

## RÉSOLUTION OENO 23/2003

### DOSAGE DES SUCRES PAR CLHP DANS LES VINS

L'ASSEMBLEE GENERALE,

VU l'article 5, alinéa 4 de la Convention internationale d'unification des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins du 13 octobre 1954,

SUR PROPOSITION de la Sous-Commission des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins,

DECIDE d'introduire dans l'Annexe A du Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, la méthode suivante comme méthode de type II :

### **Dosage des sucres par CLHP dans les vins**

#### **1. Domaine d'application**

Cette recommandation spécifie une méthode de dosage du fructose, du glucose et du saccharose des moûts et des vins par chromatographie liquide à haute performance.

#### **2. Principe**

Les sucres et le glycérol sont directement dosés par CLHP et détectés par réfractométrie.

#### **3. Réactifs et préparation des solutions réactives**

- 3.1. Eau déminéralisée ;
- 3.2. Acétonitrile - Minimum de transmission à 200 nm - pureté >99 % ;
- 3.3. Méthanol - pureté >99 % ;
- 3.4. Ethanol - 95-96 % ;
- 3.5. Fructose - Pureté > 99 % ;
- 3.6. Glucose - Pureté > 99 % ;
- 3.7. Saccharose D(+) - Pureté > 99 % ;
- 3.8. Glycérol - Pureté > 99 % ;
- 3.9. Azote pureté > 99% ;

3.10. Hélium pureté > 99%.

*Préparation des solutions réactives*

3.11. Eau déminéralisée (3.1) filtrée sur membrane de cellulose 0,45 µm (4.13) à l'aide du système de filtration (4.11) ;

3.12. Eluant : A l'aide d'une éprouvette graduée à pied de 1 litre (4.7) verser 800 ml d'acétonitrile (3.2) dans un flacon de 1 l (4.8), puis 200 ml d'eau (3.11). Dégazer en permanence à l'aide d'hélium (3.10). Dans le cas où le système fonctionne en circuit fermé (retour de l'eluant dans le flacon), le mélange est renouvelé toutes les semaines.

## 4. Appareillage

- 4.1. Fioles coniques de 100 ml ;
- 4.2. Vases cylindriques de 100 ml ;
- 4.3. Vases cylindriques de 50 ml ;
- 4.4. Pipette automatique de 10 ml ;
- 4.5. Cônes pour pipette de 10 ml ;
- 4.6. Fiole jaugée de 100 ml ;
- 4.7. Eprouvette de 1 litre ;
- 4.8. Flacon de 1 litre ;
- 4.9. Seringue de 20 ml et aiguille;
- 4.10. Seringue de 10 ml et aiguille;
- 4.11. Système de filtration ;
- 4.12. Porte-filtres ;
- 4.13. Membrane 0,45 µm en cellulose ;
- 4.14. Membrane 0,8 µm en cellulose ;
- 4.15. Membrane 1,2 µm en cellulose ;
- 4.16. Membrane 5,0 µm en cellulose ;
- 4.17. Préfiltres en cellulose ;
- 4.18. Cartouche de filtration de silice greffée par des groupes octadécyles, (par exemple :Sep pack C18 ;)
- 4.19. Film étirable par exemple Parafilm ;
- 4.20. Fioles coniques de 10 ml ;
- 4.21. Appareillage courant de chromatographie liquide à haute performance
- 4.22. Colonne alkylamine de 5 µm et 250 x 4 mm - Conditionnement des colonnes : les

colonnes sont généralement remplies et testées à l'hexane. Il faut les laver avec 50 ml d'éthanol (3.4), puis 50 ml de méthanol (3.3) avant de passer au mélange acetonitrile/eau 80/20 (3.12). Démarrer à petit débit, c'est-à-dire 0,1 ml/mn, puis augmenter progressivement jusqu'à 1 ml/mn pour éviter le tassemement de la phase;

4.23. DéTECTEUR réfractométrique - Rincer la cellule de référence une à deux fois par jour (entre deux analyses) avec de l'éluant acétonitrile/eau (3.12). Attendre environ  $\frac{1}{4}$  d'heure pour que la ligne de base se stabilise. Régler le zéro du réfractomètre.

4.24. Bain à ultrasons

## 5. Echantillonnage

Les échantillons sont préalablement dégazés à l'azote (3.9) ou dans un bain à ultrasons (4.24).

## 6. Mode opératoire

### 6.1. Préparation de l'échantillon

#### 6.1.1. Filtration

6.1.1.1. Prélever 25 ml d'échantillon à l'aide d'une seringue de 20 ml (4.9) munie d'une aiguille et filtrer

- Sur membrane de 0,45 µm (4.13) pour un vin
- Sur un empilement de filtres 0,45 (4.13) - 0,8 (4.14) - 1,2 (4.15) - 5 (4.16) µm + préfiltre (4.17) pour un moût ou un vin non clarifié.

