

RESOLUTION OENO 7/2006

CRITERES POUR LES METHODES DE DETERMINATION DE LA TENEUR EN PLOMB DU VIN

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 et d'appréciation des vins,

DECIDE de supprimer la méthode de détermination du plomb dans les vins figurant à l'Annexe A du Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et moûts,

PRECISE que ces critères devraient être reconsidérés compte tenu des décisions prises dans d'autres instances internationales notamment au Comité du Codex Alimentarius sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage ;

DECIDE d'adopter les critères ci-dessous pour les méthodes de détermination de la teneur en plomb du vin.

A titre d'exemple, les deux méthodes de type III suivantes (exemple 1 et exemple 2) répondent aux critères de performance mentionnés.

1. CRITERES POUR LES METHODES DE DETERMINATION DE LA TENEUR EN PLOMB DU VIN

1.1. Définitions des critères de la méthode

Justesse : étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une grande série de résultats d'essais et la valeur de référence acceptée.

r = limite de répétabilité, valeur au-dessous de laquelle la valeur absolue de la différence entre deux résultats d'un même essai obtenus sous des conditions de répétabilité (c'est à dire même échantillon, même opérateur, même appareillage, même laboratoire, et court intervalle de temps), peut être attendue dans une limite de probabilité spécifique (en principe 95 %), d'où $r = 2,8 \times sr$.

Sr = écart-type, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de répétabilité.

$RSDr$ = écart-type relatif, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de répétabilité $[(Sr/\bar{x}) \times 100]$, où $\bar{x}$ représente la moyenne des résultats pour tous les

laboratoires et échantillons.

R = limite de reproductibilité, valeur au-dessous de laquelle la valeur absolue de la différence entre deux résultats d'un même essai obtenus dans des conditions de reproductibilité (c'est à dire pour un produit identique, obtenu par les opérateurs dans des laboratoires différents en utilisant la même méthode d'essais), peut être attendue avec une certaine probabilité (en principe 95 %) ; $R = 2,8 \times s_R$.

s_R = écart-type, calculé à partir de résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité.

RSD_R = écart-type relatif calculé à partir de résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité $[(s_R / \bar{x} \times 100)]$

Ho_R = valeur du HORRAT: la valeur observée du RSD_R , divisée par la valeur RSD_R calculée à partir de l'équation de Horwitz [1].

2. Méthode d'analyse à utiliser par le laboratoire et exigences de contrôle pour le laboratoire

2.1. Exigences

Il n'existe pas de méthodes spécifiques de détermination de la teneur en plomb du vin. Les laboratoires sont tenus d'utiliser une méthode validée selon les exigences de l'OIV [2] et qui répond aux critères de performance figurant dans le Tableau 1. Les méthodes GFAA (spectrométrie d'absorption atomique au four graphite) ou ICP-MS (spectromètre de masse) sont applicables à condition qu'elles respectent les critères de performance indiqués ci-dessous. Chaque fois que possible, la validation doit inclure un matériau de référence certifié dans les matériaux soumis à l'essai collaboratif. Dans le cas contraire, une estimation de la justesse devra être effectuée. Des exemples de méthodes validées pour la détermination de la teneur en plomb du vin sont présentés dans les Annexes 1 et

2.2. Considérations générales

Tout appareillage entrant en contact avec l'échantillon doit être d'un matériau inerte (par ex. polypropylène, polytétrafluoroéthylène [PTFE], etc.). L'utilisation de la céramique n'est pas recommandée en raison de la présence possible de plomb. Si les matériaux disponibles ne sont pas exempts avec certitude des analytes précités, leur utilisation doit être évaluée au moyen d'études *ad hoc*, qui doivent être considérées comme faisant partie intégrante de la validation de la méthode d'analyse. Tout le

matériel en plastique, y compris les récipients pour échantillons, doivent être nettoyés à l'acide. L'équipement utilisé pour préparer les échantillons doit si possible être réservé aux analyses du plomb uniquement.

Tableau 1 : Critères de performance pour les méthodes d'analyse de la teneur en plomb du vin

Paramètres	Valeur/Commentaire
Applicabilité	Convient pour déterminer le plomb dans le vin dans des buts officiels.
Limite de détection	Pas plus d'un dixième de la valeur correspondant à la limite de l'OIV (exprimée en µg/l)
Limite de quantification	Pas plus d'un cinquième de la valeur correspondant à la limite de l'OIV, (exprimée en µg/l) sauf si la valeur précisée pour le plomb est inférieure à 100 ng/l. Dans ce dernier, pas plus de deux cinquièmes de la valeur précisée.
Fidélité	Valeurs du HORRAT inférieures ou égales à 2 dans l'essai collaboratif de validation.
Recouvrement	80 % - 105 % (comme indiqué dans l'essai collaboratif)
Spécificité	Pas d'interférences spectrales ou de matrice
Justesse	$ \bar{x} - m < 1,96 * \sqrt{S_{R(lab)}^2 - S_{r(lab)}^2 * (1 - 1/n)}$ où m est la valeur certifiée du matériau de référence vin et $\bar{x}$ est la moyenne de n mesures de la concentration en plomb de ce vin, dans le même laboratoire. $S_{R(lab)}$ et $S_{r(lab)}$ représentent les écarts-types calculés à partir des résultats obtenus dans un même laboratoire dans des conditions de reproductibilité et de répétabilité.

2.3. Estimation de la justesse analytique et calculs de recouvrement

Chaque fois que possible, la justesse des analyses doit être estimée [3] en incluant dans la partie analytique les matériaux de référence certifiés requis. L'analyste doit

également bien prendre note des 'Directives harmonisées concernant l'utilisation des taux de recouvrement dans les mesures analytiques' [4], mises au point sous les auspices de l'UIPAC, l'ISO et l'AOAC. La récupération devrait avoisiner 100 %, auquel cas les calculs de recouvrement sont alors de moindre importance.

