

RÉSOLUTION OIV-OENO 687-2023

VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DE L'ACIDE SORBIQUE DANS LES VINS PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE (OENO 6/2006)

AVERTISSEMENT : Cette résolution modifie la résolution suivante :
OENO 6/2006

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

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 « Méthodes d'analyse »,

CONSIDÉRANT la résolution OENO 6/2006, « Dosage des acides sorbique, benzoïque, salicylique dans les vins par chromatographie liquide à haute performance », adoptée en 2006,

CONSIDÉRANT que cette validation ne concerne que l'acide sorbique,

DÉCIDE d'ajouter l'annexe A, Validation de la méthode de dosage de l'acide sorbique dans les vins par chromatographie liquide, et de faire passer la méthode pour l'acide sorbique de type IV à type II,

DÉCIDE de modifier la résolution OIV-OENO 06-2006, « Dosage des acides sorbique, benzoïque, salicylique dans les vins par chromatographie liquide à haute performance », et donc de la méthode OIV-MA-AS313-20, en appliquant les modifications suivantes, où les ajouts apparaissent en caractères gras et les parties supprimées sont biffées :

2. Domaine d'application

Tous les vins ou moûts de raisin en particulier ceux qui sont susceptibles de ne contenir que des traces d'acide sorbique, benzoïque ou salicylique (~~mise en évidence à partir de 1 mg/l~~).

3. Principe

Les antiseptiques sont dosés par HPLC par injection directe de l'échantillon dans une colonne fonctionnant par partage en phases inverses en isocratique avec détection ~~dans l'ultraviolet à 235 nm.~~^[1]

4.11. Solution hydroalcoolique à 50 % vol. ou autre concentration adéquate :
Placer 500 ml d'alcool pur (4.10) dans une fiole de 1 l compléter avec de l'eau distillée (4.1)

5.7 Détecteur pouvant fonctionner dans l'ultra violet 235 nm (1) muni d'une cuve à circulation pour CLHP (par exemple de 8 µl pour 1 cm de trajet optique)

5.8 Colonne pour CLHP de phase stationnaire de 5 µm type silice greffée par des groupes octadécyles (C18) de 20 cm de long 4 mm de diamètre intérieur (1).

6.2 Dégazer le solvant d'élution (4.6) durant 5 minutes à l'aide du bain à ultrasons (5.2) ou tout autre procédé adéquat.

6.3 Filtrer le solvant à l'aide du dispositif (5.43)

8. Calcul

Après avoir repéré les pics des acides à doser dans l'échantillon comparer l'aire des pics avec celles des acides d'une solution fille (4.13) de concentration C connue.

Par exemple soit s l'aire du pic de l'acide à doser. S l'aire du pic de la solution (4.13) de concentration C.

$$X_{\text{dans l'échantillon}} = C \times \frac{s}{S} \text{ en mg/l}$$

Il est également possible d'utiliser une gamme d'étalonnage et de déterminer la concentration par interpolation.

9. Caractéristiques de la méthode

9.1 Pour l'acide sorbique

L'étude interlaboratoires et les résultats correspondants sont décrits en annexe A.

- $r = 0.0148 x + 0.5498$
- $R = 0.0936 x + 1.5542$

- x : concentration en acide sorbique (mg/l)

9.2 Pour les acides benzoïque et salicylique

	Acide sorbique	Acide benzoïque	Acide salicylique
Domaine de linéarité	0 to 200 mg/l	0 to 200 mg/l	0 to 200 mg/l
Justesse (taux de récupération)	≥ 90 %	> 90 %	> 90 %
Répétabilité : r*	2%	3%	8%
Reproductibilité: R*	8%	9%	12%
Limite de détection	3 mg/l	3 mg/l	3 mg/l
Limite de quantification	5 mg/l	6 mg/l	7 mg/l
Incertitude	11%	12%	13%

ANNEXE A. Données statistiques obtenues à partir des résultats de l'étude interlaboratoires

Les paramètres suivants ont été définis au cours d'une étude interlaboratoires. Cette étude a été conduite par le laboratoire de l'Institut des vins du Douro et de Porto (Portugal).

