

## RÉSOLUTION OENO 22/2004

### DETERMINATION DE LA TENEUR DES VINS EN FLUORURES A L'AIDE D'UNE ELECTRODE SELECTIVE

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 compléter l'Annexe A du Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, par la méthode de type II suivante :

### DETERMINATION DE LA TENEUR DES VINS EN FLUORURES A L'AIDE D'UNE ELECTRODE SELECTIVE ET AJOUTS DOSES

#### 1. PORTEE ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode est applicable à l'analyse des fluorures dans tous les vins. Avec une dilution adaptée, la fourchette de détection peut aller de 0,1 mg/l à 10,0 mg/l.

#### 2. PRINCIPE

La concentration des fluorures dans l'échantillon est mesurée après addition d'un tampon, en utilisant une électrode sélective des ions fluorure. Le tampon fournit une force ionique élevée; complexe le fer et l'aluminium (qui autrement complexeraient avec le fluor) et ajuste le pH à un niveau qui minimise la formation d'un complexe  $\text{HF} \cdot \text{HF}$ . Les effets de matrice sont ensuite minimisés par l'utilisation d'un ajout dosé.

#### 3. REACTIFS

3.1. Eau distillée ou désionisée

3.2. Chlorure de sodium pureté  $\geq 99,0\%$ .

3.3. Citrate trisodique pureté  $\geq 99,0\%$ .

3.4. CDTA (acide 1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'- tétracétique hydrate) pureté  $\geq 98,0\%$ .

- 3.5. Hydroxyde de sodium pureté  $\geq$  98,0%.
- 3.6. Solution d'hydroxyde de sodium 32% (m/v) fait avec 3.5.
- 3.7. Acide acétique glacial pureté  $\geq$  99,0%.
- 3.8. Fluorure de sodium pureté  $\geq$  99,0%.
- 3.9. Tampon commercial d'ajustement de force ionique totale (TISAB) (TISAB III-Orion Research Inc. Cat. # 940911) ou équivalent (Voir 4.2)
- 3.10. Alternative TISAB :
- 3.10.1. A environ 700 ml d'eau distillée (3.1) dans un vase cylindrique de 1 l (4.3), ajouter 58,0 g  $\pm$  0,1 g de chlorure de sodium (3.2) et 29,4 g  $\pm$  0,1 g de citrate trisodique (3.3).
- 3.10.2. Dissoudre 10,0 g  $\pm$  0,1 g de CDTA (acide 1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tétraacétique) (3.4) et 6 ml d'hydroxyde de sodium à 32 % (m/v) (3.6) dans approximativement 50 ml d'eau (3.1).
- 3.10.3. Mélanger les deux solutions, puis ajouter 57 ml d'acide acétique glacial (3.7) et ajuster le pH à 5,5 avec l'hydroxyde de sodium à 32 % (m/v) (3.6). Refroidir à température ambiante, transférer dans une fiole jaugée de 1 l (4.10), et ajuster au volume avec de l'eau (3.1).
- 3.11. Solutions étalons de fluorures
- 3.11.1. Solution étalon de fluorures à 100 mg/l : peser 221 mg  $\pm$  1 mg de fluorure de sodium (3.8) (séché à 105 °C pendant 4 heures) dans une fiole volumétrique de 1 l en polyéthylène (4.10) et ajuster avec de l'eau (3.1).
- 3.11.2. Etalons de travail de fluorures à 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, et 5,0 mg/l : à l'aide de pipettes (4.11), verser respectivement 1ml, 2 ml, et 5 ml de la solution étalon à 100 mg/l (3.11.1) dans trois fioles volumétriques de 100 ml en polyéthylène (4.10) et ajuster avec de l'eau (3.1).
- 3.12. Vin témoin : vin réputé ne contenant pas de fluorures, utilisé comme témoin.
- 3.13. Vin étalon surchargé à 1 mg/l : mettre 10 ml (4.11) de solution étalon de fluorures à 100 mg/l (3.11.1) dans une fiole jaugée de 1l (4.10) et compléter au trait de jauge avec du vin sans fluorures (3.12).