Bibliographie

1. W Horwitz, "Evaluation of Analytical Methods for Regulation of Foods and Drugs", Anal. Chem., 1982, 54, 67A - 76A
2. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, FV 1061, OIV, 1998
3. ISO 5725-6:1994, 4.2.3. International Organisation for Standardisation, case Postal 56, CH-1211, Genève 20, Switzerland.
4. ISO/AOAC/IUPAC Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement. Edited Michael Thompson, Steven L R Ellison, Ales Fajgelj, Paul Willetts and Roger Wood, Pure Appl. Chem., 1999, 71, 337 - 348

EXEMPLE 1

DETERMINATION DE LA TENEUR EN PLOMB DANS LES VINS PAR SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE (Type III)

1. DOMAINE D'APPLICATION

La méthode peut être utilisée pour les vins rouges, blancs, tranquilles, mousseux et fortifiés.

2. DEFINITION

Concentration en plomb du vin : Concentration en plomb déterminée par cette procédure exprimée en mg/l.

3. PRINCIPE

Le vin est dilué par une matrice synthétique simulant la composition du vin et la concentration en plomb mesurée directement par spectrophotométrie d'absorption atomique utilisant un four graphite (SAAFG). Une matrice synthétique simulant la composition du vin est ajoutée aussi bien au vin à analyser qu'aux solutions modèles d'étalonnage de plomb. Ce mélange contient les 'modificateurs de matrice' et les composants simulant le vin. Leur but est de 'modifier' les matrices de sorte que la même allure d'absorption par rapport au temps soit obtenue à la fois sur les solutions étalons et les solutions échantillons pendant l'étape d'atomisation dans le four graphite.

Un mécanisme d'atomisation retardé, tel une plate-forme de L'vov, est nécessaire.

Il se peut que la composition exacte du diluant ait besoin d'être ajustée pour convenir à des modèles particuliers d'instruments du four graphite. Avant d'appliquer la méthode, des expériences doivent être menées pour vérifier le rapport absorbance – temps produit par les étalons et échantillons, et le diluant doit faire l'objet des ajustements qui s'imposent. L'instrument utilisé doit être capable de contrôler le rapport de l'absorption au temps pendant l'atomisation. Le profil doit être tel que les étalons et échantillons parviennent aux mêmes résultats et que le pic d'atomisation du plomb précède la majeure partie de l'absorption de fond non spécifique, permettant le mécanisme de correction de fond employé de fonctionner efficacement. Des exemples de profils correspondants sont donnés dans l'Annexe 2.

4. REACTIFS

Les produits chimiques doivent être aussi exempts de plomb que possible. Il convient d'utiliser de l'eau distillée desionisée, ou de l'eau d'une pureté équivalente. Sauf contre-indication, toutes les solutions sont préparées chaque jour d'analyse.

4.1 Solution du diluant

NOTE 1 : la composition exacte du diluant utilisé peut nécessiter un ajustement pour correspondre au modèle spécifique d'instrument et de four graphite utilisés. Si des problèmes surviennent avec la composition du modificateur suggérée, ajuster les concentrations en phosphate et nitrate afin d'obtenir :

- i) un signal stable de l'élément à la température d'incinération optimale et*
- ii) l'atomisation avec un pic unique d'analyte reproductible décalé dans le temps par rapport au signal de l'absorption non spécifique.*

L'équipement avec des aménagements VDU permet aux analystes de confirmer le décalage dans le temps entre les pics d'échantillon et l'absorption non spécifique (voir l'Annexe). L'exemple suivant est une technique pour déterminer l'allure de la courbe d'absorbance en fonction du temps :

- Mesurer la largeur totale à mi-hauteur (LTMH) d'un pic d'échantillon et le comparer à la LTMH d'un étalon de calibration d'absorbance maximale similaire. Si les allures des pics sont à l'évidence différentes, il convient alors d'ajuster la composition du modificateur de matrice.

Ci-dessous des exemples de diluants utilisés pour :

(a) un appareillage Perkin-Elmer 3030 équipé d'un correcteur d'absorption non spécifique à arc au deutérium, équipé d'un four HGA 500 ; et (b) un Thermo-Electron Video 12E équipé d'un correcteur d'absorption non spécifique Smith-Hieftje, d'un four CTF 188 et d'un système de dépôt d'échantillon FASTAC.

4.1.1. Diluant Perkin-Elmer 3030 :

Dans une bouteille en plastique de 250 ml (5.1) à 187 g d'eau, ajouter 11 g d'éthanol (4.1.3), 1,1 g de glucose (4.1.4), 1,1 g de fructose (4.1.5) et 0,28 g de chlorure de sodium (4.1.6). Agiter pour dissoudre les solides. Puis ajouter 22 ml d'acide nitrique (4.1.7) et 4,4 g de dihydrogène-phosphate d'ammonium (4.1.8). Agiter jusqu'à ce que tout le phosphate soit dissous. Ajouter enfin 0,88 g de nitrate de magnésium (4.1.9) et agiter de nouveau jusqu'à ce que tout le solide soit dissous.

4.1.2. Diluant Thermo-Electron Video 12E :

Comme précédemment, mais en utilisant seulement 0,66 g de dihydrogène-phosphate d'ammonium (4.1.8) et 0,44 g de nitrate de magnésium (4.1.9).

4.1.3. *Ethanol (absolu)*

4.1.4. *D-glucose*

4.1.5. *D(-)fructose*

4.1.6. *Chlorure de sodium*

4.1.7. *Acide nitrique (concentré)*

4.1.8. *Dihydrogène-phosphate d'ammonium*

4.1.9. *Nitrate de magnésium hexahydraté*

4.2. Ethanol à 10 % (v/v)

Dans une bouteille en plastique de 250 ml (5.1), ajouter à 180 ml d'eau 20 ml d'éthanol (4.1.3.) en utilisant une pipette et agiter pour mélanger.

4.3. Solutions-étalons de plomb

4.3.1. *Solution-étalon de plomb (1000 mg/l)*

4.3.2. *Solution-étalon de plomb (10,00 mg/l)*

Dans un ballon jaugé de 100 ml (5.2), pipeter (5.7) 1,00 ml de solution-étalon de plomb (4.3.1). Diluer au volume avec de l'eau et mélanger soigneusement.

NOTE 2 : vérifier la calibration de la pipette juste avant l'utilisation.