6.1.1.2. Diluer cinq fois pour les moûts. Prélever 20 ml à l'aide d'une pipette automatique de 10 ml (4.4) munie d'un cône (4.5), verser dans une fiole jaugée de 100 ml (4.6). Ajuster à 100 ml avec de l'eau déminéralisée (3.11), obturer la fiole avec du parafilm (4.19), homogénéiser.

#### 6.1.2. Elimination des composés phénoliques

Pour un moût ou un vin : passer sur une cartouche de filtration C18 (4.18).

##### 6.1.2.1. Préparation de la cartouche de filtration C18

Passer à contre-sens (grand bout) 10 ml de méthanol (3.3), puis 10 ml d'eau déminéralisée (3.11).

#### 6.1.2.2. Passage sur la cartouche de filtration C18

Rincer la seringue de 10 ml (4.10) avec environ 2 ml d'échantillon. Prélever environ 9 ml d'échantillon. Brancher la cartouche C18 (4.18) par le petit bout sur la seringue de 10 ml (4.10), passer le vin à travers la cartouche en éliminant les trois premiers ml. Recueillir les 6 ml restants dans un fiole conique de 10 ml (4.20). Rincer la cartouche de filtration C18 à contre-sens avec 10 ml de méthanol (3.3), puis 10 ml d'eau déminéralisée (3.11) après chaque échantillon. Dans ce cas, les cartouches peuvent être réutilisées.

#### 6.1.3. Nettoyage courant

Seringues (4.9), (4.10) et aiguille (4.11) rincées à l'eau déminéralisée (3.1) après chaque échantillon ;

Porte-filtre rincé à l'eau chaude, puis au méthanol (3.3). Laisser sécher à l'air.

## 6.2. Analyse

#### 6.2.1. Conditions analytiques

Phase mobile : éluant isocratique acétonitrile/eau (80/20, v/v) (3.12) ;

Débit : 1 ml/mn ;

Volume injecté 20 µl.

Détecteur (4.23) à paramétrier selon l'appareil.

Des exemples de chromatogrammes sont montrés en annexe B, figures 1 et 2

#### 6.2.2. Etalonnage externe

Mélange étalon synthétique composé de :

- Fructose (3.5) 10 g/l □ 0,01 g/l ;
- Glucose (3.6) 10 g/l □ 0,01 g/l ;
- Saccharose (3.7) 10 g/l □ 0,01 g/l ;

Auxquel il peut être ajouté du glycérol (3.8) (si on souhaite le quantifier) 10 g/l □ 0,01 g/l.

Calcul des facteurs de réponse

$RF_i = \text{surface } i / C_i$

où

surface  $i$  = surface du pic du produit dans la solution de calibration

et Ci = quantité du produit présent dans la solution de calibration

## 7. Expression des résultats

Calcul des concentrations

Ce = surface e/RFi

où

surface e = surface du pic du produit présent dans l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en g/l ;

Tenir compte des dilutions éventuelles.

## 8. Contrôle des résultats

Méthode comparative ;

Raccordement indirect par masse, volume et température ;

Des témoins synthétiques et/ou de référence sont intercalés parmi les échantillons.

## 9. Performances de la méthode

Durée d'une analyse environ 50 mn ;

Influence de certains composants du vin : le glycérol est séparé dans les mêmes conditions que les sucres. Il peut donc être dosé au cours de la même séquence. Aucun composé connu ne coélue avec le fructose, le glucose ou le saccharose.

Robustesse : l'analyse est sensible à de faibles variations de température. Les colonnes sont entourées d'une gaine de mousse.

### 9.1. Limites de détection et de quantification

LD<sub>fructose</sub> = 0,12 g/l

LD<sub>glucose</sub> = 0,18 g/l

LQ<sub>fructose</sub> = 0,4 g/l

LQ<sub>glucose</sub> = 0,6 g/l

voir annexe B.2

### 9.2. Fidélité

### 9.2.1. Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur un vin identique soumis à essais, par un opérateur utilisant le même appareillage dans l'intervalle de temps le plus court ne dépassera pas la valeur de répétabilité dans plus de 5 % des cas (voir annexe B.3).

Les valeurs sont :

- Pour  $G+F > 5 \text{ g/l}$

$RSDr = 1\%$

Limite de répétabilité  $r = 3\% (2,8 RSDr)$

- Pour  $G+F$  compris entre 2 et 5 g/l

$RSDr = 3\%$

Limite de répétabilité  $r = 8\% (2,8 RSDr)$

### 9.2.2. Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur un vin identique soumis à essais dans deux laboratoires ne dépassera pas la valeur de répétabilité dans plus de 5 % des cas (voir annexe B.4).

