

***RECUEIL
DES METHODES INTERNATIONALES
DES BOISSONS SPIRITUEUSES
D'ORIGINE VITIVINICOLE***

EDITION 2014



Plan général du Recueil

- Table des matières

- Méthodes d'analyse des boissons spiritueuses d'origine viticole

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITEUSES

Table des matières

Table des matières	OIV-MA-INT-00
Mode rédactionnel d'une méthode d'analyse OIV	OIV-MA-INT-04

METHODES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITEUSEUS D'ORIGINE VITICOLE

TITRE	REFERENCE	TYPE DE METHODE
Titre alcoométrique volumique	OIV-MA-BS-01	
Titre alcoométrique volumique : préparation du distillat	OIV-MA-BS-02	
Titre alcoométrique volumique : pycnométrie	OIV-MA-BS-03	II
Titre alcoométrique volumique : densimétrie électronique	OIV-MA-BS-04	II
Titre alcoométrique volumique : densimétrie électronique : balance hydrostatique	OIV-MA-BS-05	II
Masse volumique par densimétrie électronique	OIV-MA-BS-06	
Spectroscopie de reflexion dans le domaine du proche infrarouge (IR)	OIV-MA-BS-08	
Extrait sec total : gravimétrie	OIV-MA-BS-09	II
Extrait sec total : calcul	OIV-MA-BS-10	IV
Sucre	OIV-MA-BS-11	II
Acides	OIV-MA-BS-12	II
pH	OIV-MA-BS-13	I
Principales substances volatiles	OIV-MA-BS-14	II
Anéthole. Dosage du trans-anéthole	OIV-MA-BS-15	II
Composés extraits du bois	OIV-MA-BS-16	II
Composés α -dicarboxylés par CG après dérivation par le 1,2-diaminobenzène	OIV-MA-BS-17	IV
Composés α -dicarboxylés par HPLC après dérivation par le 1,2-diaminobenzène	OIV-MA-BS-18	IV
Composés phénoliques (sans addition de caramel)	OIV-MA-BS-19	IV
Propanol 2-ol par CG	OIV-MA-BS-20	IV
Test d'absorbance en lumière ultraviolette de l'alcool neutre	OIV-MA-BS-21	

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES
D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITEUSES**

Table des matières

Rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol par SM	OIV-MA-BS-22	II
Distribution de deutérium dans l'éthanol par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium (RMN-FINS/SNIF-NMR)	OIV-MA-BS-23	I
Teneur en ^{14}C dans l'éthanol	OIV-MA-BS-24	
Carbamate d'éthyle	OIV-MA-BS-25	IV
Mesure de l'intensité colorante	OIV-MA-BS-26	IV
Caractéristiques chromatique	OIV-MA-BS-27	IV
Mesure de la turbidité par néphélométrie	OIV-MA-BS-28	IV
Dosage en calcium par absorption automatique	OIV-MA-BS-29	IV
Dosage en cuivre par absorption automatique	OIV-MA-BS-30	IV
Dosage en fer par absorption automatique	OIV-MA-BS-31	IV
Dosage en plomb par absorption automatique	OIV-MA-BS-32	IV
Méthode de dosage de phtalates par couplage chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse	OIV-MA-BS-33	IV

AVANT PROPOS

Compte tenu de l'évolution des méthodes d'analyse de l'OIV, la Commission Œnologie et la Sous-commission des Méthodes d'analyses ont décidé de réviser l'édition de 1994 du « Recueil des méthodes internationales d'analyse des boissons spiritueuses, des alcools et de la fraction aromatique des boissons »; et de modifier le titre du recueil comme tel « Recueil des méthodes internationales d'analyse des boissons spiritueuses d'origine vitivinicoles »

Ce recueil établi par la Sous-commission des méthodes d'analyses et approuvé en 2009 par le 7^{ème} Assemblée Générale de l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, regroupent les principales méthodes applicables à l'analyse des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons spiritueuses d'origine
vitivinicole : remarques générales

Méthode OIV-MA-BS-01

**Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons
spiritueuses d'origine vitivinicole : remarques générales**

Introduction

La méthode de référence fait l'objet de deux annexes.

Annexe I - Préparation du distillat

Annexe II - Mesure de la masse volumique du distillat par trois méthodes A, B, et C

1. Champ d'application

La méthode convient pour la détermination du titre alcoométrique volumique réel des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole.

2. Références normatives

ISO 3696:1987 Eau pour laboratoire à usage analytique - Spécification et méthodes d'essai

3. Termes et définitions

3.1 Température de référence

La température de référence pour la détermination du titre alcoométrique volumique, de la masse volumique et de la densité relative des boissons spiritueuses est de 20 °C.

Remarque 1: on réservera l'expression «à t °C» aux déterminations (de la masse volumique ou du titre alcoométrique volumique) exprimées à une température autre que la température de référence de 20 °C.

3.2 Masse volumique

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de boisson spiritueuse à 20 °C par ce volume dans le vide. Elle s'exprime en kilogrammes par mètre cube et son symbole est $\rho_{20\text{ °C}}$ ou ρ_{20} .

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole : remarques générales

3.3 Densité relative

La densité relative est le rapport, exprimé en nombre décimal, de la masse volumique des boissons spiritueuses à 20 °C à la masse volumique de l'eau à la même température. Elle est désignée par le symbole $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ ou $d_{20/20}$, ou simplement d lorsque aucune confusion n'est possible. La caractéristique mesurée doit être précisée dans le certificat d'analyse exclusivement à l'aide des symboles ci-dessus.

Remarque 2: il est possible d'obtenir la densité relative à partir de la masse volumique ρ_{20} à 20 °C:

$\rho_{20} = 998,203 \times d_{20/20}$ ou $d_{20/20} = \rho_{20} / 998,203$, où 998,203 est la masse volumique de l'eau à 20 °C.

3.4 Titre alcoométrique volumique réel

Le titre alcoométrique volumique réel des boissons spiritueuses est égal au nombre de litres d'alcool éthylique contenu dans 100 litres de mélange hydroalcoolique ayant la même masse volumique que la boisson spiritueuse après distillation. Les valeurs de référence à utiliser pour le titre alcoométrique volumique (% vol) à 20 °C en fonction de la masse volumique à 20 °C des mélanges hydroalcooliques sont celles qui figurent dans la table internationale adoptée par l'Organisation internationale de métrologie légale dans sa recommandation n° 22.

Remarque 3: dans le cas des liqueurs et crèmes pour lesquelles il est très difficile de mesurer un volume exact, l'échantillon doit être pesé et on calcule d'abord le titre alcoométrique massique.

Formule de conversion:

$$\text{Titre alcoométrique volumique (\%vol)} = \frac{TAM(\%masse) \times \rho_{20}(\text{échantillon})}{\rho_{20}(\text{alcool})}$$

où TAM = titre alcoométrique massique,
 $\rho_{20}(\text{alcool}) = 789,24 \text{ kg/m}^3$

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons spiritueuses d'origine
vitivinicole : remarques générales

4. Principe

Après distillation, le titre alcoométrique volumique du distillat est déterminé par pycnométrie, par densimétrie électronique ou par densimétrie sur balance hydrostatique.

5. Bibliographie

Règlement (CE) N° 2870/2000 de la Commission du 19 décembre 2000 établissant des méthodes d'analyse communautaires de référence applicables dans le secteur des boissons spiritueuses, *J.O.C.E. du 29 décembre 2000, L333/20*

P. Brereton, S. Hasnip, A. Bertrand, R. Wittkowski, C. Guillou, Analytical methods for the determination of spirit drinks, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 22, No. 1, 19-25, 2003

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons spiritueuses d'origine
vitivinicole : préparation du distillat

Méthode OIV-MA-BS-02

**Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons
spiritueuses d'origine vitivinicole : préparation du distillat**

1. Champ d'application

La méthode convient pour la préparation des distillats utilisés pour déterminer le titre alcoométrique volumique réel des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole.

2. Principe

Les boissons spiritueuses sont distillées pour séparer les «matières extractives» (substances ne distillant pas) de l'alcool éthylique et autres composés volatils.

3. Réactifs et matériaux

3.1 Billes antiprojection

3.2 Agent antimousse sous forme concentrée (pour les crèmes)

4. Appareillage et matériel

Appareillage courant de laboratoire et notamment:

4.1 Bain-marie pouvant être maintenu entre 10 et 15 °C.

Bain-marie pouvant être maintenu à 20 °C ($\pm 0,2$ °C).

4.2 Fioles jaugées (100 et 200 ml) de classe A, vérifiées à $\pm 0,1$ et $0,15$ % respectivement.

4.3 Appareil de distillation

4.3.1 Prescriptions générales

L'appareil de distillation à utiliser doit respecter les caractéristiques suivantes:

- un nombre de connexions limité au strict nécessaire assurant l'étanchéité du système.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole : préparation du distillat

- un dispositif destiné à empêcher le primage (entraînement du liquide à ébullition par la vapeur) et à régulariser le débit de distillation des vapeurs de richesse alcoolique élevée;
- la condensation rapide et totale des vapeurs alcooliques.
- la réception des premières fractions du distillat en milieu aqueux.

La source de chaleur doit mettre en œuvre un dispositif approprié de diffusion de la chaleur afin d'éviter toute pyrogénéation des matières extractives.

4.3.2 A titre d'exemple, un appareil de distillation approprié comprendrait:

- un ballon d'un litre de capacité, équipé d'un rodage normalisé;
- une colonne rectificatrice d'une hauteur minimale de 20 cm (colonne de Vigreux par exemple);
- un tube de connexion coudé pourvu, dans sa partie droite, d'un réfrigérant à bords droits (dit de West) d'une longueur de 10 cm environ;
- un réfrigérant à serpentin de 40 cm de long;
- un tube effilé permettant de conduire le distillat au fond d'une fiole jaugée réceptrice contenant un faible volume d'eau.

Remarque : L'appareil décrit ci-dessus est prévu pour un échantillon d'au moins 200 ml. Il est

toutefois possible de distiller un échantillon de taille plus petite en ayant recours à un ballon plus petit, à condition d'utiliser une boule à distiller ou tout autre dispositif permettant d'éviter l'entraînement du liquide.

5. Conservation des échantillons pour essai

Les échantillons sont stockés à température ambiante avant l'analyse.

6. Mode opératoire

6.1 Contrôle de l'appareil de distillation

L'appareil utilisé doit répondre aux exigences ci-après :

La distillation de 200 ml d'une solution hydroalcoolique dont la concentration est connue et voisine de 50 % vol. ne doit pas produire de perte d'alcool supérieure à 0,1 % vol.

6.2. Boissons spiritueuses dont le titre alcoométrique est inférieur à 50 % vol.

Prélever à l'aide d'une fiole jaugée 200 ml de boisson spiritueuse.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole : préparation du distillat

Noter la température du liquide ou maintenir la température normale (20 °C).

Verser l'échantillon dans le ballon de l'appareil de distillation et rincer la fiole jaugée avec trois volumes d'eau distillée d'environ 20 ml chacun. Ajouter chaque volume d'eau de rinçage au contenu du ballon de distillation. Remarque : Cette dilution de 60 ml est suffisante dans le cas des boissons spiritueuses contenant moins de 250 g d'extrait sec par litre. Sinon, pour éviter les pyrolyses, il faut que le volume des liquides de rinçage soit au moins de 70 ml si l'extrait sec est de 300 g/l, 85 ml pour un extrait sec de 400 g/l et 100 ml pour un extrait sec de 500 g/l (certaines liqueurs ou crèmes de fruits). Ajuster ces volumes proportionnellement en fonction des différents échantillons.

Ajouter quelques billes antiprojection (3.1) (et de l'agent antimousse pour les crèmes).

Verser 20 ml d'eau distillée dans la fiole jaugée d'origine de 200 ml, qui sera utilisée pour recueillir le distillat. Cette fiole doit ensuite être placée dans un bain d'eau froide (4.1) (10 à 15 °C pour les boissons spiritueuses anisées).

Distiller (éviter tout phénomène d'entraînement ou de carbonisation) en agitant de temps en temps le contenu de la fiole jusqu'à ce que le distillat atteigne un niveau situé à quelques millimètres au-dessous du trait de repère de la fiole jaugée.

Une fois la température du distillat ramenée au niveau initial à $\pm 0,5$ °C près, porter jusqu'au trait de repère à l'aide d'eau distillée et bien mélanger.

Le distillat est utilisé pour déterminer le titre alcoométrique volumique (annexe II).

6.3 Boissons spiritueuses dont le titre alcoométrique est supérieur à 50 % vol.

Prélever 100 ml de boisson spiritueuse à l'aide d'une fiole jaugée de 100 ml et verser le liquide dans le ballon de l'appareil de distillation.

Rincer la fiole jaugée à plusieurs reprises avec de l'eau distillée et ajouter les liquides de rinçage au contenu du ballon à distiller. Utiliser suffisamment d'eau pour que le contenu de ce ballon atteigne environ 230 ml.

Verser 20 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée de 200 ml, qui sera utilisée pour recueillir le distillat. Cette fiole doit ensuite être placée dans un bain d'eau froide (4.1) (10 à 15°C pour les boissons spiritueuses anisées).

Distiller en agitant de temps en temps jusqu'à ce que le distillat atteigne un niveau situé à quelques millimètres au-dessous du trait de repère de la fiole jaugée de 200 ml.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique des boissons spiritueuses d'origine
vitivinicole : préparation du distillat**

Une fois la température du distillat ramenée au niveau initial à $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ près, porter jusqu'au trait de repère à l'aide d'eau distillée et bien mélanger.

Le distillat est utilisé pour déterminer le titre alcoométrique volumique (annexe II).

Remarque: Le titre alcoométrique volumique de la boisson spiritueuse est deux fois supérieur à celui du distillat.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnometrie

Méthode OIV-MA-BS-03

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnometrie**

Méthode de type II

A.1 Principe

Le titre alcoométrique volumique est obtenu à partir de la masse volumique du distillat mesurée par pycnométrie.

A.2 Réactifs et matériaux

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de classe 3 au minimum, répondant à la définition de la norme ISO 3696:1987.

A.2.1 Solution de chlorure de sodium (2 % p/v)

Pour préparer 1 litre, peser 20 g de chlorure de sodium et dissoudre au volume avec de l'eau.

A.3 Appareillage et matériel

Appareillage courant de laboratoire et notamment:

A.3.1 Balance analytique d'une sensibilité de 0,1 mg.

A.3.2 Thermomètre à rodage émeri gradué par dixième de degré de 10 à 30 °C. Ce thermomètre doit être certifié ou vérifié avec un thermomètre certifié.

A.3.3 Pycnomètre en verre Pyrex de 100 ml de capacité environ, pourvu d'un thermomètre mobile à rodage émeri (A.3.2). Il comporte un tube latéral de 25 mm de long et de 1 mm au plus de diamètre intérieur, terminé par une partie conique rodée. D'autres pycnomètres décrits dans la norme ISO 3507, de 50 ml par exemple, peuvent être utilisés le cas échéant.

A.3.4 Flacon tare de même volume extérieur (à moins de 1 ml près) que le pycnomètre et de masse égale à celle du pycnomètre plein d'un liquide d'une densité de 1,01 (solution de chlorure de sodium A.2.1).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique réel par pycnometrie

A.3.5 Enceinte calorifugée s'adaptant exactement au corps du pycnomètre.

Remarque 1: la méthode de détermination de la masse volumique dans le vide des boissons spiritueuses requiert l'utilisation d'une balance à deux plateaux, d'un pycnomètre et d'un flacon tare de même volume extérieur pour annuler l'effet de la poussée de l'air à tout moment donné. Cette technique simple peut être appliquée au moyen d'une balance monoplateau, moyennant la pesée supplémentaire du flacon tare pour suivre les variations de la poussée de l'air dans le temps.

A.4. Mode opératoire

Remarques préalables

- Le mode opératoire suivant est décrit pour l'utilisation d'un pycnomètre de 100 ml en vue de déterminer le titre alcoométrique, ce qui donne la meilleure précision. Il est toutefois possible d'utiliser un pycnomètre de volume inférieur, 50 ml par exemple.

A.4.1 Étalonnage du pycnomètre

L'étalonnage du pycnomètre comporte la détermination des caractéristiques suivantes:

tare à vide,
volume à 20 °C,
masse en eau à 20 °C.

A.4.1.1 Étalonnage à l'aide d'une balance monoplateau

Déterminer:

la masse du pycnomètre propre et sec (P),
la masse du pycnomètre plein d'eau à t °C (P1),
la masse du flacon tare (T0).

A.4.1.1.1 Peser le pycnomètre propre et sec (P).

A.4.1.1.2 Remplir avec soin le pycnomètre d'eau distillée à température ambiante et mettre en place le thermomètre.

Essuyer soigneusement le pycnomètre et le placer dans l'enceinte calorifugée. Agiter par retournement jusqu'à ce que la température lue sur le thermomètre soit constante.

Affleurer exactement au bord supérieur du tube latéral. Lire soigneusement la température t °C et la corriger le cas échéant de l'inexactitude de l'échelle du thermomètre.

Peser le pycnomètre plein d'eau (P1).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnométrie**

A.4.1.1.3 Peser le flacon tare (T0).

A.4.1.1.4 Calcul

- Tare du pycnomètre vide = $P - m$
où m est la masse de l'air contenu dans le pycnomètre.
 $m = 0,0012 \times (P1 - P)$

Remarque 2: 0,0012 est la masse volumique de l'air sec à 20 °C sous une pression de 760 mm de Hg.

- Volume du pycnomètre à 20 °C
 $V_{20^{\circ}\text{C}} = [P1 - (P - m)] \times F_t$
où F_t est le facteur relevé pour la température t °C dans la table I ci-dessous.
 $V_{20^{\circ}\text{C}}$ doit être connu à 0,001 ml près.
- Masse de l'eau contenue dans le pycnomètre à 20 °C
 $M_{20^{\circ}\text{C}} = V_{20^{\circ}\text{C}} \times 0,998203$
où 0,998203 est la masse volumique de l'eau à 20 °C.

Remarque 3: si nécessaire, la valeur de la masse volumique dans l'air (0,99715) peut être utilisée et le titre alcoométrique calculé en référence à la densité dans l'air correspondante dans les tables du service des douanes et accises du Royaume-Uni.

A.4.1.2 Étalonnage à l'aide d'une balance à deux plateaux

A.4.1.2.1 Placer le flacon tare sur le plateau gauche de la balance et le pycnomètre propre et sec, muni de son bouchon récepteur, sur le plateau droit. Réaliser l'équilibre en plaçant à côté du pycnomètre des masses marquées, soit p grammes. (p)

A.4.1.2.2 Remplir avec soin le pycnomètre d'eau distillée à température ambiante et mettre en place le thermomètre; essuyer soigneusement le pycnomètre et le placer dans l'enceinte calorifugée; agiter par retournement jusqu'à ce que la température lue sur le thermomètre soit constante.

Affleurer exactement au bord supérieur du tube latéral. Nettoyer le tube latéral, placer le bouchon récepteur; lire la température t °C avec soin et, le cas échéant, corriger le résultat de l'inexactitude de l'échelle du thermomètre.

Peser le pycnomètre plein d'eau, soit p' la masse en grammes qui réalise l'équilibre. (p')

A.4.1.2.3 Calcul

- Tare du pycnomètre vide = $p + m$
où m est la masse de l'air contenu dans le pycnomètre.
 $m = 0,0012 \times (p - p')$

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique réel par pycnometrie

- Volume du pycnomètre à 20 °C
 $V_{20^{\circ}\text{C}} = (p + m - p') \times F_t$
où F_t est le facteur relevé pour la température $t^{\circ}\text{C}$ dans la table I ci-dessous.
 $V_{20^{\circ}\text{C}}$ doit être connu à 0,001 ml près.
- Masse de l'eau contenue dans le pycnomètre à 20 °C
 $M_{20^{\circ}\text{C}} = V_{20^{\circ}\text{C}} \times 0,998203$
où 0,998203 est la masse volumique de l'eau à 20 °C.

A.4.2 Détermination du titre alcoométrique de l'échantillon pour essai

A.4.2.1 Utilisation d'une balance monoplateau

A.4.2.1.1 Peser le flacon tare, soit T1 sa masse.

A.4.2.1.2 Peser le pycnomètre plein du distillat préparé (voir annexe I), soit P2 sa masse à $t^{\circ}\text{C}$.

A.4.2.1.3 Calcul

- $dT = T1 - T0$
- Masse du pycnomètre vide au moment de la mesure
 $= P - m + dT$
- Masse du liquide contenu dans le pycnomètre à $t^{\circ}\text{C}$
 $= P2 - (P - m + dT)$
- Masse volumique à $t^{\circ}\text{C}$ en g/ml
- $\rho_{t^{\circ}\text{C}} = [P2 - (P - m + dT)] / V_{20^{\circ}\text{C}}$
Exprimer la masse volumique à $t^{\circ}\text{C}$ en kilogrammes par m^3 en multipliant $\rho_{t^{\circ}\text{C}}$ par 1000, soit ρ_t cette valeur.
- Corriger ρ_t à l'aide de la table des masses volumiques ρ_T des mélanges hydroalcooliques dans le Recueil des méthodes d'analyse des vins et des moûts de l'OIV.

Dans cette table, chercher sur la ligne horizontale correspondant à la température entière T immédiatement inférieure à $t^{\circ}\text{C}$ la plus petite masse volumique supérieure à ρ_t . Utiliser la différence tabulaire lue sous cette masse volumique pour calculer la masse volumique ρ_t de la boisson spiritueuse à cette température entière T.

- En utilisant la ligne de température entière, calculer la différence entre la masse volumique ρ' de la table immédiatement supérieure à ρ_t et la masse volumique calculée ρ_t . Diviser cette différence par la différence tabulaire lue à droite de la masse volumique ρ' . Le quotient donne la partie décimale du titre

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique réel par pycnometrie

alcoométrique, tandis que la partie entière de ce titre est indiquée au sommet de la colonne dans laquelle figure la masse volumique ρ' (soit Dt ce titre alcoométrique).

Remarque 4: il est également possible de conserver le pycnomètre dans un bain-marie d'eau à 20 °C ($\pm 0,2$ °C) pour porter jusqu'au trait de repère.

A.4.2.1.4 Résultat

À l'aide de la masse volumique ρ_{20} , calculer le titre alcoométrique volumique réel en utilisant les tables mentionnées ci-dessous.

La table indiquant la valeur du titre alcoométrique volumique (% vol.) à 20 °C en fonction de la masse volumique à 20 °C des mélanges hydroalcooliques est la table internationale adoptée par l'Organisation internationale de métrologie légale dans sa recommandation n° 22.

A.4.2.2 Utilisation d'une balance à deux plateaux.

A.4.2.2.1 Peser le pycnomètre plein du distillat préparé (voir Annexe I), soit p'' sa masse à t °C.

A.4.2.2.2 Calcul

- Masse du liquide contenu dans le pycnomètre à t °C
 $= p + m - p''$
- Masse volumique à t °C en g/ml
 $\rho_{t\text{ °C}} = (p + m - p'')/V_{20\text{ °C}}$
- Exprimer la masse volumique à t °C en kilogrammes par m^3 et procéder à la correction de température afin de calculer le titre alcoométrique à 20 °C, en suivant les indications fournies pour l'utilisation de la balance monoplateau.