4.3.3. *Solution de travail étalonnée en plomb (1,00 mg/l)*

Dans un ballon jaugé de 100 ml (5.2), peser 10,00 g de la solution mère de plomb (4.3.2) en utilisant une pipette Pasteur (5.3). Laver à l'eau l'intérieur du col du ballon jaugé, ajouter 1 ml d'acide nitrique (4.1.7) et amener jusqu'au trait de jauge avec de l'eau. Mélanger soigneusement.

4.3.4. *Solutions d'étalonnage en plomb.*

Les huit solutions étalon de calibration sont préparées dans des récipients universels (5.4). Les étalons varient de 0 à 50 µg/l. Ils correspondent à 0,0 ; 2,5 ; 5,0 ; 10,0 ; 20,0 ; 30,0 ; 40,0 et 50,0 µg/l. Un neuvième conteneur est utilisé pour préparer un blanc réactif.

Rincer trois fois l'intérieur de chaque récipient avec de l'eau, et sécher en agitant ; rincer les couvercles trois fois et sécher en agitant. Laisser debout les récipients fermés pendant 5-10 minutes puis vider le liquide résiduel en agitant. Pipeter (5.8) dans les 9 récipients, dans l'ordre : 5,00 ; 5,00 ; 4,95 ; 4,90 ; 4,80 ; 4,60 ; 4,40 ; 4,20 et 4,00 ml d'eau. Pipeter (5.8) dans chacun des récipients 5,00 ml d'éthanol à 10 % (4.2) suivi de deux fois 5,00 ml de diluant (4.1).

Dans les 9 récipients, pipeter (5.6) (5.7) dans l'ordre : 0 (blanc réactif), 0, 50, 100, 200, 400, 600, 800 et 1000 µl de solution de travail étalonnée (4.3.3). Fermer les récipients et agiter pour mélanger les contenus. Refaire ces préparations pour chaque lot d'échantillons.

4.4. Acide nitrique à 1 % (v/v).

5. APPAREILLAGE

Toute la verrerie et les articles en plastique doivent être lavés à l'acide (trempier dans

de l'acide nitrique à 20 % pendant au moins 24 heures), rincer soigneusement avec de l'eau distillée avant utilisation et les maintenir fermés (avec film étirable si nécessaire) pour empêcher toute contamination par l'air.

5.1. 250 bouteilles en plastique, avec bouchon (par exemple : Nalgene ou équivalent).

5.2. Fioles jaugées, 100 ml (classe A).

5.3. Pipettes Pasteur, avec poires

5.4. Récipients universels de 30 ml (Nunc, Sterilin ou équivalent).

5.5. Récipients coniques en verre de 600 ml.

5.6. Pipette*, 40 – 200 µl (Finnpipette de Labssystem ou équivalent).

5.7. Pipette*, 200 – 1000 µl (Finnpipette de Labssystem ou équivalent).

5.8. Pipette*, 0.5 – 5.0 ml (Finnpipette de Labssystem ou équivalent).

5.9. Pipette*, 2.0 – 10.0 ml (Finnpipette de Labssystem ou équivalent).

**NOTE 3: les pipettes doivent être calibrées chaque jour (d'utilisation).*

5.10. Balance analytique, (+ ou – 1 mg, Mettler PC440 ou équivalent).

5.11. Agitateur de type Vortex ou équivalent.

5.12. Tubes à essai, capacité de 20 ml.

5.13. Portoirs de tubes à essai, compatibles pour utilisation avec 5.12.

5.14. Portoirs de conteneurs, compatibles pour utilisation avec 5.4.

5.15. Agitateur magnétique.

5.16. Barreau magnétique, recouvert de PTFE.

5.17. Embouts de pipette, compatibles pour utilisation avec 5.6, 5.7, 5.8 et 5.9

5.18. Spectrophotomètre d'absorption atomique,

Spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'un four graphite, d'une cuvette de retard à l'atomisation, d'un injecteur automatique, d'un correcteur d'absorption non spécifique, et d'un équipement de contrôle de l'absorbance en fonction du temps équivalent à ce qui suit. Les conditions instrumentales doivent être ajustées de façon appropriée au modèle utilisé.

Exemples donnés ci-dessous :

- a. Spectrophotomètre d'absorption atomique, Perkin-Elmer 3030 équipé d'un correcteur d'absorption non spécifique à arc au deutérium pur. Lampe à cathode creuse au plomb que l'on fait fonctionner à 12 mA. Sélectionner la raie à 283,3 nm; largeur de fente 0,7 nm. Four graphite, HGA 500 équipé d'un tube de graphite à revêtement pyrolytique avec à l'intérieur une plate-forme L'vov de graphite pyrolytique solide. Utiliser de l'argon comme gaz de purge. Les conditions du four

pour le HGA 500 sont les suivantes :

Etape	1	2	3	4	5	6
Température (°C)	200	1100	1100	1800	2400	20
Rampe (s)	5	20	1	0	1	1
Plateau (s)	60	20	2	3	6	25
Gaz	Ar	Ar	Ar	Ar	Ar	Ar
Débit de gaz (ml/min)	50	50	0	0	300	300
Lecture (intégration à 2,5 s)				X		

Echantillonneur/injecteur automatique, AS 40. Volume d'injection de 20 µl, 3 injections par position de plateau.

- b. Spectrophotomètre d'absorption atomique Thermo-electron Video 12E utilisé avec un four graphite CTF 188 et un système de dépôt d'échantillon FASTAC répondant aux conditions suivantes :

Etape	1	2	3	4	5
Température (°C)	150	350	650	1000	2400
Rampe (s)	0	30	15	1	
Plateau (s)	2	0	5	4	10
Gaz	Ar	Ar	Ar	Ar	Ar

Débit du gaz (ml/min)	50	50	0	0	300
Lecture (intégration à 2,5 s)				X	

Dépôt d'échantillon 5 s, retard FASTAC 10 s, avec 3 injections par position de plateau. Sélectionner la raie à 283,3 nm.

6. MODE OPERATOIRE

6.1. Préparation du vin

Agiter le récipient de vin pour bien mélanger les contenus avant le sous-échantillonnage. Les vins mousseux doivent être transférés dans un bécher propre et placés dans un bain ultrasonique jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'émission de gaz avant utilisation.