## 4. APPAREILLAGE

- 4.1. Ionomètre avec une fonction ajouts dosés (ex. Analyseur Corning pH/ion 455, Cat. # 475344) ou ionomètre permettant la lecture des tensions (mV).
- 4.2. Electrode sélective pour les ions fluorures et une électrode de référence ou une électrode combinée (ex. Electrode de fluorure Corning Cat. # 34108-490).
- 4.3. Vases cylindriques de 150 ml et de 1 l en polyéthylène.

- 4.4. Eprouvette graduée à pied de 50 ml en polyéthylène.
- 4.5. Agitateur magnétique
- 4.6. Barreau magnétique, revêtu de téflon.
- 4.7. Flacons en plastique (Nalgène ou équivalent) de 125 ml, avec des bouchons
- 4.8. Pipette de précision, 500  $\mu$ l
- 4.9. Bain d'eau à ultrasons
- 4.10. Fioles jaugées, Classe A, 50 ml, 100 ml, et 1 l.
- 4.11. Pipettes, Classe A, 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml, et 25 ml.

## 5. PREPARATION DES SOLUTIONS D'ETALONNAGE

- 5.1. Mettre 25 ml (4.11) de solutions étalon (3.11.2) de 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, et 5,0 mg/l respectivement dans trois vases cylindriques de 150 ml (4.3) et ajouter 20 ml (4.11) d'eau (3.1) et 5 ml de TISAB commercial (3.9) à chacun. Mélanger avec un agitateur magnétique (4.5 et 4.6).
- 5.2. Quand le tampon TISAB alternatif (3.10) est utilisé : mettre 25 ml (4.11) de solutions étalon (3.11.2) de 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, et 5,0 mg/l respectivement dans trois vases cylindriques de 150 ml (4.3) et ajouter dans chacun 25 ml (4.11) de tampon alternatif (3.10). Mélanger avec un agitateur magnétique (4.5 et 4.6).

## 6. PREPARATION DES ECHANTILLONS

Bien mélanger l'échantillon de vin avant le prélèvement. Les vins mousseux devront être dégazés avant le prélèvement en les transférant dans un vase cylindrique propre placé dans un bain d'eau à ultrasons (4.9) jusqu'à élimination du gaz.

- 6.1. Si le tampon commercial TISAB (3.9) est utilisé : mettre 25 ml d'échantillon (4.11) dans un vase cylindrique de 150 ml (4.3) avec 20 ml d'eau (3.1) et ajouter 5 ml (4.11) de tampon commercial TISAB (3.9). Mélanger avec un agitateur magnétique (4.5 et 4.6). Facteur de dilution ( $DF$ ) = 1.
- 6.2. Si le tampon alternatif TISAB (3.10) est utilisé : mettre 25 ml d'échantillon (4.11) dans un vase cylindrique de 150 ml (4.3) et ajouter 25 ml (4.11) de tampon alternatif TISAB (3.10). Mélanger avec un agitateur magnétique (4.5 et 4.6). Facteur de dilution ( $DF$ ) = 1.

## 7. MODE OPERATOIRE

Pour effectuer les mesures, les solutions étalons et les échantillons de vin doivent

avoir la même température.

## 7.1. Etalons de référence

Mesurer le potentiel de chaque solution étalon, en utilisant le ionomètre (4.1), l'électrode sélective de fluorure (4.2), et l'électrode de référence (4.2). La lecture finale doit être effectuée quand la mesure est stabilisée (la stabilité est atteinte quand le potentiel ne varie pas plus de 0,2 à 0,3 mV/ 3 minutes). Noter les lectures pour chaque mélange de référence. Le log des concentrations en fonction du voltage mesuré pour chacune des solutions d'étalonnage est reportée sur un papier graphique pour déterminer la pente de l'électrode.