A.5. Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

A.5.1 Résultats statistiques de l'essai interlaboratoire

Les données suivantes proviennent d'une étude internationale sur les performances de la méthode, sur des boissons spiritueuses diverses, réalisée conformément aux procédures établies au niveau international.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnometrie

Année de l'essai interlaboratoire	1997
Nombre de laboratoires	20
Nombre d'échantillons	6

Échantillons	A	B	C
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	19	20	17
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	1	-	2
Nombre de résultats acceptés	38	40	34
Valeur moyenne ($\bar{x}$) % vol.	23,77	40,04	40,29
	26,51*		
Écart-type de répétabilité (s_r) % vol.	0,106	0,176	0,072
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	0,42	0,44	0,18
Limite de répétabilité (r) % vol.	0,30	0,49	0,20
Écart-type de reproductibilité (s_R) % vol.	0,131	0,236	0,154
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	0,52	0,59	0,38
Limite de reproductibilité (R) % vol.	0,37	0,66	0,43

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnometrie**

Types d'échantillons

A Liqueur de fruit; doubles avec une teneur différente*

B Brandy; doubles en aveugle

C Whisky; doubles en aveugle

Échantillons	D	E	F
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	19	19	17
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	1	1	3
Nombre de résultats acceptés	38	38	34
Valeur moyenne ($\bar{x}$) % vol.	39,20	42,24	57,03
	42,93*	45,73*	63,03*
Écart-type de répétabilité (s_r) % vol.	0,103	0,171	0,190
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	0,25	0,39	0,32
Limite de répétabilité (r) % vol.	0,29	0,48	0,53
Écart-type de reproductibilité (s_R) % vol.	0,233	0,238	0,322
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	0,57	0,54	0,53
Limite de reproductibilité (R) % vol.	0,65	0,67	0,90

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnométrie

Types d'échantillons

D Grappa; doubles avec une teneur différente*

E Aquavit; doubles avec une teneur différente*

F Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnometrie**

Tableau 1

F facteurs par lesquels la masse d'eau contenue dans le pycnomètre en Pyrex à T°C doit
multiplié afin de calculer le volume du pycnomètre à 20°C

t°C	F	t°C	F	t°C	F	t°C	F	t°C	F	t°C	F	t°C	F
10,0	1,000398	13,0	1,000691	16,0	1,001097	19,0	1,001608	22,0	1,002215	25,0	1,002916	28,0	1,003704
,1	1,000406	,1	1,000703	,1	1,001113	,1	1,001627	,1	1,002238	,1	1,002941	,1	1,003731
,2	1,000414	,2	1,000714	,2	1,001128	,2	1,001646	,2	1,002260	,2	1,002966	,2	1,003759
,3	1,000422	,3	1,000726	,3	1,001144	,3	1,001665	,3	1,002282	,3	1,002990	,3	1,003787
,4	1,000430	,4	1,000738	,4	1,001159	,4	1,001684	,4	1,002304	,4	1,003015	,4	1,003815
10,5	1,000439	13,5	1,000752	16,5	1,001175	19,5	1,001703	22,5	1,002326	25,5	1,003041	28,5	1,003843
,6	1,000447	,6	1,000764	,6	1,001191	,6	1,001722	,6	1,002349	,6	1,003066	,6	1,003871
,7	1,000456	,7	1,000777	,7	1,001207	,7	1,001741	,7	1,002372	,7	1,003092	,7	1,003899
,8	1,000465	,8	1,000789	,8	1,001223	,8	1,001761	,8	1,002394	,8	1,003117	,8	1,003928
,9	1,000474	,9	1,000803	,9	1,001239	,9	1,001780	,9	1,002417	,9	1,003143	,9	1,003956
11,0	1,000483	14,0	1,000816	17,0	1,001257	20,0	1,001800	23,0	1,002439	26,0	1,003168	29,0	1,003984
,1	1,000492	,1	1,000829	,1	1,001273	,1	1,001819	,1	1,002462	,1	1,003194	,1	1,004013
,2	1,000501	,2	1,000842	,2	1,001290	,2	1,001839	,2	1,002485	,2	1,003222	,2	1,004042
,3	1,000511	,3	1,000855	,3	1,001306	,3	1,001859	,3	1,002508	,3	1,003247	,3	1,004071
,4	1,000520	,4	1,000868	,4	1,001323	,4	1,001880	,4	1,002531	,4	1,003273	,4	1,004099
11,5	1,000530	14,5	1,000882	17,5	1,001340	20,5	1,001900	23,5	1,002555	26,5	1,003299	29,5	1,004128
,6	1,000540	,6	1,000895	,6	1,001357	,6	1,001920	,6	1,002578	,6	1,003326	,6	1,004158
,7	1,000550	,7	1,000909	,7	1,001374	,7	1,001941	,7	1,002602	,7	1,003352	,7	1,004187
,8	1,000560	,8	1,000923	,8	1,001391	,8	1,001961	,8	1,002625	,8	1,003379	,8	1,004216
,9	1,000570	,9	1,000937	,9	1,001409	,9	1,001982	,9	1,002649	,9	1,003405	,9	1,004245
12,0	1,000580	15,0	1,000951	18,0	1,001427	21,0	1,002002	24,0	1,002672	27,0	1,003432	30,0	1,004275
,1	1,000591	,1	1,000965	,1	1,001445	,1	1,002023	,1	1,002696	,1	1,003458		
,2	1,000601	,2	1,000979	,2	1,001462	,2	1,002044	,2	1,002720	,2	1,003485		
,3	1,000612	,3	1,000993	,3	1,001480	,3	1,002065	,3	1,002745	,3	1,003513		
,4	1,000623	,4	1,001008	,4	1,001498	,4	1,002086	,4	1,002769	,4	1,003540		
12,5	1,000634	15,5	1,001022	18,5	1,001516	21,5	1,002107	24,5	1,002793	27,5	1,003567		
,6	1,000645	,6	1,001037	,6	1,001534	,6	1,002129	,6	1,002817	,6	1,003594		
,7	1,000656	,7	1,001052	,7	1,001552	,7	1,002151	,7	1,002842	,7	1,003621		
,8	1,000668	,8	1,001067	,8	1,001570	,8	1,002172	,8	1,002866	,8	1,003649		
,9	1,000679	,9	1,001082	,9	1,001589	,9	1,002194	,9	1,002891	,9	1,003676		

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par pycnometrie

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie électronique

Méthode OIV-MA-BS-04

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie électronique**

Méthode de type II

B.1. Principe

La masse volumique du liquide est déterminée par la mesure électronique des oscillations d'un tube en U vibrant. Pour réaliser cette mesure, l'échantillon est introduit dans un système oscillant dont la fréquence d'oscillation propre est ainsi modifiée par la masse ajoutée.

B.2. Réactifs et matériaux

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de classe 3 au minimum, répondant à la définition de la norme ISO 3696:1987.

B.2.1 Acétone (CAS 666-52-4) ou alcool absolu

B.2.2 Air sec

B.3. Appareillage et matériel

Appareillage courant de laboratoire et notamment:

B.3.1 Densimètre à affichage numérique

Les densimètres électroniques à utiliser pour réaliser ces mesures doivent pouvoir afficher la masse volumique en g/ml avec 5 décimales.

Remarque 1: le densimètre doit être placé sur un support parfaitement stable et isolé de toutes vibrations.

B.3.2 Régulation de la température

Les performances du densimètre ne sont respectées qu'à la condition de raccorder la cellule de mesure à un dispositif intégré de régulation thermique

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique réel par densimétrie électronique

permettant d'obtenir la même stabilité ($\pm 0,02$ °C) ou une meilleure stabilité de température.

Remarque 2: l'ajustement précis et le contrôle de la température de la cellule de mesure sont des paramètres très importants, car une erreur de 0,1 °C peut entraîner une variation de masse volumique de l'ordre de 0.0001 g/mL.

B.3.3 Seringues d'injection d'échantillons, échantillonneur automatique ou autre système équivalent.

B.4. Mode opératoire

B.4.1 Étalonnage du densimètre

L'appareil doit être étalonné conformément aux instructions du fabricant lors de la mise en service initiale. Il devra être réétalonné régulièrement et contrôlé à l'appui d'un étalon de référence certifié ou d'une solution de référence interne au laboratoire raccordée à un étalon de référence certifié.

B.4.2 Détermination de la masse volumique de l'échantillon

B.4.2.1 Avant de procéder à la mesure, si nécessaire, nettoyer et sécher la cellule à l'acétone ou à l'alcool absolu et à l'air sec. Rincer la cellule avec l'échantillon.

B.4.2.2 Injecter l'échantillon dans la cellule (à l'aide d'une seringue, d'un échantillonneur automatique ou autre système équivalent) de sorte que celle-ci soit remplie entièrement. Lors du remplissage, veiller à l'élimination complète des bulles d'air. L'échantillon doit être homogène et ne contenir aucune particule solide. Le cas échéant, éliminer toute matière en suspension par filtration avant l'analyse.

B.4.2.3 Une fois la lecture stabilisée, enregistrer la masse volumique ρ_{20} ou le titre alcoométrique affiché par le densimètre.

B.4.3 Résultat

Lorsque la masse volumique ρ_{20} est utilisée, calculer le titre alcoométrique volumique réel en utilisant les tables mentionnées ci-dessous.

La table indiquant la valeur du titre alcoométrique volumique (% vol.) à 20 °C en fonction de la masse volumique à 20 °C des mélanges hydroalcooliques est la table internationale adoptée par l'Organisation internationale de métrologie légale dans sa recommandation n° 22 (Table IVa).

B.5. Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

B.5.1 Résultats statistiques de l'essai interlaboratoire

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie électronique

Les données suivantes proviennent d'une étude internationale sur les performances de la méthode, sur des boissons spiritueuses diverses, réalisée conformément aux procédures établies au niveau international.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie électronique**

Année de l'essai interlaboratoire	1997
Nombre de laboratoires	16
Nombre d'échantillons	6

Échantillons	A	B	C
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	11	13	15
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	2	3	1
Nombre de résultats acceptés	22	26	30
Valeur moyenne ($\bar{x}$) % vol.	23,81	40,12	40,35
	26,52*		
Écart-type de répétabilité (s_r) % vol	0,044	0,046	0,027
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	0,17	0,12	0,07
Limite de répétabilité (r) % vol	0,12	0,13	0,08
Écart-type de reproductibilité (s_R) % vol	0,054	0,069	0,083
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	0,21	0,17	0,21
Limite de reproductibilité (R) % vol	0,15	0,19	0,23

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie électronique**

Types d'échantillons

A Liqueur de fruit; doubles avec une teneur différente*

B Brandy; doubles en aveugle

C Whisky; doubles en aveugle

Échantillons	D	E	F
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	16	14	13
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	-	1	2
Nombre de résultats acceptés	32	28	26
Valeur moyenne ($\bar{x}$) % vol.	39,27	42,39	56,99
	43,10*	45,91*	63,31*
Écart-type de répétabilité (s_r) % vol	0,079	0,172	0,144
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	0,19	0,39	0,24
Limite de répétabilité (r) % vol	0,22	0,48	0,40
Écart-type de reproductibilité (s_R) % vol	0,141	0,197	0,205
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	0,34	0,45	0,34
Limite de reproductibilité (R) % vol	0,40	0,55	0,58

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie électronique**

Types d'échantillons

D Grappa; doubles avec une teneur différente*

E Aquavit; doubles avec une teneur différente*

F Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie sur balance hydrostatique

Méthode OIV-MA-BS-05

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie sur balance hydrostatique**

Méthode de type II

C.1. Principe

Le titre alcoométrique des boissons spiritueuses peut être mesuré par densimétrie sur balance hydrostatique suivant le principe d'Archimède selon lequel tout corps plongé dans un fluide subit une poussée verticale, dirigée de bas en haut, égale au poids du fluide déplacé.

C.2. Réactifs et matériaux

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de classe 3 au minimum, répondant à la définition de la norme ISO 3696:1987.

C.2.1 Solution de lavage du flotteur (hydroxyde de sodium, 30 % p/v)

Pour préparer une solution de 100 ml, peser 30 g d'hydroxyde de sodium et porter au volume à l'aide d'éthanol à 96 % en volume.

C.3. Appareillage et matériel

Appareillage courant de laboratoire et notamment:

C.3.1 Balance hydrostatique monoplateau d'une sensibilité de 1 mg.

C.3.2 Flotteur d'un volume d'au moins 20 ml, spécialement adapté à la balance, suspendu par un fil d'un diamètre inférieur ou égal à 0,1 mm.

C.3.3 Éprouvette cylindrique comportant un repère de niveau. Le flotteur doit pouvoir occuper entièrement le volume de l'éprouvette situé au-dessous du repère; la surface du liquide ne peut être traversée que par le fil de suspension. L'éprouvette cylindrique doit avoir un diamètre intérieur supérieur d'au moins 6 mm à celui du flotteur.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique réel par densimétrie sur balance hydrostatique

C.3.4 Thermomètre (ou sonde de mesure de la température) gradué en degrés et dixièmes de degré, de 10 à 40 °C, étalonné à 0,05 °C près.

C.3.5 Poids étalonnés par un organisme de certification reconnu.

Remarque 1: l'utilisation d'une balance à deux plateaux est également possible; le principe en est décrit dans le Recueil des méthodes d'analyse des vins et des moûts de l'OIV.

C.4. Mode opératoire

Entre chaque mesure, le flotteur et l'éprouvette doivent être nettoyés à l'eau distillée, essuyés avec un papier de laboratoire doux ne perdant pas ses fibres et rincés avec la solution dont la masse volumique est à déterminer. Les mesures doivent être effectuées dès que l'appareil a atteint sa stabilité afin de limiter les pertes d'alcool par évaporation.

C.4.1 Étalonnage de la balance

Bien que les balances soient généralement pourvues d'un système d'étalonnage interne, la balance hydrostatique doit pouvoir être étalonnée avec des poids contrôlés par un organisme de certification officiel.

C.4.2 Étalonnage du flotteur

C.4.2.1 Remplir l'éprouvette cylindrique jusqu'au repère avec de l'eau bidistillée (ou d'une

pureté équivalente, par exemple de l'eau microfiltrée d'une conductivité de 18,2 MΩ/cm), dont la température sera comprise entre 15 et 25 °C, mais se situera de préférence à 20 °C.

C.4.2.2 Plonger le flotteur et le thermomètre dans le liquide, agiter, lire la masse volumique du liquide sur l'appareil et, si nécessaire, corriger cette lecture pour qu'elle soit égale à celle de l'eau à la température de la mesure.

C.4.3 Contrôle à l'aide d'une solution hydroalcoolique

C.4.3.1 Remplir l'éprouvette cylindrique jusqu'au repère avec un mélange hydroalcoolique de titre connu, dont la température sera comprise entre 15 et 25 °C, mais se situera de préférence à 20 °C.

C.4.3.2 Plonger le flotteur et le thermomètre dans le liquide, agiter, lire la masse volumique du liquide sur l'appareil (ou le titre alcoométrique si ce dernier le permet). Le titre alcoométrique ainsi établi doit être égal au titre alcoométrique précédemment déterminé.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du titre alcoométrique volumique réel par densimétrie sur balance hydrostatique

Remarque 2: cette solution de titre alcoométrique connu peut également remplacer l'eau bidistillée pour l'étalonnage du flotteur.

C.4.4 Mesure de la masse volumique d'un distillat (ou de son titre alcoométrique si l'appareillage le permet)

C.4.4.1 Verser l'échantillon pour essai dans l'éprouvette cylindrique jusqu'au repère de niveau.

C.4.4.2 Plonger le flotteur et le thermomètre dans le liquide, agiter, lire la masse volumique du liquide sur l'appareil (ou le titre alcoométrique si ce dernier le permet). Noter la température si la masse volumique est mesurée à t °C (ρ_t).

C.4.4.3 Corriger ρ_t à l'aide de la table des masses volumiques ρ_T des mélanges hydroalcooliques dans le Recueil des méthodes d'analyse des vins et des moûts de l'OIV.

C.4.5 Nettoyage du flotteur et de l'éprouvette cylindrique

C.4.5.1 Plonger le flotteur dans la solution de lavage versée dans l'éprouvette.

C.4.5.2 Laisser tremper une heure en tournant le flotteur régulièrement.

C.4.5.3 Rincer abondamment à l'eau du robinet, puis à l'eau distillée.

C.4.5.4 Essuyer avec un papier de laboratoire doux ne perdant pas ses fibres.

Réaliser ces opérations lors de la première utilisation du flotteur, puis régulièrement dès que nécessaire.

C.4.6 Résultat

À l'aide de la masse volumique ρ_{20} , calculer le titre alcoométrique volumique réel en utilisant les tables mentionnées ci-dessous.

La table indiquant la valeur du titre alcoométrique volumique (% vol.) à 20 °C en fonction de la masse volumique à 20 °C des mélanges hydroalcooliques est la table internationale adoptée par l'Organisation internationale de métrologie légale dans sa recommandation n° 22.

C.5. Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

C.5.1 Résultats statistiques de l'essai interlaboratoire

Les données suivantes proviennent d'une étude internationale sur les performances de la méthode, sur des boissons spiritueuses diverses, réalisée conformément aux procédures établies au niveau international.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie sur balance hydrostatique

Année de l'essai interlaboratoire 1997

Nombre de laboratoires 12

Nombre d'échantillons 6

Échantillons	A	B	C
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	12	10	11
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	-	2	1
Nombre de résultats acceptés	24	20	22
Valeur moyenne ($\bar{x}$) % vol.	23,80	40,09	40,29
	26,51*		
Écart-type de répétabilité (s_r) % vol.	0,048	0,065	0,042
Écart-type relatif de répétabilité (RSD _r) (%)	0,19	0,16	0,10
Limite de répétabilité (r) % vol.	0,13	0,18	0,12
Écart-type de reproductibilité (s_R) % vol.	0,060	0,076	0,073
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD _R) (%)	0,24	0,19	0,18
Limite de reproductibilité (R) % vol.	0,17	0,21	0,20

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie sur balance hydrostatique

Types d'échantillons

A Liqueur de fruit; doubles avec une teneur différente*

B Brandy; doubles en aveugle

C Whisky; doubles en aveugle

Échantillons	D	E	F
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	12	11	9
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	-	1	2
Nombre de résultats acceptés	24	22	18
Valeur moyenne ($\bar{x}$) % vol.	39,26	42,38	57,16
	43,09*	45,89*	63,44*
Écart-type de répétabilité (s_r) % vol.	0,099	0,094	0,106
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	0,24	0,21	0,18
Limite de répétabilité (r) % vol.	0,28	0,26	0,30
Écart-type de reproductibilité (s_R) % vol.	0,118	0,103	0,125
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	0,29	0,23	0,21
Limite de reproductibilité (R) % vol.	0,33	0,29	0,35

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination du titre alcoométrique volumique réel
par densimétrie sur balance hydrostatique**

Types d'échantillons

D Grappa; doubles avec une teneur différente*

E Aquavit; doubles avec une teneur différente*

F Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

Méthode OIV-MA-BS-06

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

1. PRESENTATION.

Cette méthode de détermination de la masse volumique des alcools neutres et des boissons spiritueuses repose sur le phénomène de changement de fréquence d'oscillation en fonction du changement de masse sur la base d'un étalonnage à l'aide de deux fluides de masse volumique reconnue.

Des densimètres électroniques à affichage numérique sont disponibles sur le plan commercial pour réaliser cette détermination.

2. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION.

Le présent document a pour objet de décrire une méthode de détermination de la masse volumique des alcools et des boissons spiritueuses manipulés à la pression atmosphérique.

L'application de la méthode est restreinte aux produits de pression de vapeur inférieure à 800 hectoPascal (600 mmHg) et de viscosité inférieure à: 15 000 mm²/s (1 mm²/s = 1 cSt) environ à la température d'essai.

En référence aux dispositions réglementaires en vigueur, la température d'essai est arrêtée à : 20°C.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

3. DEFINITION.

La masse volumique d'un liquide à une température donnée est égale au quotient de sa masse par son volume:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Elle s'exprime en: kilogramme par mètre cube (kg/m³) à la température de 20 degrés Celsius (°C) pour les alcools et boissons spiritueuses.

Note : les densimètres électroniques affichent des résultats exprimés en grammes par centimètre cube que l'on peut éventuellement convertir ensuite en kilogrammes par mètre cube.

4. PRINCIPE.

4.1 Un échantillon de liquide de quelques millilitres est introduit dans un tube vibrant.

La mesure de la période d'oscillation du tube renfermant l'échantillon permet de déterminer la masse volumique de cet échantillon à la température de l'essai, l'appareil ayant été préalablement étalonné.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

4.2 Principe du tube de mesure vibrant.

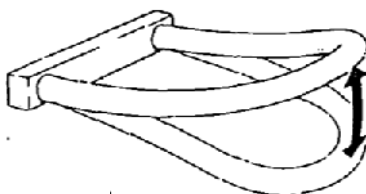


Figure 1

Tube de mesure vibrant

Les densimètres électroniques fonctionnent selon le principe du tube vibrant (fig. 1): le fluide est introduit dans un tube en U pour y être soumis à une excitation électromagnétique (fig. 2 et fig. 3).

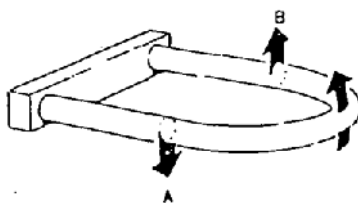


Figure 2

A-B: Forces réactives exercées par: le fluide

La période d'oscillation induite est ainsi proportionnelle à la masse totale en vibration et permet de déterminer la masse volumique de l'échantillon à partir de l'équation suivante:

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

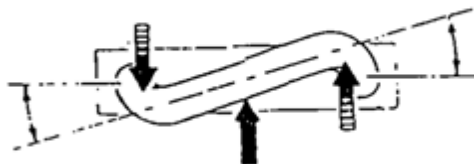


Figure 3
Torsion résultante

$$T = 2\pi \sqrt{(M + pV) / C}$$

avec T = période de vibration induite

M = masse du tube vide

V = volume de l'échantillon en vibration

C = constante de rappel

p = masse volumique de l'échantillon

4.3 Principe détaillé.

La masse volumique des liquides est déterminée par la mesure électronique des oscillations d'un tube en U vibrant.

Pour cette mesure, l'échantillon est introduit dans un système oscillant dont la fréquence propre est ainsi modifiée par la masse de la substance introduite.

Ce système est constitué par un tube en U à vibrations non amorties, excité par voie électronique. Les deux tiges ou montants du tube en U jouent le rôle de lames de rappel. Les mouvements oscillatoires s'effectuent perpendiculairement au plan du U. Le volume de remplissage V est délimité par les deux points de

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

fixation. Si l'oscillateur contient ce volume défini en V, il vibre dans et avec le tube. On admet que la masse est proportionnelle à la masse volumique. Le remplissage du tube au-delà du point de fixation n'affectant pas la mesure, il est possible d'effectuer une mesure en flux continu.

En maintenant une température constante sur l'ensemble du système, la densité sera calculée à partir de la période en considérant un corps creux de masse M suspendu à un ressort avec une constante de rappel C. Le corps creux est ensuite rempli d'un volume de liquide de densité p. La fréquence naturelle de ce système vibratoire est:

$$F = 1/2 \sqrt{\frac{Vc}{M} + pV}$$

$$\text{la période } T = 2 \sqrt{VM + \frac{pV}{c}} \quad p = T^2 \cdot (c/4)^2 \cdot (V-M)/V$$

$$A = (c/4)^2 \cdot V$$

$$\text{et } B = M/V$$

$$\text{ce qui donne } p = A \cdot T^2 - B$$

$$(p = \rho).$$

Les constantes A et B représentent les constantes de rappel de l'oscillateur, la masse du tube vide et le volume de remplissage du tube. A et B sont ainsi des constantes du système, spécifique à chaque oscillateur. Elles peuvent être

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

déduites de la mesure de deux périodes lorsque l'oscillateur est rempli de substances de densité connues.

5. APPAREILLAGE.

5.1 Densimètre à affichage numérique.

L'appareil est composé des éléments suivants:

- cellule de mesure en verre comportant le tube de mesure, une enceinte thermostatée destinée à être raccordée à un bain de circulation thermostatique externe, un puits thermométrique. La thermostatisation de l'enceinte peut aussi être obtenue à l'aide d'un dispositif intégré à élément semi-conducteur utilisant l'effet PELTIER,
- système pour mise en oscillation du tube de mesure permettant la mesure de la période d'oscillation,
- horloge,
- calculateur et afficheur numérique.

5.2 Régulation de température.

Les performances du densimètre ne sont respectées qu'à la condition de raccorder la cellule de mesure à un bain thermostatique permettant une stabilité de la température meilleure que $\pm 0,02$ °C ou à la condition que le densimètre soit équipé d'un dispositif intégré de régulation thermique permettant d'obtenir la même stabilité de température.

5.3 Seringues d'injection d'échantillons.

Seringues en polypropylène ou en verre d'une capacité d'au moins 2 ml comportant un embout s'adaptant à l'orifice d'entrée de la cellule. Un adaptateur

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses Méthode de détermination par densimétrie électronique

à cônes de PTFE est nécessaire pour éviter la détérioration de l'extrémité de la cellule de mesure.

Le densimètre électronique peut être également équipé d'un échantillonneur automatique du type approprié à l'appareil.

5.4 Mesure de la température.

La mesure de la température est réalisée au niveau de la cellule à partir d'une sonde thermométrique dont l'élément sensible (sonde à résistance de platine conforme à la classe A de la norme NF C 42.330) monté en 4 fils est introduit dans le puits thermométrique prévu à cet effet dans la cellule. La sonde est associée à un transmetteur électronique de température dont l'afficheur présente une résolution de 0,01 °C. La sonde et le transmetteur doivent être préalablement étalonnés dans un centre d'étalonnage agréé afin de garantir une mesure de la température avec une incertitude inférieure ou égale à $\pm 0,05$ oc.

La sonde et le transmetteur doivent être périodiquement contrôlés.

6. PRODUITS.

6.1 Fluides de référence.

Ces fluides doivent conserver durant les essais leur caractéristique de masse volumique ; ils ne doivent donc pas être constitués de mélanges de produits de tension de vapeur inégale; leur composition moléculaire et leur pureté doivent être connues Leur viscosité doit être inférieure à $2 \text{ mm}^2/\text{s}$.

Les fluides de référence doivent être choisis de telle manière que leurs masses volumiques encadrent celles des produits à mesurer. L'écart de masse volumique entre les 2 fluides de référence à une même température doit être supérieur à $0,01 \text{ g/m}^3$.

Les masses volumiques des fluides de référence déterminées à la température de: 20 °C avec une incertitude inférieure à $\pm 0,05$ °C, doivent être connues avec une incertitude inférieure à $\pm 0,05 \text{ kg/m}^3$.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses Méthode de détermination par densimétrie électronique

Dans le cas de mesure de la masse volumique des alcools et des boissons spiritueuses : utiliser, dans les conditions décrites précédemment:

- des solutions hydro-alcooliques dont la masse volumique est exclusivement déterminée par la méthode pycnométrique (méthode de référence).
- de l'eau bi-distillée ou de pureté analytique équivalente, dégazée, de préparation récente,
- de l'air sec.

