

RESOLUTION OENO 2/2006

DOSAGE DU DIOXYDE DE CARBONE DANS LES VINS PAR METHODE MANOMETRIQUE

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 pour une échelle de concentration allant de 0,5 g/l à 7 g/l

Titre	Type de Méthode
DOSAGE DU DIOXYDE DE CARBONE DANS LE VIN PAR METHODE MANOMETRIQUE	II

1. PRINCIPE

Le dioxyde de carbone de l'échantillon est fixé par de la soude 10M. Il est ensuite libéré par de l'acide sulfurique dans une fiole à vide connectée à un manomètre. L'augmentation de pression qui en résulte permet de calculer la quantité de dioxyde carbone contenu dans l'échantillon.

2. REACTIFS

2.1. Eau fraîchement distillée ou désionisée ;

2.2. Hydroxyde de sodium (pureté >98%) ;

2.3. Acide sulfurique (pureté >95-97%) ;

2.4. Carbonate de sodium anhydre (pureté >99%).

Préparation des solutions réactives

2.5. Hydroxyde de sodium 10 M : Dissoudre 100 g d'hydroxyde de sodium (2.2) dans

200 ml d'eau (2.1) et ajuster à 250 ml dans une fiole jaugée.

2.6. Acide sulfurique à environ 50 % (v/v) : Ajouter avec précaution, de l'acide sulfurique (2.3) à un volume égal d'eau (2.1). Bien mélanger par agitation. Laisser refroidir jusqu'à température ambiante.

2.7. Mélange étalon de dioxyde de carbone à 10 g/l : sécher le carbonate de sodium une nuit (2.4) dans un four à 260-270°C, laisser revenir à température ambiante dans un dessiccateur. Dissoudre 6,02 ± 0,01 g de carbonate de sodium séché dans de l'eau (2.1) et ajuster à 250 ml dans une fiole jaugée.

2.8. Mélanges étalons de dioxyde de carbone à 0,4 ; 1 ; 2 ; 4 and 6 g/l : à l'aide de pipettes verser 2, 5, 10, 20 et 30 ml de la solution étalon (2.7) dans des fioles jaugées de 50 ml et ajuster avec de l'eau (2.1).

3. APPAREILLAGE

3.1. Fioles jaugées de 250 ml et 50 ml ;

3.2. Four ;

3.3. Dessiccateur ;

3.4. Balance d'une exactitude de ± 0.1 mg ;

3.5. Réfrigérateur ou bain réfrigérant à - 4°C ;

3.6. Densimètre électronique (ou pycnomètre) et bain thermostaté à 20 °C ;

3.7. Pipettes de 0,5, 2, 3, 5, 10, 20 et 30 ml ;

3.8. flacons coniques de 100 ml, à large ouverture ;

3.9. Manomètre numérique (permettant de mesurer des écarts de pression de l'ordre de 200 kPa avec une exactitude de 0,1 kPa) ;

3.10. Fiole à vide de 25 ml équipé d'un flacon de réaction de 3 ml et d'une vanne trois voies (voir la figure 1) ;

3.11. Générateur de vide (par exemple une trompe à eau).

3.12 Ampoule à décanter

4. MODE OPERATOIRE

4.1. Préparation de l'échantillon

Préparer les échantillons en double. Refroidir l'échantillon en le laissant une nuit dans un réfrigérateur ou 40 minutes dans un bain réfrigérant à - 4°C (3.5). Verser 3 ml d'hydroxyde de sodium 10M (2.5) dans un flacon conique de 100 ml (3.8). Peser le

flacon et son contenu à 0,1 mg près. Verser approximativement 75 ml de l'échantillon refroidi dans le flacon cône contenant l'hydroxyde de sodium. Peser à 0,1 mg près. Mélanger et laisser revenir à température ambiante.

4.2. Dosage du dioxyde de carbone contenu par méthode nanométrique

Transférer 2 ml de l'échantillon préparé (4.1) dans la fiole à vide (3.10). La connecter au manomètre (3.9) via la vanne à trois voies en position ouverte. A l'aide d'une pipette (3.7) déposer 0,5 ml d'acide sulfurique à 50 % (2.6) dans le flacon de réaction. Le raccorder à la fiole à vide. Fixer et sécuriser l'ensemble à l'aide de clips. Noter la pression. Fermer la vanne trois voies. Mélanger l'acide et l'échantillon en inclinant l'ensemble et en le secouant vigoureusement. Noter la pression. L'échantillon peut être dilué si nécessaire.