## 7.2. Echantillons de vin

Mesurer et noter le potentiel exprimé en mV (E1) de l'échantillon (6.1 ou 6.2) quand la mesure est stabilisée. Ajouter 500 µl (4.8) de solution étalon à 100 mg/l de fluorure (3.11.1) au prélèvement (6.1 ou 6.2). Quand la mesure est stabilisée, lire et noter le potentiel exprimé en mV (E2) de la solution de vin.

Pour une meilleure précision, il est recommandé que la concentration finale en ions fluorure après addition soit au moins du double de celle de l'échantillon. Pour s'en assurer, il est suggéré, si la concentration dans l'échantillon est supérieure à 2 mg/l lors de la première détermination, d'effectuer une seconde détermination après dilution de l'échantillon. Dans ce cas, la dilution doit être faite comme suit (7.2.1 ou 7.2.2).

7.2.1. Lorsqu'on utilise le tampon commercial TISAB (3.9) : à l'aide d'une pipette (4.11) mettre 25 ml d'échantillon de vin dans une fiole jaugée de 50 ml (4.10) et ajuster avec de l'eau (3.1). Verser 25 ml (4.11) de ce vin dilué dans un vase cylindrique de 150 ml (4.3) et ajouter 20 ml d'eau (3.1) et 5 ml de tampon commercial TISAB (3.9). Mélanger avec un agitateur magnétique (4.5 et 4.6), puis procéder à la mesure comme en 7.2. Facteur de dilution ( $DF$ ) = 2.

7.2.2. Lorsqu'on utilise le tampon alternatif TISAB (3.10) : à l'aide d'une pipette (4.11) mettre 25 ml d'échantillon de vin dans une fiole jaugée de 50 ml (4.10) et ajuster avec de l'eau (3.1). Verser 25 ml (4.11) de ce vin dilué dans un vase cylindrique de 150 ml (4.3) et ajouter 25 ml de tampon alternatif TISAB (3.10). Mélanger avec un agitateur magnétique (4.5 et 4.6), puis procéder à la mesure comme en 7.2. Facteur de dilution ( $DF$ ) = 2.

## 8. CALCUL

La teneur en fluorure de l'échantillon, exprimée en mg/l, est obtenue avec la formule suivante :

$$C_f = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{\left(\left(\text{anti} \frac{\log \Delta E}{S}\right) - 1\right)}$$

si le volume de solution étalon ajouté  $V_{\text{std}}$  est  $< 1\%$  du volume de la solution après ajout, alors  $V_a = V_o$  et

$$C_f = DF \times C_a \times \frac{1}{\left(\left(\text{anti} \log \Delta E / S\right) - 1\right)}$$

$C_f$  = concentration en fluorure de l'échantillon (mg/l)

$DF$  = facteur de dilution. S'il est nécessaire de diluer l'échantillon comme en (7.2.1) ou en (7.2.2), utiliser une valeur identique à la dilution de l'échantillon, c'est à dire  $DF = 2$  pour un échantillon dilué (7.2.1) et (7.2.2) ou  $DF = 1$  s'il ne l'est pas, comme en (6.1) ou (6.2).

$V_o$  = volume initial d'échantillon avant ajout (ml)

$V_a$  = volume de la solution après ajout (ml)

$\Delta E$  = différence entre potentiels  $E_1$  et  $E_2$  obtenus en (7.2) en mV.

$S$  = pente de la droite de calibration de l'électrode.

$$C_a = \frac{V_{\text{std}} \times C_{\text{std}}}{V_{\text{samp}}}$$

où

$C_a$  = concentration (en mg/l) de fluorure ajoutée à la solution de l'échantillon ( $V_o$ ) obtenu en multipliant le volume de l'étalon ajouté (3.11.1) ( $V_{\text{std}}$ ) par la concentration ( $C_{\text{std}}$ ) de l'étalon (3.11.1) et divisé par le volume d'échantillon (25 ml) utilisé en (6.1) ou (6.2).

