



RISOLUZIONE OIV-OENO 553-2016

ANALISI DEI COMPOSTI VOLATILI PRESENTI NEI VINI MEDIANTE GASCROMATOGRAFIA

L'ASSEMBLEA GENERALE

Visto l'articolo 2, paragrafo 2 iv dell'Accordo del 3 aprile 2001 che istituisce l'Organizzazione internazionale della vigna e del vino,

Su proposta della Sottocommissione "Metodi di analisi",

DECIDE di integrare l'Allegato B della *Raccolta dei metodi internazionali di analisi* con il seguente metodo di tipo IV:

ANALISI DEI COMPOSTI VOLATILI PRESENTI NEI VINI MEDIANTE GASCROMATOGRAFIA

1 - Ambito

Questo metodo è applicabile all'analisi dei composti volatili dei vini che contengono meno di 20 g/L di zuccheri.

Per i vini con un contenuto zuccherino superiore a 20 g/L di zuccheri e le mistelle, è necessario eseguire prima una distillazione (identica a quella praticata per ottenere il TAV), anche se questa impoverisce il campione di una parte significativa dei composti.

2 - Campo d'applicazione

È possibile utilizzare questo metodo per quantificare le seguenti sostanze (seppur l'elenco che segue non sia esaustivo):

- etanale,
- acetato di etile,
- metanolo,
- 2-butanolo,
- 1-propanolo,
- 2-metil-1-propanolo,
- acetato di isoamile,
- 1-butanolo,
- 2-metil-1-butanolo,
- 3-metil-1-butanolo,
- 1-pentanolo,

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

- acetoina,
- lattato di etile,
- 1-esanolo,
- 3-etossipropanolo,
- ottanoato di etile,
- furfuraldeide,
- (2R, 3R) 2,3-butandiolo,
- (2R, 3S) 2,3-butandiolo,
- 1,2-propandiolo,
- butirrolattone,
- dietil succinato,
- acido esanoico (semi-quantitativo),
- 2-feniletanolo,
- dietil malato,
- acido ottanoico (semi-quantitativo),
- acido decanoico (semi-quantitativo).

Nota: con questo metodo non è possibile quantificare il diacetile e l'acido acetico anche se questi composti sono presenti nei cromatogrammi.

3 - Principio

I composti volatili vengono quantificati mediante gascromatografia dopo iniezione diretta del campione, opportunamente addizionato con lo standard interno, in una colonna capillare rivestita con una fase polare legata. Essi vengono quindi rilevati mediante un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

4 - Reattivi e prodotti

Le quantità e il metodo di preparazione sono solo a titolo di esempio e possono essere adattati a seconda della tipologia dei vini.

- 4.1 - Acqua demineralizzata - (ad esempio, ISO 3696 di tipo II o con resistività $\geq 18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)
- 4.2 - Etanolo [N. CAS 64-17-5], purezza $\geq 96\%$
- 4.3 - Idrogeno ad alta purezza per GC (ad esempio, $\text{H}_2\text{O} \leq 4 \text{ ppm}$; $\text{O}_2 \leq 2 \text{ ppm}$; $\text{C}_n\text{H}_m \leq 0,5 \text{ ppm}$; $\text{N}_2 \leq 4 \text{ ppm}$)
- 4.4 - Elio ad alta purezza per GC (ad esempio, $\text{H}_2\text{O} \leq 3 \text{ ppm}$; $\text{O}_2 \leq 2 \text{ ppm}$; $\text{C}_n\text{H}_m \leq 1 \text{ ppm}$; $\text{N}_2 \leq 5 \text{ ppm}$)
- 4.5 - Aria compressa ad alta purezza per GC
- 4.6 - Etanale [N. CAS 75-07-0], purezza $\geq 99\%$
- 4.7 - Acetato di etile [N. CAS 141-78-6], purezza $\geq 99,5\%$
- 4.8 - Metanolo [N. CAS 67-56-1] purezza $\geq 99,8\%$
- 4.9 - Diacetile [N. CAS 431-03-08], purezza $\geq 99\%$
- 4.10 - 2-butanolo [N. CAS 15892-23-6], purezza $\geq 99,5\%$
- 4.11 - 1-propanolo [N. CAS 71-23-8], purezza $\geq 99,5\%$
- 4.12 - 2-metil-1-propanolo [N. CAS 78-83-1], purezza $\geq 99,5\%$
- 4.13 - Acetato di isoamile [N. CAS 123-92-2], purezza $\geq 97\%$
- 4.14 - 1-butanolo [N. CAS 71-36-3], purezza $\geq 99,5\%$

