RÉSOLUTION OIV/OENO 296/2009

DOSAGE DU 2,4,6-TRICHLOROANISOLE RELARGABLE DANS LE VIN PAR LES BOUCHONS DE LIEGE

L'ASSEMBLEE GENERALE,

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 des méthodes d'analyse,

DECIDE: d'introduire dans le Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts la méthode de type IV suivante :

Titre	Type de Méthode
DOSAGE DU 2,4,6-TRICHLOROANISOLE RELARGABLE DANS LE VIN PAR LES BOUCHONS DE LIEGE	IV

1. DOMAINE D'APPLICATION :

Contrôle de qualité des bouchons de liège destinés à fermer les bouteilles de vin.

La méthode pour la détermination du 2,4,6-trichloroanisole (TCA) relargable par les bouchons mesure le TCA libéré par un échantillon de bouchons macéré dans une solution hydroalcoolique. L'objectif de cette méthode est d'évaluer le risque de libération par le lot de bouchons analysés et de fournir une méthode visant le contrôle de qualité des bouchons de liège.

2. PRINCIPE

La méthode vise à simuler les phénomènes de migration du 2,4,6-trichloroanisole (TCA) susceptibles de se produire entre le bouchon de liège et le vin en bouteilles. Les bouchons de liège sont mis à macérer dans un vin ou une solution hydroalcoolique jusqu'à l'obtention d'un équilibre. Le TCA de l'espace de tête d'une partie aliquote du macérât est prélevé par la technique de microextraction en phase solide (SPME), puis analysé par chromatographie en phase gazeuse, avec détection par spectrométrie de

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

masse (GC/MS) ou par capture d'électrons (GC/ECD).

3. rEACTIFS ET PRODUITS

3.1. Vin blanc de titre alcoométrique compris entre 10 et 12% vol. Peut être remplacé par une solution hydroalcoolique de titre alcoométrique de 12 % vol. Le vin et/ou la solution hydroalcoolique doivent être exempts de TCA.

3.2. Chlorure de sodium, pureté ≥ 99,5%.

3.3. 2,4,6-trichloroanisole (TCA)-d5 pureté ≥ 98% pour GC/MS ; 2,6-dibromoanisole ou

2,3,6-trichloroanisole pureté ≥99% pour GC/ECD

3.4. 2,4,6-trichloroanisole (TCA) pureté ≥ 99,0%

3.5. Ethanol absolu

3.6. Eau désionisée pure, exempte de TCA, type II selon la Norme ISO EN 3696.

3.7. Solution hydroalcoolique à 12% vol.

Préparée à partir d'éthanol absolu (3.5) et d'eau désionisée pure exempte de TCA (3.6). 3.8 Solution mère d'étalon interne (500 mg/L). Ajouter 0.050 g soit de 2,4,6-trichloroanisole d5 soit de 2,6-dibromoanisole ou de 2,3,6 trichloroanisole (3.3) à environ 60 mL d'éthanol absolu (3.5). Après dissolution, ajuster le volume à 100 mL avec de l'éthanol absolu (3.5). Se conserve en bouteille de verre pourvue d'un opercule métallique ou en verre. 3.9 Solution intermédiaire d'étalon interne (5,0 mg/L)

Ajouter 1 mL d'une solution soit de 2,4,6-trichloroanisole d5 soit de 2,6-dibromoanisole ou 2,3,6 trichloroanisole à 500 mg/L (3.8) à environ 60 mL d'éthanol absolu (3.5). Après dissolution, ajuster le volume à 100 mL avec de l'éthanol absolu (3.5). Se conserve en bouteille de verre pourvue d'un opercule métallique métallique ou en verre. 3.10 Solution d'étalon interne (2,0 µg/L)

Ajouter 40 µl d'une solution soit de 2,4,6-trichloroanisole d5 soit de 2,6-dibromoanisole ou 2,3,6 trichloroanisole à 5.0 mg/L (3.9) à environ 60 mL d'éthanol absolu (3.5). Après dissolution, ajuster le volume à 100 mL avec de l'éthanol absolu (3.5). Se conserve en bouteille de verre pourvue d'un opercule métallique métallique *ou en verre.* 3.11 Solution mère d'étalon TCA (40 mg/L)

Ajouter 0,020g de 2,4,6-trichloroanisole à environ 400 ml d'éthanol absolu (3.5). Après dissolution, ajuster le volume à 500 ml avec d'éthanol absolu (3.5).

