	0,09	0,16	0,08	0,11

Tableau 8. Valeurs de répétabilité pour la saccharine aux trois niveaux de fortification

Saccharine	Vins blancs (W)								
Échantillon	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9
Moyenne $\mu\text{g/L}$	45	45	59	216	214	252	920	909	1055
Écart type	1,5	1,4	1,4	5,1	5,1	3,7	21,3	23,7	21,5
Recouvrement %	89 %	91 %	119 %	86 %	86 %	101 %	92 %	91 %	105 %
RSDr %	3,3 %	3,0 %	2,4 %	2,4 %	2,4 %	1,5 %	2,3 %	2,6 %	2,0 %
HorRat (r)	0,13	0,12	0,10	0,12	0,12	0,08	0,15	0,16	0,13

Saccharine	Vins rosés (Ro)								
Échantillon	Ro1	Ro2	Ro3	Ro4	Ro5	Ro6	Ro7	Ro8	Ro9

Moyenne $\mu\text{g/L}$	58	56	56	303	276	278	1263	1190	1204
Écart type	1,4	2,0	0,6	5,5	3,5	4,8	28,8	24,8	25,2
Recouvrement %	116 %	112 %	112 %	121 %	110 %	111 %	126 %	119 %	120 %
RSDr %	2,4 %	3,5 %	1,1 %	1,8 %	1,3 %	1,7 %	2,3 %	2,1 %	2,1 %
HorRat (r)	0,10	0,14	0,04	0,09	0,07	0,09	0,14	0,13	0,13
Saccharine	Vins rouges (R)								
Échantillon	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Moyenne $\mu\text{g/L}$	47	44	46	224	203	199	955	906	885
Écart type	1,4	0,5	1,5	4,4	2,2	2,9	20,6	20,1	25,8
Recouvrement %	94 %	88 %	92 %	89 %	81 %	80 %	95 %	91 %	88 %
RSDr %	3,0 %	1,1 %	3,2 %	2,0 %	1,1 %	1,5 %	2,2 %	2,2 %	2,9 %
HorRat (r)	0,12	0,04	0,13	0,10	0,06	0,07	0,14	0,14	0,18

Tableau 9. Valeurs de répétabilité pour le stéviolide aux trois niveaux de fortification

Stéviolide	Vins blancs (W)								
Échantillon	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9
Moyenne $\mu\text{g/L}$	41	43	30	262	265	204	1094	1116	860
Écart type	0,4	0,4	0,7	2,0	31,2	1,9	13,6	12,9	6,6

Recouvrement %	83 %	86 %	60 %	105 %	106 %	81 %	109 %	112 %	86 %
RSDr %	1,0 %	1,0 %	2,2 %	0,8 %	11,8 %	0,9 %	1,2 %	1,2 %	0,8 %
HorRat (r)	0,04	0,04	0,09	0,04	0,60	0,05	0,08	0,07	0,05

Stéviolside	Vins rosés (Ro)								
Échantillon	Ro1	Ro2	Ro3	Ro4	Ro5	Ro6	Ro7	Ro8	Ro9
Moyenne µg/L	50	39	41	237	254	286	935	1104	1109
Écart type	0,8	1,3	0,9	2,6	5,3	7,1	10,5	10,2	18,3
Recouvrement %	99 %	77 %	81 %	95 %	102 %	114 %	93 %	110 %	111 %
RSDr %	1,7 %	3,4 %	2,2 %	1,1 %	2,1 %	2,5 %	1,1 %	0,9 %	1,6 %
HorRat (r)	0,07	0,14	0,09	0,06	0,11	0,13	0,07	0,06	0,10

Stéviolside	Vins rouges (R)								
Échantillon	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Moyenne µg/L	60	40	43	262	211	210	1048	904	921
Écart type	0,9	0,7	0,4	4,0	4,0	2,6	18,0	18,4	11,9
Recouvrement %	120 %	80 %	86 %	105 %	85 %	84 %	105 %	90 %	92 %
RSDr %	1,5 %	1,8 %	1,0 %	1,5 %	1,9 %	1,3 %	1,7 %	2,0 %	1,3 %
HorRat (r)	0,06	0,07	0,04	0,08	0,10	0,06	0,11	0,13	0,08

Tableau 10. Valeurs de répétabilité pour le sucralose aux trois niveaux de fortification