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

- 4.15 - 4-metil-2-pentanol (standard interno) [N. CAS 108-11-2], purezza \geq 99%
- 4.16 - 2-metil-1-butanolo [N. CAS 137-32-6], purezza \geq 99%
- 4.17 - 3-metil-1-butanolo [N. CAS 125-51-3], purezza \geq 99.5%
- 4.18 - 1-pentanol [N. CAS 71-41-0], purezza \geq 99%
- 4.19 - Acetoina [N. CAS 513-86-0], purezza \geq 96%
- 4.20 - Lattato di etile [N. CAS 687-47-8], purezza \geq 98%
- 4.21 - 1-esanol [N. CAS 111-27-3], purezza \geq 99,0%
- 4.22 - 3-Etossipropanolo [N. CAS 111-35-3], purezza \geq 97%
- 4.23 - Ottanoato di etile [N. CAS 106-32-1], purezza \geq 99%
- 4.24 - Furfuraldeide [N. CAS 98-01-1], purezza \geq 99,0%
- 4.25 - Acido acetico [N. CAS 64-19-7], purezza \geq 99%
- 4.26 - (2R,3R) e (2R,3S) 2,3-butandiolo [N. CAS 513-85-9], purezza \geq 98%
- 4.27 - 1,2-propandiolo [N. CAS 57-556], purezza \geq 99,5%
- 4.28 - Butirrolattone [N. CAS 96-48-0], purezza \geq 99%
- 4.29 - Dietil succinato [N. CAS 123-25-1], purezza \geq 99%
- 4.30 - Acido esanoico [N. CAS 142-62-1], purezza \geq 99,5%
- 4.31 - 2-feniletanol [N. CAS 60-12-8], purezza \geq 99%
- 4.32 - Dietil malato [N. CAS 7554-12-3], purezza \geq 97%
- 4.33 - Acido ottanoico [N. CAS 124-07-2], purezza \geq 99,5%
- 4.34 - Acido decanoico [N. CAS 334-48-5], purezza \geq 99,5%

Nota: anche se presenti nei cromatogrammi, il diacetile e l'acido acetico non possono essere quantificati mediante questo metodo.

Preparazione delle soluzioni dei reagenti (le quantità vengono fornite a titolo esemplificativo ed è possibile modificarle a seconda delle tipologie di matrice da analizzare).

4.35 - Miscela idro-alcolica al 10% preparata con etanol (4.2) e acqua (4.1).

4.36 - Soluzione standard interno

Versare 1 mL di 4-metil-2-pentanol (4.15) in un matraccio da 100 mL. Portare a volume con etanol (4.2). Ripartire la soluzione in dei vial ed annotare su di essi la data di produzione. Conservare in frigorifero.

4.37 - Vino di riferimento interno o esterno, ad esempio un vino MRC (materiale di riferimento certificato) o un vino utilizzato come materiale di riferimento proveniente da prove inter-laboratorio.