6.2 Produits de nettoyage.

- acide chromique,
- solvants organiques : éthanol 96 % vol, acétone pure.

6.3 Séchage.

- Acétone pure, air sec.

7. PERIODE A L'AIR.

Préalablement à la mise en service du densimètre et à son étalonnage, il est indispensable de s'assurer de la reproductibilité de la mesure à l'air afin de pouvoir utiliser cette mesure à l'air pour contrôler rapidement, avant chaque mesure de masse volumique, la propreté de la cellule et la constance du densimètre.

Les mesures à l'air des périodes doivent pouvoir être réalisées avec une reproductibilité de $\pm 10^{-5}$ en valeur relative sur la période pour une même pression barométrique et une même température.

Pour certains densimètres, la période de résonance à l'air varie en fonction de la position de la sonde de température dans le puits thermométrique. Pour ces densimètres, il faudra soit changer la cellule de mesure, soit fixer définitivement la sonde de température, soit définir

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses Méthode de détermination par densimétrie électronique

précisément sa position dans le puits thermométrique, pour atteindre les conditions de reproductibilité fixées ci-dessus.

NOTE : L'utilisation d'air pollué ou excessivement humide peut influencer défavorablement sur les mesures. Lorsque ces caractéristiques se rencontrent dans la salle de travail, il est souhaitable de faire transiter l'air de séchage par un purificateur/sécheur.

8. ETALONNAGE DE L'APPAREILLAGE.

8.1 Généralités.

L'appareil devra être étalonné lors de la mise en service initiale. L'appareil devra être réétalonné si l'on constate une dérive de la mesure à l'air (voir point 9.20) et, dans tous les cas, tous les trois mois.

8.2 Lors de l'étalonnage initial,

il est nécessaire de calculer les valeurs des constantes A et B que l'on détermine en mesurant les périodes d'oscillations (T_1 et T_2) respectivement obtenues avec deux fluides de référence.

8.2.1 Placer le sélecteur d'affichage en position mesure de la période (T). Rincer la cellule avec de l'acétone. La sécher à l'aide d'air sec généré par la pompe intégrée au densimètre. Lorsque la valeur affichée est pratiquement stable, arrêter l'arrivée d'air, laisser atteindre l'équilibre thermique et noter la période d'oscillation (T_a) obtenue avec l'air à la température de 20 °C. (e procédé permet lors de chaque étalonnage ou de détermination de masse volumique d'un échantillon de contrôler l'état de propreté de la cellule et la stabilité de l'appareil.

8.2.2 Mesure d'étalonnage à l'aide du premier fluide de référence. A l'aide d'une seringue remplir la cellule par son orifice inférieur avec le liquide étalon jusqu'à ce qu'il affleure à l'orifice supérieur. Laisser alors la seringue en place. Au cours de cette opération, contrôler la qualité du remplissage en s'assurant visuellement de l'absence de bulles d'air même minuscules. Lorsque l'équilibre thermique est atteint, noter la valeur de la période d'oscillation (T_i). Si la régulation thermique

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

est conforme à la précision requise la valeur de T_i ne doit pas varier de plus de ± 20 nanoseconde (2 points de résolution).

8.2.3 Mesure d'étalonnage à l'aide du second fluide de référence. Vider la cellule par aspiration au niveau de l'orifice inférieur à l'aide de la seringue. Rincer la cellule avec de l'acétone. La sécher à l'aide de l'air sec généré par la pompe intégrée au densimètre. Pour cela relier la sortie d'air à l'orifice supérieur de la cellule, mettre la pompe en marche et la laisser fonctionner jusqu'à ce que la valeur affichée de T_a soit pratiquement constante; arrêter la pompe et lorsque l'équilibre thermique est atteint, noter la valeur de la période d'oscillation (T_a) correspondant à l'air. Si la valeur de T_a est identique à celle obtenue lors d'essais précédents avec une cellule correctement nettoyée, et à la même température, la cellule peut être considérée comme propre et sèche.

Procéder à l'étalonnage avec le second étalon en répétant les divers points du paragraphe 8.22 et noter la valeur de la période d'oscillation (T_2) relative au second fluide de référence.

8.2.4 A partir des valeurs T_i et T_2 mesurées et des valeurs connues des masses volumiques des deux fluides de référence calculer les constantes A et B au moyen des équations suivantes:

$$A = T_1^2 - T_2^2 / \rho_1 - \rho_2$$

$$B = T_2^2 - A \cdot \rho_2$$

où

T_1 est la période d'oscillation observée, la cellule contenant le premier fluide de référence (en ms)

T_2 est la période d'oscillation observée, la cellule contenant le second fluide de référence (en ms).

ρ_1 = est la masse volumique du premier fluide de référence à la température de l'essai (en g/cm³),

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses Méthode de détermination par densimétrie électronique

p_2 = est la masse volumique du second fluide de référence à la température de l'essai (en g/cm³).

Suivant la procédure du densimètre utilisé:

8.2.5 Entrer en mémoire les constantes A et B sur l'afficheur numérique situé sur le dessus de l'appareil. Afficher sa valeur pour vérifier qu'elles ont été correctement mémorisées, en plaçant le sélecteur d'affichage sur les positions "A" et "B".

8.2.6 Mettre le sélecteur d'affichage en position mesure. Le densimètre doit maintenant afficher directement la masse volumique des échantillons introduits dans la cellule de mesure.

NOTE : Certains modèles de densimètres électroniques calculent automatiquement les constantes d'étalonnage.

8.3 Vérification de l'étalonnage.

Afin de valider l'opération, effectuer la mesure d'une solution de référence dont la valeur en masse volumique se situe à l'intérieur de la plage de l'étalonnage réalisé.

Des substances de référence, vérifiées par un organisme de métrologie, sont disponibles commercialement.

L'étalonnage est validé si le résultat de la mesure de la masse volumique de la substance de référence est conforme à la classe de précision du densimètre électronique utilisé.

9. MODE OPERATOIRE.

9.1 Préparation de l'appareillage.

- Placer le densimètre sur un support parfaitement stable et isolé de toutes vibrations.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses Méthode de détermination par densimétrie électronique

- Raccorder le densimètre au bain thermostaté à circulation au moyen de tuyaux en caoutchouc souple ou de tubes isolants. Remplir le bain d'eau en se conformant aux instructions du fabricant et ajouter un produit empêchant le développement des algues. Régler la température du bain de façon à établir et maintenir la température d'essai désirée au niveau du densimètre.
- L'ajustement précis et le contrôle de la température dans la cellule de mesure sont des paramètres très importants car une erreur de 0,1 °C peut entraîner une variation de masse volumique de l'ordre de 0,1 kg/m³.
- Les règles suivantes devront être respectées:
 - la cellule de mesure doit être maintenue à une température constante pendant les 6 heures précédant l'essai.
 - la variation maximale de température mesurée par la sonde thermométrique de la cellule de mesure ne doit pas excéder $\pm 0,02$ °C
 - le débit, la longueur et l'isolation des tuyaux entre le bain thermostatique et la cellule seront ajustés pour que la stabilité de la température de la cellule soit respectée.

9.2 Contrôle de la période à l'air.

- Nettoyer, rincer et sécher la cellule.
- Faire une mesure à l'air. Vérifier que la période ainsi mesurée ne s'écarte pas de plus de 10- en valeur relative de celle déterminée dans les conditions définies au point 7. Si un écart apparaît, procéder à un nouveau nettoyage de la cellule avec une solution tiède d'acide chromique (attention ce produit cause de graves brûlures), qui est l'agent nettoyant le plus efficace. Si l'écart persiste après plusieurs nettoyages, procéder à un nouvel étalonnage.

9.3 Mesure de la masse volumique.

- Filtrer préalablement l'échantillon, si nécessaire.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses Méthode de détermination par densimétrie électronique

- Eclairer la cellule.

Si l'on ne dispose que d'une faible quantité d'échantillon, introduire dans la cellule propre et sèche à l'aide de la seringue la quantité d'échantillon nécessaire pour que le liquide à mesurer arrive jusqu'à l'orifice supérieur de la cellule. Au cours du remplissage, s'assurer de l'élimination complète des bulles d'air, l'échantillon doit être homogène et ne contenir aucune particule solide.

- Laisser ensuite la seringue en place sur l'orifice inférieur de la cellule.

NOTE L'introduction d'échantillons de couleur foncée dans la cellule ne permet pas d'établir avec certitude l'absence de bulle d'air et de particules solides.

Eteindre la lampe immédiatement après l'introduction de l'échantillon car la chaleur qu'elle génère influe sur la température de mesure.

9.4 Calcul et expression des résultats.

9.4.1. Densimètre avec calculateur intégré.

Après quelques minutes, la valeur de la masse volumique se stabilise, indiquant que la température d'équilibre de la mesure a été atteinte. Si cette température de mesure ne diffère pas de plus de $\pm 0,01$ °C de la température de 20°C, noter la valeur affichée.

Convertir, si besoin est, le résultat obtenu en kg/m^3 .

9.4.2. Densimètre sans calculateur.

Laisser la valeur de période d'oscillation (T) affichée par l'appareil se stabiliser à une unité près du quatrième chiffre après la virgule. Si cette température de mesure ne diffère pas de plus de $\pm 0,01$ °C de la température de 20 °C, noter la valeur affichée.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

Calculer la masse volumique en kg/m³ de l'échantillon à l'aide de la formule suivante:

$$p = \frac{1000}{A} (T^2 - B)$$

où

T: est la période d'oscillation correspondant à l'échantillon mesuré (en ms).

A et B : les constantes définies lors de l'étalonnage prescrit au paragraphe 8.

9.4.3. Correction de viscosité.

Si le liquide dont on mesure la masse volumique présente une viscosité supérieure à 2 mm²/s, il est nécessaire de réaliser une correction pour tenir compte de cette viscosité en utilisant la formule fournie par le constructeur du densimètre.

10. PROCES VERBAL D'ESSAI.

Le procès-verbal d'essai doit mentionner:

- la méthode utilisée,
- le résultat ainsi que le mode d'expression des résultats,
- les détails particuliers ainsi que les incidents fortuits relevés au cours de la
- les opérations non prévues dans la méthode.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

ANNEXE A

TABLE 1

DENSITÉ DE L'AIR

La densité de l'air exprimée en g/cm³ varie en fonction de la pression P exprimée en mbar et la température exprimée en °C.

A t °C et p Ton-, on calcule la densité suivant la formule:

$$\text{densité } t, p = \frac{0,0012930 \cdot P}{1 + 0,00367 \cdot t} \cdot \frac{760}{760}$$

Les valeurs sont données pour une teneur de 0,03 %, en volume, de CO₂ dans l'air; les valeurs changent de ± 1/19000 à chaque variation de ± 0,0001 du volume de CO₂.

Composition de l'air sec au sol:

	N ₂	O ₂	A	CO ₂	Ne	He	Kr	X	H ₂
Volume en %	78,09	20,95	0,93	0,03	0,0018	0,0005	0,041	0,068	0,045
Masse en %	75,52	23,15	1,28	0,05	0,0013	0,047	0,043	0,044	0,084

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

DENSITE DE L'AIR SEC
à la température t et sous la pression H (en cm de Mercure)

$$\frac{0.001293}{1 + 0.00367 \cdot t} \cdot \frac{H}{76}$$

les unités sont des g/ml
Presion (H) en centimètres de mercure

T °C	72.0	73.0	74.0	75.0	76.0	77.0	parties proport.
10	0.001182	0.001198	0.001215	0.001231	0.001247	0.001264	17
11	178	193	210	227	243	259	cm
12	173	190	206	222	239	255	0,1 2
13	169	186	202	218	234	251	0,2 3
14	165	181	198	214	230	246	0,3 5
							0,4 7
15	0.001161	0.001177	0.001193	0.001210	0.001226	0.001242	0,5 8
16	157	173	189	205	221	238	0,6 10
17	153	169	185	201	217	233	0,7 12
18	149	165	181	197	213	229	0,8 14
19	145	161	177	193	209	225	0,9 15
							16
20	0.001141	0.001157	0.001173	0.001189	0.001205	0.001221	cm
21	137	153	169	185	201	216	0,1 2
22	134	149	165	181	197	212	0,2 3
23	130	145	161	177	193	208	0,3 5
24	126	142	157	173	189	204	0,4 6
							0,5 8
25	0.001122	0.001138	0.001153	0.001169	0.001185	0.001200	0,6 10
26	118	134	149	165	181	196	0,7 11
27	115	130	146	161	177	192	0,8 13
28	111	126	142	157	173	188	0,9 14
29	107	123	138	153	169	184	15
30	10.001104	0.001119	0.001134	0.001150	0.001165	0.001180	0,1 1
							0,9 13

Parties proportionnelles 17 :

Densité de l'air sec à 20 °C et 760 mm de mercure : 1.204 mg/ml

DENSITÉ DE L'EAU PURE SANS AIR

0 °C : 0.99987	3,98 °C : 1.0000	5 °C : 0.99999	10 °C : 0.9973
15 °C : 0.99913	18 °C : 0.99862	20 °C : 0.99823	25 °C : 0.99707
30 °C : 0.99567	35 °C : 0.99406	38 °C : 0.99299	40 °C : 0.99224
45 °C : 0.99025	50 °C : 0.98807	55 °C : 0.98573	60 °C : 0.98324
65 °C : 0.98059	70 °C : 0.97781	75 °C : 0.97489	80 °C : 0.97183
85 °C : 0.96865	90 °C : 0.96534	95 °C : 0.96192	100 °C : 0.95838

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

- Masse volumique de l'eau en fonction de la température : ρ (g/cm ³) (1).										
t (°C)	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0	0,999 839	0,999 846	0,999 852	0,999 859	0,999 865	0,999 871	0,999 877	0,999 882	0,999 888	0,999 893
1	0,999 898	0,999 903	0,999 908	0,999 913	0,999 917	0,999 921	0,999 925	0,999 929	0,999 933	0,999 936
2	0,999 940	0,999 943	0,999 946	0,999 949	0,999 952	0,999 954	0,999 956	0,999 959	0,999 961	0,999 962
3	0,999 964	0,999 966	0,999 967	0,999 968	0,999 969	0,999 970	0,999 971	0,999 971	0,999 972	0,999 972
4	0,999 972	0,999 972	0,999 972	0,999 971	0,999 971	0,999 970	0,999 969	0,999 968	0,999 967	0,999 965
5	0,999 964	0,999 962	0,999 960	0,999 958	0,999 956	0,999 954	0,999 951	0,999 943	0,999 946	0,999 943
6	0,999 940	0,999 937	0,999 934	0,999 930	0,999 926	0,999 923	0,999 919	0,999 915	0,999 910	0,999 906
7	0,999 901	0,999 897	0,999 892	0,999 887	0,999 882	0,999 877	0,999 871	0,999 866	0,999 860	0,999 854
8	0,999 848	0,999 842	0,999 836	0,999 829	0,999 823	0,999 816	0,999 809	0,999 802	0,999 795	0,999 788
9	0,999 781	0,999 773	0,999 765	0,999 758	0,999 750	0,999 742	0,999 734	0,999 725	0,999 717	0,999 708
10	0,999 699	0,999 691	0,999 682	0,999 672	0,999 663	0,999 654	0,999 644	0,999 635	0,999 625	0,999 615
11	0,999 605	0,999 595	0,999 584	0,999 574	0,999 563	0,999 553	0,999 542	0,999 531	0,999 520	0,999 509
12	0,999 497	0,999 486	0,999 474	0,999 462	0,999 451	0,999 439	0,999 426	0,999 414	0,999 402	0,999 389
13	0,999 377	0,999 364	0,999 351	0,999 338	0,999 325	0,999 312	0,999 299	0,999 285	0,999 272	0,999 258
14	0,999 244	0,999 230	0,999 216	0,999 202	0,999 188	0,999 173	0,999 159	0,999 144	0,999 129	0,999 114
15	0,999 099	0,999 084	0,999 069	0,999 054	0,999 038	0,999 022	0,999 007	0,998 991	0,998 975	0,998 958
16	0,998 943	0,998 926	0,998 910	0,998 894	0,998 877	0,998 860	0,998 843	0,998 826	0,998 809	0,998 792
17	0,998 775	0,998 757	0,998 740	0,998 722	0,998 704	0,998 686	0,998 668	0,998 650	0,998 632	0,998 614
18	0,998 595	0,998 577	0,998 558	0,998 539	0,998 520	0,998 502	0,998 482	0,998 463	0,998 444	0,998 425
19	0,998 405	0,998 385	0,998 366	0,998 346	0,998 326	0,998 306	0,998 286	0,998 265	0,998 245	0,998 224
20	0,998 204	0,998 183	0,998 162	0,998 141	0,998 120	0,998 099	0,998 078	0,998 057	0,998 035	0,998 014
21	0,997 992	0,997 971	0,997 949	0,997 927	0,997 905	0,997 883	0,997 860	0,997 838	0,997 816	0,997 793
22	0,997 770	0,997 747	0,997 725	0,997 702	0,997 679	0,997 656	0,997 632	0,997 609	0,997 585	0,997 562
23	0,997 538	0,997 515	0,997 491	0,997 467	0,997 443	0,997 419	0,997 394	0,997 370	0,997 345	0,997 321
24	0,997 296	0,997 272	0,997 247	0,997 222	0,997 197	0,997 172	0,997 146	0,997 121	0,997 096	0,997 070
25	0,997 045	0,997 019	0,996 993	0,996 967	0,996 941	0,996 915	0,996 889	0,996 863	0,996 836	0,996 810
26	0,996 783	0,996 757	0,996 730	0,996 703	0,996 676	0,996 649	0,996 622	0,996 595	0,996 568	0,996 540
27	0,996 513	0,996 485	0,996 458	0,996 430	0,996 402	0,996 374	0,996 346	0,996 318	0,996 290	0,996 262
28	0,996 233	0,996 205	0,996 176	0,996 148	0,996 119	0,996 090	0,996 061	0,996 032	0,996 003	0,995 974
29	0,995 945	0,995 915	0,995 886	0,995 856	0,995 827	0,995 797	0,995 767	0,995 737	0,995 707	0,995 677
30	0,995 647	0,995 617	0,995 586	0,995 556	0,995 526	0,995 495	0,995 464	0,995 433	0,995 403	0,995 372
31	0,995 341	0,995 310	0,995 278	0,995 247	0,995 216	0,995 184	0,995 153	0,995 121	0,995 090	0,995 058
32	0,995 026	0,994 997	0,994 962	0,994 930	0,994 898	0,994 865	0,994 833	0,994 801	0,994 768	0,994 735
33	0,994 703	0,994 670	0,994 637	0,994 604	0,994 571	0,994 538	0,994 505	0,994 472	0,994 438	0,994 405
34	0,994 371	0,994 338	0,994 304	0,994 270	0,994 236	0,994 202	0,994 168	0,994 134	0,994 100	0,994 066
35	0,994 032	0,993 997	0,993 963	0,993 928	0,993 893	0,993 859	0,993 824	0,993 789	0,993 754	0,993 719
36	0,993 684	0,993 648	0,993 613	0,993 578	0,993 543	0,993 507	0,993 471	0,993 436	0,993 400	0,993 364
37	0,993 328	0,993 292	0,993 256	0,993 220	0,993 184	0,993 148	0,993 111	0,993 075	0,993 039	0,993 002
38	0,992 965	0,992 928	0,992 891	0,992 855	0,992 818	0,992 780	0,992 743	0,992 706	0,992 669	0,992 631
39	0,992 594	0,992 557	0,992 519	0,992 481	0,992 444	0,992 406	0,992 368	0,992 330	0,992 292	0,992 254
40	0,992 215	0,992 177	0,992 139	0,992 100	0,992 062	0,992 023	0,991 985	0,991 946	0,991 907	0,991 868
41	0,991 830	0,991 791	0,991 751	0,991 712	0,991 673	0,991 634	0,991 594	0,991 555	0,991 515	0,991 476
42	0,991 436	0,991 396	0,991 357	0,991 317	0,991 277	0,991 237	0,991 197	0,991 157	0,991 116	0,991 076
43	0,991 036	0,990 995	0,990 955	0,990 914	0,990 873	0,990 833	0,990 792	0,990 751	0,990 710	0,990 669
44	0,990 628	0,990 587	0,990 546	0,990 504	0,990 463	0,990 421	0,990 380	0,990 338	0,990 297	0,990 255
45	0,990 213	0,990 171	0,990 129	0,990 087	0,990 045	0,990 003	0,989 961	0,989 919	0,989 876	0,989 834
46	0,989 792	0,989 749	0,989 706	0,989 664	0,989 621	0,989 578	0,989 535	0,989 492	0,989 449	0,989 406
47	0,989 363	0,989 320	0,989 276	0,989 233	0,989 190	0,989 146	0,989 103	0,989 059	0,989 015	0,988 971
48	0,988 928	0,988 884	0,988 840	0,988 796	0,988 752	0,988 707	0,988 663	0,988 619	0,988 574	0,988 530
49	0,988 485	0,988 441	0,988 396	0,988 352	0,988 307	0,988 262	0,988 217	0,988 172	0,988 127	0,988 082
50	0,988 037	0,987 992	0,987 946	0,987 901	0,987 844	0,987 810	0,987 764	0,987 719	0,987 673	0,987 627
51	0,987 581	0,987 536	0,987 490	0,987 444	0,987 398	0,987 351	0,987 305	0,987 259	0,987 213	0,987 166

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

— Masse volumique de l'eau en fonction de la température : ρ (g/cm³) (1) (suite et fin).

t (°C)	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
52	0,987 120	0,987 073	0,987 027	0,986 980	0,986 933	0,986 886	0,986 840	0,986 793	0,986 746	0,986 699
53	0,986 652	0,986 604	0,986 557	0,986 510	0,986 463	0,986 415	0,986 368	0,986 320	0,986 272	0,986 225
54	0,986 177	0,986 129	0,986 081	0,986 033	0,985 985	0,985 937	0,985 889	0,985 841	0,985 793	0,985 745
55	0,985 696	0,985 648	0,985 599	0,985 551	0,985 502	0,985 454	0,985 405	0,985 356	0,985 307	0,985 258
56	0,985 219	0,985 169	0,985 119	0,985 069	0,985 019	0,984 969	0,984 919	0,984 868	0,984 817	0,984 766
57	0,984 716	0,984 666	0,984 617	0,984 567	0,984 517	0,984 467	0,984 417	0,984 367	0,984 317	0,984 267
58	0,984 217	0,984 167	0,984 116	0,984 066	0,984 016	0,983 965	0,983 914	0,983 864	0,983 813	0,983 762
59	0,983 712	0,983 661	0,983 610	0,983 559	0,983 508	0,983 457	0,983 406	0,983 354	0,983 303	0,983 252
60	0,983 200	0,983 149	0,983 097	0,983 046	0,982 994	0,982 943	0,982 891	0,982 839	0,982 787	0,982 735
61	0,982 683	0,982 631	0,982 579	0,982 527	0,982 475	0,982 422	0,982 370	0,982 318	0,982 265	0,982 213
62	0,982 160	0,982 108	0,982 055	0,982 002	0,981 949	0,981 897	0,981 844	0,981 791	0,981 738	0,981 685
63	0,981 631	0,981 578	0,981 525	0,981 472	0,981 418	0,981 365	0,981 311	0,981 258	0,981 204	0,981 151
64	0,981 097	0,981 043	0,980 989	0,980 935	0,980 881	0,980 827	0,980 773	0,980 719	0,980 665	0,980 611
65	0,980 557	0,980 502	0,980 448	0,980 393	0,980 339	0,980 284	0,980 230	0,980 175	0,980 120	0,980 065
66	0,980 011	0,979 955	0,979 901	0,979 846	0,979 791	0,979 736	0,979 680	0,979 625	0,979 570	0,979 515
67	0,979 459	0,979 403	0,979 348	0,979 293	0,979 237	0,979 181	0,979 126	0,979 070	0,979 014	0,978 958
68	0,978 902	0,978 845	0,978 790	0,978 734	0,978 678	0,978 621	0,978 565	0,978 509	0,978 452	0,978 396
69	0,978 339	0,978 283	0,978 226	0,978 170	0,978 113	0,978 056	0,977 999	0,977 942	0,977 885	0,977 828
70	0,977 771	0,977 714	0,977 657	0,977 600	0,977 543	0,977 485	0,977 428	0,977 370	0,977 313	0,977 255
71	0,977 198	0,977 140	0,977 082	0,977 025	0,976 967	0,976 909	0,976 851	0,976 793	0,976 735	0,976 677
72	0,976 619	0,976 561	0,976 503	0,976 444	0,976 386	0,976 327	0,976 269	0,976 211	0,976 152	0,976 093
73	0,976 035	0,975 975	0,975 917	0,975 858	0,975 800	0,975 741	0,975 682	0,975 623	0,975 564	0,975 504
74	0,975 445	0,975 385	0,975 327	0,975 267	0,975 208	0,975 148	0,975 089	0,975 029	0,974 970	0,974 910
75	0,974 850	0,974 791	0,974 731	0,974 671	0,974 611	0,974 551	0,974 491	0,974 431	0,974 371	0,974 311
76	0,974 250	0,974 190	0,974 130	0,974 069	0,974 009	0,973 948	0,973 888	0,973 827	0,973 767	0,973 706
77	0,973 645	0,973 584	0,973 524	0,973 463	0,973 402	0,973 341	0,973 280	0,973 218	0,973 157	0,973 096
78	0,973 025	0,972 974	0,972 912	0,972 851	0,972 789	0,972 728	0,972 665	0,972 605	0,972 543	0,972 481
79	0,972 419	0,972 355	0,972 296	0,972 234	0,972 172	0,972 110	0,972 048	0,971 986	0,971 923	0,971 861
80	0,971 799	0,971 737	0,971 674	0,971 612	0,971 549	0,971 487	0,971 424	0,971 361	0,971 299	0,971 236
81	0,971 173	0,971 110	0,971 048	0,970 985	0,970 922	0,970 859	0,970 795	0,970 732	0,970 669	0,970 606
82	0,970 543	0,970 479	0,970 416	0,970 353	0,970 289	0,970 226	0,970 162	0,970 098	0,970 035	0,969 971
83	0,969 907	0,969 843	0,969 772	0,969 715	0,969 652	0,969 587	0,969 523	0,969 459	0,969 395	0,969 331
84	0,969 267	0,969 202	0,969 138	0,969 073	0,969 009	0,968 944	0,968 880	0,968 815	0,968 751	0,968 686
85	0,968 621	0,968 556	0,968 491	0,968 427	0,968 362	0,968 297	0,968 232	0,968 166	0,968 101	0,968 036
86	0,967 971	0,967 905	0,967 840	0,967 775	0,967 709	0,967 641	0,967 578	0,967 513	0,967 447	0,967 381
87	0,967 316	0,967 250	0,967 184	0,967 118	0,967 052	0,966 986	0,966 920	0,966 854	0,966 788	0,966 722
88	0,966 656	0,966 589	0,966 523	0,966 457	0,966 390	0,966 324	0,966 257	0,966 191	0,966 124	0,966 057
89	0,966 591	0,966 524	0,966 457	0,966 390	0,966 323	0,966 256	0,966 189	0,966 122	0,966 055	0,965 988
90	0,966 321	0,966 254	0,966 187	0,966 119	0,966 052	0,965 984	0,965 917	0,965 849	0,965 782	0,965 714
91	0,966 247	0,966 179	0,966 111	0,966 043	0,965 975	0,965 907	0,965 839	0,965 771	0,965 703	0,965 635
92	0,966 167	0,966 099	0,966 031	0,965 963	0,965 895	0,965 827	0,965 759	0,965 691	0,965 623	0,965 555
93	0,966 284	0,966 215	0,966 146	0,966 077	0,966 009	0,965 940	0,965 871	0,965 802	0,965 733	0,965 664
94	0,966 595	0,966 526	0,966 457	0,966 387	0,966 318	0,966 248	0,966 179	0,966 110	0,966 041	0,965 971
95	0,966 902	0,966 832	0,966 762	0,966 693	0,966 623	0,966 553	0,966 483	0,966 414	0,966 344	0,966 274
96	0,966 204	0,966 134	0,966 064	0,965 993	0,965 923	0,965 853	0,965 783	0,965 712	0,965 642	0,965 572
97	0,966 501	0,966 431	0,966 360	0,966 289	0,966 219	0,966 148	0,966 077	0,966 006	0,959 936	0,959 865
98	0,959 794	0,959 723	0,959 652	0,959 581	0,959 510	0,959 438	0,959 367	0,959 296	0,959 225	0,959 153
99	0,959 062	0,959 010	0,958 939	0,958 867	0,958 795	0,958 724	0,958 653	0,958 581	0,958 509	0,958 431
100	0,958 365									