Sucralose	Vins blancs (W)								
Échantillon	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9
Moyenne µg/L	53	52	53	221	225	223	986	973	1021
Écart type	5,3	7,8	8,1	10,8	27,5	6,5	29,8	43,9	31,5
Recouvrement %	106 %	103 %	105 %	88 %	90 %	89 %	99 %	97 %	102 %
RSDr %	10,0 %	15,1 %	15,4 %	4,9 %	12,2 %	2,9 %	3,0 %	4,5 %	3,1 %
HorRat (r)	0,40	0,61	0,62	0,25	0,63	0,15	0,19	0,28	0,19
Sucralose	Vins rosés (Ro)								
Échantillon	Ro1	Ro2	Ro3	Ro4	Ro5	Ro6	Ro7	Ro8	Ro9
Moyenne µg/L	35	43	36	215	236	194	944	1075	905
Écart type	4,1	2,1	2,2	7,2	7,4	7,7	21,3	27,5	19,3
Recouvrement %	70 %	86 %	71 %	86 %	94 %	78 %	94 %	108 %	91 %
RSDr %	11,7 %	5,0 %	6,2 %	3,3 %	3,1 %	4,0 %	2,3 %	2,6 %	2,1 %
HorRat (r)	0,47	0,20	0,25	0,17	0,16	0,20	0,14	0,16	0,13

Sucralose	Vins rouges (R)								
Échantillon	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Moyenne µg/L	50	46	48	236	255	228	1017	1194	1041
Écart type	7,7	3,1	6,8	11,5	9,2	8,4	16,9	27,5	23,0

Recouvrement %	100 %	92 %	96 %	94 %	102 %	91 %	102 %	119 %	104 %
RSDr %	15,3 %	6,9 %	14,1 %	4,9 %	3,6 %	3,7 %	1,7 %	2,3 %	2,2 %
HorRat (r)	0,61	0,28	0,57	0,25	0,18	0,19	0,10	0,15	0,14

Tableau 11. Tableau récapitulatif pour la répétabilité

Composé	Recouvrement	RSDr %	HorRat (r)
Acésulfame	83 %-120 %	0,9 %-5,0 %	0,05-0,20
Aspartame	68 %-110 %	1,8 %-21,6 %	0,12-0,87
Cyclamate	84 %-116 %	0,6 %-3,9 %	0,04-0,16
Saccharine	80 %-126 %	1,1 %-3,5 %	0,04-0,18
Stéviolside	60 %-112 %	0,8 %-11,8 %	0,04-0,60
Sucralose	70 %-119 %	1,7 %-15,4 %	0,10-0,63

12.4. Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire (FI) a été évaluée en analysant des échantillons fortifiés avec 50 µg/L, 250 µg/L et 1000 µg/L à différents moments étalés sur plusieurs jours. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-après. Le recompte représente le nombre de points à considérer pour déterminer les valeurs moyennes et l'écart type correspondant (ET). Le pourcentage de recouvrement, l'écart type relatif (RSD%) et la valeur HorRat sont également indiqués pour chaque cas.

Tableau 12. Valeurs de fidélité intermédiaire pour l'acésulfame potassium aux trois niveaux de fortification

Acésulfame	Vins blancs (W)			Vins rouges (R) et vins rosés (Ro)					
Échantillon	W1	W2	W3	Ro1	Ro2	Ro3	R1	R2	R3

Recompte	12	12	11	12	12	12	12	12	12
Moy. µg/L	46	223	928	54	252	1089	53	252	1113
Écart type	6,1	31,4	76,6	6,1	23,6	66,3	2,4	9,1	41,3
Recouvr.%	91 %	89 %	93 %	108 %	101 %	109 %	106 %	101 %	111 %
RSD% FI	13,2 %	14,1 %	8,2 %	11,3 %	9,4 %	6,1 %	4,5 %	3,6 %	3,7 %
HorRat	0,53	0,72	0,52	0,46	0,48	0,38	0,18	0,18	0,23

Tableau 13. Valeurs de fidélité intermédiaire pour l'aspartame aux trois niveaux de fortification

Aspartame	Vins blancs (W)			Vins rosés (Ro)			Vins rouges (R)		
Échantillon	W1	W2	W3	Ro1	Ro2	Ro3	R1	R2	R3
Recompte	11	10	10	11	12	12	11	12	12
Moy. µg/L	57	281	1190	41	202	841	41	222	998
Écart type	5,5	21,8	91,9	4,1	12,9	73,9	7,5	15,4	43,5
Recouvr.%	114 %	113 %	119 %	82 %	81 %	84 %	83 %	89 %	100 %
RSD% FI	9,6 %	7,7 %	7,7 %	10,0 %	6,4 %	8,8 %	18,1 %	6,9 %	4,4 %
HorRat	0,38	0,40	0,49	0,40	0,32	0,55	0,73	0,36	0,27

Tableau 14. Valeurs de fidélité intermédiaire pour le cyclamate de sodium aux trois niveaux de fortification

Cyclamate	Vins blancs (W)	Vins rosés (Ro)	Vins rouges (R)
------------------	------------------------	------------------------	------------------------

Échantillon	W1	W2	W3	Ro1	Ro2	Ro3	R1	R2	R3
Recompte	10	10	10	11	12	12	12	12	12
Moy. µg/L	48	237	1011	40	210	918	49	226	999
Écart type	5,5	27,3	134,3	2,5	20,1	70,7	1,3	7,4	26,6
Recouvr.%	97 %	95 %	101 %	80 %	84 %	92 %	98 %	91 %	100 %
RSD% FI	11,3 %	11,5 %	13,3 %	6,3 %	9,6 %	7,7 %	2,7 %	3,3 %	2,7 %
HorRat	0,45	0,59	0,84	0,25	0,49	0,48	0,11	0,17	0,17