4.38 - Soluzione standard madre

I composti vengono pesati individualmente con una sensibilità di \pm 1 mg (per i pesi nominali vedere la tabella riportata di seguito) utilizzando una bilancia di precisione (5.4). Al fine di evitare le perdite dovute all'evaporazione, aggiungere rapidamente un po' di etanol (4.2). Agitare e versare in un matraccio da 1 L (5.3). Risciacquare con etanol. Aggiungere 2,5 mL di 4-metil-2-pentanol (4.15). Portare a volume con etanol (4.2) fino a 1 L e omogeneizzare. Ripartire la soluzione in dei vial e conservare in freezer. Annotare i pesi esatti.

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

Composto	Peso nominale (mg)	Concentrazione finale nella soluzione standard di lavoro 4.39 (mg/L)	Composto	Peso nominale (mg)	Concentrazione finale nella soluzione standard di lavoro 4.39 (mg/L)
Etanale (4.6)	500	50	1-esanolo (4.21)	300	30
Acetato di etile (4.7)	1500	150	3-etossipropanolo (4.22)	160	16
Metanolo (4.8)	650	65	Furfuraldeide (4.24)	50	5
Diacetile (4.9)	50	5	Ottanoato di etile (4.23)	120	12
2-butanolo (4.10)	160	16	Acido acetico (4.25)	5000	500
1-propanolo (4.11)	350	35	2,3-butandiolo (4.26)	4000	400
2-metil-1-propanolo (4.12)	240	24	1,2-propandiolo (4.27)	1000	100
Acetato di isoamile (4.13)	250	25	Butirrolattone (4.28)	50	5
1-butanolo (4.14)	160	16	Dietil succinato (4.29)	500	50
2-metil-1-butanolo (4.16)	160	16	Acido esanoico (4.30)	250	25
3-metil-1-butanolo (4.17)	1000	100	2-feniletanolo (4.31)	500	50
1-pentanolo (4.18)	160	16	Dietil malato (4.32)	1000	100
Acetoina (4.19)	250	25	Acido ottanoico (4.33)	500	50
Lattato di etile (4.20)	1500	150	Acido decanoico (4.34)	750	75

4.39 – Soluzione standard di lavoro

Appena prima dell'utilizzo, diluire dieci volte la soluzione standard madre (4.38).

5 - Apparecchiatura

5.1 - Matracci graduati (di classe A) da 20 mL

5.2 - Matracci graduati (di classe A) da 100 mL

5.3 - Matracci graduati (di classe A) da 1 L

5.4 - Bilancia di precisione che consenta di eseguire delle pesate con una sensibilità di ± 1 mg.

5.5 - Gascromatografo dotato di:

- iniettore di tipo "split-splitless",
- campionatore automatico (opzionale),
- rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID),

5.6 - Colonna capillare in silice fusa:

- fase polare legata di tipo Carbowax 20M,
- lunghezza: 50 m,
- diametro interno: 0,32 mm,
- spessore del film: 0,45 μ m.

Nota: è possibile utilizzare altri sistemi se essi consentono di separare i diversi composti in modo soddisfacente.

6 - Preparazione dei campioni

I campioni di vini spumanti vengono dapprima degassati (ad esempio, prelevando il campione una prima volta con una pipetta automatica e recuperandolo in una provetta).

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

I vini con un contenuto zuccherino superiore a 20 g/L e le mistelle vengono distillati prima della preparazione.

Introdurre il campione in un matraccio da 20 mL (5.1). Aggiungere 0,5 mL di soluzione standard interno (4.36) e portare a volume con il vino.

7 - Procedimento

Eseguire l'analisi mediante gascromatografo (5.5) dotato di colonna capillare (5.6).

Condizioni analitiche (a titolo esemplificativo):

Gas di trasporto (4.4): $P_{\text{elio}} = 90 \text{ kPa}$

Note: è possibile utilizzare un altro gas di trasporto, come l'idrogeno. Si consiglia di evitare l'azoto.