Année de l'étude interlaboratoires : 2020

1. Laboratoires : 23 laboratoires de 14 pays différents

HBLA und Bundesamt für Wein- und Obstbau Klosterneuburg

Autriche



Département de l'agriculture	Chypre
Autorité tchèque de contrôle agricole et alimentaire	République tchèque
Comité interprofessionnel du vin de Champagne	France
Laboratoires Dubernet	France
Service commun des laboratoires, laboratoire de Montpellier	France
Service commun des laboratoires, laboratoire de Bordeaux	France
Landesuntersuchungsamt, Institut für Lebensmittelchemie	Allemagne
Lebensmittel- u. Veterinärinstitut Braunschweig/Hannover	Allemagne
Office national de la sécurité de la chaîne alimentaire	Hongrie
Unione Italiana Vini Servizi	Italie
Vassanelli Lab s.r.l.	Italie
AsureQuality Ltd Laboratory Services	Nouvelle-Zélande
Arcus Norway AS	Norvège
Autorité pour la sécurité alimentaire et économique (ASAE)	Portugal
Institut des vins du Douro et de Porto	Portugal
Université RUDN	Fédération de Russie
Laboratoire national pour la santé, l'environnement et l'alimentation (Novo Gorica)	Slovénie
Institut national de chimie	Slovénie
Laboratoire national pour la santé, l'environnement et l'alimentation (Novo Mesto)	Slovénie
Laboratorio Arbitral Agroalimentario	Espagne
Estación Enológica de Haro-La Rioja	Espagne
Département de génie agroalimentaire de l'Université de Çukurova	Turquie

2. Nombre d'échantillons : six échantillons en double

- 2 vins blancs : A/G, C/K
- 1 vin blanc de récolte tardive : I/O
- 1 vin rouge : D/M
- 1 vin rosé : B/F
- 1 vin rouge fortifié (titre alcoométrique : 19 % vol.) : E/N

3. Conditions d'analyse

Les conditions d'analyse sont résumées dans le tableau 1.

4. Résultats individuels

Les résultats individuels (mg/L) pour l'acide sorbique sont résumés dans le tableau 2.

5. Analyse des données

- Une analyse statistique a été réalisée suivant les recommandations de l'OIV afin d'obtenir des données de précision.
- Les valeurs en-deçà de la limite de quantification ont été traitées comme des valeurs normales.
- La détermination des valeurs aberrantes a été évaluée par les tests de Cochran et de Grubbs
- Les résultats sont résumés dans les tableaux 3 et 4.
- Les limites de répétabilité et de reproductibilité en fonction de la concentration en acide sorbique sont représentées dans la figure 1.
- Les z-score de chaque laboratoire a été évalué par rapport aux valeurs globales pour les différents échantillons. Les résultats sont indiqués dans la figure 2.

TABLEAU 1. CONDITIONS D'ANALYSE

Code Lab.	Courbe d'étalonnage	Colonne	Détection	Phase mobile	Débit (mL/min)	Température de la colonne (°C)	Volume d'injection (µL)
1	oui	Altima C18LL 5 µm 250 x 4,6 mm	□ = 235 nm	Eau pH = 2,0 / MeOH/ THF (650/280/70)	1	ambiante	20
2	oui	C18 250 x 4,6 Luna Phenomenex	□ = 235 nm	Acétate d'ammonium dans 1 L eau + 250 mL ACN (pH = 4 rectifié par CH ₃ COOH)	1,25	35	20
3	oui	Poreshell 120 EC-C18 150 x 4,4 mm ; 2,7 µm	□ = 235 nm	A : eau 0,7 % THF (pH = 2) / B : MeOH (80 % A et 20 % B)	1,5	40	5
4	oui	RP-18 (250-4)	□ = 254 nm	Tampon acétate d'ammonium (pH 4,4) : MeOH = 70:30	1	40	20
6	oui	PerfectSil Target ODS-3 HD. 5 µm. 250 x 4,6 mm	□ = 235 nm	ACN:Solution tampon (35:65) ; solution tampon = acétate d'ammonium (1,8 g/L) + acide acétique. pH = 4,3	1	40	2
7	oui	PoroShell C18 4.6 x 75 mm ; 2,7 µm	□ = 235 nm	Isocratique : 80 % eau acidifiée par acide sulfurique ; 20 % ACN	1,5	25	20
8	oui	Rezex-ROA- acide organique H ⁺ (8 %) -300 x 7,8 mm	□ = 254 nm	Solvant d'éluion acide sulfurique = 0,025 M	1	90	50