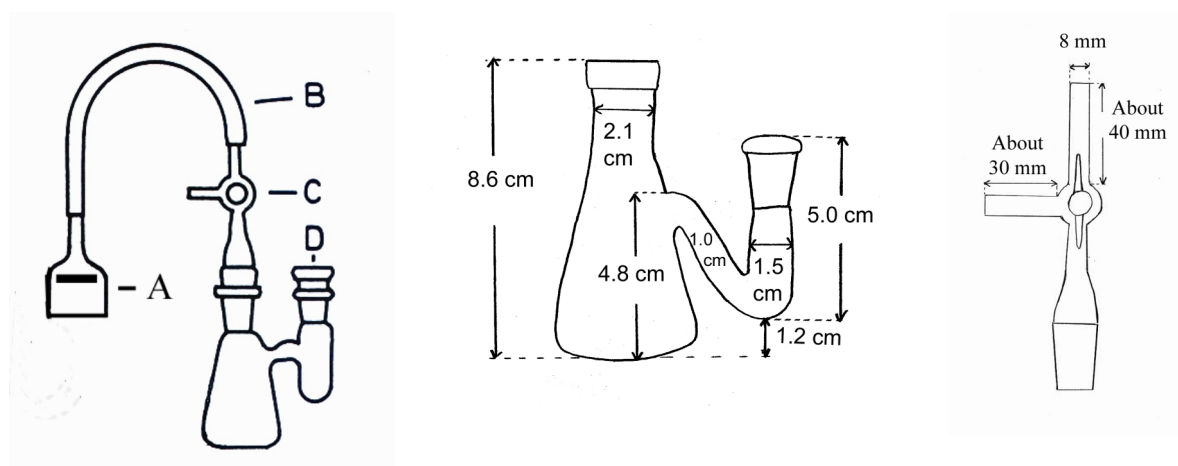


Fig. 1. Appareillage. A manomètre, B tuyau en caoutchouc, C valve à trois voies, D ballon à réaction (gauche) et caractéristiques approximatifs de la verrerie (centre et à droite)

4.3. Etalonnage

Evaluer le contenu de dioxyde de carbone dans les solutions d'étalonnage (4.2). Déterminer trois solutions d'étalonnage qui encadrent la valeur de l'échantillon. Ces points d'étalonnage sont répétés deux fois.

4.4. Mesure de la densité de l'échantillon.

Enlever le contenu de dioxyde de carbone des solutions d'étalonnage par agitation

dans une ampoule à décanter puis sous un vide généré par une trompe à eau pendant trois minutes. Mesurer la masse volumique à l'aide d'un densimètre électronique ou d'un pycnomètre.

5. CALCUL

Calculer l'augmentation de pression due au dioxyde carbone libéré par chaque solution étalon et tracer le graphique.

Calculer la pente (a) et l'ordonnée à l'origine (b).

Le volume V de l'échantillon est donné par la formule :

- $V = [(m_2 - m_1) \times 1000] / d$ (1)

où

m_1 (g) = poids de (fioule à vide + 3 ml NaOH) ;

m_2 (g) = poids de (fioule à vide + 3 ml NaOH + échantillon) ;

d (kg/m³) = masse volumique de l'échantillon.

L'augmentation de pression p_i provoquée par le dioxyde de carbone libéré de l'échantillon est donné par la formule:

- $p_i = p_s - p_{ap}$ (2)

où

p_s = lecture de la pression après action de dioxyde de carbone de l'échantillon

p_{ap} = lecture de la pression avant addition de H₂SO₄ (par exemple la pression atmosphérique)

La concentration (C) du dioxyde de carbone dans l'échantillon (en g/L) est donnée par :

- $C = [(p_i - b) / a] \times [(V + 3)/V] \times L$ (3)

où

p_i = augmentation de pression (équation 2)

a = pente de la droite d'étalonnage

b = ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage

V = volume d'échantillon (équation 1)

L = facteur de dilution en cas de dilution de l'échantillon

La teneur en % de masse de dioxyde de carbone est donnée par :

