

RESOLUTION OIV-OENO 521-2013

METHODE DE DOSAGE DE PHTALATES DANS LES BOISSONS SPIRITUEUSES PAR COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE en phase gazeuse et SPECTROMETRIE DE MASSE

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 des Méthodes d'Analyse,

DECIDE sur proposition de la Commission II "Oenologie" d'introduire la méthode de type IV suivante au « *Recueil des méthodes internationales des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole* »

METHODE DE DOSAGE DE PHTALATES DANS LES BOISSONS SPIRITUEUSES PAR COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE ET SPECTROMETRIE DE MASSE

Type de méthode : IV

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode s'applique à la recherche et au dosage de certains phtalates dans les boissons spiritueuses.

2. PRINCIPE

L'échantillon est soumis à une extraction par un solvant apolaire. On procède à l'analyse de l'extrait par couplage chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS) avec standard interne.

L'analyse peut également être effectuée en direct mais avec des limites de détection plus élevées. Dans ce cas, on ajoute directement le standard interne avant injection en GC/MS.

3. REACTIFS ET PRODUITS

Sauf spécification contraire, tous les réactifs utilisés sont de qualité analytique

reconnue :

- 3.1. DBP (Di-butyl phtalate) [n° CAS : 84-74-2],
- 3.2. DEHP (Di-(2-ethylhexyl) phtalate) [n° CAS : 117-81-7],
- 3.3. BBP (Butyl benzyl phtalate) [n° CAS : 85-68-7],
- 3.4. DIBP (Di-isobutyl phtalate) [n° CAS : 84-69-5],
- 3.5. autres phtalates si nécessaire (remarque : le diisodécyl et diisononyl phtalate sont chacun un mélange de composés dont certains sont communs aux deux),
- 3.6. standard interne (par exemple : dipentyl phtalate [n° CAS : 131-18-0]),
- 3.7. éthanol absolu,
- 3.8. eau milliQ,
- 3.9. solvant d'extraction apolaire, exempt de phtalates, par exemple : toluène,

Solutions étalons

Les concentrations données dans cette méthode le sont à titre indicatif :

3.10. Solution standard interne mère

500 mg/L dans l'éthanol,

3.11. Solution standard interne fille

50 mg/L dans l'éthanol,

3.12. Solution mère phtalates

Les différents phtalates à 500 mg/L dans l'éthanol :

- Disobutyl phtalate,
- Dibutyl phtalate,
- Diethyl hexyl phtalate,
- Butyl benzyl phtalate,

Autres si nécessaire

3.13. Solution fille phtalates

La solution est préparée en diluant au 1/5 la solution mère dans l'éthanol.

3.14. Gamme d'étalonnage

Préparer une solution hydroalcoolique à 40 % vol. : verser 80 mL d'éthanol dans une fiole de 200 mL puis compléter avec de l'eau. Une gamme multipoints est préparée selon le tableau 1:

Tableau 1

Préparation des étalons

Solution hydroalcoolique à 40 % vol. (mL)	Niveau de concentration (mg/L)	Volume de solution fille (µL) [3.13.]	Concentration solution fille (mg/L)
25	0 (blanc)	0	100
25	0,2	50	100
25	0,4	100	100
25	0,8	200	100
25	1,2	300	100
25	1,6	400	100
25	2,0	500	100

4. MATERIEL

- Verrerie et matériels volumétriques de laboratoire
- Balance analytique
- Système CPG-MS

5. MODE OPERATOIRE

5.1. Précautions

Du fait de la présence de phtalates dans l'environnement, l'analyse de ces composés nécessite des précautions tout au long de l'analyse :

- Éviter tout contact avec du matériel en matière plastique,

- Tester les solvants utilisés,
- Utiliser de la verrerie rincée avec un solvant adapté,
- Éviter les contaminations à partir du septum des vials d'injection.

5.2. Préparation des échantillons

L'extraction est réalisée sur des échantillons de TAV de 40 % vol. ou ramenés à 40 % vol (+/- 5% vol).

Extraction : dans une allonge en verre

- 25 mL d'échantillon ou de solution d'étalonnage,
- 50 µL de solution de standard interne,
- 2 mL de solvant apolaire.

Extraire 3 min au Vortex.

Récupérer la phase organique dans les flacons d'injecteur automatique.

Préparer un blanc de la même façon (avec une solution hydroalcoolique à 40 % vol.).