9	oui	HICROM Ultrasphere 5 µm ODS column. 250 x 4.6 mm	□ = 235 nm	650 mL eau pH 2 + 280 mL MeOH + 7 mL THF	0,6	25	20
10	oui	Teknokroma Trace Excel 120 ODSB 5 µm. 20 x 0.4 cm	□ = 235 nm	650 mL eau pH 2 (HCl 0,1 M) + 280 mL MeOH + mL THF	1	24	20
11	oui	C18 5 µm. 200 x 4 mm	□ = 235 nm				
12	oui	RP18 Chromolith 100 x 4,6 mm ; 5 µm	□ = 235 nm	770 eau pH = 2,3 (0,8 mL H ₃ PO ₄): isopropanol 200 mL. ACN 30 mL	1	25	10
13	oui	Phenomenex Gemini 5 µm. C18; 150 x 2 mm	□ = 240 nm	0,925 g acétate d'ammonium + 1,2 L eau + 0,8 L MeOH (pH 5,5 acide acétique)	0,4	40	10
15	oui	C18 5 µm. 200 x 4 mm	□ = 235 nm	90 % v/v eau 15 mL acide acétique + 15 g acétate d'ammonium 10 % v/v MeOH	1	40	10
16	oui	Prodigy 5 µm ODS-3 100. 150 x 4,6 mm avec colonne de garde C18	□ = 261 nm	80 % v/v eau pH = 4 (acide acétique pur) + 0,005 M acétate d'ammonium 20 % v/v ACN	1,2	40	50
17		Kinetex RP- C18 150 x 4,6 mm ; 5 µm	□ = 230 nm	11/89. MeOH:Tampon (Tampon = 3,0 g KH ₂ PO ₄ + 3,0 g K ₂ HPO ₄ + 100 mL eau)	0,6	40	6
18	oui	C18 Luna. Phenomenex	□ = 224 nm	95 % tampon phosphate : 5 % ACN	1,2	ambiante	20

19	oui	Phenomenex Aqua C18 125A 250 x 4,6 mm ; 5 µm	□ = 235 nm	0,005 M acétate d'ammonium (pH 4):ACN = 8:2	1	25	2
20	oui	Zorbax Eclipse XDB-C18 4.6 x 150 mm. 5 µm	□ = 235 nm	650 mL eau pH 2 (HCl 0,1 M) + 280 mL MeOH + 7 mL THF	1	ambiante	5
21	oui	RP-18 Nucloedur 100-C18. 3 µm. 50 mm	□ = 262 nm	A:B = 80:20 ; A : acétate d'ammonium. 0,002 mol/L. pH = 4,1 (rectifié par acide acétique conc.) ; B : MeOH/ACN 2:1	1	60	6
22	oui	HYPERSIL ODS 250X4,6 mm. 5 µm	□ = 235 nm		1,8	40	20
23	oui	RP-C18. 150 x 4,6 mm ; 5 µm	□ = 235 nm		1	25	20
24	oui	RP-C18 Purospher 125 x 4 mm ; 5 µm	□ = 235 nm	MeOH/0,02 M tampon acétate de sodium pH 4,4 = (30/70 v/v)	0,8	40	5
26	oui	Kinetex XB- C18 100 x 4,6 mm ; 2,6 µm	□ = 254 nm	Eau 0,1 % TFA. ACN 0,1 % TFA	1,5	30	10

TABLEAU 2. RÉSULTATS INDIVIDUELS POUR L'ACIDE SORBIQUE (mg/L)

Code du labora- toire	Vin blanc (A)		Rosé (B)		Vin blanc (C)		Vin rouge (D)		Vin fortifié (E)		Rosé (F)		Vin blanc (G)		Vin blanc (I)		Vin blanc (K)		Vin rouge (M)		Vin fortifié (N)		Vin blanc (O)	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	36,3	35,5	226, 0	221, 0	88,0	86,0	5,2	5,3	1,7	1,8	226, 0	224, 0	36,1	35,9	125, 0	124, 0	90,0	87,0	4,7	4,6	1,8	2,0	126, 0	126, 0
2	33,1	33, 2	210,7	208, 3	80,9	81,4	4,5	4,4	1,7	2,4	210, 4	209, 5	33,0	32,5	116, 0	114,9	81,2	80, 6	4,3	5,7	2,0	2,4	116,3	116, 1