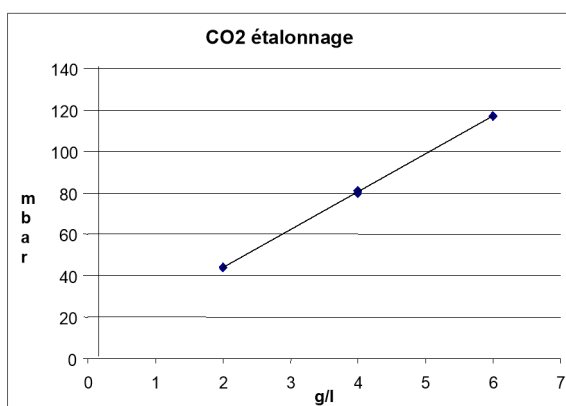
$$\bullet \text{ CO}_2 \% (\text{m/m}) = C \times 100/d \text{ (4)}$$

Exemple de calcul de la teneur en dioxyde carbone :

Etalonnage

Conc de l'étalon g/l	pression initiale mbar	pression finale mbar	augmentation de pression mbar
2	1021	1065	44
2	1021	1065	44
4	1021	1101	80
4	1021	1102	81
6	1021	1138	117
6	1021	1138	117

pende	18.25000
ordonnée à l'or.	7.50000
correlation	0.99995



Echantillon	masse volumique d (en kg/m ³)	poids (fiolle + soude) ml (g)	poids (fiolle + soude +échant.) ml (g)	pression initiale p _{ap} (mbar)	Pression finale p _s (mbar)	p _s - p _{ap} (2)	volume de l'échantillon V (mL) (1)	CO ₂ (g/L) (3)	valeur moyenne de CO ₂ (g/L)
vin mousseux 1	1027,2	84,6287	156,1620	1021	1112	91	69,64	4,77	4,80
vin mousseux 1	1027,2	84,6287	156,1620	1021	1113	92	69,64	4,83	

vin mousseux 2	1025,3	86,1066	153,4407	1021	1118	97	65,67	5,13	5,13
vin mousseux 2	1025,3	86,1066	153,4407	1021	1118	97	65,67	5,13	

6. VALIDATION

6.1. Performances de la méthode

- - Ecart type moyen estimé d'après les répétitions, $s_o = 0,07$ g/l
- - Ecart-type relatif, RSD = 1,9%
- - Répétabilité, $r = 5,6$ %
- - Incertitude élargie ($k=2$), $U = 3,8\%$
- Gamme d'étalonnage 0,4-6 g/L
- Gamme de détermination 0,3 -12 g/L (échantillons avec concentration au dessus de 6 g/L à diluer 1 :2 avec l'eau conformément à la gamme de calibration)
- Limite de détection 0,14 g/L
- Limite de quantification 0,48 g/L

Annexe A

Référence

1. European Brewery Convention Analytica-EBC, Fourth edition, 1987, 9.15 Carbon dioxide.
2. Ali-Mattila E et Lehtonen P.(2002), OIV, FV 1153.
3. OIV, SCMA 2002, FV N° 1153, determination of carbon dioxide in alcoholic beverages by a modified EBC method

4. OIV, SCMA 2004, FV N° 1192, determination of carbon dioxide in alcoholic
5. Beverages by a modified EBC method, Statistical results of the collaborative study
6. OIV, SCMA 2005, FV N° 1222, comparison of the titrimetric method and the modified EBC method for the determination of carbon dioxide in alcoholic beverages
7. Ali-Mattila, E. and Lehtonen, P., Determination of carbon dioxide in alcoholic beverages by a modified EBC method, *Mitteilungen Klosterneuburg* 52 (2002): 233-236

Annexe B

Résultats statistiques de l'étude collaborative

DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN DIOXYDE DE CARBONE DES BOISSONS ALCOLISÉES SELON UNE MÉTHODE EBC MODIFIÉE

1. But de l'étude

L'étude avait pour objectif de déterminer la répétabilité et la reproductibilité de la méthode EBC modifiée de détermination de la teneur en dioxyde de carbone des vins, vins mousseux, cidres et bières.

2. Besoins et finalité de l'étude

La fermentation produit du dioxyde de carbone dans les boissons alcoolisées. Dans la production de vins mousseux, le dioxyde de carbone est l'un des produits les plus essentiels et peut également être ajouté à certaines boissons alcoolisées. Le dioxyde de carbone modifie le goût et l'arôme et est un agent de conservation des boissons alcoolisées.