- Pour  $G + F > 5 \text{ g/l}$

$RSDR = 4\%$

Limite de reproductibilité  $R = 10\% (2,8 RSDr)$

- Pour  $G + F$  compris entre 2 et 5 g/l

$RSDR = 10\%$

Limite de reproductibilité  $R = 30\% (2,8 RSDr)$

## Annexe A

## Bibliographie

1. TUSSEAU D. et BOUNIOL Cl. (1986), Sc. Alim., 6, 559-577 ;
2. TUSSEAU D., 1996. Limite de détection - limite de quantification. Feuillet Vert OIV 1000.
3. Protocole de validation des méthodes d'analyse. Résolution OIV OENO 6/2000
4. Exactitude des résultats et méthodes de mesure. Norme NF ISO 5725

## Annexe B

### Résultats statistiques de l'essai interlaboratoire

#### B.1 Echantillons de l'essai interlaboratoire

- Cette étude a été conduite par le Laboratoire Interrégional de la Répression de Fraudes de Bordeaux. L'essai a porté sur 12 échantillons identifiés de A à J (4 vins blancs et 4 vins rouges ; 2 vins de Porto blancs et 2 vins de Porto rouges) contenant du glucose et du fructose et dont les teneurs en chaque sucre étaient comprises entre 2 et 65 g/l. Les vins provenant de la région de Bordeaux ont été supplémentés en glucose et fructose et stabilisés par 100 mg/l de SO<sub>2</sub>.

En fait, il s'agissait de 6 échantillons différents répliqués en aveugle.

#### B.2 Conditions chromatographiques

Compte tenu des facteurs de réponse de ces deux sucres et des échelles des chromatogrammes, le bruit de fond correspond à une concentration en fructose de 0,04 g/l et en glucose de 0,06 g/l (voir figure 3).

On obtient alors les seuils de détection (3 fois le bruit de fond) et de quantification (10 fois le bruit de fond) :

- LD<sub>fructose</sub> = 0,12 g/l
- LD<sub>glucose</sub> = 0,18 g/l

- $LQ_{fructose} = 0,4 \text{ g/l}$
- $LQ_{glucose} = 0,6 \text{ g/l}$

Ces résultats sont conformes à ceux déterminés par TUSSEAU et BOUNIOL (1986) et répétables sur d'autres chromatogrammes.

### B.3 Fidélité

Neuf laboratoires ont participé à cette étude.

Les analyses des 3 points de gamme d'étalonnage et des 12 échantillons ont été réalisées à la suite en appliquant la méthode d'analyse transmise.

Cinq laboratoires ont transmis les droites de régression obtenues après analyse des 3 points de la gamme d'étalonnage.

Quatre laboratoires ont transmis les résultats des 12 échantillons répétés 3 fois, les autres laboratoires n'ont transmis qu'un seul résultat.

Les conditions chromatographiques ont été transmises par tous les laboratoires. L'ensemble des laboratoires applique le même principe de méthode et même type de colonne chromatographique que ceux définis précédemment. Les seules différences portent sur :

L'injection de 50 µl au lieu de 20 µl pour un laboratoire

L'étalonnage avec une gamme plus large (de 5 à 30 g/l de chaque sucre) pour un laboratoire.

Les résultats ont été exploités selon le protocole OIV (Protocole de validation des méthodes d'analyse - Résolution OENO 6/1999).

Ce protocole demande que les analyses ne soient pas répétées ; or, 4 laboratoires ont transmis les résultats des analyses répétées 3 fois. Une seule série a été choisie (la première) pour l'exploitation des résultats conformément au protocole OIV.

Les calculs de répétabilité selon Youden, de reproductibilité et les tests de Cochran et de Grubbs ont été effectués.

Les données sur les répétitions ont permis de calculer d'une autre manière les écarts-type de répétabilité (selon ISO 5725).

Un résultat non valide a été identifié.

Les résultats du test de Cochran nous ont conduit à éliminer les résultats des échantillons C et J pour le laboratoire 1.

Le test de Grubbs n'a pas détecté de résultats à exclure.