3	34,1	34,5	216,8	215,5	84,7	84,5	5,3	5,2	2,5	2,3	216,3	217,2	34,5	34,3	119,8	120,1	84,5	84,3	5,7	5,7	2,4	2,4	120,5	120,2
4	34,7	35,0	223,1	224,7	89,3	88,6	5,1	5,1	2,1	2,2	220,0	221,6	34,5	34,8	123,1	123,2	86,7	86,4	5,2	5,2	2,1	2,1	123,1	123,5
6	34,3	34,6	214,2	215,2	83,9	84,0	5,5	5,6	1,9	2,0	215,0	215,6	34,6	34,7	120,6	120,7	83,6	83,9	6,2	6,5	2,0	2,1	120,1	121,1
7	34,0	35,0	217,0	218,0	84,0	85,0	5,0	6,0	3,0	3,0	218,0	218,0	35,0	35,0	122,0	123,0	86,0	84,0	5,0	5,0	2,0	2,0	122,0	122,0
8	33,9	33,4	216,8	218,5	86,2	83,8	4,5	4,5	2,0	2,0	218,8	215,5	35,2	33,9	122,0	118,9	84,2	84,3	4,3	4,1	2,0	2,0	124,5	123,3
9	32,5	32,5	197,4	198,2	81,0	80,7	3,4	3,4	1,4	1,4	197,0	195,8	32,1	32,2	112,5	112,2	79,3	79,4	3,3	3,3	1,3	1,2	113,5	113,7
10	34,1	34,1	216,0	217,0	83,7	83,6	5,7	5,6	2,2	2,1	216,0	216,0	34,2	34,0	118,0	119,0	83,4	83,4	5,6	5,8	2,1	2,1	120,0	119,0
11	36,8	37,0	227,2	229,9	90,2	90,4	4,6	4,8	2,1	1,9	224,2	225,6	37,1	36,8	127,4	127,0	88,4	89,0	4,0	4,3	2,1	1,9	128,0	128,5
12	31,0	31,0	207,0	202,0	78,0	78,0	4,0	3,0	2,0	2,0	209,0	209,0	32,0	32,0	111,0	111,0	79,0	78,0	4,0	5,0	2,0	2,0	109,0	109,0
13	35,0	35,0	219,0	220,0	86,0	87,0	6,0	6,0	3,0	3,0	220,0	220,0	35,0	36,0	124,0	124,0	85,0	87,0	7,0	7,0	3,0	3,0	123,0	123,0
15	32,0	32,0	200,0	199,0	79,0	78,0	4,0	4,0	1,7	1,6	200,0	199,0	32,0	32,0	111,0	111,0	79,0	78,0	4,0	4,0	1,7	1,6	111,0	111,0
16	31,3	29,1	213,1	214,2	84,7	84,2	4,3	4,3	1,9	1,9	217,3	216,0	30,3	31,0	120,1	119,6	83,5	84,2	4,2	4,6	2,0	2,0	119,3	120,1
17	35,6	35,4	217,8	221,4	87,0	86,0	5,2	5,4	2,3	2,4	215,5	219,5	35,6	35,3	122,2	123,4	85,9	86,5	5,4	5,5	2,7	2,5	122,3	123,9
18	35,0	37,0	235,0	246,0	88,0	85,0	6,1	5,2	7,5	7,7	220,0	209,0	36,0	37,0	124,0	125,0	94,0	88,0	6,5	6,6	7,8	7,4	127,0	128,0
19	31,0	30,0	183,0	187,0	71,0	72,0	8,0	8,0	-2,0	0,0	177,0	179,0	30,0	27,0	105,0	106,0	67,0	71,0	4,0	5,0	-1,0	-1,0	116,0	115,0
20	36,2	34,8	217,4	217,0	84,9	84,4	7,1	8,9	1,9	2,7	219,0	217,1	35,1	34,4	121,2	119,0	85,8	84,3	5,6	5,9	2,4	2,3	121,9	119,2
21	32,2	32,2	204,1	204,2	79,3	79,1	4,3	4,4	1,9	2,0	204,9	204,4	32,6	32,3	111,9	112,4	78,6	78,7	4,3	4,4	1,9	2,0	115,0	114,2
22	34,0	34,0	216,0	216,0	83,0	83,0	6,0	6,0	3,0	3,0	216,0	217,0	34,0	34,0	121,0	121,0	83,0	83,0	6,0	6,0	3,0	3,0	121,0	121,0
23	35,3	35,0	219,3	217,6	87,3	86,1	4,1	4,5	1,6	1,7	219,3	217,9	35,4	35,9	124,3	123,0	87,0	86,0	3,9	4,1	1,6	1,8	124,6	123,5
24	34,2	34,0	214,0	216,0	81,8	82,1	4,1	4,1	2,7	2,8	215,0	215,0	33,7	33,8	117,0	118,0	83,7	83,4	4,1	4,1	2,8	2,7	119,0	119,0
26	35,1	35,2	214,4	214,5	86,2	86,2	5,0	5,1	2,2	2,2	214,9	214,2	35,0	35,1	122,3	122,5	86,0	86,3	5,1	5,1	2,2	2,2	122,2	122,5