$V_{std}$  = volume ajouté d'étalon (3.11.1) (0,5 ml)

$V_{samp}$  = volume d'échantillon utilisé en (6.1) ou (6.2),  $V_{samp} = 25$  ml.

$C_{std}$  = concentration de l'étalon (3.11.1).

### Exemple de calcul :

(1) pour un échantillon préparé comme en (6.2) et déterminé comme en (7.2)

$DF = 1$

$$C_a = \frac{V_{std} \times C_{std}}{V_{samp}} = \frac{0.5 \text{ ml} \times 100 \text{ mg/l}}{25 \text{ ml}} = 2 \text{ mg/l}$$

$\Delta E = 19,6$  mV

$S = -58,342$

$$C_f = DF \times C_a \times \frac{1}{((anti \log \Delta E / S) - 1)} \quad C_f = 1 \times 2 \text{ mg/l} \times \frac{1}{((anti \log 19.6 / 58.342) - 1)}$$

$C_f = 1 \times 2 \text{ mg/l} \times 0.856 = 1.71 \text{ mg/l}$  de fluorures

(2) pour un échantillon préparé comme en (7.2.2), et déterminé comme en (7.2)

$DF = 2$

$$C_a = \frac{V_{std} \times C_{std}}{V_{samp}} = \frac{0.5 \text{ ml} \times 100 \text{ mg/l}}{25 \text{ ml}} = 2 \text{ mg/l}$$

$\Delta E = 20,4$  mV

$S = -55,937$

$$C_f = DF \times C_a \times \frac{1}{((anti \log \Delta E / S) - 1)} \quad C_f = 2 \times 2 \text{ mg/L} \times \frac{1}{((anti \log 20.4 / 55.937) - 1)}$$

$C_f = 2 \times 2 \text{ mg / l} \times 0.760 = 3.04 \text{ mg / l}$  de fluorures

## 9. FIDELITE

Les détails de l'étude interlaboratoires sont donnés en annexe B. Les valeurs de HORRAT ( $Ho_R$ ) variant de 0,30 à 0,97 indiquent une bonne reproductibilité parmi les participants.

Les résultats des calculs statistiques sont donnés dans l'annexe B tableau 2. L'écart type de répétabilité ( $RDS_r$ ) varie de 1,94% à 4,88% ; l'écart type de reproductibilité ( $RDS_R$ ) varie de 4,15% à 18,40%. La moyenne des taux de recouvrement varie entre 99,% et 100,3% de la valeur cible.

## 10. ASSURANCE ET MAITRISE DE LA QUALITE

10.1. Analyser une solution étalon à 1,0 mg/l (3.11.2) au début et à la fin de chaque série de mesure. Les résultats doivent être de  $1,0 \pm 0,1$  mg/l.

10.2. Avant chaque série de mesures, analyser un blanc (3.12) et, pour le contrôle de qualité interne (CQI), un vin surchargé (3.13). Le blanc ne doit pas excéder 0,0 mg/l  $\pm$  0,1 mg/l et le CQI ne doit pas dépasser 1,0 mg/l  $\pm$  0,2 mg/l.

## Annexe A

## Bibliographie

1. AOAC International, AOAC Official Methods Program, Associate Referee's Manual On Development, Study, Review, and Approval Process, 1997
2. Postel, W.; Prasz, E., Wein-Wissenschaft, (1975) 30 (6), 320-326
3. Office International de la Vigne et du Vin, Compendium of International Methods of Wine Analysis, 5/10/94, 255-257
4. Gil Armentia, J. M.; Arranz, J. F.; Barrio, R. J.; Arranz, A., Anales de Bromatologia, (1988) 40 (1) 71-77
5. Gran, G; Analyst (1952) 77, 661
6. Corning fluoride ion selective electrode - Instruction Manual, 1994
7. Corning Instruction Manual pH/ion analyzer 455, 109121-1 Rev. A, 11/96

8. Horwitz, W.; Albert, R.; Journal of the Association of Official Analytical Chemists, (1991) 74 (5) 718

## **Annexe B**

### **Etude interlaboratoires**

#### **B.1. Introduction**

La méthode de détermination des fluorures dans les vins a été validée par une étude collaborative. Douze participants au total ont participé à cette étude, six européens et six américains. L'étude collaborative a été menée en utilisant, le protocole de Youden de l'AOAC.