Conformément aux définitions du Code international des pratiques œnologiques, les vins mousseux devront présenter une surpression minimale de 3 bars, due au dioxyde de carbone en solution, lorsqu'ils sont conservés à la température de 20°C dans des récipients fermés. De même les vins pétillants devront présenter une surpression minimale de 1 bar et maximale de 2,5 bars. Des surpressions de 3 bars, 2,5 bars et 1 bar correspondent respectivement à 20°C à environ 5,83 g/L, 5,17 g/L et 3,08 g/L de

dioxyde de carbone en solution.

A l'heure actuelle, il n'existe aucune méthode pratique et fiable permettant de doser le dioxyde de carbone dans les boissons alcoolisées. La grande variabilité des teneurs dioxyde de carbone obtenues lors d'essais d'aptitude internationaux indique clairement la nécessité de disposer d'une méthode fiable.

3. Portée et applicabilité

La méthode proposée est quantitative et applicable à la détermination de la teneur en dioxyde de carbone des boissons alcoolisées. Cette méthode a été validée dans le cadre d'une étude collaborative de détermination de la teneur en dioxyde de carbone de vins, bières, cidres et vins mousseux au moyen d'analyses pratiquées à des niveaux compris approximativement entre 0,4 g/L et 12 g/L (Remarque : le niveau d'étalonnage actuel est compris entre 0,4 g/L et 6 g/L. Les échantillons doivent être dilués avec de l'eau jusqu'à ce niveau, lorsque la teneur en dioxyde de carbone est supérieure à 6 g/L).

4. Matériaux et matrices

L'étude collaborative a porté sur 6 échantillons différents. Tous les échantillons, à l'exception des échantillons de bière, ont été envoyés en double aveugle, ce qui fait qu'au total 12 bouteilles ont été distribuées aux participants : deux de bière, deux de cidre, deux de vin rouge, deux de vin blanc, deux de vin pétillant et deux de vin mousseux. Chaque bouteille a reçu un code individuel pour chaque participant. Tous les échantillons ont été présentés dans leurs bouteilles d'origine, et les étiquettes ont été enlevées sur tous les échantillons à l'exception des échantillons de vin mousseux. La mesure de la quantité de dioxyde de carbone dans 10 bouteilles du même lot a permis d'évaluer l'homogénéité des échantillons.

5. Échantillons d'apprentissage

Quatre échantillons témoins ont été remis aux participants pour qu'ils se familiarisent avec la méthode. Ces échantillons comprenaient un échantillon de bière, un de vin, un de vin pétillant et un de vin mousseux.

6. Mode opératoire et documents de support

Le mode opératoire et un tableau Excel pour le calcul des résultats ont été remis aux

participants.

Des documents de support ont également été fournis, parmi lesquels la lettre d'accompagnement, un formulaire de prise en charge d'échantillons et des fiches de résultat.

7. Analyse des données

7.1. La détermination des valeurs aberrantes a été évaluée en utilisant les tests de Cochran et de Grubbs ainsi que le test de Grubbs bilatéral.

7.2. Une analyse statistique a été effectuée pour obtenir les données de répétabilité et de reproductibilité.

8. Participants

Neuf laboratoires de différents pays ont participé à l'étude collaborative. Des codes ont été attribués à ces laboratoires. Les laboratoires participants avaient une expérience établie en matière d'analyse de boissons alcoolisées.

Alcohol Control Laboratory

Altia Ltd

Alko Inc.

Valta-akseli

P.O.Box 279

Rajamäki

FIN-01301 Vantaa

Finlande

Arcus AS

ARETO Ltd

Haslevangen 16

Mere pst 8a

P.O.Box 6764 Rodeløkka.O.Box 279

10111 Tallinn

0503 Oslo
Norvège

Estonie

Bundesamt für Weinbau

Comité Interprofessionnel du Vin de Champagne

Gölbeszeile 1
A-7000 Eisenstadt
Autriche

5, rue Henri MARTIN
BP 135
51204 EPERNAY CEDEX

High-Tec Foods Ltd
Ruomelantie 12 B
02210 Espoo
Finlande

Institut für Radioagronomie Forschungszentrum
Jülich GMBH
Postfach 1913
52425 JÜLICH, Allemagne