Flusso nel setto: 2,5 mL/min

Flusso in colonna: 40 mL/min

Iniezione in modalità "split"

Volume iniettato: 1 μL

Temperatura dell'iniettore: 200 °C

Rivelatore: FID (rivelatore a ionizzazione di fiamma),

temperatura del rivelatore: 250 °C,

fiamma: $P_{\text{idrogeno (4.3)}} = 50 \text{ kPa}$ e $P_{\text{aria (4.5)}} = 130 \text{ kPa}$.

Programmazione della temperatura:

. temp. 1 = 32 °C a 2,5 °C/min, fino a 80 °C - $t_1 = 0 \text{ min}$,

. temp. 2 = 80 °C a 4 °C/min, fino a 170 °C - $t_2 = 20 \text{ min}$,

. temp. 3 = 170 °C a 10 °C/min, fino a 220 °C - $t_3 = 20 \text{ min}$.

Taratura

Iniettare la soluzione standard di lavoro (4.39) prima di ciascuna serie di analisi.

Calcolo dei fattori di risposta:

$$RF_i = (\text{area}_i \times C_{CIS}) / (C_{Ci} \times \text{area}_{IS})$$

C_{Ci} = concentrazione del composto nella soluzione standard

Area_i = area del composto della soluzione standard

C_{CIS} = concentrazione dello standard interno nella soluzione standard

Area_{IS} = area dello standard interno della soluzione standard

È altresì possibile utilizzare una curva di calibrazione.

Negli allegati figurano, a titolo esemplificativo, i cromatogrammi di una soluzione standard e di un vino.

8 - Calcoli

Nel caso in cui si utilizzi il fattore di risposta, il calcolo delle concentrazioni è il seguente:

$$C_{Ci} = (\text{area}_i \times C_{CIS}) / (RF_i \times \text{area}_{IS}).$$

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

9 - Precisione

Vedere l'allegato C.

10 - Garanzia e controllo qualità

Riconducibilità agli standard internazionali per massa, volume e temperatura.

Controlli sintetici e/o di riferimento provenienti, per esempio, da prove inter laboratorio, sono utilizzati come controllo di qualità interno. Carte di controllo possono essere utilizzate.

11 - Risultati

Le concentrazioni sono espresse in mg/L con le cifre significative riportate di seguito.

Parametri analitici	Cifre significative dopo la virgola	Parametri analitici	Cifre significative dopo la virgola
Etanale	0	Lattato di etile	0
Acetato di etile	0	1-esanolo	1
Metanolo	0	3-etossipropanolo	0
2-butanolo	1	Ottanoato di etile	0
1-Propanolo	0	Furfuraldeide	1
2-metil-1-propanolo	0	(2R, 3R) 2,3-butandiolo	0
Acetato di isoamile	1	2,3-butandiolo (meso)	0
1-butanolo	1	1,2-propandiolo	0
2-metil-1-butanolo	0	Butirrolattone	0
3-metil-1-butanolo	0	Dietil succinato	0
1-pentanolo	1	2-feniletanolo	0
Acetoina	0	Dietil malato	0

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

Allegato A: Bibliografia



BERTRAND, A., GUEDES DE PINHO, P. e ANOCIBAR BELOQUI, A. (1994). *Les constituants majoritaires du vin*, FV 971, OIV, 15 pagine.