(1) Les dixièmes de degré sont indiqués par la première ligne, par exemple : à 4,5 °C, $\rho = 0,999 570$.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

q	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	q
0	998.20	998.05	997.90	997.75	997.59	997.44	997.29	997.14	996.99	996.85	0
1	996.70	996.55	996.40	996.25	996.11	995.96	995.81	995.67	995.52	995.38	1
2	995.23	995.09	994.94	994.80	994.66	994.51	994.37	994.23	994.09	993.95	2
3	993.81	993.66	993.52	993.38	993.24	993.11	992.97	992.83	992.69	992.55	3
4	992.41	992.28	992.14	992.00	991.87	991.73	991.59	991.46	991.32	991.19	4
5	991.06	990.92	990.79	990.65	990.52	990.39	990.26	990.12	989.99	989.86	5
6	989.73	989.60	989.47	989.34	989.21	989.08	988.95	988.82	988.69	988.56	6
7	988.43	988.30	988.18	988.05	987.92	987.79	987.67	987.54	987.42	987.29	7
8	987.16	987.04	986.91	986.79	986.66	986.54	986.42	986.29	986.17	986.05	8
9	985.92	985.80	985.68	985.56	985.44	985.31	985.19	985.07	984.95	984.83	9
10	984.71	984.59	984.47	984.35	984.23	984.11	983.99	983.88	983.76	983.64	10
11	983.52	983.40	983.29	983.17	983.05	982.94	982.82	982.70	982.59	982.47	11
12	982.35	982.24	982.12	982.01	981.89	981.78	981.67	981.55	981.44	981.32	12
13	981.21	981.10	980.98	980.87	980.76	980.64	980.53	980.42	980.31	980.19	13
14	980.08	979.97	979.88	979.75	979.64	979.52	979.41	979.30	979.19	979.08	14
15	978.97	978.86	978.75	978.64	978.53	978.42	978.31	978.20	978.09	977.98	15
16	977.87	977.76	977.65	977.55	977.44	977.33	977.22	977.11	977.00	976.89	16
17	976.79	976.68	976.57	976.46	976.35	976.25	976.14	976.03	975.92	975.81	17
18	975.71	975.60	975.49	975.38	975.28	975.17	975.06	974.95	974.85	974.74	18
19	974.63	974.52	974.42	974.31	974.20	974.09	973.99	973.88	973.77	973.66	19
20	973.56	973.45	973.34	973.24	973.13	973.02	972.91	972.80	972.70	972.59	20
21	972.48	972.37	972.27	972.16	972.05	971.94	971.83	971.73	971.62	971.51	21
22	971.40	971.29	971.18	971.08	970.97	970.86	970.75	970.64	970.53	970.42	22
23	970.31	970.20	970.09	969.98	969.87	969.76	969.65	969.54	969.43	969.32	23
24	969.21	969.10	968.99	968.88	968.77	968.66	968.56	968.43	968.32	968.21	24
25	968.10	967.99	967.87	967.76	967.65	967.53	967.42	967.31	967.19	967.08	25
26	966.97	966.85	966.74	966.62	966.51	966.39	966.28	966.16	966.05	965.93	26
27	965.81	965.70	965.58	965.46	965.35	965.23	965.11	964.99	964.88	964.76	27
28	964.64	964.52	964.40	964.28	964.16	964.04	963.92	963.80	963.68	963.56	28
29	963.44	963.32	963.20	963.07	962.95	962.83	962.71	962.58	962.46	962.33	29
30	962.21	962.09	961.96	961.84	961.71	961.59	961.46	961.33	961.21	961.08	30
31	960.95	960.82	960.70	960.57	960.44	960.31	960.18	960.05	959.92	959.79	31
32	959.66	959.53	959.40	959.27	959.14	959.01	958.87	958.74	958.61	958.47	32
33	958.34	958.20	958.07	957.94	957.80	957.66	957.53	957.39	957.26	957.12	33
34	956.98	956.84	956.70	956.57	956.43	956.29	956.15	956.01	955.87	955.73	34
35	955.59	955.44	955.30	955.16	955.02	954.88	954.73	954.59	954.44	954.30	35
36	954.15	954.01	953.86	953.72	953.57	953.42	953.28	953.13	952.98	952.83	36
37	952.69	952.54	952.39	952.24	952.09	951.94	951.79	951.63	951.48	951.33	37
38	951.18	951.02	950.87	950.72	950.56	950.41	950.26	950.10	949.94	949.79	38
39	949.63	949.47	949.32	949.16	949.00	948.84	948.68	948.52	948.37	948.21	39
40	948.05	947.88	947.72	947.56	947.40	947.24	947.08	946.91	946.75	946.58	40
41	946.42	946.25	946.09	945.93	945.76	945.59	945.43	945.26	945.09	944.93	41
42	944.76	944.59	944.42	944.25	944.08	943.91	943.74	943.57	943.40	943.23	42
43	943.06	942.88	942.71	942.54	942.37	942.19	942.02	941.84	941.67	941.49	43
44	941.32	941.14	940.97	940.79	940.61	940.43	940.26	940.08	939.90	939.72	44
45	939.54	939.36	939.18	939.00	938.82	938.64	938.46	938.28	938.10	937.91	45
46	937.73	937.55	937.36	937.18	937.00	936.81	936.63	936.44	936.26	936.07	46
47	935.88	935.70	935.51	935.32	935.14	934.95	934.76	934.57	934.38	934.19	47
48	934.00	933.81	933.62	933.43	933.24	933.05	932.86	932.67	932.47	932.28	48
49	932.09	931.90	931.70	931.51	931.31	931.12	930.92	930.73	930.53	930.34	49

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique

q	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	q
50	930,14	929,95	929,75	929,55	929,35	929,16	928,96	928,76	928,56	928,36	50
51	928,16	927,96	927,77	927,57	927,36	927,16	926,96	926,76	926,56	926,36	51
52	926,16	925,95	925,75	925,55	925,35	925,14	924,94	924,73	924,53	924,32	52
53	924,12	923,91	923,71	923,50	923,30	923,09	922,88	922,68	922,47	922,26	53
54	922,06	921,85	921,64	921,43	921,22	921,01	920,80	920,59	920,38	920,17	54
55	919,96	919,75	919,54	919,33	919,12	918,91	918,69	918,48	918,27	918,06	55
56	917,84	917,63	917,42	917,20	916,99	916,77	916,56	916,35	916,13	915,91	56
57	915,70	915,48	915,27	915,05	914,83	914,62	914,40	914,18	913,97	913,75	57
58	913,53	913,31	913,09	912,87	912,65	912,43	912,22	912,00	911,78	911,55	58
59	911,33	911,11	910,89	910,67	910,45	910,23	910,01	909,78	909,55	909,34	59
60	909,11	908,89	908,67	908,44	908,22	908,00	907,77	907,55	907,32	907,10	60
61	906,87	906,64	906,42	906,19	905,97	905,74	905,51	905,29	905,06	904,83	61
62	904,60	904,37	904,15	903,92	903,69	903,46	903,23	903,00	902,77	902,54	62
63	902,31	902,08	901,85	901,62	901,39	901,15	900,92	900,69	900,46	900,23	63
64	899,99	899,76	899,53	899,29	899,06	898,82	898,59	898,36	898,12	897,89	64
65	897,65	897,42	897,18	896,94	896,71	896,47	896,23	896,00	895,76	895,52	65
66	895,28	895,05	894,81	894,57	894,33	894,09	893,85	893,61	893,37	893,13	66
67	892,89	892,65	892,41	892,17	891,93	891,69	891,45	891,20	890,96	890,72	67
68	890,48	890,23	889,99	889,75	889,50	889,26	889,01	888,77	888,52	888,28	68
69	888,03	887,79	887,54	887,29	887,05	886,80	886,55	886,31	886,06	885,81	69
70	885,56	885,31	885,06	884,82	884,57	884,32	884,07	883,82	883,57	883,32	70
71	883,06	882,81	882,56	882,31	882,06	881,81	881,55	881,30	881,05	880,79	71
72	880,54	880,29	880,03	879,78	879,52	879,27	879,01	878,75	878,50	878,24	72
73	877,99	877,73	877,47	877,21	876,96	876,70	876,44	876,18	875,92	875,66	73
74	875,40	875,14	874,88	874,62	874,36	874,10	873,84	873,58	873,32	873,06	74
75	872,79	872,53	872,27	872,00	871,74	871,48	871,21	870,95	870,68	870,42	75
76	870,15	869,89	869,62	869,35	869,09	868,82	868,55	868,28	868,02	867,75	76
77	867,48	867,21	866,94	866,67	866,40	866,13	865,86	865,59	865,32	865,05	77
78	864,78	864,50	864,23	863,96	863,69	863,41	863,14	862,86	862,59	862,31	78
79	862,04	861,75	861,48	861,21	860,94	860,66	860,38	860,10	859,83	859,55	79
80	859,27	858,99	858,71	858,43	858,15	857,87	857,59	857,31	857,03	856,75	80
81	856,46	856,18	855,90	855,62	855,33	855,05	854,76	854,48	854,19	853,91	81
82	853,62	853,34	853,06	852,78	852,49	852,19	851,90	851,61	851,32	851,03	82
83	850,74	850,45	850,16	849,87	849,58	849,29	848,99	848,70	848,41	848,11	83
84	847,82	847,53	847,23	846,93	846,64	846,34	846,05	845,75	845,45	845,15	84
85	844,85	844,55	844,25	843,95	843,65	843,35	843,05	842,75	842,44	842,14	85
86	841,84	841,53	841,23	840,92	840,62	840,31	840,00	839,70	839,39	839,08	86
87	838,77	838,46	838,15	837,84	837,52	837,21	836,90	836,59	836,27	835,96	87
88	835,64	835,32	835,01	834,69	834,37	834,05	833,73	833,41	833,09	832,77	88
89	832,45	832,12	831,80	831,48	831,15	830,82	830,50	830,17	829,84	829,51	89
90	829,18	828,85	828,52	828,19	827,85	827,52	827,18	826,85	826,51	826,17	90
91	825,83	825,49	825,15	824,81	824,47	824,13	823,78	823,44	823,09	822,74	91
92	822,39	822,04	821,69	821,34	820,99	820,63	820,28	819,92	819,57	819,21	92
93	818,85	818,49	818,12	817,76	817,40	817,03	816,66	816,30	815,93	815,56	93
94	815,18	814,81	814,43	814,06	813,68	813,30	812,92	812,54	812,15	811,77	94
95	811,38	810,99	810,60	810,21	809,82	809,42	809,02	808,63	808,23	807,82	95
96	807,42	807,01	806,61	806,20	805,78	805,37	804,96	804,54	804,12	803,70	96
97	803,27	802,85	802,42	801,99	801,55	801,12	800,68	800,24	799,80	799,35	97
98	798,90	798,45	798,00	797,54	797,08	796,62	796,15	795,68	795,21	794,73	98
99	794,25	793,77	793,28	792,79	792,30	791,80	791,29	790,79	790,28	789,76	99

100 789,24

100

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Masse volumique des alcools et boissons spiritueuses
Méthode de détermination par densimétrie électronique**

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

Méthode OIV-MA-BS-08

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

1. PRESENTATION

Cette méthode de détermination du titre alcoométrique volumique réel des boissons spiritueuses et des distillats repose sur le principe physique de l'analyse spectrale des substances présentant des bandes d'absorption dans le domaine du proche-infrarouge.

L'éthanol possède cette caractéristique.

Les données spectrales de l'échantillon soumis à essai sont comparées à celles obtenues lors d'un étalonnage initial couvrant la totalité du champ de mesure.

Des spectromètres mettant en oeuvre ce principe sont disponibles sur le plan commercial pour réaliser cette détermination.

2. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Le présent document a pour objet de décrire une méthode de détermination du titre alcoométrique réel des boissons spiritueuses et des distillats manipulés à la pression atmosphérique.

L'application de la méthode est restreinte aux produits de viscosité inférieure à 15 000 mm²/S (1 mm²/S = 1 cSt) environ à température d'essai.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

L'analyse de boissons spiritueuses dont la composition est estimée rapprochée peut néanmoins impliquer la réalisation d'un étalonnage initial distinct pour chacune d'entre elles.

En référence aux dispositions réglementaires en vigueur, la température d'essai est arrêtée à 20 °C.

3. DEFINITION

Titre alcoométrique volumique réel (Voir pycnométrie).

4. PRINCIPE

4.1 Principe physique

D'après la théorie quantique, une molécule est capable d'absorber de l'énergie lumineuse selon la formule de PLANCK :

$$\Delta = \frac{h \cdot C}{E_2 - E_1}$$

où :

h = constante de PLANCK

C = vitesse de la lumière

E1 = état énergétique fondamental de l'électron

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

E2 = état énergétique excité de l'électron,

d'où il découle que l'énergie absorbée est proportionnelle à la fréquence de la lumière incidente.

La spectroscopie dans le proche infra-rouge est une méthode physique d'analyse fondée sur l'absorption de photons $h\nu$ très peu énergétiques permettant de modifier l'énergie de vibration des molécules.

Les nombres d'ondes ν' sont proportionnels aux "fréquences" ν et donc à l'énergie $h\nu$ du photon.

Les transitions observées correspondent à des vibrations de groupes d'atomes bien répertoriés.

Elles donnent naissance à des raies non séparables groupées en "bandes" (spectres de bandes) qui permettent souvent une analyse fonctionnelle.

Dans la pratique, seules trois transitions sont observables :

- passage de $\nu = 0$ à $\nu = 1$ avec une forte intensité,
- passage de $\nu = 0$ à $\nu = 2$ avec une intensité faible,
- passage de $\nu = 0$ à $\nu = 3$ avec une intensité négligeable.

ν = nombre quantique vibrationnel.

Les trois bandes spectrales correspondantes sont approximativement à des fréquences ν (fondamentale), 2ν (première harmonique), 3ν (seconde harmonique).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

Les vibrations fondamentales s'observent dans le moyen infra-rouge, tandis que les harmoniques ne sont visibles que dans le proche infra-rouge (700 - 2500 nanomètres).

En plus des harmoniques, on peut observer des bandes de combinaison, lorsque plusieurs vibrations interagissent, pour donner des bandes dont la fréquence est la somme ou la différence de multiples des fréquences fondamentales.

$$v \text{ comb.} = n_1v_1 \pm n_2v_2 \pm n_3v_3 \pm \dots$$

La spectroscopie dans le proche infra-rouge couvre l'étendue du spectre électromagnétique comprise entre 780 nm à 3000 nm. Dans ce domaine, il est possible d'étudier les transitions, les harmoniques et les combinaisons de faible énergie électronique des vibrations d'étirement et de déformation des liaisons hydrogène (C - H, N - H, O - H); celles-ci possèdent de hautes fréquences et sont appropriées aux applications en analyse quantitative.

Bien qu'il ne permette pas nécessairement de caractériser une structure complète, un spectre dans le proche infra-rouge permet d'obtenir des informations utiles concernant les groupements hydrogène d'une molécule.

En conséquence, la spectroscopie dans le proche I.R. peut être mise en oeuvre en premier lieu pour la détermination quantitative des composants comprenant des groupements : C - H, O - H ou N - H, tels que l'eau, les alcools, les phénols, etc..., de préférence à la caractérisation des structures moléculaires.

Généralement, le groupement C - H se caractérise par des bandes fondamentales d'étirement comprises entre : 3,0 et 3,6 μm , les bandes d'étirement des premières harmoniques, entre : 1,6 et 1,8 μm et les bandes d'étirement des secondes harmoniques entre : 1,1 et 1,2 μm .

Du fait de l'influence d'autres groupements fonctionnels de la molécule, ces bandes peuvent éventuellement subir des décalages.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

Les vibrations des mouvements secondaires N - H sont caractérisés par des bandes fondamentales d'étirement à : 2,9 μm , les premières harmoniques à : 1,5 μm et les secondes harmoniques à : 1,0 μm . Le groupement N - H présente une bande de combinaisons très caractéristique autour de : 2,2 μm .

Le groupement O-H possède

- une bande fondamentale d'étirement à : 2,8 μm ,
 - les premières harmoniques à : 1,4 μm et
 - les secondes à : 1,0 μm ;
- en complément, il existe
- une bande combinaisons autour de : 2 μm .

Les bandes de ce type sont utilisées pour la détermination quantitative de composants organiques variés, monomères ou polymères.

Bandes d'absorption du domaine du proche infra-rouge

2500 nm	_____ C-H		Combinaisons
2200 nm	_____ O-H	N-H	Combinaisons
1800 nm	_____ C-H		Premières Harmoniques
1600 nm	_____ N-H	H-O	Premières Harmoniques
1420 nm	_____ C-H		Combinaisons
1300 nm	_____ C-H		Combinaisons
1100 nm			

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

4.2 Principe de mesure

4.2.1 Un échantillon de quelques millilitres de liquide est introduit dans une cellule de mesure thermostatée à la température d'essai.

4.2.2 L'échantillon est exposé à un rayonnement infrarouge dont les longueurs d'onde ont été préalablement sélectionnées par un étalonnage primaire, spécifique à la substance à analyser.

En ce qui concerne l'éthanol ces longueurs d'onde sont généralement au nombre de quatre à cinq.

4.2.3 Le faisceau de la source lumineuse est localisé au travers d'un collimateur et d'un "chopper" directement sur une roue à filtres, sélectionnés automatiquement par le microprocesseur.

La lumière monochromatique est alors dirigée soit vers la cellule de mesure, soit sur la référence par un miroir basculant.

Les rayons infrarouges pénètrent l'échantillon, entrent en interaction avec ses composants puis sont réfléchis vers le(s) détecteur(s).

4.2.4 Les données spectrales de l'échantillon sont traitées par le microprocesseur intégré au spectroscope et comparées aux courbes d'étalonnage préalablement déterminées et mises en mémoire.

L'équation de régression est du type :

$$\% C = F_0 + F_1 R_1 + F_2 R_2 + \dots + F_n R_n$$

où % C = pourcentage alcoométrique volumique,

F₀ - F_n = constantes correspondant à l'éthanol,

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

$R_1 - R_n$ = valeurs des réflexions spectrales mesurées aux longueurs d'onde 1 à n.

Après une minute environ, le résultat obtenu est affiché par l'appareil. Il est directement exprimé en pourcentage alcoométrique volumique.

5. APPAREILLAGE

5.1 Spectroscopes dans le proche infra-rouge

Deux variantes d'appareillage, adaptées à la mesure du titre alcoométrique volumique réel des boissons spiritueuses sont disponibles sur le marché.

Elles se distinguent essentiellement par le type de cellule de mesure utilisé.

Principe par transflexion : le fond de la cellule de mesure est pourvu d'un réflecteur qui réfléchit le rayon lumineux ayant traversé l'échantillon ; la lumière peut alors à nouveau entrer en interaction avec l'échantillon. Cette combinaison de transmission et de réflexion est appelée : transflexion.

Principe par transmission : la cellule de mesure est montée verticalement. L'échantillon est directement traversé par le rayon lumineux.

5.2 Les appareils sont composés des éléments suivants :

- dispositif de pompage de l'échantillon,
- source lumineuse,
- dispositif de sélection des longueurs d'ondes,
- cellule de mesure thermostatée,

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

- détecteurs convertissant l'énergie lumineuse en signal électrique,
- système informatique assurant le traitement du signal et l'affichage des résultats.

5.2.1 Dispositif de pompage de l'échantillon.

L'échantillon est injecté dans la cellule de mesure à l'aide d'une pompe péristaltique. Certains spectroscopes permettent l'équipement d'un passeur automatique d'échantillons.

5.2.2 Source lumineuse.

Les sources lumineuses thermiques sont principalement utilisées. Dans la lampe à filament de tungstène, la plus communément présente, le filament est chauffé à 2 100 °C par transformation de l'énergie électrique. La lumière polychromatique obtenue a un spectre compris entre 320 nm et 2 500 nm. Il est nécessaire de réguler avec une grande précision l'intensité de la lumière pour obtenir des mesures répétables.

5.2.3 Dispositif de sélection des longueurs d'onde.

Trois principes de base sont communément appliqués : les filtres interférentiels, les filtres basculants, les monochromateurs à réseau.

Les filtres interférentiels sont constitués d'une couche d'une matière semi-transparente, telle que le fluorure de magnésium, placée entre deux couches semi-réfléchissantes. Dans ces conditions, la lumière incidente interfère à l'intérieur du filtre et seules certaines longueurs d'onde, dépendant de l'épaisseur de la couche transparente, traversent le dispositif.

Les appareils commerciaux comprennent trois à vingt filtres, dont les longueurs d'onde centrales ont été soigneusement choisies.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

Ces filtres sont fixés sur une roue thermostatée dont le défilement est commandé par microprocesseur.

Les systèmes à filtres basculants tiennent compte du fait que la longueur d'onde sélectionnée par un filtre interférentiel dépend de l'angle d'incidence entre le rayon lumineux et le filtre. En faisant varier cet angle, il est possible de sélectionner différentes longueurs d'onde autour de la valeur centrale. On peut donc obtenir un grand nombre de mesures spectrales avec seulement quelques filtres. La correspondance entre la position de la roue portant les filtres et la longueur d'onde de mesure est cependant délicate à établir.

Les monochromateurs à réseau sont des miroirs polis sur lesquels de très nombreuses rainures parallèles sont gravées. Les rainures diffractent la lumière et se comportent comme des sources lumineuses déphasées les unes par rapport aux autres. Ceci engendre des interférences lumineuses, comme dans le cas des filtres, et permet de sélectionner les longueurs d'onde en faisant tourner le réseau. Les mesures spectrales peuvent être prises tous les 2 nm entre 1 100 et 2 500 nm, ce qui fournit 700 points de mesures pour chaque échantillon étudié.

5.2.4 Cellule de mesure thermostatée.

Les parois optiques sont en quartz.

La thermostatisation de l'enceinte comportant la cellule est obtenue à l'aide d'un dispositif intégré à élément semi-conducteur utilisant l'effet PELTIER.