Systembolagets laboratorioum
Armaturvägen 4,
S-136 50 HANINGE
Suède

9. Résultats

L'homogénéité des échantillons a été déterminée par l'« Alcohol Control Laboratory » (Finlande), en mesurant la teneur en dioxyde de carbone de 10 bouteilles du même lot. Des échantillons portant les numéros de lots correspondants ont été envoyés aux participants :

CO ₂ g/L	Bière 1	Bière 2	Cidre	Vin blanc	Vin rouge	Vin pétill.	Vin mouss.
Moy.	5,191	5,14	4,817	1,337	0,595	5,254	7,463
s	0,020	0,027	0,025	0,036	0,038	0,022	0,046

Selon l'essai d'homogénéité, la teneur en CO₂ des deux bières était la même, elles furent donc considérées comme doubles aveugles.

Les résultats individuels pour l'ensemble des échantillons et laboratoires de l'étude collaborative sont donnés ci-dessous.

Code Lab	Bière 1	Bière 2	Cidre 1	Cidre 2	Vin blanc 1	Vin blanc 2	Vin rouge 1	Vin rouge 2	Vin pétill. 1	Vin pétill. 2	Vin mouss. 1	Vin mouss. 2
A	5,39	5,08	4,75	4,91	1,25	1,11	0,54	0,54	5,15	5,22	6,93	6,91
B	4,76	5,53	4,71	4,70	1,90 ³	1,78 ³	0,73 ²	1,19 ²	5,85 ³	5,93 ³	7,66 ³	7,72 ³
C	5,15	5,14	4,93	4,94	1,36	1,41	0,51	0,48	5,23	5,33	7,33	7,36
D	3,13 ¹	3,95 ¹	4,36 ¹	0,38 ¹	1,11 ¹	1,11 ¹	0,43 ¹	0,38 ¹	4,47 ¹	4,29 ¹	5,54 ¹	5,52 ¹
E	4,87	4,73	4,96	4,78	1,52	1,52	0,78 ³	0,80 ³	4,98	4,94	5,83	6,17
F	5,34	4,91	4,71	5,01	1,33	1,40	0,46	0,57	5,22	4,95	6,52	6,67
G	5,18	5,15	4,82	4,86	1,37	1,36	0,56	0,59	5,22	5,27	7,54	7,47
H	5,42	5,40	5,05	5,12	1,15	1,30	0,52	0,53	5,12	5,10	7,25	7,34
I	5,14	5,13	4,65	4,76	1,16	1,19	0,47	0,61	5,16	5,06	6,88	6,48

1. Enlevé en raison d'une erreur systématique importante, manifestement due à un mauvais étalonnage

2. Valeur aberrante selon le test de Cochran

3. Valeur aberrante selon le test de Grubbs

Les résultats statistiques de l'essai interlaboratoire sont récapitulés ci-dessous.

	Bière	Cidre	Vin blanc	Vin rouge	Vin pétillant	Vin mousseux
Moyenne (g/L)	5,145	4,859	1,316	0,532	5,139	6,906
Moyenne (Rép.1) (g/L)	5,156	4,833	1,306	0,510	5,154	6,897
Moyenne (Rép.2) (g/L)	5,134	4,885	1,327	0,553	5,124	6,914
Ecart type de répétabilité (s _r) (g/L)	0,237	0,089	0,060	0,053	0,086	0,149
Ecart type de reproductibilité (s _R) (g/L)	0,237	0,139	0,135	0,059	0,124	0,538

Ecart type relatif de répétabilité (SDR_r) (%)	4,597	1,821	4,562	9,953	1,663	2,163
Ecart type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	4,611	2,855	10,22	11,07	2,407	7,795
Limite de répétabilité r ($2,8*s_r$) (g/L)	0,662	0,248	0,168	0,148	0,239	0,418
Limite de reproductibilité R ($2,8*s_R$) (g/L)	0,664	0,388	0,377	0,165	0,346	1,507
Cf x Valeur de HORRAT	1,043	0,640	1,883	1,779	0,544	1,843

Conclusion

Les valeurs de Horrat sont inférieures à 2, ce qui signifie que la méthode est acceptable. Les valeurs de Horrat sont cependant légèrement élevées. Dans cinq des neuf laboratoires participants ces essais ont été réalisés pratiquement sans expérience préalable. Les résultats peuvent par conséquent être considérés comme pour le moins très satisfaisants.