TABLEAU 3- RÉSULTATS POUR L'ACIDE SORBIQUE (mg/L)

Code du laboratoire	Vin blanc		Rosé		Vin blanc		Vin rouge		Vin fortifié		Vin blanc	
	A	G	B	F	C	K	D	M	E	N	I	O
1	35,90	36,00	223,50	225,00	87,00	88,50	5,25	4,65	1,75	1,90	124,50	126,00
2	33,15	32,25	209,50	209,95	81,15	80,80	4,45	5,00	2,05	2,20	115,45	116,20
3	34,30	34,40	216,15	216,75	84,60	84,40	5,25	5,70	2,40 ^{o)}	2,40 ^{o)}	119,95	120,35

4	34,85	34,65	223,90	221,00	88,95	86,55	5,10	5,20	2,15	2,10	123,15	123,30
6	34,45	34,65	214,70	215,30	83,95	83,75	5,58 ^{c)}	6,34	1,95 ^{c)}	2,08 ^{c)}	120,65	120,60
7	34,50	35,00	217,50	218,00	84,50	85,00	5,50	5,00	3,00 ^{b)}	2,00 ^{b)}	122,50	122,00
8	33,65	34,55	217,65	217,15	85,00	84,25	4,50	4,20	2,00	2,00	120,45	123,90
9	32,49	32,16	197,83	196,38	80,81	79,40	3,42	3,32	1,41	1,25	112,38	113,56
10*	34,10	34,10	216,50	216,00	83,65	83,40	5,66	5,68	2,15 ^{c)}	2,13 ^{c)}	118,50	119,50
11*	36,90	36,95	228,55	224,90	90,30	88,70	4,70	4,15	2,00 ^{c)}	2,00 ^{c)}	127,20	128,25
12	31,00	32,00	204,50	209,00	78,00	78,50	3,50	4,50	2,00	2,00	111,00	109,00
13	35,00	35,50	219,50	220,00	86,50	86,00	6,00	7,00	3,00	3,00	124,00	123,00
15*	32,00	32,00	199,50	199,50	78,50	78,50	4,00	4,00	1,65	1,65	111,00	111,00
16	30,20	30,65	213,65	216,65	84,45	83,85	4,28	4,38	1,94	1,96	119,85	119,70
17	35,53	35,44	219,61	217,53	86,51	86,19	5,30	5,47	2,38	2,61	122,82	123,12
18	36,00	36,50	240,50 ^{b)}	214,50 ^{b)}	86,50 ^{b)}	91,00 ^{b)}	5,65	6,55	7,60 ^{b)}	7,60 ^{b)}	124,50	127,50
19	30,50 ^{b)}	28,50 ^{b)}	185,00 ^{a)}	98,00 ^{a)}	71,50 ^{a)}	69,00 ^{a)}	8,00 ^{b)}	4,50 ^{c)b)}	-1,00 ^{c)a)}	-1,00 ^{c)a)}	105,50 ^{b)}	115,50 ^{b)}
20	35,50	34,75	217,20	218,05	84,65	85,05	8,00 ^{b)}	5,75 ^{b)}	2,30 ^{c)}	2,35 ^{c)}	120,10	120,55
21	32,20	32,45	204,15	204,65	79,20	78,65	4,36	4,36	1,94	1,94	112,15	114,60
22	34,00	34,00	216,00	216,50	83,00	83,00	6,00	6,00	3,00	3,00	121,00	121,00
23	35,15	35,65	218,45	218,60	86,70	86,50	4,30	4,00	1,65 ^{c)}	1,70 ^{c)}	123,65	124,05
24	34,10	33,75	215,00	215,00	81,95	83,55	4,10 ^{c)}	4,10 ^{c)}	2,75 ^{c)}	2,75 ^{c)}	117,50	119,00
26	35,13	35,06	214,45	214,58	86,21	86,15	5,07	5,07	2,17	2,17	122,37	122,35

a) Valeurs rejetées par le test de Grubbs (valeurs aberrantes en moyenne)

b) Valeurs rejetées par le test de Cochran (valeurs aberrantes en variance)

c) Valeurs trouvées par le laboratoire situées en-deçà de la limite de quantification