5.2.5 Détecteurs.

Les détecteurs les plus couramment utilisés sont en sulfure de plomb. Ce sont des semi-conducteurs dont la résistance diminue lorsque l'intensité lumineuse incidente augmente. Ils opèrent dans la plage spectrale de 1000 nm à 2500 nm.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

5.2.6 Traitement des données et affichage.

Les données spectrales sont d'abord collectées sous la forme de signaux électriques continus. En général, les données brutes comprennent des mesures successives de l'intensité lumineuse de la source (I_0) et celle de l'échantillon (I). Ces données sont converties analogiquement en absorbances $[\log (I_0/I)]$ et digitalisées.

Sur les appareils les plus simples, les données spectrales digitalisées ne sont pas conservées ; elles servent à prédire la variable étudiée, qui est immédiatement affichée.

Sur d'autres systèmes, le spectromètre est couplé à un microordinateur qui permet le stockage des informations spectrales, la manipulation des fichiers de données, et le traitement mathématique et statistique.

6. PRODUITS

6.1 Produits de nettoyage de la cellule.

Un nettoyage de la cellule est préconisé en fin de chaque série de mesures ; il peut être obtenu à l'aide des solutions suivantes :

- Solution aqueuse d'hypochlorite de sodium (NaClO), concentration du commerce, diluée au dixième,
- Agent de nettoyage de verrerie de laboratoire convenablement dilué.

Le nettoyage doit être suivi d'un rinçage prolongé à l'eau distillée ou déminéralisée de préparation récente.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

6.2 Substances d'étalonnage.

Les substances d'étalonnage doivent être choisies de telle manière :

- que la valeur de leurs titres alcoométriques volumiques encadrent celles des produits à mesurer,
- qu'elles soient issues d'une matrice commune possédant, à l'exception de leur teneur en alcool, des caractéristiques de composition strictement identiques. La nature et la composition de cette matrice jouent un rôle essentiel dans la fiabilité de la technique du proche I.R.

Compte tenu du nombre important d'échantillons nécessaires à la réalisation de l'étalonnage, leur titre alcoométrique volumique peut être préalablement déterminé par :

- la méthode de référence,
- la méthode aréométrique avec utilisation d'alcoomètres de la Classe I CEE, la méthode par densimétrie électronique.
(voir description de ces méthodes).

Remarque: La détermination du titre alcoométrique volumique suivant l'une de ces deux méthodes est, si nécessaire, réalisée après distillation de l'échantillon.

L'application analytique dans le proche infra-rouge découlant de cet étalonnage sera, au mieux, d'une précision équivalente à celle de la méthode utilisée.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

7. ETALONNAGE DE L'APPAREILLAGE

7.1 La mise en oeuvre d'une technique d'analyse quantitative dans le proche infra-rouge implique plusieurs niveaux d'étalonnage :

- un étalonnage initial qui permet de sélectionner, suivant des calculs statistiques, un nombre variable de longueurs d'onde significatives de la caractéristique (l'éthanol) à analyser,
- un ré-étalonnage périodique destiné à vérifier la fiabilité de l'équation d'étalonnage,
- un étalonnage de routine destiné à corriger le biais de la courbe de référence. Il doit être effectué avant chaque série de mesures.

7.2 Etalonnage initial.

Cette opération nécessite l'utilisation d'un spectroscope dans le proche I.R. pouvant réaliser des mesures sous une vingtaine de longueurs d'onde successives.

La liaison entre les données spectrales et les caractéristiques que l'on souhaite prédire par spectroscopie dans le proche I.R. sont souvent délicates à établir.

Les bandes spectrales se recouvrent fortement et il est généralement impossible de fonder une application analytique sur la seule mesure de la hauteur d'un pic significatif. Il faut, au contraire, utiliser une procédure d'étalonnage dont la mise en oeuvre est assez complexe. L'étalonnage n'est valable que pour la détermination du titre alcoométrique volumique de boissons spiritueuses possédant des caractéristiques de composition strictement identiques. On peut distinguer six étapes dans la mise au point.

7.2.1 Constituer un lot d'échantillons représentatifs et les analyser par la méthode de référence.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

La collection de solutions-étalon doit comprendre trente à cinquante individus et couvrir complètement la plage de concentration rencontrée dans la pratique.

De plus, ils doivent se répartir en classes de concentration approximativement de même taille.

7.2.2 La collection est divisée en deux lots indépendants : l'un servant à l'étalonnage, le second à sa vérification.

7.2.3 Procéder à la mesure spectrale de la collection d'étalonnage ; chaque solution-étalon étant analysée à deux reprises successives (double échantillonnage).

7.2.4 Les valeurs de concentration alcoolique obtenues par la méthode de référence sont saisies sur un micro-ordinateur doté d'un logiciel de calcul statistique.

Celles-ci sont corrélées avec les mesures spectrales.

7.2.5 Un programme de régression multilinéaire permet d'établir la relation suivante sur les échantillons d'étalonnage :

$$C = a_0 + a_1 r_1 + a_2 r_2 + a_3 r_3 + \dots$$

où :

. C, est la caractéristique à mesurer,

. $a_0, a_1, a_2, \dots$: les coefficients de la régression,

. $r_1, r_2, r_3, \dots$: les mesures de réflexion spectrales aux
longueurs d'onde : $L_1, L_2, L_3 \dots$

Deux à dix longueurs d'onde sont retenues, suivant les critères statistiques, parmi celles disponibles. L'erreur résiduelle de l'étalonnage est calculée : elle doit être faible par rapport à l'écart-type de la caractéristique étudiée.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

Ecart-type d'étalonnage :
$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_i - \bar{d})^2}{(n - k - 1)}}$$

où :

. d_i = différence entre les concentrations obtenues par la méthode de référence et celles obtenues par spectroscopie dans le proche I.R.

. $\bar{d}$ = moyenne des d_i

. n = nombre d'échantillons utilisés pour l'étalonnage

. k = nombre de longueurs d'onde de l'étalonnage.

7.2.6 Procéder à la mesure spectrale de la collection de vérification et appliquer l'équation établie aux valeurs obtenues.

Comparer l'erreur résiduelle de la vérification à celle de l'étalonnage qui doivent être voisines.

Ecart-type de prédiction :
$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [(d_i - \bar{d})^2 / (n - 1)]}{n}}$$

où :

. n = nombre de solutions-étalon utilisées pour la vérification de l'étalonnage,

. d_i = différence entre les concentrations obtenues par la méthode de référence et celles obtenues par spectroscopie dans le proche I.R.,

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

. $\bar{d}$ = moyenne des d_i .

Lorsque la sélection des longueurs d'onde et l'étalonnage sont réalisés et que les résultats sont reconnus statistiquement conformes, la méthode analytique peut être appliquée en routine.

7.3 Ré-étalonnage périodique.

Le vieillissement des composants électroniques, une réparation, le remplacement de pièces, ou d'autres anomalies, impliquent un ré-étalonnage périodique du matériel.

De même, le transfert d'étalonnage d'un appareil vers un autre requiert cette opération.

Le ré-étalonnage consiste à ajuster le biais et parfois la pente de l'équation initiale d'étalonnage.

Cette procédure ne remet pas en cause la sélection de longueurs d'onde.

Dans la pratique, afin de limiter les sources d'erreur, il est préférable d'analyser le spectre de dix échantillons représentatifs couvrant la totalité de la plage d'étalonnage. Ces substances-étalon sont préalablement reconnues en utilisant la méthode de référence.

Dans ce cas l'équation d'étalonnage multilinéaire devient une simple équation linéaire :

$$Y + K + mX = F_0 + m [F_1 \log 1/R(\lambda_1) + F_2 \log 1/r(\lambda_2) + \dots]$$

où :

. F_0 , correspond au biais,

. m , à la pente.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

7.4 Etalonnage de correction du biais en routine.

Cette correction doit être effectuée avant toute série de mesure, au minimum journalièrement.

Analyser par spectroscopie dans le proche I.R. une solution-étalon dont le titre alcoométrique volumique aura été préalablement déterminé à l'aide de la méthode de référence.

La valeur du biais est ajustée en lui affectant la différence obtenue entre la mesure de la méthode de référence et celle de la méthode spectroscopique. Cette différence peut être négative ou positive.

8. MODE OPERATOIRE

8.1 Préparation de l'appareillage.

Placer le spectroscope :

- sur un support parfaitement stable, isolé de toute vibration,
 - à l'abri de l'éclairage solaire direct,
 - exempt de vapeurs corrosives, de champs magnétiques, de variation de température de grande amplitude.
- . Après branchement à une source d'alimentation électrique, laisser chauffer l'appareil trente minutes, au minimum.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

. Remplir le bloc du thermostat de la cellule de mesure avec un liquide de refroidissement en se conformant aux instructions du constructeur. Régler la température de façon à établir et maintenir la température d'essai désirée.

8.2 Mesure du titre alcoométrique volumique.

8.2.1 Sélectionner, si nécessaire, la méthode spectroscopique correspondant à la boisson spiritueuse à analyser.

8.2.2 Vérifier l'état de propreté de la cellule de mesure :

- l'absence de particules dans la cellule,
- nettoyer la fenêtre, si nécessaire, à l'aide d'un pinceau puis d'un chiffon doux imbibé d'alcool éthylique.

8.2.3 Procéder à l'étalonnage de correction du biais suivant la méthode décrite au point : 7.40.

8.2.4 Filtrer préalablement l'échantillon, si nécessaire.

8.2.5 Rincer longuement la cellule de mesure avec la boisson spiritueuse soumise à essai.

Filtrer si nécessaire.

8.2.6 Effectuer la détermination. Après une minute environ le résultat s'affiche sur l'écran synoptique.

8.2.7 Réaliser cinq déterminations successives pour un même échantillon ; (l'utilisation de cette technique analytique permet l'obtention des mesures dans un laps de temps très bref).

La valeur du titre alcoométrique volumique de l'échantillon résultera du calcul de la moyenne des cinq déterminations.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

Note : Les cinq déterminations doivent présenter des valeurs homogènes s'inscrivant dans tous les cas dans la plage de précision de la méthode de référence employée.

Dans le cas inverse, recommencer une série complète de mesures après avoir vérifié la propreté de la cellule de mesure et éventuellement ré-étalonné le biais de la courbe d'étalonnage.

8.2.8 Vérifier la pertinence de la précision de mesure, les déterminations réalisées en série doivent inclure l'analyse périodique d'une solution-étalon reconnue par la méthode de référence.

Le cycle devant être respecté sera, dans les conditions décrites précédemment, l'analyse d'un étalon après cinq déterminations effectuées.

8.2.9 Nettoyer puis rincer longuement la cellule de mesure, en fin d'analyse.

ETALONNAGE D'UN INFRA-ROUGE POUR LA DETERMINATION DU TITRE ALCOOMETRIQUE VOLUMIQUE SUR LES EAUX-DE-VIE OU LES VINS LIQUEURS

1. SELECTION DE FILTRES

A titre d'exemple, les sélections de filtres, mentionnés ci-après, permettent de réaliser la mesure du titre alcoométrique volumique dans les boissons spiritueuses suivantes :

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge

1.1 Eaux-de-vie de vin vieillie en fûts de bois

1.1.1 Première combinaison.

- 2310 nm
- 1778 nm
- 2100 nm
- 1680 nm

1.1.2 Seconde combinaison.

- 2310 nm
- 2230 nm
- 1769 nm
- 1940 nm
- 1680 nm

1.2 Boisson spiritueuse anisée "PASTIS".

- 2270 nm
- 2230 nm
- 1769 nm
- 1940 nm
- 1680 nm

2. Utilisation d'un infralyser Pour LES EAUX-DE-VIE DE VIN

Sélectionner les filtres suivants : 4, 13, 14 et 20.

Quatre niveaux de titre alcoométrique volumique sont étalonnés sur les eaux-de-vie brutes :

- 1 : 37,5 à 43 % vol.
- 2 : 42,5 à 47,5 % vol.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

3 : 57,5 à 62 % vol.

4 : 67,5 à 72,5 % vol.

Pour chaque niveau, et par pas de 0,5 % vol., 10 à 11 déterminations de titre alcoométrique volumique par pycnométrie sont utilisées pour étalonner l'infralyser.

BIBLIOGRAPHIE.

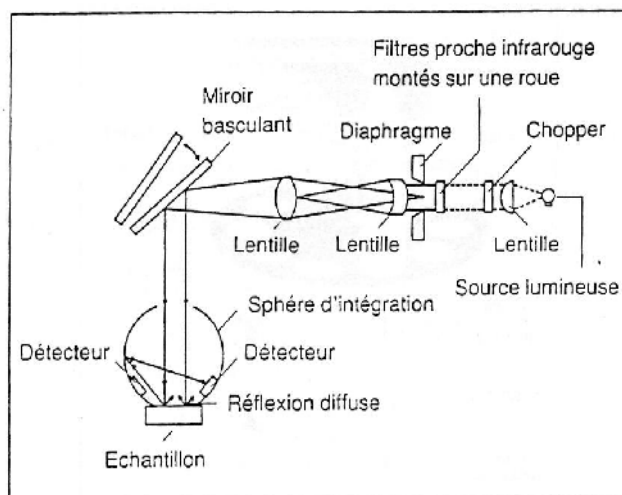
- Etalonnage d'un Infralyser pour la détermination du T.A.V. sur les Eaux-de-Vie ou les vins de liqueurs.

Station viticole du Bureau National Interprofessionnel du Cognac

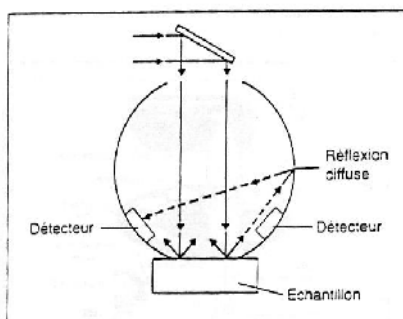
RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

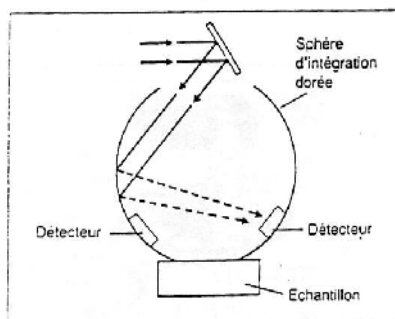
**CONCEPTION DES SPECTROSCOPES DANS LE PROCHE I.R.
UTILISANT LE PRINCIPE DE MESURE PAR TRANSFLEXION**



SCHEMA DE PRINCIPE



Mesure de l'échantillon

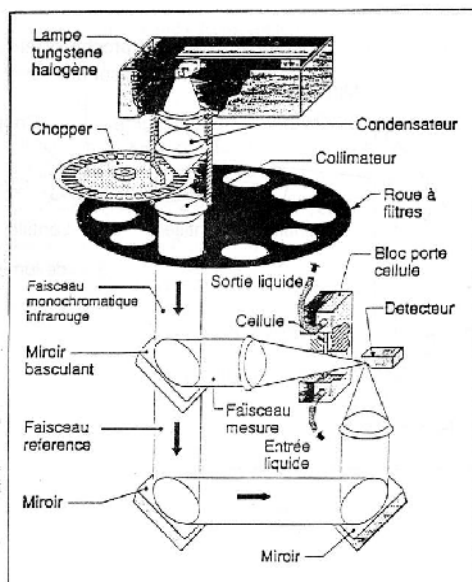


Mesure de la référence

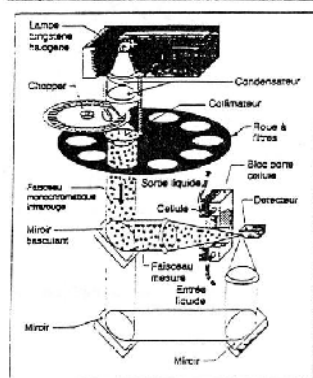
RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Titre alcoométrique volumique réel Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion dans le domaine du proche infra-rouge

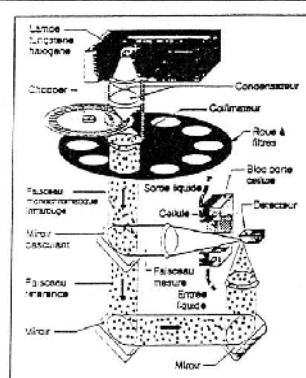
CONCEPTION DES SPECTROSCOPES DANS LE PROCHE I.R.
UTILISANT LE PRINCIPE DE MESURE PAR TRANSFLEXION



SCHEMA DE PRINCIPE



Mesure de l'échantillon



Mesure de référence

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Titre alcoométrique volumique réel
Méthode de détermination par spectroscopie de réflexion
dans le domaine du proche infra-rouge**

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Determination de l'extrait sec total par gravimetrie

Méthode OIV-MA-BS-09

Determination de l'extrait sec total par gravimetrie

Méthode de type II

1. Champ d'application

Cette méthode convient pour la détermination de l'extrait sec des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole contenant moins de 15 g/L de matières sèches.

2. Références normatives

ISO 3696:1987 Eau pour laboratoire à usage analytique - Spécification et méthodes d'essai

3. Définition

L'extrait sec total ou matières sèches totales est l'ensemble de toutes les substances qui, dans des conditions physiques déterminées, ne se volatilisent pas.

4. Principe

Pesée du résidu laissé par l'évaporation de la boisson spiritueuse sur un bain-marie bouillant et traitement dans une étuve à dessiccation.

5. Appareillage et matériel

5.1 Capsule cylindrique en inox à fond plat de dimensions permettant d'éviter des pertes de liquide lors de l'évaporation.

5.2 Bain-marie bouillant.

5.3 Pipette de 25 ml de classe A.

5.4 Étuve à dessiccation.

5.5 Dessiccateur.

5.6 Balance analytique d'une sensibilité de 0,1 mg.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Determination de l'extrait sec total par gravimetrie

6. Échantillonnage et échantillons

Les échantillons sont stockés à température ambiante avant l'analyse.

7. Mode opératoire

7.1 Introduire à la pipette 25 ml de boisson spiritueuse dans une capsule cylindrique (5.1), préalablement tarée. Pendant la première heure d'évaporation, la capsule est placée sur le couvercle d'un bain-marie bouillant de sorte que le liquide ne soit pas porté à ébullition, ce qui pourrait provoquer des pertes par projection. Laisser encore une heure directement en contact avec la vapeur du bain-marie bouillant.

7.2 Terminer la dessiccation en plaçant la capsule dans une étuve à $105\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant deux heures. Laisser refroidir la capsule dans un dessiccateur et peser la capsule et son contenu.

8. Calcul

La masse du résidu multipliée par 40 est égale à l'extrait sec contenu dans la boisson spiritueuse, qui doit être exprimé en g/l avec une décimale.

9. Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

9.1 Résultats statistiques de l'essai interlaboratoire

Les données suivantes proviennent d'une étude internationale sur les performances de la méthode, sur des boissons spiritueuses diverses, réalisée conformément aux procédures établies au niveau international.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Determination de l'extrait sec total par gravimetrie

Année de l'essai interlaboratoire 1997

Nombre de laboratoires 10

Nombre d'échantillons 4

Échantillons	A	B	C	D
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	9	9	8	9
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	1	1	2	-
Nombre de résultats acceptés	18	18	16	18
Valeur moyenne ($\bar{x}$) g/l	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Écart-type de répétabilité (s_r) g/l	0,075	0,441	0,028	0,123
Écart-type relatif de répétabilité (RSD _r) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Limite de répétabilité (r) g/l	0,2	1,2	0,1	0,3
Écart-type de reproductibilité (s_R) g/l	0,148	0,451	0,058	0,210
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD _R) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Limite de reproductibilité (R) g/l	0,4	1,3	0,2	0,6

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Determination de l'extrait sec total par gravimetrie

Types d'échantillons

- A Brandy; doubles en aveugle
- B Rhum; doubles avec une teneur différente
- C Grappa; doubles avec une teneur différente
- D Aquavit; doubles avec une teneur différente

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Determination de l'extrait sec total par gravimetrie

10. Bibliographie

Règlement (CE) N° 2870/2000 de la Commission du 19 décembre 2000 établissant des méthodes d'analyse communautaires de référence applicables dans le secteur des boissons spiritueuses, *J.O.C.E. du 29 décembre 2000, L333/20*

P. Brereton, S. Hasnip, A. Bertrand, R. Wittkowski, C. Guillou, Analytical methods for the determination of spirit drinks, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 22, No. 1, 19-25, 2003

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination de l'extrait sec total méthode usuelle par calcul

Méthode OIV-MA-BS-10

Détermination de l'extrait sec total méthode usuelle par calcul

Méthode de type IV

1. Principe

L'extrait sec total peut être calculé indirectement d'après la valeur de la densité du "résidu sans alcool" ou la boisson spiritueuse dont l'alcool a été retiré et qui a été ramené au volume initial avec de l'eau. Cet extrait sec est exprimé par la quantité de saccharose qui, dissoute dans un litre de solution, présente la même densité.

Cette quantité est donnée par le table de Plato (table 1).

2. Mode opératoire

La densité 20/20, d_r , du "résidu sans alcool" est calculée par la formule de Tabarié :

$$d_r = d_s - d_a + 1,000$$

où d_s = densité de la boisson spiritueuse à 20 °C par rapport à l'eau à 20°C

d_a = densité à 20 °C du mélange hydroalcoolique de même degré alcoolique que la boisson spiritueuse, rapportée à l'eau à 20 °C.

On peut également calculer d_r à partir des masses volumiques à 20 °C p_v de la boisson spiritueuse p_a du mélange hydroalcoolique de même degré par la formule

$$d_r = 1,0018 (p_v - p_a) + 1,00$$

Reporter la densité d_r du milieu désalcoolisé dans la table 1 pour obtenir le poids d'extrait sec total en grammes par litre.

Table 1 pour le calcul de la teneur en extrait sec

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Determination de l'extrait sec total methode usuelle par calcul

Densité relative	3ème décimale de la densité									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Grammes d'extrait par litre									
1,00	0,0	2,6	5,1	7,7	10,3	12,9	15,4	18,0	20,6	23,2
1,01	25,8	28,4	31,0	33,6	36,2	38,8	41,3	43,9	46,5	49,1
1,02	51,7	54,3	56,9	59,5	62,1	64,7	67,3	69,9	72,5	75,1
1,03	77,7	80,3	82,9	85,5	88,1	90,7	93,3	95,9	98,5	101,1
1,04	103,	106,	109,	111,	114,	116,	119,	122,	124,	127,2
1,05	129,	132,	135,	137,	140,	142,	145,	148,	150,	153,3
1,06	155,	158,	161,	163,	166,	169,	171,	174,	176,	179,5
1,07	182,	184,	187,	190,	192,	195,	197,	200,	203,	205,8
1,08	208,	211,	213,	216,	218,	221,	224,	226,	229,	232,0
1,09	234,	237,	239,	242,	245,	247,	250,	253,	255,	258,4
1,10	261,	263,	266,	268,	271,	274,	276,	279,	282,	284,8
1,11	287,	290,	292,	295,	298,	300,	303,	305,	308,	311,2
1,12	313,	316,	319,	321,	324,	327,	329,	332,	335,	337,8
1,13	340,	343,	345,	348,	351,	353,	356,	359,	361,	364,3
1,14	366,	369,	372,	375,	377,	380,	382,	385,	388,	390,9
1,15	393,	396,	398,	401,	404,	406,	409,	412,	415,	417,6
1,16	420,	423,	425,	428,	431,	433,	436,	439,	441,	444,4
1,17	447,	449,	452,	455,	457,	460,	463,	465,	468,	471,3
1,18	473,	476,	479,	482,	484,	487,	490,	492,	495,	498,2
1,19	500,	503,	506,	508,	511,	514,	517,	519,	522,	525,1
1,20	527,	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Determination de l'extrait sec total methode usuelle par calcul

Table intercalaire

Quatrième décimale	Grammes d'extrait	Quatrième décimale	Grammes d'extrait	Quatrième décimale	Grammes d'extrait
de la densité	par litre	de la densité	par litre	de la densité	par litre
relative		relative		relative	
1	0,3	4	1,0	7	1,8
2	0,5	5	1,3	8	2,1
3	0,8	6	1,6	9	2,3

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination des sucres dans les boissons spiritueuses

Méthode OIV-MA-BS-11

Détermination des sucres dans les boissons spiritueuses

Méthode de type II

Introduction

Les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole peuvent être édulcorées par divers composés, et il existe dans certaines réglementations des limitations de l'édulcorant à des niveaux minimum ou maximum.

1. Portée

Cette méthode convient à la détermination de la teneur en glucose, en fructose, et en saccharose des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole. Il ne convient pas aux boissons contenant des produits laitiers ou des œufs.

2. Références Normatives

ISO 3696,1897 Eau pour usage analytique - Caractéristiques et méthodes d'essai.

3. Principe

Analyse par chromatographie liquide à hautes performances (CLHP), afin de déterminer les concentrations en glucose, en fructose, et en saccharose. Cette méthode est décrite comme exemple. Elle emploie une phase stationnaire d'alkylamine et une détection par réfractométrie différentielle. D'autres colonnes/détecteurs peuvent être employés, par exemple des résines échangeuses d'anions comme phase stationnaire.