## L'ensemble des résultats réceptionnés est rassemblé dans le tableau I

Tableau I - RESULTATS DES TENEURS EN FRUCTOSE ET GLUCOSE DES 12 ECHANTILLONS ANALYSES

échantillon	A		B		C		D		E		F		G		H		I		J		K		L	
	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G
Sucre																								
LABO 1	5,9	2,9	9,5	10,4	68,4	56,1	13,0	10,9	5,0	2,5	2,3	2,7	10,4	12,6	13,3	12,0	64,7	43,5	75,2	68,8	65,3	45,7	2,1	2,9
	5,4	2,8	9,3	10,9	73,0	59,7	12,9	11,2	5,3	2,6	2,1	3,1	10,1	12,3	13,3	11,8	64,5	44,2	75,0	68,3	64,5	45,2	2,3	3,0
	5,5	2,9	10,0	11,2	73,6	58,6	12,9	11,0	5,4	2,7	2,2	2,8	9,9	12,2	13,3	12,0	63,9	43,5	77,4	70,5	65,1	45,8	2,1	2,9
	<b>5,6</b>	<b>2,9</b>	<b>9,6</b>	<b>10,8</b>	<b>71,7</b>	<b>58,1</b>	<b>12,9</b>	<b>11,0</b>	<b>5,2</b>	<b>2,6</b>	<b>2,2</b>	<b>2,9</b>	<b>10,1</b>	<b>12,4</b>	<b>13,3</b>	<b>11,9</b>	<b>64,4</b>	<b>43,7</b>	<b>75,9</b>	<b>69,2</b>	<b>65,0</b>	<b>45,6</b>	<b>2,2</b>	<b>2,9</b>
LABO 2	<b>5,1</b>	<b>2,4</b>	<b>10,0</b>	<b>12,6</b>	<b>74,5</b>	<b>67,0</b>	<b>13,4</b>	<b>12,3</b>	<b>5,0</b>	<b>2,2</b>	<b>1,5</b>	<b>2,2</b>	<b>10,0</b>	<b>13,0</b>	<b>13,4</b>	<b>12,3</b>	<b>64,2</b>	<b>42,9</b>	<b>76,8</b>	<b>69,3</b>	<b>64,4</b>	<b>43,4</b>	<b>1,4</b>	<b>0,4*</b>
LABO 3	<b>5,3</b>	<b>3,0</b>	<b>9,8</b>	<b>12,6</b>	<b>72,5</b>	<b>66,3</b>	<b>13,0</b>	<b>12,6</b>	<b>5,4</b>	<b>3,4</b>	<b>1,9</b>	<b>3,1</b>	<b>10,4</b>	<b>14,2</b>	<b>13,4</b>	<b>13,4</b>	<b>63,9</b>	<b>45,0</b>	<b>73,8</b>	<b>69,9</b>	<b>65,6</b>	<b>47,3</b>	<b>2,0</b>	<b>3,3</b>
LABO 4	5,1	3,2	10,3	12,7	71,6	68,2	12,9	12,6	5,0	3,0	1,9	2,9	9,6	12,6	12,7	12,5	62,5	45,4	73,3	70,3	63,4	45,9	1,9	3,0
	5,3	3,0	9,7	12,6	74,0	69,8	12,9	12,6	5,1	2,9	1,8	3,1	10,0	12,7	13,1	13,0	63,0	46,4	74,2	70,6	62,1	46,2	1,9	2,8
	5,2	3,2	9,5	12,5	73,1	69,7	12,8	12,7	5,2	2,9	2,0	2,9	9,7	12,7	13,1	12,8	62,6	45,7	75,0	70,9	61,8	45,3	2,0	2,8
	<b>5,2</b>	<b>3,1</b>	<b>9,8</b>	<b>12,6</b>	<b>72,9</b>	<b>69,2</b>	<b>12,9</b>	<b>12,6</b>	<b>5,1</b>	<b>2,9</b>	<b>1,9</b>	<b>3,0</b>	<b>9,8</b>	<b>12,7</b>	<b>13,0</b>	<b>12,8</b>	<b>62,7</b>	<b>45,8</b>	<b>74,2</b>	<b>70,6</b>	<b>62,4</b>	<b>45,8</b>	<b>1,9</b>	<b>2,9</b>