La méthode donne les résultats en g/L mais ces résultats peuvent être convertis en unités de pression. ^[1]

Annexe C

Validation à des niveaux bas de dioxyde de carbone

1. Limite de détection et limite de détermination

Un échantillon de vin blanc a été analysé dix fois en double. Les données statistiques sont les suivantes:

Résidus

10

Moyenne CO ₂ (g/L)	0.41
Ecart standard de la moyenne, s (g/L)	0.048
Limite de détection 3 x s	0.14
Limite de détermination 10 x s	0.48

2. Ajouts d'étalons

Des solutions étalons de 5 concentrations différentes, réalisées en double, ont été ajoutées au même vin qui a été utilisé pour déterminer les limites de détection et de détermination. Les concentrations correspondantes en CO₂ ont été également ajoutées à de l'eau. Les régressions linéaires de ces deux essais ont été comparées.

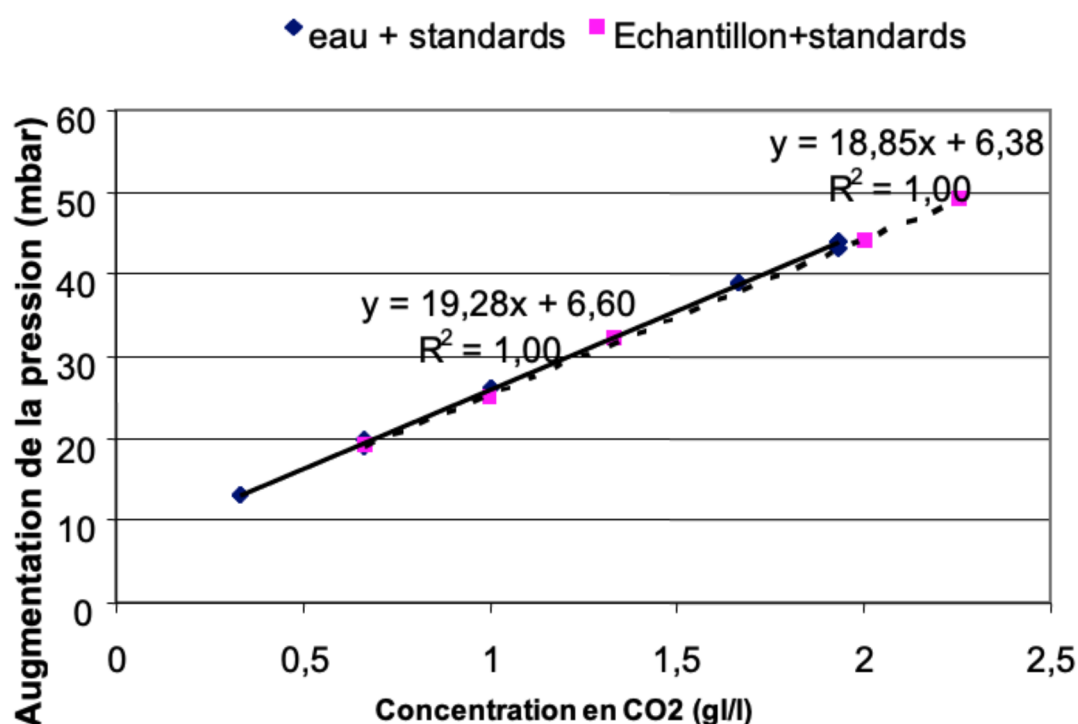


Fig. 1 Ajouts d'étalons à l'échantillon et à l'eau

Données statistiques des essais:

Eau+ étalons **Echantillon+Etalons**

	Eau+étalons	Echantillon+Etalons
Pente	19,3	18,9
Incertitude de la pente	0,3	0,3
Intersection	6,6	6,4
Incertitude de l'intersection	0,4	0,5
Ecart résiduel standard	0,4	0,3
Nombre d'échantillons	15	10

Selon les données statistiques les deux droites de régression sont similaires.