4. Réactifs et produits

4.1 Glucose (CAS 50-99-7), au moins 99% de pureté.

4.2 Fructose (CAS 57-48-7), au moins 99% de pureté.

4.3 Saccharose (CAS 57-50-1), au moins 99% de pureté.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des sucres dans les boissons spiritueuses

4.4 Acétonitrile pure (CAS 75-05-8) pour l'analyse par CLHP.

L'acétonitrile est un liquide fortement inflammable. Il est toxique par inhalation, en contact avec la peau et par absorption. Il est irritant pour les yeux.

4.5 Eau distillée ou déminéralisée, microfiltrée de préférence.

4.6 Solvants (exemple)

Le solvant d'élution est préparé au préalable par mélange de :

- 75 parts par volume d'acétonitrile (4.4),
- 25 parts par volume d'eau distillée (4.5).

Dégazer par barbotage d'hélium à faible débit pendant 5 à 10 minutes avant l'utilisation.

Si l'eau étant employée n'a pas été microfiltrée il est recommandé de passer le solvant sur un filtre pour solvants organiques avec un diamètre de pores inférieur ou égal à 0,45 µm.

4.7 Ethanol absolu (CAS 64-17-5).

4.8 Solution d'éthanol (5 %, v/v).

4.9 Préparation des solutions mères de calibration (20g/L)

Peser 2 g de chacun des sucres à analyser (4.1 à 4.3), les transférer sans perte dans un ballon jaugé de 100 mL. Ajuster à 100 mL avec une solution d'alcool à 5% vol. (4.8), agiter et stocker à environ + 4°C. Préparer une nouvelle solution mère une fois par semaine si nécessaire.

4.10 Préparation des solutions filles de calibration (2,5 - 5,0 - 7,5 - 10,0 et 20,0 g/l)

Diluer la solution mère à 20 g/l, (4.9) convenablement avec une solution d'alcool de 5 % vol. (4.8) pour donner cinq solutions standards de 2,5 - 5,0 - 7,5 - 10,0 et 20,0 g/l. Filtrer avec un filtre de diamètre de pores inférieur ou égal à 0,45 µm (5.3.).

5. Appareillage et équipement

(Exemple - d'autres systèmes qui donnent un résultat équivalent peuvent être employés)

Appareillage de laboratoire standard, verrerie volumétrique de catégorie A et, en particulier, ce qui suit :

5.1 Système CLHP capable de réaliser le retour à la ligne de base lors de l'analyse de tous les sucres.

5.1.1 Chromatographe liquide à hautes performances avec une vanne d'injection six-voies équipée d'une boucle de 10 µL ou de tout autre dispositif automatique ou manuel, pour l'injection fiable de microvolumes.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des sucres dans les boissons spiritueuses

5.1.2 Système de pompage permettant de réaliser et maintenir un débit constant ou programmé avec une grande précision.

5.1.3 Réfractomètre différentiel.

5.1.4 Intégrateur ou enregistreur informatique compatible avec le reste de l'installation.

5.1.5 Pré-colonne :

On recommande qu'une pré-colonne appropriée soit placée avant à la colonne analytique.

5.1.6 Colonne (exemple) :

Matériel : acier inoxydable ou verre

Diamètre interne : 2-5 millimètres

Longueur : 100-250 millimètres (variable en fonction de la taille des particules), par exemple, 250 millimètres si les particules sont de 5 μm de diamètre

Phase stationnaire : silice greffée avec des radicaux contenant le groupement fonctionnel alkylamine, diamètre maximum des particules 5 μm .

5.1.7 Conditions chromatographiques (exemple) :

Solvant d'élution (4.6), débit : 1 mL/min

Détection : réfractométrie différentielle

Pour s'assurer que le détecteur est parfaitement stable, il peut être recommandé de le mettre en marche quelques heures avant l'emploi. La cellule de référence doit être remplie avec du solvant d'élution.

5.2 Balance analytique précise à 0,1 mg.

5.3 Système de filtration pour des petits volumes utilisant une micromembrane de 0,45 μm de diamètre de pores.

6. Stockage des échantillons

Lors de leur réception, les échantillons doivent être stockés à la température ambiante avant l'analyse.

7. Procédure analytique

7.1 Partie A : Préparation des échantillons

7.1.1 Agiter l'échantillon.

7.1.2 Filtrer l'échantillon à l'aide d'un filtre avec un diamètre de pores inférieur ou égal à 0,45 μm (5.3).

7.2 Partie B : CLHP

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des sucres dans les boissons spiritueuses

7.2.1 Détermination

Injecter 10 µL des solutions d'étalonnage (4.10) et les échantillons (7.1.2.). Effectuer l'analyse dans des conditions appropriées de chromatographie, par exemple comme indiquées ci-dessus.

7.2.2 Si n'importe quel pic d'un échantillon possède une surface (ou hauteur) plus grande que le pic correspondant dans la solution d'étalonnage la plus concentrée, alors l'échantillon devra être dilué avec de l'eau distillée et être analysé de nouveau.

8. Calcul

Comparer les deux chromatogrammes obtenus pour la solution étalon et la boisson spiritueuse. Identifier les pics par leur temps de rétention. Mesurer leur surface (ou hauteur) pour calculer les concentrations par la méthode de l'étalonnage externe. Tenir compte de toutes les dilutions faites durant la préparation de l'échantillon.

Le résultat final est par convention la somme de saccharose, de glucose et de fructose, en g/L

9. Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

Les données suivantes ont été obtenues en 2000 à partir d'une étude internationale de performance de la méthode sur des boissons spiritueuses diverses, effectuée selon les procédures internationalement reconnues.

Légende des tableaux :

nLT	Nombre de laboratoires (2 résultats par laboratoires)
nL	Nombre de laboratoires pour estimer les limites de fidélité
Mean	Moyenne
r	limite de répétabilité
Sr	écart type de répétabilité
RSDr	écart type de répétabilité en % du niveau
R	limite de reproductibilité
SR	écart type de reproductibilité
RSDR	écart type de reproductibilité en % du niveau
HoR	HorRat = RSDR / PRSDR

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination des sucres dans les boissons spiritueuses

9.1 Glucose

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	HoR
Liqueur 1	26	24	92,4	5,4	1,9	2,1	13	4,8	5,2	1,8
Liqueur 2	24	23	93,2	9,7	3,5	3,7	28	10	11	3,8

9.2 Fructose

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	HoR
Liqueur 1	26	22	87	3,2	1,2	1,3	8,5	3,0	3,5	1,2
Liqueur 2	24	21	93	6,6	2,3	2,5	22	7,7	8,3	2,9

9.3 Saccharose

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	HoR
Liqueur 1	26	24	174	12	4,2	2,4	24	8,7	5,0	1,9
Liqueur 2	24	18	320	12	4,3	1,3	45	16	5,0	2,1
Liqueur 3	24	18	349	22	8,0	2,3	30	11	3,1	1,3
Pastis	24	19	11	0,2	0,1	0,8	2,2	0,8	7,3	1,9
Ouzo	24	19	24	2,1	0,8	3,1	2,6	0,9	3,8	1,1
Kirsch	24	20	103	6,1	2,2	2,1	12	4,2	4,0	1,4

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des sucres dans les boissons spiritueuses

9.4 Sucres totaux

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	HoR
Liqueur 1	26	21	353	8,7	3,1	0,9	41	15	4,2	1,8
Liqueur 2	24	18	510	16	5,6	1,1	41	15	2,9	1,3
Liqueur 3	24	18	349	22	8,0	2,3	30	11	3,1	1,3
Pastis	24	20	11	0,4	0,1	1,2	2,2	0,8	7,3	1,8
Ouzo	24	19	24	2,1	0,8	3,1	2,6	0,9	3,8	1,1
Kirsch	24	20	103	6,1	2,2	2,1	12	4,2	4,0	1,4

10. Bibliographie

- R. Wittkowski, A. Bertrand, P. Brereton, C. Guillou, 2000. PROJECT SMT4-CT96-2119, Validation of analytical methods of analysis for spirit drinks. REPORT NO. 02/09 - WORKSTREAM 10.
- P. Brereton, S. Hasnip, A. Bertrand, R. Wittkowski, C. Guillou, Analytical methods for the determination of spirit drinks, Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, No. 1, 19-25, 2003.

Méthode OIV-MA-BS-12

**Détermination des acidités
des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole**

Méthode de type II

1. Champs d'application

Cette méthode convient à la détermination des acidités volatile, totale et fixe des boissons spiritueuses d'origine viti-vinicole.

2. Références normatives

ISO 3696 : 1987 Eau pour usage analytique - caractéristiques et méthodes d'essai

3. Définitions

3.1 L'acidité volatile est constituée par les acides de la série acétique qui sont présents dans les boissons spiritueuses d'origine viti-vinicole..

3.2 L'acidité totale est la somme d'acidités titrables.

3.3 L'acidité fixe est l'acidité du résidu après avoir évaporé la boisson spiritueuse à sec.

4. Principe

L'acidité totale est déterminée par titration directe de la boisson spiritueuse.
L'acidité fixe est déterminée par titration de la solution aqueuse obtenue par

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

dissolution du résidu sec de la boisson spiritueuse. L'acidité volatile est calculée en déduisant l'acidité fixe de l'acidité totale.

5. Réactifs et matériaux

Pour l'analyse, sauf indication contraire utiliser seulement des réactifs, de catégorie analytique identifiée et de l'eau d'au moins catégorie 3 comme défini par à ISO 3696:1987

5.1 Solution d'hydroxyde de sodium 0,05 M

5.2 Solution d'indicateur mixte :

Peser 0,1 g de carmin d'indigo et 0,1 g de rouge de phénol.
Dissoudre dans 40 mL d'eau et compléter à 100 mL avec de l'éthanol.

6. Appareil et équipement

Appareillage de laboratoire standard, verrerie volumétrique de catégorie A et, en particulier, ce qui suit :

6.1 Système de mise sous vide (trompe à eau, flacon à vide, etc), ou autre système d'élimination du dioxyde de carbone (barbotage ou autre)

6.2 Capsule cylindrique en inox à fond plat, de dimensions permettant d'éviter des pertes de liquide lors de l'évaporation.

6.3 Appareillage pour titration par potentiométrie (en option)

7. Prélèvement et échantillons

Des échantillons sont stockés à la température ambiante avant l'analyse.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

8. Procédé

8.1 Acidité totale

8.1.1 Préparation d'échantillon

Si nécessaire, la boisson spiritueuse est agitée au moins deux minutes sous vide pour la débarrasser de l'anhydride carbonique, ou celui-ci est éliminé par toute autre méthode convenable.

8.1.2 Titration

Introduire à la pipette 25 mL de boisson spiritueuse dans un flacon conique de 500 mL

Ajouter environ 200 mL d'eau distillée bouillie refroidie (préparée le jour même) et 2 à 6 gouttes de la solution d'indicateur mixte (5.2).

Titrer avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,05 M (5.1) jusqu'à ce que la couleur vert-jaunâtre vire au violet dans le cas des boissons spiritueuses incolores, ou que la couleur jaune-brun vire au rouge-brun dans le cas des boissons spiritueuses colorées en brun.

La titration peut également être effectuée par potentiométrie à pH 7,5. Soit n_1 mL le volume ajouté de la solution d'hydroxyde de sodium 0,05 M.

8.1.3 Calcul

L'acidité totale (TA) exprimée en milliéquivalents par L de la boisson spiritueuse est égale à $2 \times n_1$.

L'acidité totale (TA') exprimé en mg d'acide acétique par L de la boisson spiritueuse est égale à $120 \times n_1$.

L'acidité totale (TA') exprimé en g d'acide acétique par hl d'alcool pur à 100 % vol. est égale à $120 \times n_1 \times 10/A$, où A est le titre alcoométrique volumique de la boisson spiritueuse.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

8.2 Acidité fixe

8.2.1 Préparation d'échantillon

Introduire à la pipette 25 mL de boisson spiritueuse (ou un volume supérieur si l'acidité fixe est très faible) dans une capsule d'évaporation cylindrique (6.3). Pendant la première heure de l'évaporation la capsule d'évaporation est placée sur le couvercle d'un bain d'eau bouillante de sorte que le liquide ne bouille pas, car ceci pourrait entraîner des pertes en éclaboussant.

Si nécessaire, finir le séchage en plaçant la capsule d'évaporation dans une étuve à 105 °C pendant deux heures. Laisser la capsule d'évaporation se refroidir dans un dessiccateur.

8.2.2 Titration

Reprendre le résidu de l'évaporation avec de l'eau distillée bouillie refroidie (préparée le jour même), compléter jusqu'à un volume d'environ 100 mL et ajouter 2-6 gouttes de la solution d'indicateur mixte (5.2).

Titrer avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,05 M (5.1) jusqu'à ce que la couleur vert-jaunâtre vire au violet si la solution est incolore, ou que la couleur jaune-brun vire au rouge-brun si la solution est colorée en brun.

La titration peut également être effectuée par potentiométrie à pH 7,5.

Soit n_2 mL le volume ajouté de solution d'hydroxyde de sodium 0.05 M, et V mL le volume d'échantillon évaporé.

8.2.3 Calcul

L'acidité fixe (FA) exprimée en milliéquivalents par L de boisson spiritueuse est égale à $2 \times n_2 \times 25/V$.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

L'acidité fixe (FA') exprimée en mg d'acide acétique par L de boisson spiritueuse est égale à $120 \times n_2 \times 25/V$.

L'acidité fixe (FA') exprimé en g d'acide acétique par hl d'alcool pur à 100 % vol. est égale à $120 \times n_2 \times 25/V \times 10/A$, où A est le titre alcoométrique volumique de la boisson spiritueuse.

8.3 Calcul de l'acidité volatile

8.3.1 Expression en milliéquivalents par L :

Soit:

TA = acidité totale en milliéquivalents par L

FA = acidité fixe en milliéquivalents par L

L'acidité volatile, VA, en milliéquivalents par L est égale à :

$$TA - FA$$

8.3.2 Expression en mg d'acide acétique par L :

Soit

TA' = acidité totale en mg d'acide acétique par L

FA' = l'acidité fixe en mg d'acide acétique par L

L'acidité volatile, VA, en mg d'acide acétique par L est égale à :

$$TA' - FA'$$

8.3.3 L'expression en g d'acide acétique par hl d'alcool pur à 100 % vol. est égale à :

$$\frac{TA' - FA'}{A} \times 10$$

Où A est le titre alcoométrique volumique de la boisson spiritueuse.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

9. Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

Les données suivantes ont été obtenues en 2000 à partir d'une étude internationale de performance de la méthode sur des boissons spiritueuses diverses, effectuée selon les procédures internationalement reconnues.

Légende des tableaux :

nLT	Nombre de laboratoires (2 résultats par laboratoires)
nL	Nombre de laboratoires pour estimer les limites de fidélité
r	limite de répétabilité
Sr	écart type de répétabilité
RSDr	écart type de répétabilité en % du niveau
R	limite de reproductibilité
SR	écart type de reproductibilité
RSDR	écart type de reproductibilité en % du niveau
PRSDR	RSDR estimé avec l'équation d'Horwitz
HoR	HorRat = RSDR / PRSDR
SH240	Solution hydroalcoolique: acide acétique (240 mg/L), acide tartrique (200 mg/L), saccharose (10 g/L)

Tous les acidités sont exprimés en mg d'acide acétique par L de boisson spiritueuse.

9.1 Acidité totale

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Rhum	18	18	53	8	2.7	5.1	34	12	23	8.8	2.6
Slibowitz	18	17	55	10	3.7	6.7	19	6.6	12	8.8	1.4
Brandy	20	18	193	16	5.7	2.9	43	15	7.9	7.2	1.1
Brandy	18	18	194	16	5.8	3.0	38	13	6.9	7.2	1.0
Calvados	18	17	282	21	7.5	2.7	34	12	4.3	6.8	0.6
SH240	20	17	400	14	4.9	1.2	18	6.2	1.6	6.5	0.2
Marc	18	18	547	16	5.8	1.1	42	15	2.7	6.2	0.4
Armagnac	20	19	580	27	9.4	1.6	53	19	3.2	6.1	0.5
Rhum	18	18	641	41	14.3	2.2	66	23	3.7	6.0	0.6

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

9.2 Acidité fixe

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Slibowitz	18	16	9.5	5.1	1.8	19	14	4.9	52	11	4.6
Rhum	18	18	22	6.1	2.2	9.7	28	10	45	10	4.5
Calvados	18	16	25	7.7	2.7	10.8	24	8.4	34	9.9	3.4
Rhum	18	18	25	5.7	2.0	7.9	28	9.9	39	9.8	4.0
Marc	18	17	51	25	8.8	17	60	21	42	8.8	4.7
Brandy	18	18	87	17	6.0	6.9	47	17	19	8.2	2.3
Brandy	20	19	89	12	4.2	4.7	33	12	13	8.1	1.6
Armagnac	20	19	159	13	4.7	2.9	80	28	18	7.5	2.4
SH240	20	17	162	12	4.1	2.5	32	11	7.1	7.4	1.0

9.3 Acidité volatile

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Rhum	18	18	30	10	3.5	12	24	8.4	28	9.6	2.9
Slibowitz	18	14	46	10	3.7	8.1	13	4.6	10	9.0	1.1
Brandy	20	18	107	23	8.0	7.5	44	16	15	7.9	1.8
Brandy	18	18	107	19	6.6	6.2	38	13	13	7.9	1.6
SH240	20	17	242	21	7.2	3.0	48	17	6.9	7.0	1.0
Calvados	18	16	257	23	8.0	3.1	24	8.5	3.3	6.9	0.5
Armagnac	20	17	418	22	7.8	1.9	62	22	5.2	6.5	0.8
Marc	18	18	492	24	8.5	1.7	69	24	5.0	6.3	0.8
Rhum	18	18	616	42	15	2.4	71	25	4.1	6.1	0.7

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

10. Bibliographie

R. Wittkowski, A. Bertrand, P. Brereton, C. Guillou, 2000. PROJECT SMT4-CT96-2119, Validation of analytical methods of analysis for spirit drinks. REPORT NO. 02/08- WORKSTREAM 8

P. Brereton, S. Hasnip, A. Bertrand, R. Wittkowski, C. Guillou, Analytical methods for the determination of spirit drinks, Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, No. 1, 19-25, 2003

FV 1322 (2009), Mesure des acidités dans les spiritueux - estimation des valeurs de fidélité

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des acidités des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du pH

Méthode OIV-MA-BS-13

Détermination du pH

Méthode de type I

1. PRESENTATION

Le pH est en relation étroite avec la concentration des ions hydrogène (H⁺) présents dans les boissons spiritueuses (les caractéristiques de pH des boissons spiritueuses sont fonction de divers paramètres, par exemple qualité de l'eau de réduction, durée de maturation en fûts, nature des matières premières aromatiques, des additifs éventuels).

Du fait de la présence d'alcool éthylique dans les boissons spiritueuses, la mesure du pH doit être effectuée suivant des modalités spécifiques.

2. OBJET.

Le présent document a pour objet la description de la mesure du pH des boissons spiritueuses par la méthode potentiométrique, au moyen de l'électrode de verre. Elle précise les caractéristiques essentielles à exiger de l'appareillage en vue d'obtenir des résultats comparables et, d'autre part, elle constitue une normalisation du mode d'emploi de l'électrode de verre et des techniques à suivre pour obtenir des résultats corrects.

3. DOMAINE D'APPLICATION.

La méthode est applicable dans le cas de mesures effectuées sur des boissons dont le titre alcoométrique volumique est compris entre 15 et 50 % vol.

4. PRINCIPE DE LA METHODE.

4.1 Définition du pH.

Le pH d'une solution est le cologarithme décimal de l'activité de la solution en ions hydrogène ; il s'exprime en unités de pH.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du pH

4.20. Principe général.

La différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence plongeant dans une même solution, est une fonction linéaire du pH de celle-ci. En effet, d'après les lois de NERNST, le potentiel de l'électrode est lié à l'activité des ions H⁺ présents par la relation

$$H = k + RT \log a(H^+)$$

où R représente la constante des gaz, en joules/degrés, T la température absolue (°K)

F le symbole du Faraday (96 500 coulombs) (H⁺) est l'activité des ions H⁺,

k est une constante dépendant de la nature du verre de l'électrode et du dispositif de mesure.

La détermination du pH revient donc à la mesure exacte d'une différence de potentiel. Cette mesure s'effectue à l'aide d'un dispositif potentiométrique à amplificateurs. Ce montage est nécessaire par suite de la grande résistance du circuit électrique et, en particulier, de l'électrode de verre.

Etant donné l'influence de la température sur le résultat de la mesure, l'électromètre employé devra être muni d'un dispositif permettant la compensation de la température et la conversion exacte de la force électromotrice en unités de pH, à la température de l'échantillon.

Les potentiels d'asymétrie de la membrane de verre et les potentiels de jonction et de diffusion entre l'électrode de référence et le liquide en essai, seront éliminés par un tarage de l'installation à l'aide de solutions de référence de pH connu. L'une de ces solutions étalons sera considérée comme étalon primaire.

4.3 Principe appliqué aux boissons spiritueuses.

4.3.1 La mesure de pH dans les milieux organiques.

Le traditionnel domaine de pH s'étendant de 0 à 14 est déterminé par la dissociation de l'eau. Si l'on réduit progressivement la teneur en eau d'une solution ou si l'on remplace même l'eau par un autre solvant, c'est l'équilibre de dissociation, respectivement le produit ionique de ce dernier qui entrent en ligne de compte en lieu et place de ceux de l'eau. Il en résulte des domaines de concentration tout à fait différents pour les ions H⁺ "libres" (non liés chimiquement).

Dans les milieux non aqueux, il n'est pas possible d'effectuer des mesures absolues de pH. On ne peut procéder qu'à des mesures relatives. D'autre part les

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du pH

milieux partiellement aqueux sont souvent pauvres en ions.

Toutefois, à partir d'une teneur en eau d'au moins 5 %, on peut à nouveau utiliser la définition classique du pH, c'est-à-dire parler de valeurs absolues et non seulement de valeurs relatives.

Dans ces conditions opératoires, à l'interface située entre l'électrolyte et la solution à mesurer se forme souvent une séparation de phases qui rend le signal instable. Il existe en outre un certain risque de précipitation au niveau de la membrane. On rencontre d'ailleurs le même type de problème lorsqu'on utilise des solutions de KCl concentrées comme électrolyte de référence.

4.32 Conditions spécifiques de mesure.

Afin d'éviter les problèmes précédemment décrits, la condition de base est que l'électrolyte et la solution à mesurer forment une solution homogène : sans séparation de phase ni précipitation. On parvient à remplir cette condition en utilisant du chlorure de lithium (LiCl) en milieu éthanolique.

Une seconde condition est l'utilisation d'une électrode dont le diaphragme est constitué d'un rodage circulaire qui assure un contact optimal entre l'électrolyte de référence et la solution à mesurer.

5. APPAREILLAGE.

5.1 pH-mètre.

pH-mètre étalonné en unités pH, permettant des mesures d'une précision minimale de : $\pm 0,01$ pH soit ± 1 mV.

L'instrument sera préférablement équipé d'un dispositif électronique de compensation automatique de la température d'une précision minimale de $\pm 0,5$ °C.

Il convient que le pH-mètre soit utilisé dans un endroit abrité des agents polluants, notamment des vapeurs acides ou basiques, du sulfure d'hydrogène (H_2S) et de l'ammoniac (NH_3).

5.2. Electrodes.

5.2.1 Electrode combinée.

Les électrodes commercialisées répondant à cette utilisation spécifique sont généralement du type : électrode combinée.

La partie utile de l'électrode est constituée d'une membrane cylindrique et d'un diaphragme rodé en téflon.

L'électrolyte de référence est une solution éthanolique à 95 % vol de chlorure de

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du pH

lithium (LiCl) à 1 mol/L. Son titre alcoométrique doit être proche de celui de la boisson spiritueuse à analyser.

5.2.2 Immerger l'extrémité de l'électrode lorsqu'elle n'est pas utilisée en continu, dans une solution éthanolique de chlorure de lithium à : 1 mol/1, sauf prescription particulière du constructeur de l'électrode.

5.3 Petits matériels de laboratoire

5.3.1 Verrerie courante : béchers, cristallisoirs, etc...

5.3.2 Dispositif d'agitation : agitateur et barreau magnétiques, par exemple.

5.33. Accessoires de nettoyage : papier Joseph, etc...

6. REACTIFS.

6.1 Eau déminéralisée ou distillée.

Exempte de dioxyde de carbone et d'ions métalliques, d'une conductivité maximale à 20 °C de 200 µS/m.

6.2 Solution tampons étalons.

En référence à la norme NFT 01.012 "pH-métrie - solutions étalons pour l'étalonnage d'un pH-mètre.

6.2.1 Solution tampon pH : 3,57 à 20 °C.

Solution saturée de tartrate acide de potassium. Solution contenant au moins 5,7 g/1 de tartrate acide de potassium ($\text{HOOC C}_2\text{H}_4\text{O}_2 \text{ COOK}$) à 20 °C. Cette solution peut se conserver 2 mois en présence de 0,1 g de thymol pour 200 ml.