3.12. Solution intermédiaire d'étalon TCA (80 µg/L)

Ajouter 1 ml d'une solution de 2,4,6-trichloroanisole à 40 mg/L (3.11) à environ 400 ml d'éthanol absolu (3.5). Après dissolution, ajuster le volume à 500 ml avec d'éthanol

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

absolu (3.5).

3.13. Solution intermédiaire d'étalon TCA (160 ng/L)

Ajouter 1 ml d'une solution de 2,4,6-trichloroanisole à 80 µg/L (3.12) à environ 400 ml d'eau désionisée pure (3.6). Après dissolution, ajuster le volume à 500 ml avec d'eau désionisée pure (3.6)

3.14. Utiliser la technique des ajouts dosés pour construire la gamme étalon pour le TCA. On peut utiliser pour cela les solutions d'étalonnage dans une gamme de 0,5 ng/L à 50 ng/L. Ainsi, faire les ajouts dosés d'une solution de 2,4,6-trichloroanisole à 160 ng/L (3.13) à 6 ml d'éthanol absolu (3.5). Après dissolution, ajuster le volume à 50 ml avec d'eau désionisée pure (3.6). Réévaluer périodiquement la courbe de calibration ainsi obtenue ; la réévaluer également lors de chaque changement majeur au niveau du GC/MS ou GC/ECD.

3.15. Gaz vecteur Hélium, de pureté chromatographique (≥ 99,9990%).

4. MATERIEL

4.1. Verrerie de laboratoire

4.1.1. Fiole jaugée de 100 ml

4.1.2. Microseringue de 100 µl

4.1.3. Flacon de verre, à large col, avec une capacité adaptée à la taille de l'échantillon et fermant avec un bouchon en verre, métallique ou en matériau qui ne fixe pas le TCA.

4.1.4. Flacon de verre de 20 mL fermant avec une capsule perforée et un opercule à face téflonée.

4.2. Système de microextraction en phase solide (SPME) avec fibre revêtue d'un film de polydiméthylsiloxane de 100 µm d'épaisseur

4.3. Système de chauffage pour flacon (4.1.4)

4.4. Système d'agitation pour flacon (4.1.4)

4.5. Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un injecteur "split splitless" et d'un détecteur à spectromètre de masse (SM) ou à capture d'électrons (CE)

4.6. Système d'acquisition des données informatisé

4.7. Eventuellement, système pour prélèvement et injection automatique fonctionnant avec un système SPME.

4.8. Colonne capillaire de phase stationnaire apolaire, type phénylmethylpolysiloxane (ex : Poly 5% phenyl methyl polysiloxane, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de film) ou équivalent.

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

5. PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Les bouchons sont placés entiers dans un flacon en verre fermé. La capacité du flacon (4.1.3), de même que la quantité de vin ou solution hydroalcoolique (3.1 ou 3.7), doivent être choisi en fonction de la taille de l'échantillon, en assurant que les bouchons soient totalement contenus et immergés dans le flacon de macération.

Exemple 1 : 20 bouchons (45x24) mm, dans un flacon de 1 L ;

Exemple 2 : 50 bouchons (45x24) mm, dans un flacon de 2 L .

L'essentiel du TCA libéré en macération de groupes de bouchons l'est généralement par un pourcentage très faible de ces bouchons. Afin d'obtenir la meilleure représentativité possible d'un lot de bouchon, il convient d'effectuer un nombre d'analyses approprié selon les règles d'échantillonnage et du risque encouru vis-à-vis de la contamination du vin.