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND

ALLEGATO B

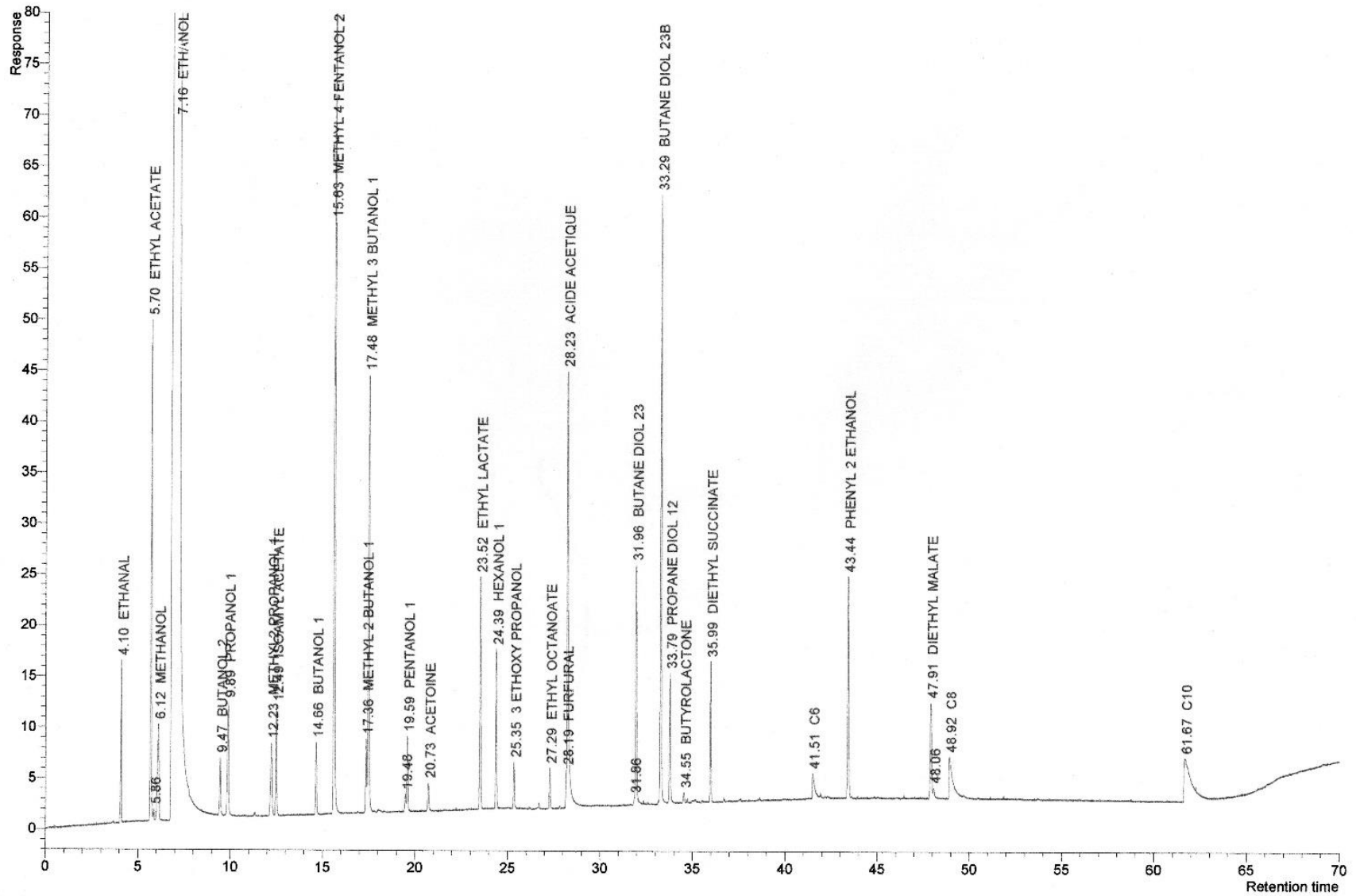


Figura 1: cromatogramma di una soluzione standard di composti volatili

Esempi di cromatogrammi

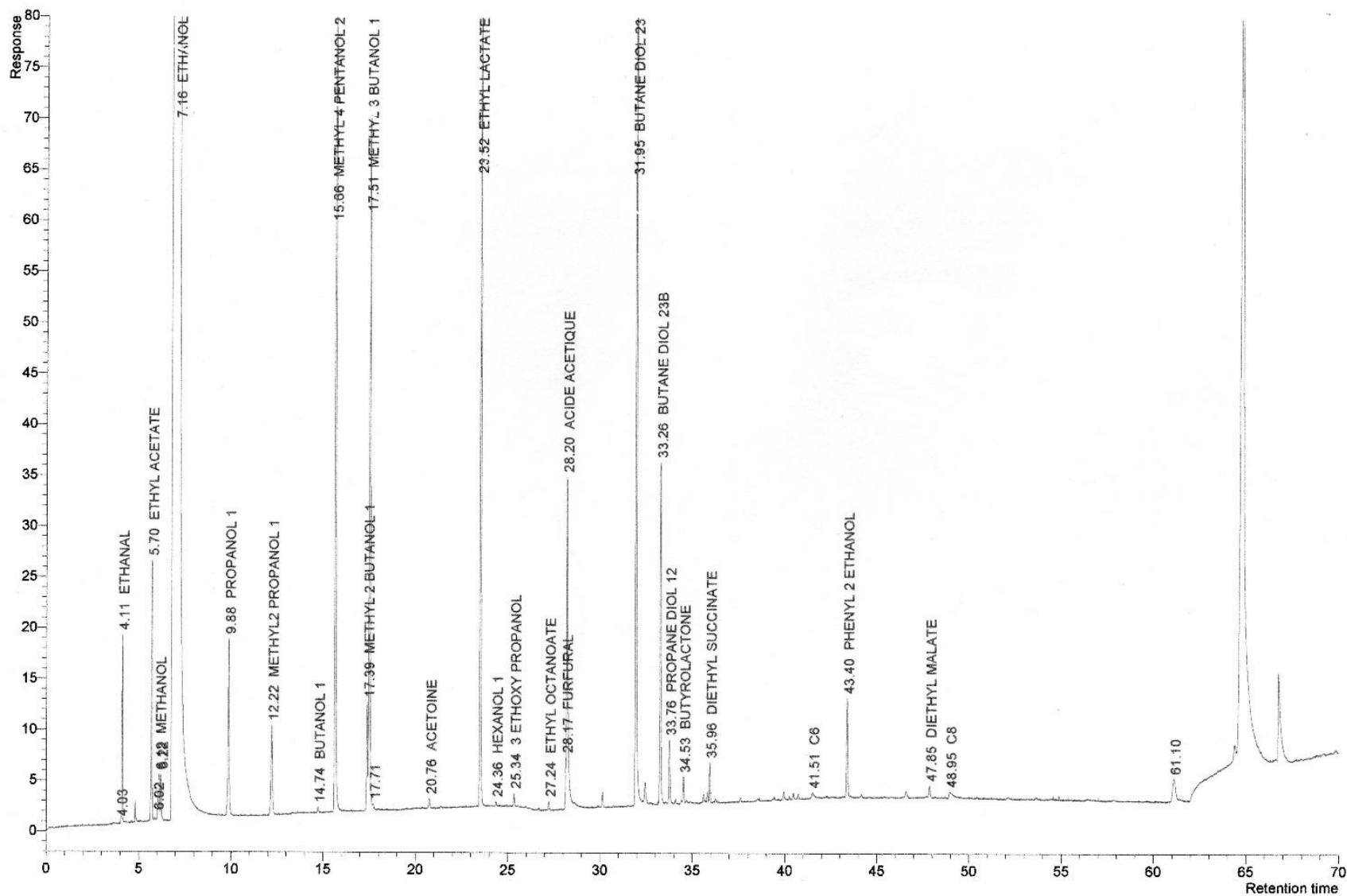


Figura 2: cromatogramma dei composti volatili di un vino bianco (zucchero < 15g/L).

Allegato C

Risultati statistici dell'analisi interlaboratorio

I risultati saranno comunicati ad aprile 2017.

*Esemplare certificato conforme
Bento Gonçalves, il 28 ottobre 2016
Il Direttore Generale dell'OIV
Secretario dell'Assemblea Generale*

Jean-Marie AURAND