(3,57 à 20 °C

pH (3,56 à 25 °C

(3,55 à 30 °C

6.2.2 Solution tampon pH : 4.00 à 20 °C.

Solution 0,05 M de phtalate acide de potassium. Solution contenant 10,211 g/1 de phtalate acide de potassium ($\text{HOOC C}_2\text{H}_4 \text{ COOK}$) à 20 °C (durée maximale de conservation : 2 mois).

(3,999 à 15 °C

pH (4,003 à 20 °C

(4,008 à 25 °C

(4,015 à 30 °C

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du pH

6.2.3 Solution tampon pH : 6.88 à 20 °C.

Solution contenant

Phosphate monopotassique, KH_2PO_4 : 3,402 g

Phosphate dipotassique, K_2HPO_4 : 4,354 g

Eau q.s.p 1 L

(durée de conservation : 2 mois)

	(6,90 à 15 °C
	(6,88 à 20 °C
pH	(6,86 à 25 °C
	(6,85 à 30 °C

6.2.4 Solution tampon pH : 9,22 à 20 °C. Solution contenant

Borax décahydraté, $\text{B}_4\text{O}_7\text{Na}_2 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$... 3,810 g

Eau q.s.p 1 L

(les solutions tampons basiques étant rapidement altérées par le dioxyde de carbone de l'air ambiant, il est nécessaire de renouveler la solution à chaque étalonnage).

pH = 9,22 à 20 °C.

Remarque : les solutions tampons de référence du commerce peuvent également être utilisées (répondant à la norme DIN 19266 et NBS, par exemple).

7. MODE OPERATOIRE.

7.1 Etalonnage de la chaîne de mesure.

7.1.1 Deux solutions étalons sont nécessaires pour étalonner le pH-mètre. Leurs pH doivent, si possible, être situés de part et d'autre de la valeur du pH présumée de la solution d'essai, en cas contraire, l'un d'entre eux ne doit pas différer de plus d'une unité de pH de cette valeur présumée.

7.1.2 Réglage du zéro de la chaîne de mesure (pH).

Opérer en suivant les indications données pour l'appareil utilisé.

Rincer les électrodes avec la première solution tampon étalon en faisant couler le

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du pH

liquide le long de celles-ci.

Introduire un volume suffisant de la même solution étalon dans le récipient de mesure, propre et sec, et y plonger les électrodes.

Régler l'indication du pH-mètre sur la valeur du pH de la solution étalon en tenant compte de la température de celle-ci (si nécessaire).

Retirer les électrodes et jeter la solution étalon contenue dans le récipient de mesure.

7.1.3 Réglage de la pente de la chaîne de mesure

Rincer les électrodes avec de l'eau déminéralisée ou distillée puis avec la deuxième solution-tampon étalon

Introduire un volume suffisant de la même solution-tampon étalon et y plonger les électrodes.

Si le résultat obtenu correspond à la valeur connue du pH de la solution étalon, l'appareil est en état de marche et est convenablement étalonné.

7.1.4 Contrôle de l'étalonnage

Utiliser une solution-tampon d'une valeur de pH intermédiaire à celles utilisées pour l'étalonnage.

7.20. Mesures du pH.

Une fois que l'appareil a été étalonné, laver les électrodes et le récipient de mesure, d'abord à l'eau déminéralisée ou distillée, puis avec la solution d'essai en opérant comme précédemment. Homogénéiser la solution d'essai, en introduire un volume suffisant dans le récipient de mesure et y plonger les électrodes.

Agiter légèrement la solution d'essai.

Vérifier que l'indication donnée par le pH-mètre est stable et la relever.

8. EXPRESSION DES RESULTATS.

Dans les conditions opératoires décrites, la précision de la détermination est de $\pm 0,02$ unité de pH

Les résultats sont exprimés en unités de pH, à la température de : 20 °C, sous la forme

$$\text{pH à } 20\text{ °C} = \text{xx, xx}$$

9. RAPPORT D'ESSAI.

Indiquer dans le rapport d'essai - la méthode utilisée,

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du pH

- Les détails particuliers ainsi que les incidents fortuits relevés au cours de la mesure,
- Les opérations non prévues ou facultatives.

BIBLIOGRAPHIE Méthode rédigée en référence aux normes

-NFTO1-013 Mesure électrométrique du pH au moyen d'une électrode de verre - Vocabulaire et méthode de mesure -

-NFTO1-012 pH-métrie - Solutions étalons pour l'étalonnage d'un pH-mètre

Autres sources

- norme NF T 90-008 - Essais des Eaux. Mesure électrométrique du pH avec l'électrode de verre.

- Utilisation et entretien des instruments de mesure - Cahier technique - Fondation de l'eau - Ministère de l'Environnement -

- Théorie der Glaselektrode - K. Schwabe et H.D. Suschke-Angeur - Chem.76 (1964) 39-49

- La pratique et la théorie de la Mesure du pH - Ingold Messtechnik AG.

- Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et de moûts - Office International de la Vigne et du Vin (O.I.V.) : Mesure du pH des vins et des moûts.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Méthode OIV-MA-BS-14

**Détermination des principales substances volatiles dans les
boissons spiritueuses d'origine vitivinicole**

Méthode de type II

1. Champ d'application

Cette méthode convient pour la détermination dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole des composés suivants: éthanal (acétaldéhyde) libre et total (obtenu par la somme de l'éthanal et de la fraction éthanal contenue dans 1,1-diéthoxyéthane), éthanoate d'éthyle (acétate d'éthyle), 1,1-diéthoxyéthane (acétal), méthanol (alcool méthylique), butan-2-ol (sec-butanol), propan-1-ol (n-propanol), 2-méthylpropan-1-ol (alcool isobutylique), butan-1-ol (n-butanol), 2-méthylbutan-1-ol (alcool amylique actif) et 3-méthylbutan-1-ol (alcool isoamylique).

2. Références normatives

ISO 3696:1987 Eau pour laboratoire à usage analytique - Spécification et méthodes d'essai

3. Définition

Les substances cogénérées sont des substances volatiles qui se forment en même temps que l'éthanol lors de la fermentation, de la distillation et de la maturation des boissons spiritueuses.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

4. Principe

Les substances cogénérées sont déterminées par injection directe de la boisson spiritueuse, ou de la boisson spiritueuse convenablement diluée, ou son distillat, dans un système de chromatographie en phase gazeuse (CPG). Un étalon interne approprié est ajouté à la boisson spiritueuse avant l'injection. Les substances cogénérées sont séparées par programmation de la température d'une colonne adaptée et sont détectées à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). La concentration de chacune d'entre elles est déterminée par rapport à l'étalon interne au vu des facteurs de réponse, qui sont obtenus lors de l'étalonnage dans les conditions chromatographiques identiques à celles de l'analyse de la boisson spiritueuse.

Remarque : les concentrations des analytes sont exprimées en grammes par hectolitre d'alcool absolu; le titre alcoométrique du produit doit être déterminé avant l'analyse.

5. Réactifs et matériaux

Sauf indication contraire, n'utiliser que des réactifs d'une pureté supérieure à 97 %, achetés auprès d'un fournisseur agréé par l'ISO et munis d'un certificat de pureté, exempts d'autres substances cogénérées lors de la dilution d'essai (la confirmation peut être apportée par l'injection d'un étalon de chaque substance cogénérée lors de la dilution d'essai dans les conditions CPG indiquées au point 6.4) et de l'eau de classe 3 au minimum, répondant à la définition de la norme ISO 3696. L'acétal et l'acétaldéhyde doivent être stockés dans l'obscurité à une température inférieure à 5 °C. Tous les autres réactifs doivent être stockés selon les spécifications du fournisseur.

5.1 Éthanol absolu (CAS 64-17-5)

5.2 Méthanol (CAS 67-56-1)

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

- 5.3 Propan-1-ol (CAS 71-23-8)
- 5.4 2-méthylpropan-1-ol (CAS 78-33-1)
- 5.5 Etalons internes acceptables : pentan-3-ol (CAS 584-02-1), pentan-1-ol (CAS 71-41-0), 4-méthylpentan-1-ol (CAS 626-89-1), 4-méthylpentan-2-ol (CAS 108-11-2), ou nonanoate de méthyle (CAS 1731-84-6).
- 5.6 2-méthylbutan-1-ol (CAS 137-32-6)
- 5.7 3-méthylbutan-1-ol (CAS 123-51-3)
- 5.8 Acétate d'éthyle (CAS 141-78-6)
- 5.9 Butan-1-ol (CAS 71-36-3)
- 5.10 Butan-2-ol (CAS 78-92-2)
- 5.11 Acétaldéhyde (CAS 75-07-0)
- 5.12 Acétal (CAS 105-57-7)
- 5.13 Solution d'éthanol à 40 % v/v

Pour préparer une solution d'éthanol à 400 ml/l, verser 400 ml d'éthanol (5.1), dans une fiole jaugée de 1 l, porter au volume avec de l'eau distillé et bien mélanger.

5.14 Préparation et conservation des solutions titrées (procédure suggérée pour la méthode validée : les gammes d'étalonnage doivent être adaptées à la nature des types de boissons analysées par chaque laboratoire)

Toutes les solutions titrées doivent être stockées à une température inférieure à 5 °C et être renouvelées tous les mois, si nécessaire. La masse des constituants et des solutions doit être donnée à 0,1 mg près.

5.14.1 Solution titrée - A

Introduire à la pipette les réactifs suivants dans une fiole jaugée de 100 ml, contenant environ 60 ml de solution d'éthanol (5.13) pour minimiser l'évaporation

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

des constituants, porter au volume à l'aide de la solution d'éthanol (5.13) et bien mélanger. Noter le poids de la fiole et de chaque constituant ajouté, ainsi que le poids total final du contenu.

Constituant	Volume (ml)
Méthanol (5.2)	3,0
Propan-1-ol (5.3)	3,0
2-méthylpropan-1-ol (5.4)	3,0
2-méthylbutan-1-ol (5.6)	3,0
3-méthylbutan-1-ol (5.7)	3,0
Acétate d'éthyle (5.8)	3,0
Butan-1-ol (5.9)	3,0
Butan-2-ol (5.10)	3,0
Acétaldéhyde (5.11)	3,0
Acétal (5.12)	3,0

REMARQUE - Il est préférable d'ajouter l'acétal et l'acétaldéhyde en dernier lieu afin de minimiser les pertes par évaporation. Les solutions peuvent être préparées individuellement, et la solution finale et ses dilutions préparées ultérieurement.

5.14.2 Solution titrée - B

Introduire à la pipette 3 ml de pentan-3-ol ou d'un autre étalon interne approprié (5.5) dans une fiole jaugée de 100 ml, contenant environ 80 ml de solution d'éthanol (5.13), porter au volume à l'aide de la solution d'éthanol (5.13) et bien mélanger.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Noter le poids de la fiole et du pentan-3-ol ou de tout autre étalon interne ajouté, ainsi que le poids total final du contenu.

5.14.3 Solution titrée - C

Introduire à la pipette 1 ml de solution A (5.14.1) et 1 ml de solution B (5.14.2) dans une fiole jaugée de 100 ml, contenant environ 80 ml de solution d'éthanol (5.13), porter au volume à l'aide de la solution d'éthanol (5.13) et bien mélanger.

Noter le poids de la fiole et de chaque constituant ajouté, ainsi que le poids total final du contenu.

5.14.4 Solution titrée - D

Afin de maintenir la continuité analytique et un contrôle de qualité effectif, préparer un étalon de contrôle de la qualité à l'aide de l'étalon A précédemment préparé (5.14.1) ou, de préférence, préparer un étalon de contrôle selon les indications de l'étalon A en utilisant des lots ou des marques de réactifs différents. Introduire à la pipette 1 ml de solution A (5.14.1) dans une fiole jaugée de 100 ml, contenant environ 80 ml de solution d'éthanol (5.13), porter au volume à l'aide de la solution d'éthanol (5.13) et bien mélanger.

Noter le poids de la fiole et de chaque constituant ajouté, ainsi que le poids total final du contenu.

5.14.5 Solution titrée - E

Introduire à la pipette 10 ml de solution B (5.14.2) dans une fiole jaugée de 100 ml, contenant environ 80 ml de solution d'éthanol (5.13), porter au volume à l'aide de la solution d'éthanol (5.13) et bien mélanger.

Noter le poids de la fiole et de chaque constituant ajouté, ainsi que le poids total final du contenu.

5.14.6 Solutions titrées servant à contrôler la linéarité de la réponse du FID

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Dans différentes fioles jaugées de 100 ml, contenant environ 80 ml d'éthanol (5.13), introduire à la pipette 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ml de solution A (5.14.1) et 1 ml de solution B (5.14.2), porter au volume à l'aide de la solution d'éthanol (5.13) et bien mélanger.

Noter le poids de la fiole et de chaque constituant ajouté, ainsi que le poids total final du contenu.

5.14.7 Solution titrée de contrôle de la qualité (CQ)

Introduire à la pipette 9 ml de solution titrée D (5.14.4) et 1 ml de solution titrée E (5.14.5) dans un récipient et bien mélanger.

Noter le poids de la fiole et de chaque constituant ajouté, ainsi que le poids total final du contenu.

6. Appareillage et matériel

6.1 Appareillage permettant de mesurer la masse volumique et le titre alcoométrique.

6.2 Balance analytique capable d'afficher le résultat avec quatre décimales.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

6.3 Chromatographe en phase gazeuse à température programmable, doté d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un intégrateur ou de tout autre système de gestion de données capable de mesurer les aires de pic.

6.4 Colonne(s) de chromatographie en phase gazeuse permettant de séparer les analytes de sorte que, à titre indicatif, la résolution minimum entre les différents constituants (autres que le 2-méthylbutan-1-ol et le 3-méthylbutan-1-ol) soit au moins de 1,3, dans le cas où la simple visualisation du chromatogramme n'est pas suffisante.

REMARQUE - Les colonnes et conditions CPG ci-après sont données à titre d'exemple.

- 1 Colonne de garde de 1 m x 0,32 mm de diamètre intérieur, connecté à une colonne CP-WAX 57 CB de 50 m x 0,32 mm de diamètre intérieur, avec une épaisseur de film (polyéthylène-glycol stabilisé) de 0,2 µm, puis une colonne Carbowax 400 de 50 m x 0,32 mm de diamètre intérieur, avec une épaisseur de film de 0,2 µm (les colonnes sont assemblées par des connecteurs sans volume mort).

Gaz vecteur et pression: hélium (135 kPa)

Température de la colonne: 35 °C pendant 17 min, 35 à 70 °C à 12 °C/min, maintenir à 70 °C pendant 25 min.

Température de l'injecteur: 150 °C

Température du détecteur: 250 °C

Volume d'injection: 1 µl, split 20 à 100:1

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

- 2 Colonne de garde de 1 m x 0,32 mm de diamètre intérieur, connecté à une colonne CP-WAX 57 CB de 50 m x 0,32 mm de diamètre intérieur, avec une épaisseur de film (polyéthylène-glycol stabilisé) de 0,2 µm (la colonne de garde est assemblée à l'aide d'un connecteur sans volume mort).

Gaz vecteur et pression: hélium (65 kPa)

Température de la colonne: 35 °C pendant 10 min, 35 à 110 °C à 5 °C/min, 110 à 190 °C à 30 °C/min, maintenir à 190 °C pendant 2 min.

Température de l'injecteur: 260 °C

Température du détecteur: 300 °C

Volume d'injection: 1 µl, split 55:1

- 3 Colonne remplie (5 % CW 20M, Carbopak B) de 2 m x 2 mm de diamètre intérieur.

Température de la colonne: 65 °C pendant 4 min, 65 à 140 °C à 10 °C/min, maintenir à 140 °C pendant 5 min, 140 à 150 °C à 5 °C/min, maintenir à 150 °C pendant 3 min.

Température de l'injecteur: 65 °C

Température du détecteur: 200 °C

Volume d'injection: 1 µl

7. Échantillonnage et échantillons

7.1 Échantillon de laboratoire

Le titre alcoométrique de chaque échantillon est mesuré dès réception (6.1).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

8. Mode opératoire (procédure utilisée pour la méthode validée, et donnée à titre d'exemple ; le mode opératoire précis, et en particulier la gamme d'étalonnage, devront être adaptée à la nature des échantillons analysés et aux procédures validées par chaque laboratoire)

8.1 Prise d'essai

8.1.1 Peser un récipient fermé adapté pour la pesée et noter son poids.

8.1.2 Introduire à la pipette 9 ml d'échantillon de laboratoire dans le récipient et noter le poids ($M_{\text{ÉCHANTILLON}}$).

8.1.3 Ajouter 1 ml de solution titrée E (5.14.5) et noter le poids (M_{IS}).

8.1.4 Secouer l'échantillon vigoureusement (au moins 20 retournements). Les échantillons doivent être stockés à une température inférieure à 5 °C avant l'analyse afin de minimiser les pertes par évaporation.

8.2 Essai à blanc

8.2.1 À l'aide d'une balance à quatre décimales (6.2), peser un récipient fermé adapté pour la pesée et noter son poids.

8.2.2 Introduire à la pipette 9 ml de solution d'éthanol à 400 ml/l (5.13) dans le récipient et noter le poids.

8.2.3 Ajouter 1 ml de solution titrée E (5.14.5) et noter le poids.

8.2.4 Secouer le matériau d'essai vigoureusement (au moins 20 retournements). Les échantillons doivent être stockés à une température inférieure à 5 °C avant l'analyse afin de minimiser les pertes par évaporation.

8.3 Essai préliminaire

Injecter la solution titrée C (5.14.3) pour que tous les analytes soient séparés avec une résolution minimum de 1,3 (sauf le 2-méthylbutan-1-ol et le 3-méthylbutan-1-ol).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

8.4 Étalonnage

Il convient de contrôler l'étalonnage conformément à la procédure suivante. Veiller à ce que la réponse soit linéaire en analysant successivement en triple chacune des solutions titrées servant à contrôler la linéarité (5.14.6), contenant un étalon interne (IS). À partir des aires de pic de l'intégrateur pour chaque injection, calculer le rapport R pour chaque substance cogénérée et représenter R graphiquement en fonction du taux de concentration de ces substances par rapport à l'étalon interne (IS), C. Un tracé linéaire doit être obtenu, avec un coefficient de corrélation d'au moins 0,99.

$$R = \frac{\text{Aire de pic de la substance}}{\text{Aire de pic de l'IS}}$$

$$C = \frac{\text{Concentration de la substance } (\mu\text{g} / \text{g})}{\text{Concentration de l'IS } (\mu\text{g} / \text{g})}$$

8.5 Détermination

Injecter la solution titrée C (5.14.3) et 2 solutions titrées CQ (5.14.7). Procéder ensuite avec des échantillons inconnus (préparés conformément aux instructions des points 8.1 et 8.2) en insérant un étalon de contrôle de la qualité tous les 10 échantillons afin d'assurer la stabilité analytique. Injecter une solution titrée C (5.14.3) tous les 5 échantillons.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

9. Calcul

Il est possible d'utiliser un système automatisé de gestion des données, pour autant que celles-ci puissent être contrôlées conformément aux principes décrits ci-dessous et aux bonnes pratiques de chromatographie en phase gazeuse (calcul du facteur de réponse et/ou établissement d'une courbe d'étalonnage).

Mesurer les aires de pic des substances cogénérées et de l'étalon interne.

9.1 Calcul du facteur de réponse

À partir du chromatogramme de l'injection de la solution titrée C (5.14.3), calculer les facteurs de réponse de chaque substance cogénérée au moyen de l'équation (1).

$$(1) \text{ Facteur de réponse} = \frac{\text{Aire de pic IS}}{\text{Aire de pic substance}} \times \frac{\text{Conc. substance } (\mu\text{g} / \text{g})}{\text{Conc. IS } (\mu\text{g} / \text{g})}$$

où:

IS = étalon interne

Conc. substance = concentration de la substance dans la solution C
(5.14.3)

Conc. IS = concentration de l'étalon interne dans la solution
C (5.14.3)

9.2 Analyse de l'échantillon

À l'aide de l'équation (2) ci-dessous, calculer la concentration de chaque substance dans les échantillons.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

(2) Concentrations des substances ($\mu\text{g/g}$) =

$$\frac{\text{Aire de pic substance}}{\text{Aire de pic IS}} \times \frac{M_{\text{IS}} (\text{g})}{M_{\text{ÉCH}} (\text{g})} \times \text{Conc. IS } (\mu\text{g} / \text{g}) \times \text{RF}$$

où:

$M_{\text{ÉCH.}}$ = poids de l'échantillon (8.1.2)

M_{IS} = poids de l'étalon interne (8.1.3)

Conc. IS = concentration de l'étalon interne dans la solution E
(5.14.5)

RF = facteur de réponse calculé à l'aide de l'équation 1

9.3 Analyse de la solution titrée de contrôle de la qualité

À l'aide de l'équation (3) ci-dessous, calculer le taux de récupération de la valeur cible pour les différents substances contenues dans les étalons CQ (5.14.7).

$$(3) \% \text{ récup. échantillon CQ} = \frac{\text{concentration de l'analyte dans l'étalon CQ}}{\text{concentration de l'analyte dans la solution D}} \times 100$$

La concentration de l'analyte dans l'étalon CQ est calculée en utilisant les équations (1) et (2) ci-dessus.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

9.4 Présentation finale des résultats

Pour les échantillons, les résultats sont convertis de µg/g en g par hectolitre d'alcool absolu à l'aide de l'équation (4). :

(4) Concentration en g par hectolitre d'alcool absolu

$$= \text{Conc } (\mu\text{g/g}) \times \rho \times 10 / (\text{titre}(\% \text{vol.}) \times 1000)$$

où ρ = masse volumique en kg/m³.

Les résultats sont exprimés avec 3 chiffres significatifs au maximum et une décimale au maximum, par exemple 11,4 g par hectolitre d'alcool absolu.

10. Assurance et contrôle qualité (utilisés pour la méthode validée)

À l'aide de l'équation (2) ci-dessus, calculer la concentration de chaque substance cogénérée dans les solutions titrées de contrôle de la qualité préparées conformément au mode opératoire décrit aux points 8.1.1 à 8.1.4. Utiliser l'équation (3) pour calculer le taux de récupération de la valeur cible. Si les résultats analysés sont compris entre $\pm 10 \%$ de leurs valeurs théoriques pour chaque substance, l'analyse peut être réalisée. Dans le cas contraire, il convient de rechercher la cause de l'inexactitude et de prendre les mesures correctives qui s'imposent.