Tableau 15. Valeurs de fidélité intermédiaire pour la saccharine aux trois niveaux de fortification

Saccharine	Vins blancs (W)			Vins rouges (R) et vins rosés (Ro)					
Échantillon	W1	W2	W3	Ro1	Ro2	Ro3	R1	R2	R3
Recompte	11	10	10	12	12	12	12	12	12
Moy. µg/L	51	241	1010	56	270	1166	44	195	857
Écart type	2,6	8,4	36,8	2,8	10,7	47,6	3,0	8,3	31,7
Recouvr.%	103 %	96 %	101 %	112 %	108 %	117 %	88 %	78 %	86 %
RSD% FI	5,0 %	3,5 %	3,6 %	5,1 %	4,0 %	4,1 %	6,9 %	4,3 %	3,7 %
HorRat	0,20	0,18	0,23	0,20	0,20	0,26	0,28	0,22	0,23

Tableau 16. Valeurs de fidélité intermédiaire pour le stéviol aux trois niveaux de fortification

Stéviol	Vins blancs (W)	Vins rosés (Ro)	Vins rouges (R)
---------	-----------------	-----------------	-----------------

Échantillon	W1	W2	W3	Ro1	Ro2	Ro3	R1	R2	R3
Recompte	11	10	10	12	12	12	12	12	12
Moy. µg/L	35	232	977	31	210	921	41	208	905
Écart type	6,5	45,8	184,1	8,1	45,4	184,4	3,1	22,2	84,5
Recouvr.%	70 %	93 %	98 %	61 %	84 %	92 %	81 %	83 %	91 %
RSD% FI	18,5 %	19,7 %	18,8 %	26,4 %	21,6 %	20,0 %	7,6 %	10,7 %	9,3 %
HorRat	0,74	1,01	1,19	1,06	1,10	1,26	0,31	0,55	0,59

Tableau 17. Valeurs de fidélité intermédiaire pour le sucralose aux trois niveaux de fortification

Sucralose	Vins blancs (W)			Vins rouges (R) et vins rosés (Ro)					
Échantillon	W1	W2	W3	Ro1	Ro2	Ro3	R1	R2	R3
Recompte	10	11	11	10	11	12	12	12	12
Moy. µg/L	51	197	776	51	295	1196	42	228	1069
Écart type	10,4	41,6	137,5	11,9	48,7	184,5	5,3	18,0	51,3
Recouvr.%	101 %	79 %	78 %	101 %	118 %	120 %	85 %	91 %	107 %
RSD% FI	20,5 %	21,1 %	17,7 %	23,5 %	16,5 %	15,4 %	12,5 %	7,9 %	4,8 %
HorRat	0,82	1,08	1,12	0,94	0,84	0,97	0,50	0,40	0,30

Tableau 18. Tableau récapitulatif pour la fidélité intermédiaire

Composé	Recouvrement	RSD%	HorRat
Acésulfame	89 %-111 %	3,6 %-14,1 %	0,18-0,72

Aspartame	81 %-119 %	4,4 %-18,1 %	0,27-0,73
Cyclamate	80 %-101 %	2,7 %-13,3 %	0,11-0,84
Saccharine	78 %-117 %	3,5 %-6,9 %	0,18-0,28
Stévioside	61 %-98 %	7,6 %-26,4 %	0,31-1,26
Sucralose	78 %-120 %	4,8 %-23,5 %	0,30-1,12

13. Bibliographie

1. DIRECTION GÉNÉRALE POUR LA SANTÉ ET LA SÉCURITÉ ALIMENTAIRE DE LA COMMISSION EUROPÉENNE, SANTE/11813/2017, « Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed ». En vigueur à partir du 01/01/2018.
2. Horwitz, W., et Albert, R., « The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision », *J AOAC Int*, 89, 2006, p. 1095-1109.
3. Code international des pratiques œnologiques, édition 2021, OIV, Paris.
4. Règlement (CE) n° 1333/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE), JO L 354 de 2008, p. 16-33.

Annexe

A1. Performance de quantification pour un échantillon de vin fortifié avec 50 µg/L de chaque édulcorant

Édulcorant	S/B
Acésulfame K	789,4

Aspartame	586,5
Cyclamate Na	282,5
Saccharine	24,3
Sucralose	80,5
Stévioside	224,1

A2. Données d'identification des édulcorants – autres transitions fournies à titre d'orientation

Édulcorant	Autres transitions sous ESI en mode négatif
Acésulfame K	162 > 82
Aspartame	293 > 200
Cyclamate Na	178 > 96
Saccharine	182 > 106
Sucralose	397 > 361
Stévioside	641 > 479 641 > 317