5.3. Conditions chromatographiques (à titre d'exemple)

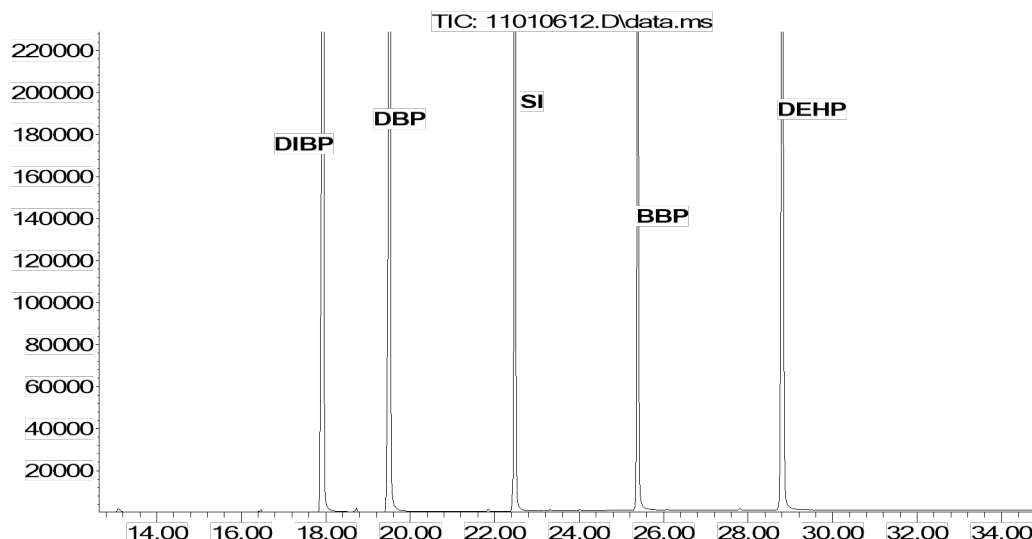
- Colonne de type apolaire (DB5 MS :30 m x 0.25 mm x 0.25 µm)
- Injecteur à 250°C,
- Injection en mode splitless,
- Dans le cas d'analyse en direct choisir le mode split avec un ratio de 1/10.
- Programmation de température du four (exemple) : 80°C (0,7 min) à 20°C/min jusqu'à 110°C puis 6°C/min jusqu'à 245°C (isotherme 30 min).
- Helium : 1ml/min
- Volume injecté : 1µl

Conditions SM :

Ionisation en mode EI

Mode SIM sur l'ion 149 ou mode SIM/ SCAN

Quantité



Temps

Figure 1-Chromatogrammes GC/MS d'une solution de phtalates et du standard interne

5.4. Séquence d'injection

Commencer la séquence par l'analyse du «blanc», injecter ensuite les solutions d'étalonnage et les échantillons. Il est conseillé d'injecter régulièrement des blancs.

5.5. Expression des résultats

Le repérage se fait par le temps de rétention.

Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g/L}$ ou en mg/L .

Appliquer le facteur multiplicatif correspondant à la dilution réalisée pour ramener l'échantillon à 40 % vol..

Les résultats des blancs (moyenne et dispersion) doivent être pris en compte, ce, avec ou sans correction du blanc, pour évaluer :

- Les limites de quantification et de détection,
- L'incertitude de mesure.

La moyenne des blancs et leur dispersion doivent être estimées sur des répétitions réalisées avec différents étalonnages. La cohérence des résultats des blancs avec ces références doit être vérifiée.

6. Caractéristiques de la méthode

Les caractéristiques de la méthode présentées concernent le mode opératoire décrit avec extraction liquide/liquide.

6.1. Linéarité

La linéarité (tableau 2) a été évaluée sur 7 niveaux (cf. tableau1). Pour des niveaux de concentration supérieurs, une courbure a été observée.

Tableau 2: Linéarité

Composé	Domaine de Travail (mg/L)	R ² linéaire
DIBP	0,0-2,5	1,000
DBP	0,0-2,5	1,000
BBP	0,0-2,5	1,000
DEHP	0,0-3,5	1,000

6.2. Recouvrements

Le tableau 3 présente les recouvrements observés.

Tableau 3: Recouvrements

		DIBP	DBP	BBP	DEHP
	Recouvrement moyen (%)	91%	93%	101%	98%
	Recouvrement min. (%)	86%	85%	96%	91%

	Recouvrement max. (%)	95%	101%	104%	101%
--	-----------------------	-----	------	------	------

6.3. Répétabilité et fidélité intermédiaire (intralaboratoire)

Les analyses pour déterminer la répétabilité et la fidélité intermédiaire ont été réalisées sur un échantillon supplémenté (tableaux 4 et 5). La fidélité intermédiaire correspond à 2 mois de résultats sur cet échantillon utilisé comme autocontrôle.

Tableau 4 : Répétabilité (mg/L)

	N de degrés de liberté	Niveau	Ecart type	CV (%)
DIBP	9	0,3135	0,0026	0,8%
DBP	9	0,3290	0,0024	0,7%
BBP	9	0,5141	0,0034	0,7%
DEHP	9	1,4887	0,0159	1,1%

Tableau 5: Fidélité intermédiaire (mg/L)

	N de degrés de liberté	Niveau	Ecart type	CV (%)
DIBP	28	0,3075	0,0088	2,8%
DBP	28	0,3230	0,0076	2,3%
BBP	28	0,5211	0,0111	2,1%
DEHP	28	1,5213	0,0663	4,4%

6.4. Limites de détection et de quantification

Le tableau 6 présente les limites de détection et de quantification évaluées.

Tableau 6: limites de détection et de quantification (mg/L)

	Injection directe Limite de détection calculée *	Extraction Limite de détection calculée*	Extraction, Limite de Quantification, **
DIBP	0,019	<0,001	0,010
DBP	0,059	<0,001	0,010
BBP	0,100	<0,001	0,010
DEHP	0,033	<0,001	0,050

* selon le calcul basé sur le ratio signal/bruit (S/N)

** Limite de quantification avec prise en compte des blancs

7. REFERENCES

1. **WENZL T., 2009.** Methods for the determination of phthalates in food. Outcome of a survey conducted among European food control laboratories. EUR 23682 EN – 2009.