TABLEAU 4. DONNÉES SUR LA PRÉCISION

Indicateurs	blanc	Vin (A/G)	Rosé (B/F)	Vin blanc (C/K)	Vin rouge (D/M)	Vin fortifié (E/N)	Vin blanc (I/O)
Nombre de laboratoires		22	21	21	21	20	22
Nombre de répétitions		2	2	2	2	2	2
Minimum (mg/L)		30,20	196,38	78,00	3,32	1,25	109,00
Maximum (mg/L)		36,95	228,55	90,30	7,00	3,00	128,25
Variance de répétabilité s_r^2		0,0942	1,5249	0,4191	0,1201	0,0037	0,9397
Variance intergroupe s_b^2		2,6370	55,1140	9,7049	0,6418	0,1793	22,4914
Variance de reproductibilité s_t^2		2,7312	56,6389	10,1240	0,7619	0,1830	23,4311
Moyenne (mg/L)		34,16	214,72	83,96	4,92	2,15	120,07
Écart type de répétabilité (mg/L)		0,31	1,23	0,65	0,35	0,06	0,97



Limite de répétabilité (mg/L)	0,869	3,495	1,832	0,981	0,172	2,743
Écart type relatif de répétabilité (%)	0,9	0,6	0,8	7,0	2,8	0,8
Écart type de reproductibilité (mg/L)	1,65	7,53	3,18	0,87	0,43	4,84
Limite de reproductibilité (mg/L)	4,677	21,298	9,005	2,470	1,211	13,699
Écart type relatif de reproductibilité (%)	4,8	3,5	3,8	17,7	19,9	4,0
Horrat	0,5	0,5	0,5	1,4	1,4	0,5

FIGURE 1. CORRÉLATION ENTRE LA CONCENTRATION EN ACIDE SORBIQUE ET LA PRÉCISION

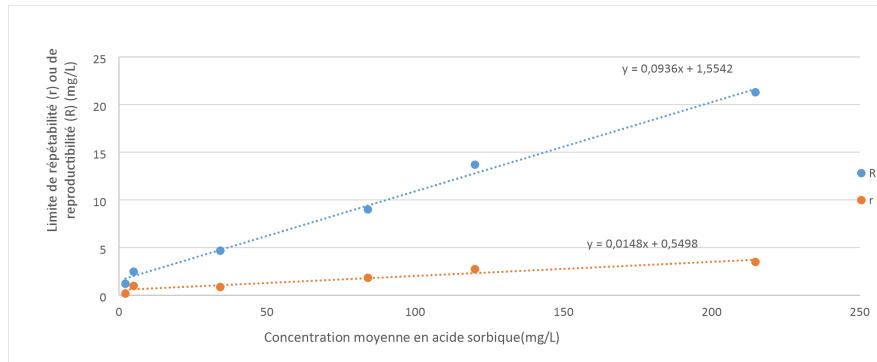
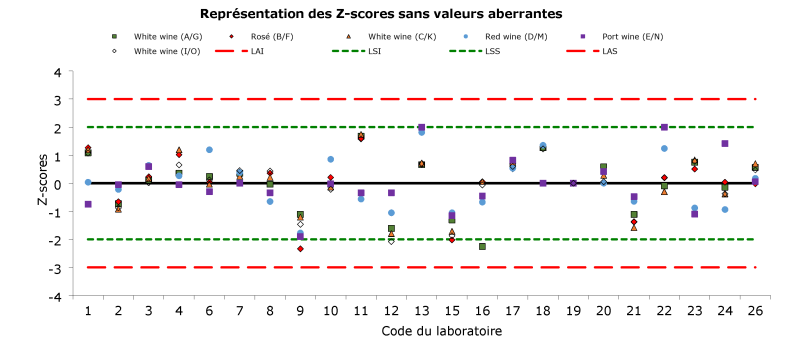


FIGURE 2. REPRÉSENTATION DES Z-SCORES SANS VALEURS ABERRANTES



*LAI : limite d'action inférieure ; LAS : limite d'action supérieure ; LSI : limite d'alerte inférieure ; LSS : limite d'alerte supérieure

[1] Pour l'analyse de l'acide sorbique, la colonne et la longueur d'onde sont fournies à titre d'exemple.