6.2. Solutions de mesure

6.2.1. Echantillons de vin

Dans un tube à essai de 20 ml (5.12), pipeter (5.8) 2,00 ml d'eau, 4,00 ml de diluant (4.1) et 2,00 ml de l'échantillon de vin. Mélanger soigneusement en utilisant l'agitateur vortex (5.11).

6.2.2. Estimation du recouvrement

Afin d'estimer le recouvrement, dans un tube à essai de 20 ml (5.12), pipeter (5.8) 1,80 ml d'eau, 4,00 ml de diluant (4.1), 2,00 ml de l'échantillon de vin et ajouter 0,200 ml de solution de travail étalonnée en plomb (4.3.3) en utilisant une pipette (5.7). Mélanger soigneusement en utilisant l'agitateur vortex (5.11).

NOTE 4 : tout échantillon dépassant l'étalon de calibration le plus élevé devra être analysé à nouveau en utilisant une quantité d'échantillon plus petite. Ajouter de l'éthanol supplémentaire à 10 % (4.2) au volume de l'échantillon.

6.3. Mesure

Les déterminations sont effectuées par lots. Chaque lot doit contenir au moins quatre répliques du blanc réactif et trois répliques des échantillons supplémentés pour

estimation du recouvrement. Les solutions d'étalonnage du plomb sont distribuées de façon régulière parmi les inconnues sur le plateau de l'échantillonneur automatique. Transférer les échantillons et étalons dans les récipients pour échantillons de l'échantillonneur automatique en utilisant une pipette Pasteur (5.3). Se débarrasser du premier remplissage du récipient et mesurer le deuxième remplissage (s'il n'y a pas assez d'échantillon, prendre garde à ce que les récipients des échantillons soient parfaitement propres). Laver la pipette Pasteur quatre ou cinq fois à l'acide nitrique à 1 % (4.4.) entre chaque transfert d'étalon et d'échantillon.

6.4. Quantification du plomb

La moyenne des absorbances de 3 injections est utilisée dans tous les cas. Tracer une courbe d'étalonnage à partir des réponses moyennes fournies par les lots d'étalons. Noter les absorbances enregistrées par l'instrument pour chaque échantillon. La concentration en plomb des échantillons est déterminée par comparaison avec la courbe d'étalonnage.

NOTE 5 : il est recommandé de remplacer le tube du four et la plate-forme tous les deux lots voire plus fréquemment si une baisse de l'absorbance des étalons est notée.

7. EXPRESSION DES RESULTATS

Corriger les résultats pour la récupération moyenne par lots .

7.1. Calcul

Obtenir à partir du graphique d'étalonnage la concentration en plomb de toutes les solutions de mesure. Calculer la concentration en plomb des échantillons de vin et des échantillons de vins supplémentés en utilisant le calcul suivant :

$$\text{Concentration en plomb (mg/l)} = \frac{(C_m - C_b) \times V_t}{V_m}$$

où :

C_m est la concentration moyenne en plomb de la solution de mesure (mg/l).

C_b est la concentration moyenne en plomb mesurée, des solutions de blanc réactif (mg/l).

V_t est le volume total final de la solution de mesure (ml).

V_m est le volume de l'échantillon de vin prélevé (ml).

7.2. Calcul des estimations de recouvrement

$$\text{Récupération (\%)} = \frac{(C_s - C_a) \times V_s \times 100}{S}$$

où :

C_s est la concentration calculée moyenne en plomb de l'échantillon de vin supplémenté (mg/l).

C_a est la concentration calculée moyenne de plomb dans le vin non supplémenté (mg/l).

V_s est le volume de vin auquel le supplément est ajouté (ml).

S est la quantité de supplément ajoutée (µg).

7.3. Calcul des résultats corrigés du recouvrement

$$\text{Concentration en plomb corrigée (mg/L)} = \frac{C_w \times 100}{R_a}$$

où:

C_w est la concentration en plomb calculée de l'échantillon de vin (mg/l).

R_a est la moyenne de recouvrement par lots (%).

ANNEXE : ETUDE DE VALIDATION

L'étude suivante a mené à des procédures acceptées à l'échelle internationale (1)(2).

TABEAU 1 ECHANTILLONS

Code de l'échantillon	Description de l'échantillon
5 & 9	Bordeaux (Vin doux)
3 & 11	Chardonnay italien (Blanc)
7 & 8	Vin rouge espagnol suuplémenté avec 260 µg/l

6 & 10	Pinot Noir roumain
2 & 12	Pinot Noir roumain supplémenté avec 150 µg/l
1	Echantillon 3/11 supplémenté avec 124 µg/l
4	Echantillon 3/11 supplémenté avec 134 µg/l

TABLEAU II RESUME DES PARAMETRES STATISTIQUES POUR L'ETUDE COLLABORATIVE SUR LA CONCENTRATION EN PLOMB DU VIN (Les résultats d'un laboratoire n'ont pas été retenus dans l'analyse statistique)

Echantillon	A	B	C	D	E	F	F1
Code	5, 9	3, 11	7, 8	6, 10	2, 12	1	4
n	16	15*	16	16	16	16	
n (-val. aberr.)	16	15	14	16	15	16	
Valeur cible	56	24	279	67	192	143	153
Moy.	50.8	27.2	298	70.6	189	143	149
r	23	15	24	32	51	38	
Sr	8.1	5.3	8.7	11.8	18.2	13.6	
RSDr	16	19	3	17	10	9	
Hor	1.0	1.1	0.2	1.1	0.7	0.7	
R	42	25	83	57	154	79	
SR	15.1	8.8	29.8	20.3	55.2	28.2	
RSDR	30	28	10	29	29	19	
HoR	1.2	1.2	0.5	1.2	1.4	0.9	

CONCERNANT LES TABLEAUX I-II

n: Nombre initial de laboratoires

n (-val. aberr.) Nombre de laboratoires après élimination des valeurs aberrantes

(*) Laboratoire 17 a indiqué <20 µg/l pour le matériel de test 11. Ses résultats n'ont pas été inclus dans l'analyse statistique pour cet échantillon (B).