#### **B.2 Participants**

Les douze laboratoires participant à la validation se situaient en Allemagne, Autriche, Espagne, Etats-Unis et France : BATF Alcohol and Tobacco Laboratory—Alcohol Section, SF, Walnut Creek, CA., Etats-Unis; BATF, National Laboratory Ctr., Rockville, MD, Etats-Unis; Bundesinstitut für Gesundheitlichen Verbraucherschutz, Berlin, Allemagne ; Canandaigua Winery, Madera, CA, Etats-Unis; CIVC, Epernay, France ; E. & J. Gallo Winery-Analytical Services Laboratory, Modesto, CA, Etats-Unis; E. & J. Gallo Winery-Technical Analytical Services Laboratory, Modesto, CA, Etats-Unis; ETS Labs, St. Helena, CA, Etats-Unis; Höhere Bundeslehranstalt & Bundesamt für Wein und Obstbau, Klosterneuburg, Autriche ; Institut Catala de la Vinya i el Vi, Vilafranca del Penedes (Barcelone), Espagne ; Laboratorio Arbitral Agroalimentario, Madrid, Espagne ; and Sutter Home Winery, St. Helena, CA., Etats-Unis.

#### **B.3 Les échantillons utilisés pour l'étude**

Les échantillons utilisés pour l'étude sont donnés dans l'Annexe I. Ils ont été distribués en double aveugle (six paires d'échantillons, trois vins rouges et trois vins blancs).

Echantillon (Description de l'échantillon)

Vin blanc sans surcharge (total de 0,6 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin blanc surchargé avec 0,3 mg /l (total de 0,9 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin blanc surchargé avec 0,9 mg /l (total de 1,5 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin blanc surchargé avec 1,2 mg /l (total de 1,8 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin blanc surchargé avec 1,4 mg /l (total de 2,0 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin blanc surchargé avec 1,7 mg /l (total de 2,3 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin rouge sans surcharge (total de 0,2 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin rouge surchargé avec 0,3 mg /l (total de 0,5 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin rouge surchargé avec 0,8 mg /l (total de 1,0 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin rouge surchargé avec 1,1 mg /l (total de 1,3 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin rouge surchargé avec 2,5 mg /l (total de 2,7 mg/l F<sup>-</sup>)

Vin rouge surchargé avec 2,8 mg /l (total de 3,0 mg/l F<sup>-</sup>)

## B.4 Résultats

Un résumé des résultats obtenus par les douze participants se trouve dans le Tableau I. Aucun des laboratoires n'a signalé de difficulté particulière. Le test de Cochran a mis en évidence une paire aberrante. Ces résultats sont notés <sup>(c)</sup> dans le Tableau I, et n'ont pas été utilisés dans l'analyse statistique.

**Tableau 1**

Données concernant l'analyse collaborative pour la détermination des fluorures dans les vins par électrode sélective après ajouts dosés. Les résultats sont exprimés en mg fluorures/l

Labo	Paire 1 <sup>[b]</sup>		Vin blanc		Paire 3 <sup>b</sup>		Paire 4 <sup>b</sup>		Vin rouge		Paire 6 <sup>b</sup>	
Numéro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0,55	0,80	1,33	1,56	1,86	2,24	0,19	0,45	0,89	1,17	2,54	2,77
2	0,52	0,81	1,39	1,64	1,86	2,31	0,19	0,46	0,92	1,20	2,58	2,77
3	0,52	0,81	1,40	1,70	1,92	2,25	0,14	0,42	0,96	1,22	2,64	2,95
4	0,62	0,98	1,48	1,64	1,85	2,14	0,28	0,56	1,00	1,32	2,64	2,72