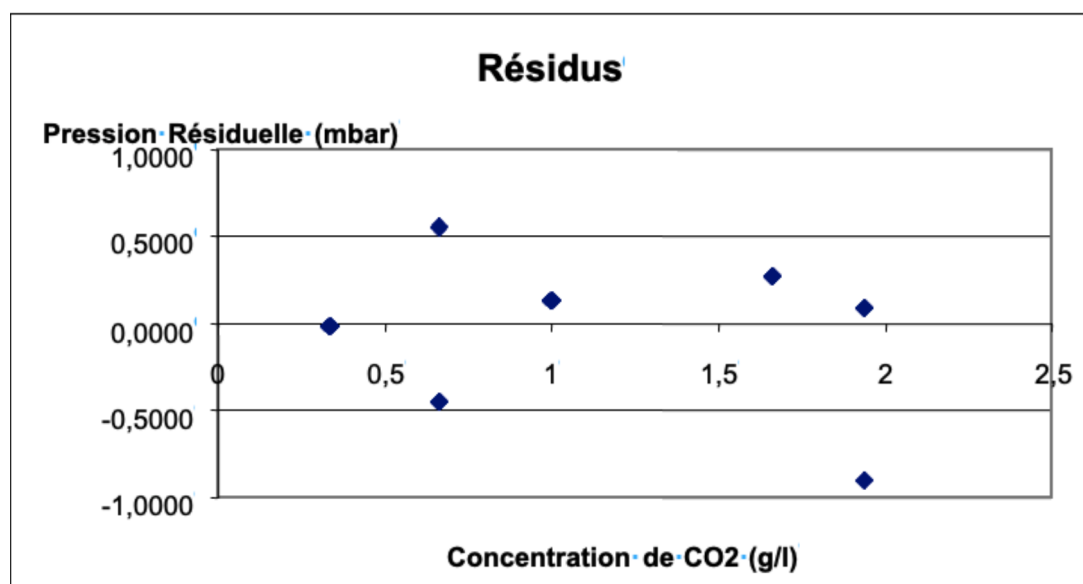


Fig. 2. Les résidus de l'équation "eau+standards"

Les résidus se répartissent des deux côtés du zéro ce qui montre que la régression est linéaire.

Annexe D

Comparaison avec d'autres techniques et laboratoires

1. Comparaison de la méthode EBC modifiée avec l'appareil commercial Anton Paar CarboQC

Echantillong	Méthode EBC modifiée (g/L)	Anton Paar CarboQC (g/L)	Différence
Vin mousseux	9,14	9,35	-0,21
Cidre	4,20	4,10	0,1
Vin blanc	1,18	1,10	0,08
Vin rouge	1,08	0,83	0,25
Bière 1	5,26	5,15	0,11
Bière 2	4,89	4,82	0,07
Bière 3	4,90	4,92	-0,02
Bière sans alcool 1	5,41	5,33	0,08
Bière sans alcool 2	5,39	5,36	0,03
			Moyenne 0.06

Selon le t-test il n'existe pas de différence systématique dans les mesures.

2. Comparaison entre Bfr, Allemagne et ACL, Finlande

Bfr a envoyé quatre échantillons à ACL et ACL a envoyé cinq échantillons à Bfr. Ces neuf échantillons ont été analysés d'une manière indépendante par ACL utilisant la méthode présentée dans ce document et en Allemagne chez Bfr utilisant la méthode titrimétrique. Les résultats statistiques sont les suivants:

Différence moyenne : 0,14 g/l

Différence standard : 0,13 g/l

Z-score : 1,04

La méthode présentée ici et la méthode titrimétrique ont été comparées également par le Bundesamt für Weinbau en Autriche en utilisant 21 de ses propres échantillons.

Les données statistiques sont les suivantes:

Différence moyenne : -0,01 g/l

Différence standard : 0,26 g/l

Z-score : -0,03

Conclusion

Selon ce document et les essais effectués précédemment cette méthode est universelle.

Elle convient pour la détermination de la teneur en dioxyde de carbone dans tous les types de boissons alcooliques comme les bières, les vins, les vins de fruits, les cidres, les vins pétillants et les vins mousseux présentant un niveau de concentration de 0,3 g/l et plus.

^[1] Troost, G. and Haushofer, H., *Sekt, Schaum- und Perlwein*, Eugen Ulmer GmbH & Co., 1980, Klosterneuburg am Rhein, ISBN 3-8001-5804-3, diagramme 1 en page 13.