Moy. : Moyenne observée, la moyenne obtenue des données de l'essai collaboratif après élimination des valeurs aberrantes.

Valeur cible La valeur moyenne observée « à l'interne » en utilisant l'ICP-MS

r : Limite de répétabilité, la valeur en dessous de laquelle on peut estimer que se situe la différence absolue entre deux résultats d'analyse unique obtenus dans des conditions de répétabilité (c'est à dire même échantillon, même opérateur, même appareillage, même laboratoire, et court intervalle de temps) dans une limite donnée de probabilité (en principe 95 %) d'où $r = 2,8 \times sr$.

S_r : L'écart-type de répétabilité.

RSD^r : L'écart-type relatif de répétabilité ($S_r \times 100 / \text{MOYENNE}$).

Ho^r : Le RSD^r observé divisé par la valeur RSD^r estimée à partir de l'équation de Horwitz en supposant que $r=0.66R$.

R : Limite de reproductibilité, la valeur en dessous de laquelle on peut estimer que se situe la différence absolue entre deux résultats d'analyse unique obtenus dans des conditions de reproductibilité (c'est à dire avec du matériel identique obtenu par des opérateurs dans différents laboratoires, en utilisant la méthode d'essai standardisée), dans une limite donnée de probabilité (en principe 95 %) ; $R = 2.8 \times sR$.

S^R : L'écart-type de la reproductibilité (entre la variation des laboratoires).

RSD^R : L'écart-type relatif de la reproductibilité ($S^R \times 100 / \text{MOYENNE}$).

Ho^R : La valeur RSD^R observée divisée par la valeur RSD^R calculée à partir de l'équation de Horwitz.

$$RSD_R = 2(1-0.5\log_{10}C)$$

(où C = concentration exprimée en décimale)

Les valeurs du HORRAT⁽⁴⁾ sont :

- Pour la répétabilité, la RSD^r observée divisée par la valeur RSD^r estimée à partir de l'équation de Horwitz en supposant que $r = 0.66R$.
- Pour la reproductibilité, la RSD^R observée divisée par la valeur RSD^R estimée à

partir de l'équation de Horwitz.

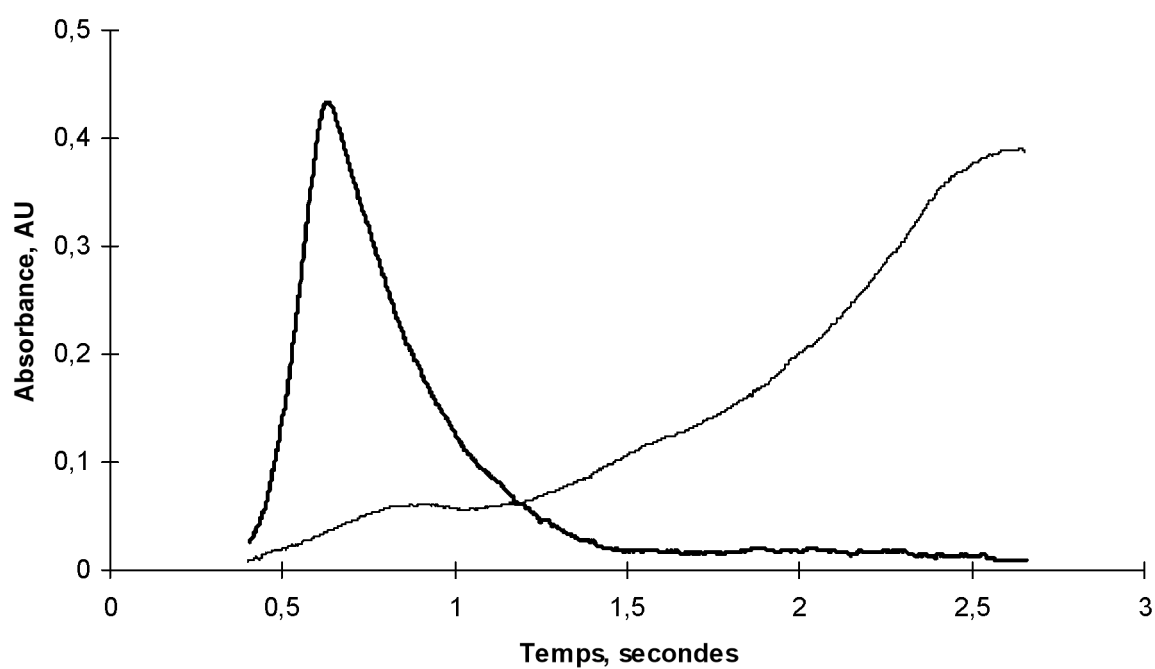
8. BIBLIOGRAPHIE

1. Paul A. Brereton, Paul Robb, Christine M Sargent, Helen M. Crews and Roger Wood. Determination of Lead in Wine by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry: Interlaboratory Study. *JAOAC Int.*, 1997, 80, No 6, 1287-1297.
2. "Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Collaborative Studies." Editor W Horwitz, *Pure & Appl. Chem.*, Vol. 67, No., 2, pp.331-343, 1995
3. Horwitz W, Evaluation of Methods Used for Regulation of Foods and Drugs, *Analytical Chemistry*, 1982, **57**, 67A-76A.
4. Peeler J T, Horwitz W and Albert R, Precision Parameters of Standard Methods of Analysis for Dairy Products, *JAOAC*, 1989, 72, No 5, 784-806.