5	0,48	0,78	1,34	1,64	1,84	2,11	0,12	0,39	0,88	1,16	2,56	2,82
6	0,53	0,84	1,45	1,74	1,97	2,30	0,13	0,43	0,92	1,21	2,66	2,93
7	0,53	0,76	1,27	1,64	1,89	2,06	0,14	0,40	0,88	1,12	2,44	2,83
8	0,57	0,88	1,51	1,85	2,11	2,33	0,48 <sup>[c]</sup>	0,48 <sup>[c]</sup>	1,01	1,32	2,64	3,08
9	0,51	0,81	1,40	1,71	1,90	2,20	0,13	0,42	0,90	1,19	2,60	2,86
10	0,54	0,84	1,43	1,71	1,93	2,22	0,18	0,44	0,96	1,23	2,66	2,87
11	0,60	0,93	1,48	1,75	1,98	2,32	0,25	0,57	1,06	1,31	2,68	2,82
12	0,65	0,94	1,54	1,79	2,05	2,32	0,21	0,52	1,03	1,24	2,81	3,07
- No de cas	12	12	12	12	12	12	11	11	12	12	12	12
Minimum	0,48	0,76	1,27	1,56	1,84	2,06	0,12	0,39	0,88	1,12	2,44	2,72
Maximum	0,65	0,98	1,54	1,85	2,11	2,33	0,28	0,57	1,06	1,32	2,81	3,08
Ecart	0,17	0,22	0,27	0,29	0,27	0,27	0,16	0,18	0,18	0,20	0,37	0,36
Moyenne	0,55	0,85	1,42	1,70	1,93	2,23	0,18	0,46	0,95	1,22	2,62	2,87
Médiane	0,54	0,83	1,42	1,71	1,91	2,25	0,18	0,44	0,94	1,22	2,64	2,85
- Ecart-type	0,050	0,069	0,079	0,079	0,084	0,091	0,052	0,063	0,061	0,065	0,090	0,114

**Table 2**

Résultats de l'analyse collaborative pour la détermination des fluorures dans les vins par électrode sélective après ajouts dosés

STATISTIQUE	Paire 1	Vin Blanc	Paire 3	Paire 4	Vin rouge	Paire 6
	Paire 2			Paire 5		
Nombre de Laboratoires	12	12	12	11 <sup>[d]</sup>	12	12
Nombre de répétitions par laboratoire	2	2	2	2	2	2

Moyenne (deux niveaux)	0,55 0,85	1,42 1,70	1,93 2,23	0,18 0,46	0,95 1,22	2,62 2,87
Variance de répétabilité	0,0006	0,0015	0,0026	0,0002	0,0005	0,0049
Ecart type de répétabilité	0,0235	0,0382	0,5106	0,0156	0,0211	0,0703
Ecart-type relatif RSDr de répétabilité	3,35 %	2,45 %	2,45 %	4,88 %	1,94 %	2,55 %
Variance de reproductibilité	0,0039	0,0070	0,0089	0,0034	0,0042	0,0130
Ecart-type de reproductibilité	0,0625	0,0835	0,0945	0,0587	0,0647	0,1141
Ecart-type RSDR, de reproductibilité	8,92 %	5,36 %	4,54 %	18,39 %	5,95 %	4,15 %
Reproductibilité théorique selon Horwitz (RSDR)	16,88	14,97	14,33	19,00	15,80	13,74
Valeur de HORRAT HoR (RSDR (mesuré)/RSDR (Horwitz))	0,53	0,36	0,32	0,97	0,38	0,30
taux moyen de récupération (en%)	93,1	94,6	96,7	91,0	94,4	96,4

<sup>[b]</sup> Paires de Youden

<sup>[c]</sup> Valeur supprimée après test de Cochran et qui n'est pas reprise dans l'analyse statistique

<sup>[c]</sup>

<sup>[d]</sup> Une paire d'un labo a été supprimée des données fixées par le Test de Cochran