LABO 5	<b>5,4</b>	<b>3,2</b>	<b>9,8</b>	<b>11,3</b>	<b>76,1</b>	<b>67,5</b>	<b>13,3</b>	<b>12,0</b>	<b>5,1</b>	<b>2,9</b>	<b>1,9</b>	<b>2,5</b>	<b>10,0</b>	<b>11,6</b>	<b>13,1</b>	<b>11,8</b>	<b>61,6</b>	<b>43,4</b>	<b>72,1</b>	<b>65,3</b>	<b>62,5</b>	<b>42,5</b>	<b>2,0</b>	<b>2,3</b>
LABO 6	<b>5,6</b>	<b>2,9</b>	<b>10,5</b>	<b>13,0</b>	<b>72,2</b>	<b>67,9</b>	<b>13,5</b>	<b>12,1</b>	<b>5,2</b>	<b>3,0</b>	<b>2,0</b>	<b>3,1</b>	<b>10,4</b>	<b>12,9</b>	<b>13,3</b>	<b>12,4</b>	<b>66,8</b>	<b>46,9</b>	<b>73,9</b>	<b>70,3</b>	<b>63,6</b>	<b>44,1</b>	<b>2,2</b>	<b>3,1</b>
LABO 7	<b>5,1</b>	<b>2,9</b>	<b>9,8</b>	<b>13,6</b>	<b>72,0</b>	<b>65,4</b>	<b>13,1</b>	<b>12,6</b>	<b>5,1</b>	<b>3,0</b>	<b>1,6</b>	<b>3,9</b>	<b>9,7</b>	<b>13,9</b>	<b>13,3</b>	<b>12,7</b>	<b>61,8</b>	<b>42,9</b>	<b>71,5</b>	<b>65,9</b>	<b>61,7</b>	<b>43,5</b>	<b>1,6</b>	<b>3,9</b>
LABO 8	5,1	2,8	9,7	12,4	73,7	70,0	13,0	12,7	5,1	2,9	2,0	3,0	10,1	13,0	12,8	12,6	61,6	45,6	71,7	68,6	61,6	45,5	2,1	3,3
	5,0	2,9	9,6	12,9	72,3	68,7	12,3	12,7	5,0	2,9	2,0	3,0	10,0	13,1	12,8	12,9	61,0	44,8	70,6	68,3	61,4	45,1	2,1	3,4
	5,0	3,0	9,6	12,9	72,7	66,7	12,6	12,7	5,0	2,9	2,0	3,0	10,1	13,1	12,6	12,7	61,2	45,4	71,5	68,5	61,2	45,2	2,1	3,3
	<b>5,0</b>	<b>2,9</b>	<b>9,6</b>	<b>12,7</b>	<b>72,9</b>	<b>68,5</b>	<b>12,6</b>	<b>12,7</b>	<b>5,0</b>	<b>2,9</b>	<b>2,0</b>	<b>3,0</b>	<b>10,1</b>	<b>13,1</b>	<b>12,7</b>	<b>12,7</b>	<b>61,3</b>	<b>45,3</b>	<b>71,3</b>	<b>68,5</b>	<b>61,4</b>	<b>45,3</b>	<b>2,1</b>	<b>3,3</b>
LABO9	4,9	2,7	9,6	12,6	72,5	69,1	12,1	12,5	5,0	2,6	2,1	2,8	9,7	12,5	12,0	12,6	55,3	44,8	72,0	69,0	57,0	45,0	2,0	2,5
	4,9	2,7	9,0	11,5	79,5	70,2	12,6	12,9	4,8	2,7	2,2	2,5	9,1	11,6	12,5	13,0	60,2	42,6	79,0	70,2	60,3	43,0	2,2	2,5
	5,1	2,6	9,3	12,2	77,5	63,0	12,3	12,0	4,9	2,6	1,9	3,1	9,4	12,1	12,5	12,2	60,9	43,6	77,0	74,1	61,2	43,2	1,9	3,0
	<b>5,0</b>	<b>2,7</b>	<b>8,3</b>	<b>12,1</b>	<b>76,5</b>	<b>67,4</b>	<b>12,3</b>	<b>12,5</b>	<b>4,9</b>	<b>2,6</b>	<b>2,1</b>	<b>2,8</b>	<b>9,4</b>	<b>12,1</b>	<b>12,3</b>	<b>12,6</b>	<b>58,8</b>	<b>43,7</b>	<b>76,0</b>	<b>71,1</b>	<b>59,5</b>	<b>43,7</b>	<b>2,0</b>	<b>2,7</b>