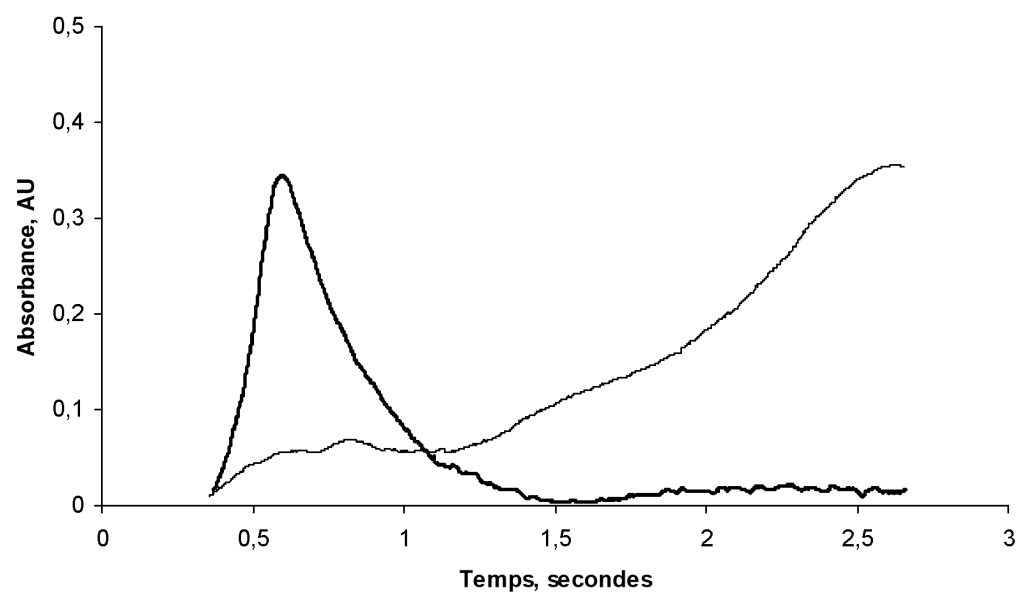
Annexe

Allure des courbes absorbance - temps pour la mesure de la concentration en plomb du vin avec utilisation d'un spectrophotomètre d'absorption atomique PerkinElmer 3030

équipé d'une correction d'absorption non spécifique à arc au deuterium.



(i) étalon de vin à 30 ng/l



(ii) échantillon de vin

Clé : $\frac{A - A_0}{A_0}$ absorbance corrigée, A_0 absorbance non spécifique

EXEMPLE 2

DETERMINATION DE LA TENEUR EN PLOMB DANS LES VINS PAR SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE (Type III)

1. DOMAINE D'APPLICATION

La méthode d'analyse est applicable à tout type de vins, eut égard à la limite maximum fixée par l'O.I.V.

2. BIBLIOGRAPHIE

1. Journal Officiel des Communautés Européennes (3 octobre 1990). *Méthode de dosage du plomb dans le vin* (p. 152 et 153).
2. Teissèdre P.L., Brun S., Médina B. (1992). *Dosage du plomb dans les vins / Proposition de modifications à la méthode du Recueil*. Feuillet Vert de l'O.I.V., n°928, 1997/151292.
3. Moreira Balio da Silva M., Gaye J., Médina B. (1996). *Comparaison de six méthodes de dosage du plomb dans les vins par absorption atomique en four graphite*. Feuillet Vert de l'O.I.V. n° 1013, 2310/190196.
4. Brereton P., Robb P., Sargent C., Crews H., Wood R. (1996). *Validation of a graphite furnace atomic absorption spectrometry method for the detection of lead in wine*. Feuillet Vert de l'O.I.V. n° 1016, 2913/230196.
5. Bourguignon J.B., Douet Ch., Gaye J., Médina B. (1997). *Dosage du plomb dans le vin / Interprétation des résultats de l'essai interlaboratoire*. Feuillet Vert 1055 de l'O.I.V. n° 2456/190397.

3. Principe

Le vin ne subit aucune préparation, excepté une dilution dans le cas des vins blancs

doux.

L'ajout de dihydrogéo-phosphate d'ammonium permet au plomb contenu dans le vin d'être stable à haute température - ce qui conduit à éliminer les interférences - et de se comporter de façon identique à une solution étalon.

L'atomiseur est un tube en graphite pyrolytique chauffé par effet Joule équipé d'une plate-forme.

La longueur d'onde de la raie utilisée est de 283,3 nanomètres.

La correction de l'absorption non spécifique peut se faire par effet Zeeman ou avec une lampe au deutérium.

Le type de détermination du plomb dans le vin est une méthode directe de dosage avec un étalonnage externe.

4. REACTIFS

4.1. Eau déminéralisée : ultra pure ; ayant une résistivité supérieure à 18 MΩ/cm.

4.2. Acide nitrique : à 65 % ; acide de qualité pour analyses.

4.3. Dihydrogéo-phosphate d'ammonium $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ pour analyses.

4.4. Solution étalon de plomb : à 1000 µg/mL (ou 1 g/l) dans de l'acide nitrique à 2 % (solution du commerce, prête à l'emploi).

5. APPAREILLAGE

5.1. Balance analytique (e = 1 mg).

5.2. Verrerie :

5.2.1. Fioles jaugées de 50, 100 ml (classe A),

5.2.2. Pipettes jaugées de 1, 10 ml (classe A),

5.2.3. Décontamination de la verrerie utilisée : rinçage à l'eau déminéralisée; trempage au moins 24 heures dans un bac d'acide nitrique à 10 % ; rinçage deux fois à l'eau déminéralisée.

5.3. Spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'un atomiseur à tube de graphite, avec correction de l'absorption non spécifique et passeur automatique d'échantillons (rincer auparavant les godets du passeur dans de l'acide nitrique à 10 %).

5.3.1. Four en graphite pyrolytique contenant une plate-forme de L'Vov **éventuellement** tantalisée (référence 9.1 - voir ci-dessous:

5.3.1.1. solution de tantale : placer 3 g de poudre de tantale (tantale métal dont la

pureté est supérieure à 99,7 %) dans un bécher en téflon de 100 mL ; ajouter 10 mL d'acide fluorhydrique dilué (1 + 1), 3 g d'acide oxalique déshydraté et 0,5 mL d'eau oxygénée à 30 % ; chauffer l'ensemble avec précaution pour dissoudre le métal ; ajouter de l'eau oxygénée lorsque la réaction se ralentit ; quand la dissolution est complète, ajouter 4 g d'acide oxalique déshydraté et approximativement 30 mL d'eau déminéralisée ; dissoudre l'acide ; porter la solution à 50 mL ; cette solution est stockée dans un flacon en matière plastique.