6. MODE OPERATOIRE

6.1. Extraction

Après macération durant (24 ± 2) heures dans les conditions de température ambiante du laboratoire, le macérât est homogénéisé par retournement du récipient.

Une partie aliquote de 10 ml de solution de macération (5) est transférée en flacon de verre (4.1.4).

Pour augmenter l'efficacité de l'extraction et la conséquente sensibilité de la méthode, il peut être ajouté une quantité d'environ 1 g de chlorure de sodium (3.2). 50 µl de solution d'étalon interne à 2,0 µg/L (3.10) sont immédiatement ajoutés, puis le flacon est fermé à l'aide d'une capsule métallique percée muni d'un opercule silicone/téflonné. La capsule est sertie.

Le contenu du flacon est homogénéisé 10 minutes par agitation à l'aide d'un système d'agitation (4.4) ou par le système automatique (4.7).

Le flacon contenant l'échantillon est placé dans le système de chauffage (4.3) réglé à 35 °C ± 2 °C et maintenu sous agitation (4.4). L'extraction de l'espace de tête est réalisée par le système SPME (4.2) pendant au moins 15 minutes.

6.2. Analyse

La fibre est ensuite désorbée à 260°C pendant au moins 2 minutes dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse, mode splitless (4.5). La séparation s'effectue à

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

l'aide d'une colonne capillaire de phase stationnaire apolaire (type phénylmethylpolysiloxane ou équivalent). Le gaz vecteur est l'hélium à débit constant de 1 mL/min. Gradient de température 35°C (3 min) à 265°C (15°C/min) donné à titre d'exemple.

6.3. Détection et quantification

La détection s'effectue par spectrométrie de masse avec sélection d'ions spécifiques pour le 2,4,6-trichloroanisole (ions m/z 195, 210, 212) et quantifié sur l'ion m/z 195 et l'étalon interne 2,4,6-trichloroanisole d5 (ions m/z 199, 215, 217) et quantifié sur l'ion m/z 215. Pour la détermination par ECD, identifier l'analyte et l'étalon interne (2,6-dibromoanisole ou 2,3,6 trichloroanisole) dans le chromatogramme, en comparant les temps de rétention des pics correspondants de l'échantillon à ceux des pics des solutions d'étalon.

7. CALCULS

La surface du pic chromatographique obtenu pour le 2,4,6-trichloroanisole est corrigée par la surface obtenue pour le pic chromatographique de l'étalon interne. La teneur en 2,4,6- trichloroanisole de chaque échantillon est obtenue à l'aide d'une courbe étalon. Les points de cette courbe sont obtenus en traçant les réponses relatives de 2,4,6-trichloroanisole/étalon interne, obtenues pour des solutions hydroalcooliques (3.7) contenant des concentrations connues de 2,4,6-trichloroanisole, en fonction des concentrations de ces solutions *(3.14).*

Les résultats sont donnés en ng/L de TCA présent dans la solution de macération, arrondis à 0,1 ng/L

8. CARACTÉRISTIQUES DE LA METHODE

À titre indicatif, le seuil de détection de l'analyse des macérations doit être inférieur à 0,5 ng/L, et le seuil de quantification proche de 1 ng/L. Le coefficient de variation est inférieur à 5% pour 5 ng/L, lorsque l'étalon interne choisi est l'analogue deutéré TCA d5 .

Un essai interlaboratoire a été réalisé afin de valider la méthode.

Cet essai interlaboratoire n'a pas été conduit selon le protocole OIV et les paramètres de validation sont mentionnés dans le FV 1224.

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009

9. BIBLIOGRAPHIE

1. HERVÉ E., PRICE S., BURNS G., Chemical analysis of TCA as a quality control tool for natural
2. corks. *ASEV Annual Meeting*. 1999.
3. Norme ISO 20752:2007. Bouchons de liège – Dosage du 2,4,6-trichloroanisole (TCA) relargable.
4. FV OIV 1224 : Résultats de l'analyse collaborative Ring test 3-TCA SPME

Exemplaire certifié conforme Zagreb, 3 juillet 2009
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2009