\* résultat non valide

Pour les 4 laboratoires qui ont transmis 3 résultats, les moyennes sont reportées en gras

Sucre : F fructose, G glucose

### Résultats globaux en glucose + fructose

Pour les 4 laboratoires qui ont effectué 3 répétitions, seule la première série de données a été retenue.

Les échantillons répliqués à l'aveugle sont mentionnés dans la première colonne et les

résultats respectifs dans les colonnes suivantes

**Tableau II – RESULTATS DES TENEURS EN G+F DANS LES 6 ECHANTILLONS REPLICUES(en g/l)**

	Labo 1		Labo 2		Labo 3		Labo 4		Labo 5		Labo 6		Labo 7		Labo 8		Labo 9	
A/E	8,8	7,5	7,5	7,2	8,3	8,8	8,3	8	8,6	8	8,5	8,2	8	8,1	7,9	8	7,6	7,6
B/G	20,3	23	22,6	23	22,4	24,6	23	22,2	21,1	21,6	23,5	23,3	23,4	23,6	22,1	23,1	22,2	22,2
C/J	125	144	142	146	139	144	140	144	144	137	140	144	137	137	144	140	142	141
D/H	23,9	25,3	25,7	25,7	25,6	26,8	25,5	25,2	25,3	24,9	25,6	25,7	25,7	26	25,7	25,4	24,6	24,6
F/I	5	5	3,8	1,8*	5	4,6	4,8	4,9	4,9	4,3	5,1	5,3	5,5	5,5	5	5,4	4,9	4,5
I/K	108	111	107	108	109	113	108	109	105	105	114	108	105	105	107	107	100	102

\* résultat non valide (mauvaise intégration de pics)

Les résultats du laboratoire 1 pour les échantillons C/J n'ont pas été retenus dans les tableaux suivants.

### **B.3.1 Répétabilité des résultats des dosages de glucose et fructose**

Les mesures de répétabilité ont été effectuées selon 2 méthodes:

1. Répétitions des résultats des 4 laboratoires sur les 12 échantillons (essais dupliqués-ED). Les données prises en compte sont les 2 premières séries de résultats transmis par ces laboratoires.

$$S_r ED = \sqrt{\left( \sum dt^2 / 2n \right)}$$

Où di est la différence obtenue à partir des 2 premières répétitions des analyses du même échantillon par chaque laboratoire et n le nombre de laboratoires dont les résultats sont pris en compte.

RSDr ED (%) ; c'est le coefficient de variation de l'écart-type par rapport à la valeur moyenne, en %

Limite de répétabilité r = 2,8 S<sub>r</sub> ED

2. répétitions des analyses sur un même matériau analysé en aveugle (Paire de Youden-PY)

$$S_r = \sqrt{\sum dt^2 / 2(n - 1)}$$

Où  $d_i$  est la différence des résultats obtenus sur les 2 échantillons répliqués en aveugle par le même laboratoire (exemple résultats des échantillons A et E par le laboratoire 3).

Les résultats sont rassemblés tableau III et sont représentés dans la figure 4.

Tableau III – RESULTATS DES VALEURS DE REPETABILITE

Echantillon	F	L	A	E	B	G	D	H	I	K	C	J
Teneur moyenne en G+F (g/l)	4,9	4,6	8,2	7,9	22,3	23,0	25,3	25,5	107	107	141	142
Sr ED (g/l)	0,04	0,05	0,08	0,05	0,24	0,21	0,14	0,17	0,43	0,27	1,56	1,05
r ED (g/l)	0,11	0,14	0,22	0,14	0,67	0,59	0,39	0,48	1,20	0,76	4,4	2,9
RSDrED (%)	0,8	1,1	0,9	0,7	1,1	0,9	0,6	0,6	0,4	0,3	1,7	0,7
SrPY (g/l)	0,14		0,10		0,24		0,12		0,50		0,80	
r PY (g/l)	0,39		0,28		0,67		0,34		1,4		2,2	
RSDrPY (%)	2,5		1,3		1,0		0,5		0,5		0,6	

Les valeurs de répétabilité sont faibles et cohérentes selon les deux modes d'estimation.

### B.3.2 Reproductibilité des dosages de glucose et fructose

Les sucres dans les vins sont analysés depuis de nombreuses années selon cette méthode.

En routine, un contrôle qualité interne est réalisé à l'aide d'un matériau de référence (par exemple : TITRIVINS - DUJARDIN SALLERON). L'exploitation des résultats a permis d'estimer l'écart-type de reproductibilité sur une longue période (estimation renouvelée chaque année).

$S_R$  intralaboratoire = 0,5 g/l pour une teneur en glucose+fructose égale à 12 g/l

Le tableau IV rassemble les résultats de reproductibilité obtenus lors de cet essai d'intercomparaison. On a pu en déduire l'effet laboratoire  $S_L$  prévue dans la résolution OIV.

Echantillon	F	L	A	E	B	G	D	H	I	K	C	J
Teneur moyenne en G+F (g/l)	4,9	4,6	8,2	7,9	22,3	23,0	25,3	25,5	107	107	141	142
SR inter(g/l)	0,5	0,4	0,4	0,4	1,0	1,0	0,6	0,6	3,2	2,9	2,2	3,2
SL (g/l)	0,43		0,39		0,97		0,59		3,0		2,6	
R inter (g/l)	1,3		1,12		2,8		1,7		8,5		7,6	
RSD R inter (%)	9,5		5		4,4		2,4		2,9		1,9	

Tableau IV – RESULTATS DE REPRODUCTIBILITE ET EFFET LABORATOIRE

La figure 4 reprend les résultats d'écart-type de reproductibilité.