5.3.1.2. tantalisation d'une plate-forme : la plate-forme est déposée à l'intérieur d'un tube en graphite. L'ensemble est fixé sur l'unité d'atomisation du spectrophotomètre. Un volume de 10 µL de la solution de tantale est injecté sur la plate-forme à l'aide du distributeur automatique d'échantillons. Le cycle des températures est fixé selon le programme suivant : séchage à 150°C pendant 40 s ; minéralisation à 900°C pendant 60 s ; atomisation à 2600°C pendant 2,5 s. L'argon est utilisé comme gaz inerte.

6. MODE OPERATOIRE

6.1. Prise d'essai :

Le goulot d'une bouteille de vin possédant une capsule de surbouchage en plomb-étain doit être très soigneusement nettoyé avant débouchage.

6.2. Préparation de l'échantillon :

Généralement, aucune préparation du vin n'est nécessaire ; les échantillons sont placés directement dans les godets du passeur automatique. Il faut filtrer les vins troubles. Pour prolonger la durée d'utilisation des plates-formes, les vins blancs doux sont dilués : pour des teneurs en sucre de 10 à 50 g/l, diluer au 1/2 ; pour des teneurs supérieures à 50 g/l, diluer au 1/4.

6.3. Préparation des solutions :

6.3.1. *Blanc de dilution* :

la solution servant de complément au volume à l'injection est constituée par de l'eau déminéralisée contenant 1 % d'acide nitrique (4.2.).

6.3.2. *Modificateur de matrice* :

introduire 3 g de dihydrogène-phosphate d'ammonium (4.3.) dans un ballon jaugé de 50 mL (5.2.1.) ; dissoudre et compléter avec de l'eau déminéralisée (4.1.).

6.3.3. *Solution de plomb à 10 mg/l* :

placer 1 mL de la solution à 1 g/l (4.4.) dans un ballon jaugé de 100 mL (5.2.1.) ; ajouter 1

% d'acide nitrique (4.2.) ; compléter au volume avec de l'eau déminéralisée (4.1.). Cette solution se conserve un mois à la température de + 4°C.

6.3.4. *Solution de plomb à 100 µg/l :*

placer 1 mL de la solution de plomb à 10 mg/l (6.3.3.) dans un ballon jaugé de 100 ml (5.2.1.); compléter au volume avec de l'eau déminéralisée (4.1.). Cette solution doit être préparée chaque jour d'analyse.

6.3.5. *Gamme d'étalonnage* (à titre indicatif) : 0 ; 16,7 ; 33,3 et 50 µg/l (voir tableau II).

6.4. Etalonnage et dosage :

6.4.1. *Mesurages spectrométriques :*

6.4.1.1. longueur d'onde : 283,3 nm;

6.4.1.2. largeur de la fente : 0,5 nm;

6.4.1.3. intensité de la lampe à cathode creuse : 5 mA ;

6.4.1.4. correction du fond continu : par effet Zeeman ou deutérium ;

6.4.1.5. introduction à chaud des étalons et des échantillons dans le four graphite, avec un passeur automatique d'échantillons. Le liquide de rinçage est constitué de 500 ml d'eau déminéralisée contenant une goutte de Triton X 100.

Note: pour obtenir une injection à 90°C sur la plate-forme, il faut régler la température du four à 150°C environ.

6.4.1.6. mesure du signal: en hauteur de pic ;

6.4.1.7. durée de la mesure: 3 secondes ;

6.4.1.8. nombre de mesures par étalon ou échantillon: 2

Note: la moyenne de ces deux mesures constitue le résultat d'essai. Si le coefficient de variation de deux mesures est supérieur à 15 %, on doit refaire deux autres mesures.

6.4.1.9. paramètres du four (à titre indicatif) : voir tableau I.

Tableau I – Paramètres du four pour le dosage du plomb dans les vins				
température (en °C)	durée (en s)	type de gaz	débit du gaz (en l/mn)	lecture du signal
150	60	argon	3,0	

750	10	argon	3,0	
750	30	argon	3,0	
750	2	argon	0	
2400	1	argon	0	oui
2400	2	argon	0	oui
2400	2	argon	3,0	
40	20	argon	3,0	

6.4.1.10. Paramètres de l'échantillonneur automatique (à titre indicatif): voir tableau II.

Tableau II - Paramètres de l'échantillonneur pour le dosage du plomb dans les vins				
Analyse :	volumes injectés en µl			
	échantillon	solution de Pb à 100 µg/l	"blanc" de dilution	modificateur de matrice
blanc de calibration	0	0	5	1
étalon n°1	0	1	4	1
étalon n°2	0	2	3	1
étalon n°3	0	3	2	1
échantillon	2	0	3	1

6.4.2. Tracé de la courbe d'étalonnage : le cycle du distributeur automatique permet de réaliser la préparation des étalons à partir de la solution de plomb à 100 µg/l (tableau

II). On établit le graphe d'étalonnage : absorbance en fonction de la quantité de plomb en microgrammes par litre.

7. EXPRESSION DES RESULTATS

7.1. Concentration en plomb de la solution injectée : On l'obtient à partir de la courbe d'étalonnage (6.4.2.).

7.2. Concentration en plomb du vin : On la déduit en multipliant par 3 le résultat donné en 7.1. (2 µl de solution injectée pour un volume final de 6 µl sur la plate-forme). Tenir compte d'une éventuelle dilution du vin (cas des vins blancs doux).

7.3. Résultat : On l'exprime en milligrammes de plomb par litre de vin (mg/l), avec deux chiffres significatifs.

8. ESSAI INTERLABORATOIRE

L'essai a été conduit "en double aveugle" avec 8 vins différents, obtenus à partir de mélanges de vins de Bordeaux : deux vins rouges (R1 et R2), deux vins rosés (Ro1 et Ro2), deux vins blancs secs (Bs1 et Bs2) et deux vins blancs doux (D1 et D2). Onze laboratoires espagnols, portugais, marocains et français ont participé à l'étude en dosant le plomb dans les 16 échantillons reçus.