Il apparaît que les valeurs de répétabilité étant faibles, c'est l'effet laboratoire qui est à l'origine de l'essentiel de la dispersion des résultats.

On observe aussi que sur une longue période, comme il est prévu, la reproductibilité intralaboratoire est de même valeur que la reproductibilité interlaboratoire.

En conclusion, on peut considérer au vu des courbes de tendance qui sont représentées sur la figure 4, que la répétabilité est relativement stable sur toute la zone d'étude (5 à 150 g/l de glucose + fructose), mais que la reproductibilité est plus élevée pour de faibles concentrations.

En moyenne, la répétabilité (r limite de répétabilité) est relativement constante autour de 1% et la reproductibilité (R limite de reproductibilité) est comprise entre 2 et 5% ; environ 10% pour des teneurs en glucose + fructose de l'ordre de 5 g/l.

On retient donc conventionnellement comme valeurs de répétabilité et de reproductibilité:

Pour  $G+F > 5 \text{ g/l}$

- $RSDr = 1\%$

$RSDR = 4\%$

Limite de répétabilité  $r = 3\%$  ( $2,8 RSDr$ )

Limite de reproductibilité  $R = 10\%$  ( $2,8 RSDr$ )

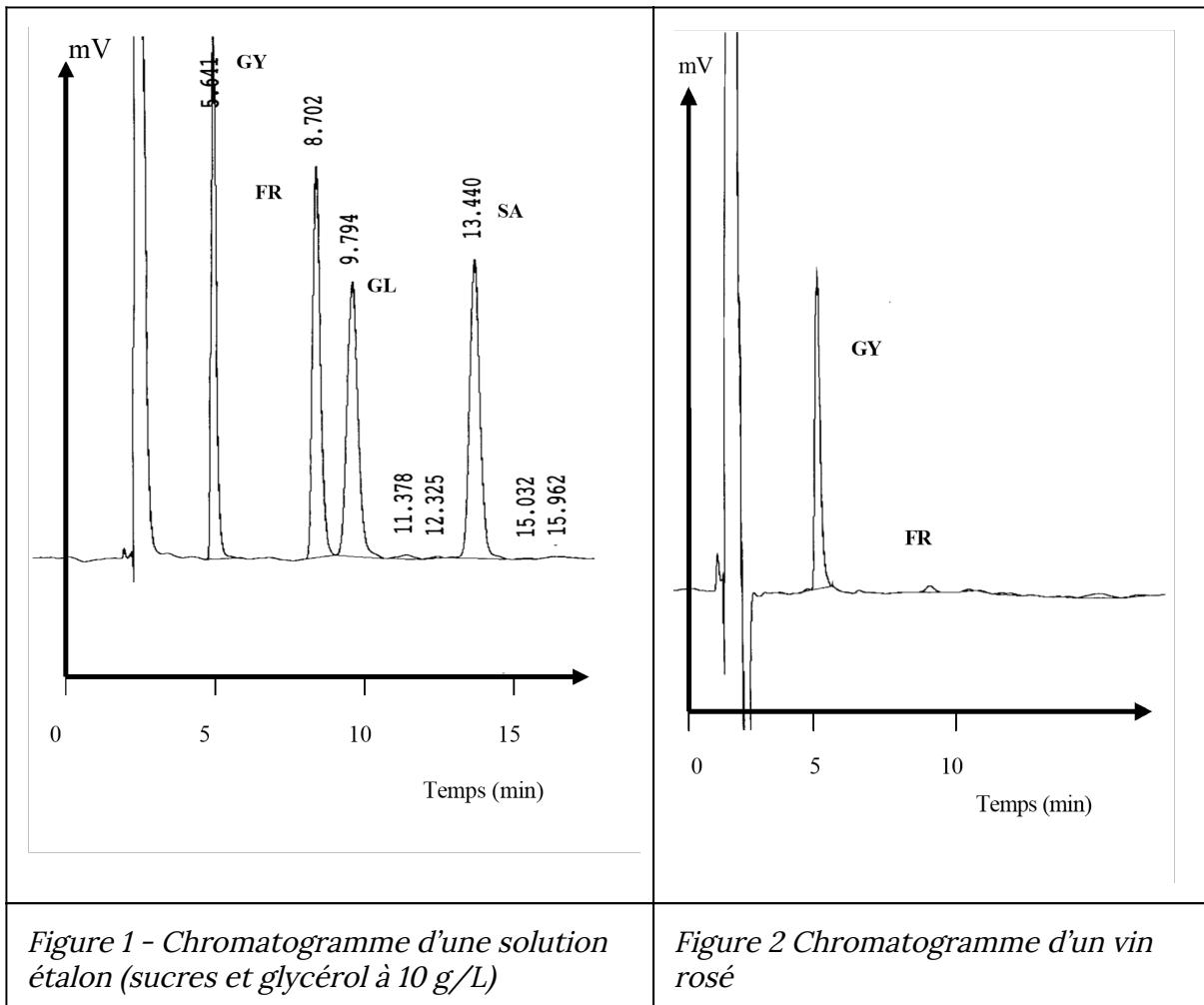
Pour  $G+F$  compris entre 2 et 5 g/l

- $RSDr = 3\%$

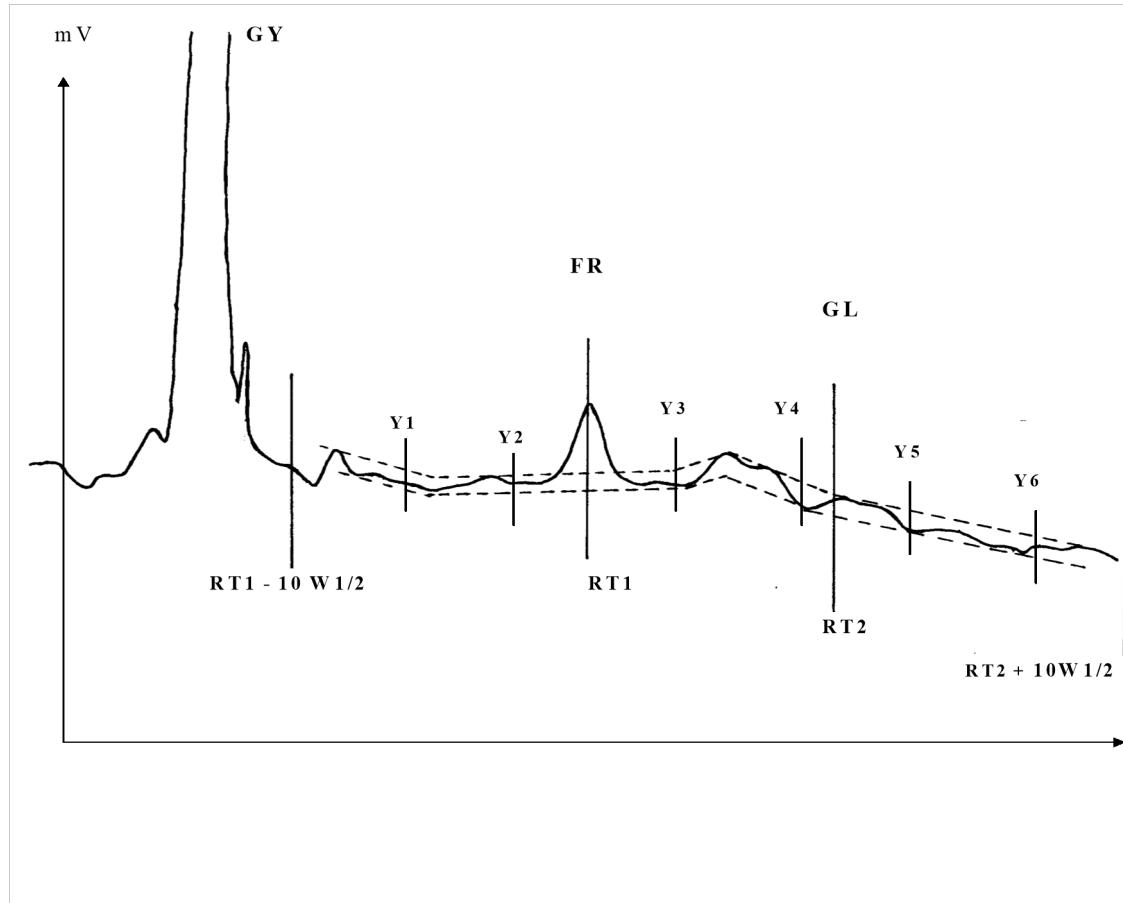
$RSDR = 10\%$

Limite de répétabilité  $r = 8\%$  ( $2,8 RSDr$ )

Limite de reproductibilité  $R = 30\%$  ( $2,8 RSDr$ )



Glycérol (GY), fructose (FR), glucose (GL), saccharose (SA) fructose (FR), glucose (GL), saccharose (SA) Glycérol (GY),



*Figure 3 - Mesure des hauteurs du bruit de fond après agrandissement du chromatogramme*

RT1 : temps de rétention du fructose ; RT2 : temps de rétention du glucose  
 W1/2 : largeur du pic à mi-hauteur ; Yi : hauteur du bruit de fond au point i