8.1. Présentation des 8 échantillons de vins :

Tableau III : Caractéristiques des vins utilisés pour l'essai interlaboratoire					
Vins	Type	T.A.V. (% Vol.)	Acidité Totale (g/l H ₂ SO ₄)	Acidité Volatile (g/l H ₂ SO ₄)	Sucres Réducteurs (g/l)
R1	Rouge	11,86	4,43	1,57	1,2
R2	Rouge	12,54	3,77	0,34	1,5
Ro1	Rosé	12,23	5,30	0,44	1,2
Ro2	Rosé	11,43	4,88	0,45	1,1
Bs1	Blanc sec	11,65	4,62	0,37	2,2
Bs2	Blanc sec	12,32	4,57	0,31	0,9

D1	Blanc doux	12,94	3,72	0,67	76,4
D2	Blanc doux	12,66	4,70	0,45	62,8

8.2. Exploitation statistique des résultats :

Tableau IV : Analyse statistique des résultats de l'essai interlaboratoire								
Echantillon de vin	R1	R2	Ro1	Ro2	BS1	BS2	D1	D2
Répétitions en double aveugle	C & K	F & I	D & G	J & L	B & H	P & N	A & E	M & O
Nombre initial de laboratoires	11	11	11	11	11	11	11	11
Nombre de laboratoires après élimination des plus grandes dispersions	11	10	11	11	10	10	11	10
Moyenne (µg/l)	44	162	28	145	52	138	60	145
Limite de répétabilité r	18	12	7	17	6	13	28	7
Ecart-type de répétabilité S _r	6,4	4,3	2,5	6,1	2,1	4,6	10	2,5
Coefficient de variation de répétabilité	14,5	2,8	9,2	4,2	4,2	3,4	16,5	1,8

RSDr (en %)								
Valeur du Horrat (Ho_r):								
RSDr observé / RSD _r Horwitz	0,6	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	0,7	0,1
Limite de reproductibilité								
R	34	105	23	86	30	101	86	144
Ecart-type de reproductibilité								
S _R	12,3	37,5	8,2	30,8	10,7	35,9	30,6	51,6
Coefficient de variation de reproductibilité								
RSD _R (en %)	28	23,1	29,3	21,2	20,6	26	51	35,6
Valeur du Horrat (Ho_R):								
RSD _R observé / RSD _R Horwitz	1,1	1,1	1,1	1	0,8	1,2	2,1	1,7

Parmi les 11 laboratoires ayant participé à l'essai, 7 ont déclaré avoir suivi la méthode d'analyse proposée, 4 ont modifié quelques paramètres.

9. Performances de la méthode et contrôle qualité

9.1. Limite de détection : Elle est déterminée à partir d'une série de 20 répétitions du blanc analytique et elle est égale à 3 écarts types. Dans le cas de la méthode proposée, une série de 20 mesures du blanc analytique a donné comme résultat : moyenne = 1,29 µg/l; écart type = 0,44 µg/l; limite de détection = 1,3 µg/l.

9.2. Limite de quantification : Elle est égale à 3 fois la limite de détection. Dans le cas de la méthode proposée, la limite de quantification est de 4 µg/l ($3 \times 1,32 = 3,96$).

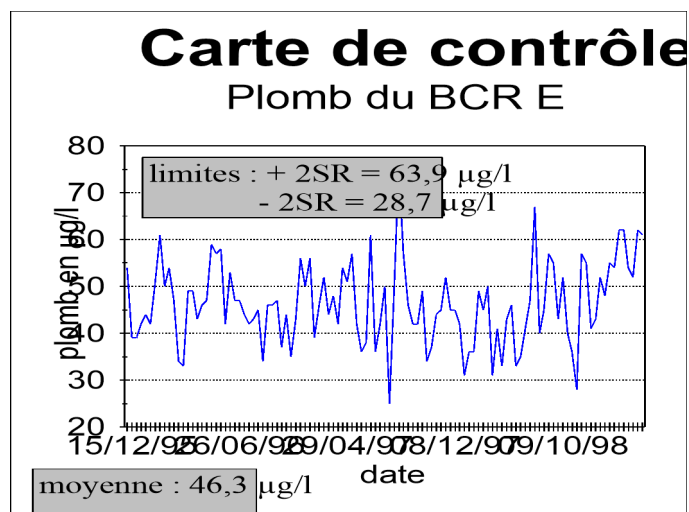
9.3. Justesse : L'intervalle de confiance de la moyenne d'une série de résultats est comparé avec celui donné pour un matériau de référence

Trois matériaux de référence ont été utilisés: un vin rouge, un vin blanc sec et un vin blanc doux dont les concentrations en plomb ont été certifiées par le B.C.R. (Bureau Communautaire de Référence) en 1992.

Tableau V : Justesse de la méthode				
		Vin rouge BCR E	Vin blanc sec BCR C	Vin blanc doux BCR D
Concentration en plomb ($\mu\text{g/l}$)	Valeur certifiée (B.C.R. 1992)	$36,1 \pm 4,9$	$65,1 \pm 9,1$	$132,4 \pm 32$
	Valeur moyenne (série : 10 résultats)	$41,0 \pm 3,8$	$66,0 \pm 4,4$	$128,3 \pm 14,1$

9.1. Carte de contrôle

Une carte de contrôle peut être établie pour chaque matériau de référence utilisé. Les limites de contrôle sont égales à : $\pm 2 S_R$ intra (S_R intra : écart-type de reproductibilité).



10. BIBLIOGRAPHIE

1. Zatka V. (1978). Treated graphite atomizer tubes for atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, vol. 50, n°3.
2. US Bureau of Alcohol, Tobacco and Firearms (1991). Analysis of lead in wines and related products by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Note d'information de l'O.I.V. du 21 août 1991 : « Plomb dans les vins aux U.S.A. ».
3. Mindak W.R. (1994). Determination of lead in table wines by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of A.O.A.C. International*, vol. 77, n°4, p. 1023-1030.
4. Médina B. (1994). Apport de nouvelles techniques au dosage des métaux dans les vins. Congrès des Œnologues de France à Bordeaux.
5. Norme française NF ISO 5725-2 (1994). Application de la statistique : Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure.
6. Jorhem L., Sundström B. (1995). Direct determination of lead in wine using graphite furnace AAS. *Atomic Spectroscopy*, September/October 1995.