11 Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

Les données ci-après proviennent d'une étude internationale sur les performances de la méthode, sur des boissons spiritueuses diverses, réalisée conformément aux procédures agréées au niveau international.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Année de l'essai interlaboratoire 1997
Nombre de laboratoires 32
Nombre d'échantillons 5
Analyte Éthanal

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	28	26	27	27	28
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	2	4	3	3	2
Nombre de résultats acceptés	56	52	54	54	56
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	63,4	71,67	130,4	38,4	28,6
				13,8*	52,2*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Limite de répétabilité (r) ($\mu\text{g/g}$.	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	12	14	22	6,8	8,9
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

- A Brandy; doubles en aveugle
- B Kirsch; doubles en aveugle
- C Grappa; doubles en aveugle
- D Whisky; doubles avec une teneur différente*
- E Rhum; doubles avec une teneur différente*

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Année de l'essai interlaboratoire 1997
Nombre de laboratoires 32
Nombre d'échantillons 5
Analyte Acétate d'éthyle

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	24	24	25	24	24
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	2	2	1	2	2
Nombre de résultats acceptés	48	48	50	48	48
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	96,8	1046	120,3	112,5	99,1
				91,8*	117,0*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Types d'échantillons

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

- A Brandy; doubles en aveugle
- B Kirsch; doubles en aveugle
- C Grappa; doubles en aveugle
- D Whisky; doubles avec une teneur différente*
- E Rhum; doubles avec une teneur différente*

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Année de l'essai interlaboratoire 1997
Nombre de laboratoires 32
Nombre d'échantillons 5
Analyte Acétal

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	20	21	22	17	21
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	4	3	2	4	3
Nombre de résultats acceptés	40	42	44	34	42
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	35,04	36,46	68,5	20,36	15,1
				6,60*	28,3*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

D Whisky; doubles avec une teneur différente*

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Année de l'essai interlaboratoire 1997
Nombre de laboratoires 32
Nombre d'échantillons 5
Analyte Éthanal total

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	23	19	22	21	22
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	1	5	2	3	2
Nombre de résultats acceptés	46	38	44	42	44
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	76,5	85,3	156,5	45,4	32,7
				15,8*	61,8*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	13	15	24,1	7,3	9,0
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

D Whisky; doubles avec une teneur différente*

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole**

Année de l'essai interlaboratoire 1997
Nombre de laboratoires 32
Nombre d'échantillons 5
Analyte Méthanol

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	26	27	27	28	25
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	4	3	3	1	4
Nombre de résultats acceptés	52	54	54	56	50
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	319,8	2245	1326	83,0, 61,5*	18,6, 28,9*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	4,4	27	22	1,5	1,3
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	13	99	60	4,5	2,8
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

D Whisky; doubles avec une teneur différente*

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Année de l'essai interlaboratoire 1997
Nombre de laboratoires 32
Nombre d'échantillons 4
Analyte Butan-2-ol

Échantillons	A	B	C	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	21	27	29	22
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	4	3	1	3
Nombre de résultats acceptés	42	54	58	44
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	5,88	250,2	27,57	5,83
				14,12*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	0,40	2,2	0,87	0,64
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	1,1	6,1	2,5	1,8
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	0,89	13	3,2	0,87
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	2,5	35,5	8,9	2,4

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole**

Année de l'essai interlaboratoire 1997
 Nombre de laboratoires 32
 Nombre d'échantillons 5
 Analyte Propan-1-ol

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	29	27	27	29	29
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	2	4	3	2	2
Nombre de résultats acceptés	58	54	54	58	58
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	86,4	3541	159,1	272,1	177,1
				229,3*	222,1*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

D Whisky; doubles avec une teneur différente*

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole**

Année de l'essai interlaboratoire	1997
Nombre de laboratoires	32
Nombre d'échantillons	3
Analyte	Butan-1-ol

Échantillons	A	B	C
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	20	22	22
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	4	4	6
Nombre de résultats acceptés	40	44	44
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	3,79	5,57	7,54
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	0,43	0,20	0,43
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	11,2	3,6	5,6
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	1,1	0,6	1,2
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	0,59	0,55	0,82
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	15,7	9,8	10,8
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	1,7	1,5	2,3

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole**

Année de l'essai interlaboratoire 1997
 Nombre de laboratoires 32
 Nombre d'échantillons 5
 Analyte 2-méthylpropan-1-ol

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	28	31	30	26	25
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	3	0	1	5	6
Nombre de résultats acceptés	56	62	60	52	50
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	174,2	111,7	185,0	291,0	115,99
				246,8*	133,87*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

D Whisky; doubles avec une teneur différente*

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Année de l'essai interlaboratoire 1997
Nombre de laboratoires 32
Nombre d'échantillons 5
Analyte 2-méthylbutan-1-ol

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	25	26	25	27	25
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	3	2	3	1	2
Nombre de résultats acceptés	50	52	50	54	50
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	113,0	48,3	91,6	72,1	39,5
				45,2*	61,5*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

D Whisky; doubles avec une teneur différente*

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole**

Année de l'essai interlaboratoire 1997
 Nombre de laboratoires 32
 Nombre d'échantillons 5
 Analyte 3-méthylbutan-1-ol

Échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	23	23	24	27	21
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	5	5	4	1	6
Nombre de résultats acceptés	46	46	48	54	42
Valeur moyenne ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$.	459,4	242,7	288,4	142,2	212,3
				120,4*	245,6*
Écart-type de répétabilité (s_r) $\mu\text{g/g}$.	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Limite de répétabilité (r) $\mu\text{g/g}$.	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Écart-type de reproductibilité (s_R) $\mu\text{g/g}$.	29,8	13	21	8,5	6,7
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Limite de reproductibilité (R) $\mu\text{g/g}$.	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

Types d'échantillons

A Brandy; doubles en aveugle

B Kirsch; doubles en aveugle

C Grappa; doubles en aveugle

D Whisky; doubles avec une teneur différente*

E Rhum; doubles avec une teneur différente*

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination des principales substances volatiles dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole

12. Bibliographie

Règlement (CE) N° 2870/2000 de la Commission du 19 décembre 2000 établissant des méthodes d'analyse communautaires de référence applicables dans le secteur des boissons spiritueuses, *J.O.C.E. du 29 décembre 2000, L333/20*

P. Brereton, S. Hasnip, A. Bertrand, R. Wittkowski, C. Guillou, Analytical methods for the determination of spirit drinks, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 22, No. 1, 19-25, 2003

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Anéthole

**Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse**

Méthode OIV-MA-BS-15

Anéthole

**Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse**

Méthode de type II

1 Champ d'application

Cette méthode convient au dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses anisées par chromatographie capillaire en phase gazeuse.

2 Références normatives

ISO 3696: 1987 Eau pour laboratoire à usage analytique - Spécifications et méthodes d'essai

3 Principe

La concentration en trans-anéthole de la boisson spiritueuse est déterminée par chromatographie en phase gazeuse (GC). Après addition de la même quantité d'un étalon interne, à savoir par exemple le 4-allylanisole (estragole) lorsque l'estragole n'est pas naturellement présent dans l'échantillon, la prise d'essai, d'une part, et une solution titrée de référence contenant le trans-anéthole, d'autre part, toutes deux diluées à l'aide d'éthanol à 45 %, sont injectées directement dans le chromatographe. Pour les boissons spiritueuses à forte

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

concentration en sucres, il y a lieu de procéder à une extraction avant la préparation et l'analyse de l'échantillon.

4 Réactifs et matériaux

Au cours de l'analyse, on utilise exclusivement des réactifs de pureté égale ou supérieure à 98 % et une eau de classe 3 au minimum, répondant à la définition de la norme ISO 3696.

Les substances de référence doivent être conservées au froid (à environ 4°C) et à l'abri de la lumière, dans des récipients en aluminium ou des flacons spéciaux pour réactifs en verre teinté (ambré). Les bouchons doivent être équipés, de préférence, d'un opercule d'étanchéité en aluminium. Le trans-anéthole doit être «décongelé» de son état cristallin avant emploi, mais il ne doit en aucun cas être soumis à des températures excédant 35°C.

4.1 Éthanol à 96% vol. (CAS 64-17-5)

4.2 1-methoxy-4- (1-propényle) benzène; (trans-anéthole) (CAS 4180-23-8)

4.3 Étalon interne proposé: 4-allylanisole, (estragole) (CAS 140-67-0)

4.4 Éthanol à 45 % vol.

Ajouter 560 g d'eau distillée à 378 g d'éthanol à 96 % vol.

4.5 Préparation des solutions étalons

Toutes les substances de référence doivent être conservées à température ambiante (15 à 35°C) et à l'abri de la lumière, dans des récipients en aluminium ou des flacons spéciaux pour réactifs en verre teinté (ambré). Les bouchons doivent être équipés, de préférence, d'un opercule d'étanchéité en aluminium.

Le trans-anéthole et le 4-allylanisole étant pratiquement non solubles dans l'eau, il est nécessaire de les dissoudre dans un peu d'éthanol à 96 % vol. (voir 4.1) avant l'addition d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4).

Les solutions mères doivent être renouvelées chaque semaine.

4.5.1 Solution étalon A

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

Solution mère de trans-anéthole (concentration: 2 g/l):

Peser 40 mg de trans-anéthole (voir 4.2) dans une fiole jaugée de 20 ml (ou 400 mg dans 200 ml, etc.). Ajouter un peu d'éthanol à 96 % vol. (voir 4.1) et porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Mélanger soigneusement.

4.5.2 Solution étalon interne B

Solution mère d'étalon interne, par exemple d'estragole (concentration: 2 g/l).

Peser 40 mg d'estragole (voir 4.3) dans une fiole jaugée de 20 ml (ou 400 mg dans 200 ml, etc.). Ajouter un peu d'éthanol à 96 % vol. (voir 4.1) et porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Mélanger soigneusement.

4.5.3 Solutions servant à contrôler la linéarité de la réponse du détecteur à ionisation de flamme

La linéarité de la réponse du détecteur à ionisation de flamme doit être contrôlée pour l'analyse d'une fourchette de concentrations de trans-anéthole dans les spiritueux de 0g/l à 2,5g/l. Lors de la procédure d'analyse, les échantillons inconnus de spiritueux à analyser sont dilués dix fois (voir 8.3). Pour les conditions de l'analyse décrites dans la présente méthode, préparer de la façon suivante des solutions mères correspondant à des concentrations de 0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 et 0,25 g/l. de trans-anéthole dans les échantillons à analyser: prélever à l'aide de pipettes 0,5 , 1, 1,5, 2 et 2,5 ml de la solution mère A (voir 4.5.1) et introduire ces prélèvements dans autant de fioles jaugées de 20 ml. Dans chacune de ces fioles, introduire à la pipette 2 ml de solution étalon interne B (voir 4.5.2) et porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Mélanger soigneusement.

On utilisera comme solution à 0 g/l. la solution à blanc (voir 8.4).

4.5.4 Solution étalon C

Introduire à la pipette 2 ml de solution étalon A (voir 4.5.1) dans une fiole jaugée de 20 ml, ajouter 2 ml de solution étalon interne B (voir 4.5.2) et porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Mélanger soigneusement.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

5 Appareillage et équipements

5.1 Chromatographe en phase gazeuse, doté d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un intégrateur ou de tout autre système d'acquisition et de gestion des données pouvant mesurer les aires de pic et équipé d'un dispositif automatique d'échantillonnage ou des appareils nécessaires pour l'injection manuelle de l'échantillon.

5.2 Injecteur de type «split/splitless»

5.3 Colonne chromatographique capillaire présentant, à titre d'exemple, les caractéristiques suivantes:

Longueur: 50 m,

Diamètre intérieur: 0,32 mm,

Épaisseur du film: 0,2 µm,

Phase stationnaire: type FFAP - polymère poreux à liaison croisée polyéthylène glycol TPA modifié,

5.4 Matériels de laboratoire d'usage courant: verrerie jaugée de précision A, balance de laboratoire (précision: $\pm 0,1$ mg).

6 Conditions opératoires de la chromatographie en phase gazeuse

Le type et les dimensions de la colonne ainsi que les conditions opératoires de la chromatographie en phase gazeuse doivent permettre une bonne séparation entre l'anéthole et l'étalon interne ainsi qu'avec tout composé susceptible d'interférer. Les conditions opératoires types pour la colonne présentée à titre d'exemple en 5.3 sont les suivantes:

6.1 gaz vecteur: hélium de qualité analytique

6.2 débit: 2 ml/mn

6.3 température de l'injecteur: 250 °C

6.4 température du détecteur: 250 °C

6.5 conditions de température du four: palier isotherme à 180° pendant 10 minutes

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

6.6 volume d'injection: 1 µl, split 1:40

7 Echantillons

Les échantillons doivent être entreposés à température ambiante, à l'abri de la lumière et du froid.

8 Mode opératoire

8.1 Recherche de la présence éventuelle d'estragole dans l'échantillon

Pour vérifier que l'échantillon ne contient pas naturellement de l'estragole, il convient de réaliser une analyse témoin sans addition d'étalon interne. S'il est avéré que l'échantillon contient naturellement de l'estragole, il y a lieu de choisir un autre étalon interne (par exemple, le menthol).

Introduire à la pipette 2 ml d'échantillon dans une fiole jaugée de 20 ml et porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Mélanger soigneusement.

8.2 Préparation des échantillons inconnus

Introduire à la pipette 2 ml d'échantillon dans une fiole jaugée de 20 ml, puis ajouter 2 ml de solution étalon interne B (voir 4.5.2) et porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Mélanger soigneusement.

8.3 Analyse témoin

Introduire à la pipette 2 ml de solution étalon interne B (voir 4.5.2) dans une fiole jaugée de 20 ml et porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Mélanger soigneusement.

8.4 Test de linéarité

Avant l'analyse, la linéarité de la réponse du détecteur à ionisation de flamme doit être vérifiée en analysant successivement en triple chacune des solutions titrées servant à contrôler la linéarité (voir 4.5.3).

À partir des aires de pic de l'intégrateur, pour chaque injection, représenter graphiquement la concentration en g/l de la solution mère correspondante en fonction du rapport R.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

R = aire de pic du trans-anéthole divisée par l'aire de pic de l'estragole.

On doit obtenir un tracé linéaire.

8.5 Détermination

Injecter la solution témoin (voir 8.3), puis la solution étalon C (voir 4.5.4), puis l'un des étalons de linéarité (voir 4.5.3) qui servira d'échantillon de contrôle de qualité (à choisir éventuellement en référence à la concentration probable de trans-anéthole dans l'échantillon inconnu), suivi de 5 échantillons inconnus (voir 8.2). Pour assurer la stabilité analytique, intercaler un échantillon de contrôle de la linéarité (contrôle de la qualité) après chaque série de cinq échantillons inconnus.

9 Calcul du facteur de réponse

Mesurer soit les aires des pics (à l'aide d'un intégrateur ou d'un autre système d'acquisition et de gestion des données) du trans-anéthole et de l'étalon interne.

9.1 Calcul du facteur de réponse (RF_i)

Le facteur de réponse est calculé de la manière suivante:

$$RF_i = (C_i / \text{aire}_i) * (\text{aire}_{is} / C_{is})$$

où:

C_i est la concentration en trans-anéthole de la solution étalon A (voir 4.5.1)

C_{is} est la concentration en étalon interne de la solution étalon B (voir 4.5.2)

aire_i est l'aire de pic du trans-anéthole

aire_{is} est l'aire de pic de l'étalon interne

Le RF_i est calculé à partir des cinq échantillons de la solution C (voir 4.5.4).

9.2 Analyse des solutions titrées servant à contrôler la linéarité de la réponse du détecteur à ionisation de flamme

Injecter les solutions de contrôle de la linéarité (voir 4.5.3).

9.3 Analyse de l'échantillon

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

Injecter la solution d'échantillon inconnu (voir 8.2)

10 Calcul des résultats

La formule à utiliser pour le calcul de la concentration de trans-anéthole est la suivante:

$$c_i = C_{is} * (aire_i/aire_{is}) * Rf_i$$

où:

c_i est la concentration inconnue de trans-anéthole

C_{is} est la concentration en étalon interne de l'échantillon inconnu (voir 4.5.2)

$aire_i$ est l'aire du pic du trans-anéthole

$aire_{is}$ est l'aire du pic de l'étalon interne

RF_i est le coefficient de réponse (calculé comme indiqué au point 9.1)

La teneur en trans-anéthole est exprimée en gramme(s) par litre, avec une décimale.

11 Assurance et contrôle de la qualité

Les chromatogrammes doivent présenter une bonne séparation entre l'anéthole et l'étalon interne ainsi qu'avec toute autre substance susceptible d'interférer. La valeur de RF_i est calculée à partir des résultats correspondant aux cinq injections de solution C (voir 4.5.4). Si le coefficient de variation ($CV\% = (\text{écart type}/\text{moyenne}) * 100$) se situe autour de 1 %, la valeur moyenne du facteur de réponse RF_i est acceptable.

L'équation ci-dessus doit être utilisée pour calculer la concentration en trans-anéthole de l'échantillon choisi pour le contrôle de qualité parmi les solutions de contrôle de la linéarité (voir 4.5.3).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

Si les résultats moyens calculés à partir de l'analyse de la solution de contrôle de la linéarité choisie comme étalon interne de contrôle de qualité se situent autour de 2,5 % de leur valeur théorique, les résultats obtenus pour les échantillons inconnus sont jugés acceptables.

12 Traitement des échantillons de spiritueux a forte teneur en sucre et des échantillons de liqueur avant analyse par chromatographie en phase gazeuse

Extraction d'alcool à partir d'une boisson spiritueuse à forte teneur en sucres, afin de déterminer sa teneur en trans-anéthole par chromatographie capillaire en phase gazeuse.

12.1 Principe

On prélève une partie aliquote de l'échantillon de liqueur, à laquelle on ajoute l'étalon interne, à une concentration similaire à celle de l'analyte (trans-anéthole) présent dans la liqueur. On ajoute ensuite du dodécahydrate de phosphate de sodium et du sulfate d'ammonium anhydre. Le mélange est alors bien remué et réfrigéré. Deux phases se séparent et la phase alcoolique supérieure est récupérée. Une partie aliquote de cette phase alcoolique est prélevée et diluée à l'aide d'une solution d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4). Il convient de noter qu'on n'ajoute pas d'étalon interne à ce stade, puisque cela a déjà été fait. La solution obtenue est prête à être analysée par chromatographie en phase gazeuse.

12.2 Réactifs et matériaux

Au cours de l'extraction, utiliser uniquement des réactifs d'une pureté supérieure à 99 %.

12.2.1 Sulfate d'ammonium anhydre (CAS 7783-20-2),

12.2.2 Dodécahydrate de phosphate de sodium dibasique (CAS 10039-32-4),

12.3 Appareillage et équipements

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

Fioles coniques, flacons séparateurs, réfrigérateur.

12.4 Mode opératoire

12.4.1 Recherche d'estragole dans l'échantillon

Pour vérifier que l'échantillon ne contient pas d'estragole d'origine naturelle, il convient d'analyser un prélèvement témoin (voir 12.6.2) sans addition d'étalon interne. S'il est avéré que l'échantillon contient naturellement de l'estragole, il y a lieu de choisir un autre étalon interne.

12.4.2 Extraction

Introduire à la pipette 5 ml d'éthanol à 96 % vol. (voir 4.1) dans une fiole conique, puis y ajouter successivement 50 mg d'étalon interne (voir 4.3) et 50 ml d'échantillon. Ajouter 12 g de sulfate d'ammonium anhydre (voir 12.2.1) et 8,6 g de dodécahydrate de phosphate de sodium dibasique (voir 12.2.2). Boucher la fiole conique.

Agiter la fiole pendant au moins 30 minutes. Il est possible d'utiliser un dispositif d'agitation mécanique, mais pas un agitateur magnétique à revêtement en téflon, car le téflon absorbe une partie de l'analyte. Noter que les sels ajoutés ne se dissoudront pas complètement.

Placer la fiole bouchée dans un réfrigérateur ($T < 5^{\circ}\text{C}$) pendant au moins deux heures.

Après cela, on devrait observer deux couches distinctes en phase liquide et un résidu solide. La couche d'alcool doit être claire; si ce n'est pas le cas, remettre la fiole au froid jusqu'à ce qu'on observe une séparation nette.

Une fois obtenue une couche d'alcool claire, en prélever avec précaution une partie aliquote (10 ml, par exemple), en ayant soin de ne pas troubler la couche aqueuse, puis la verser dans un flacon en verre ambré et reboucher soigneusement.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse

12.4.3 Préparation de l'extrait d'échantillon à analyser

Attendre que l'extrait (voir 12.4.2) soit à température ambiante.

Prélever 2 ml de la couche d'alcool de l'extrait d'échantillon à température ambiante, l'introduire à la pipette dans une fiole jaugée de 20 ml, porter au volume à l'aide d'éthanol à 45 % vol. (voir 4.4) et mélanger soigneusement.

12.5 Détermination

Suivre la procédure exposée au point 8.5.

12.6 Calcul des résultats

Utiliser la formule suivante pour calculer les résultats:

$$C_i = (m_{is} / V) * (aire_i / aire_{is}) * Rf_i$$

où:

m_{is} est la masse d'étalon interne (voir 4.3) prélevé (voir 12.4.2), exprimée en milligrammes

V est le volume de l'échantillon inconnu (50 ml)

Rf_i est le facteur de réponse (voir 9.1)

$aire_i$ est l'aire de pic du trans-anéthole

$aire_{is}$ est l'aire de pic de l'étalon interne

Les résultats sont exprimés en grammes par litre, avec une décimale.

12.7 Assurance et contrôle de la qualité

Suivre la procédure exposée ci-dessus au point 11.

13 Caractéristiques de performance de la méthode (précision)

Résultats statistiques de l'essai interlaboratoires

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Anéthole

**Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse**

Les tableaux ci-après exposent les valeurs concernant l'anéthole.

Les données présentées proviennent d'une étude internationale sur les performances de la méthode, sur des boissons spiritueuses diverses, réalisée conformément aux procédures agréées au niveau international.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Anéthole

**Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse**

Année de l'essai interlaboratoires: 1998
 Nombre de laboratoires: 16
 Nombre d'échantillons: 10
 Analyte: anéthole

Pastis

Échantillons	A	B	C	D	E	F
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	15	15	15	13	16	16
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	1	1	1	3	-	-
Nombre de résultats acceptés	30	30	30	26	16	16
Valeur moyenne g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Écart type de répétabilité (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	-	-
Écart type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	-	-
Limite de répétabilité (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	-	-
Écart type de reproductibilité (s_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Écart type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Limite de reproductibilité (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Anéthole

**Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse**

Types d'échantillons

A pastis, doubles en aveugle

B pastis, doubles en aveugle

C pastis, doubles en aveugle

D pastis, doubles en aveugle

E pastis, échantillon unique

F pastis, échantillon unique

Autres boissons spiritueuses anisées

Échantillons	G	H	I	J
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	16	14	14	14
Nombre de résultats aberrants (laboratoires)	-	2	1	1
Nombre de résultats acceptés	32	28	28	28
Valeur moyenne g/l	0,778 0,530*	1,742	0,351	0,599
Écart type de répétabilité (S_r) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Écart type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Limite de répétabilité (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Écart type de reproductibilité (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Écart type relatif de répétabilité (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Limite de reproductibilité (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Types d'échantillons

G ouzo, doubles, à deux niveaux de concentration (*)

H anis, doubles en aveugle

I liqueur anisée, doubles

J liqueur anisée, doubles

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Anéthole

**Dosage du trans-anéthole dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse**

14. Bibliographie

Commission Regulation (EC) N° 2091/2002 of 26 November 2002 amending Regulation (EC) No 2870/2000 laying down Community reference methods for the analysis of spirits drinks, *OJEC of 27 November 2002, L322/11*

P. Brereton, S. Hasnip, A. Bertrand, R. Wittkowski, C. Guillou, Analytical methods for the determination of spirit drinks, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 22, No. 1, 19-25, 2003

Méthode OIV-MA-BS-16

**Dosage des principaux composés extraits du bois lors du
vieillissement**

Méthode de type II

1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION.

La présente méthode a pour objet le dosage du furfural, du 5-(hydroxyméthyl)furfural et du 5-méthylfurfural, de la vanilline, de la syringaldéhyde, de la coniféraldéhyde et de la sinapaldéhyde, des acides gallique et ellagique, des acides vanillique, syringique et de la scopolétine par chromatographie en phase liquide à haute performance.

2. PRINCIPE.

Dosage par chromatographie liquide haute performance (HPLC), avec détection par spectrophotométrie ultra-violet à plusieurs longueurs d'ondes et par spectrofluorimétrie.

3. REACTIFS.

Les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente. Il est souhaitable d'utiliser de l'eau microfiltrée dont la résistivité est de 18.2 MΩ.

3.1 Alcool à 96 % vol.

3.2 Méthanol qualité HPLC (Solvant B).

3.3 Acide acétique dilué à 0,5 % vol. (Solvant A).

3.4 Phases mobiles : (à titre d'exemple seulement).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

Solvants A (acide acétique à 0,5 %) et solvant B (Méthanol pur) Filtrer sur membrane (porosité 0,45 µm). Dégazer en cuve à ultrasons si nécessaire.

3.5 Etalons de référence à 99 % de pureté minimale : Furfural, hydroxy-5 méthyl furfural, méthyl-5 furfural, vanilline, syringaldéhyde, coniféraldéhyde, sinapaldéhyde, acides gallique et ellagique, acides vanillique et syringique, et scopolétine.

3.6 Solution de référence : les substances étalons sont dissoutes dans une solution hydroalcoolique à 50 % vol. Les concentrations finales dans la solution de référence sont

furfural : 5 mg/1; 5-(hydroxyméthyl)furfural, : 10 mg/1; 5-méthylfurfural 2 mg/1; vanilline : 5 mg/l ; syringaldéhyde : 10 mg/1; coniféraldéhyde : 5 mg/1; sinapaldéhyde : 5 mg/1; acide gallique : 10 mg/1; acide ellagique : 10 mg/1; acide vanillique : 5 mg/1; acide syringique : 5 mg/1; scopolétine : 0,5 mg/1.

4. APPAREILLAGE.

Matériel courant de laboratoire,

4.1 Un chromatographe en phase liquide haute performance pouvant fonctionner en gradient binaire et équipé de :

4.1.1 Un détecteur spectrophotométrique permettant la mesure à une longueur d'onde à 280 et 313 nm. Il est toutefois préférable de travailler avec un détecteur à longueurs d'ondes multiples par exemple à barrettes de diodes, pour pouvoir confirmer la pureté des pics.

4.1.2 Un détecteur par spectrofluorimétrie longueur d'onde d'excitation 354 nm, longueur d'onde d'émission : 446 nm (pour le dosage fin de la scopolétine ; mais cette dernière est aussi détectable à 313 nm en spectrophotométrie).

4.1.3 Un dispositif d'injection permettant d'introduire une prise d'essai de 10 ou 20 µl. (par exemple).

4.1.4 Une colonne pour chromatographie liquide haute performance du type RP C18, de granulométrie 5 µm au maximum.

4.2 Seringues pour HPLC

4.3 Dispositif de filtration de petits volumes sur membrane.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

4.4 Intégrateur-calculateur ou enregistreur dont les performances sont compatibles avec l'ensemble de l'appareillage, en particulier il doit avoir plusieurs canaux d'acquisition.

5. MODE OPERATOIRE.

5.1 Préparation de l'injection

La solution de référence de même que la boisson spiritueuse sont filtrées, si nécessaire, sur membrane dont le diamètre des pores est de 0,45 µm au maximum.

5.2 Conditions opératoires chromatographiques : Effectuer l'analyse à température ambiante dans les conditions définies en 4.1 en utilisant les phases mobiles (3.4) avec un débit d'environ 0,6 ml par minute selon le programme suivant (donné à titre d'exemple seulement)

Temps :	0 min	50 min	70 min	90 min
solvant A (eau-acide) : 100 %	60%	100%	100%	100%
solvant B (méthanol) : 0 %	40%	0%	0%	0%

Toutefois, dans certains cas, ce gradient doit être modifié pour éviter des co-élutions.

5.3 Dosage

5.3.1 Injecter les étalons de référence séparément, puis en mélange. Adapter les conditions opératoires de telle sorte que les facteurs de résolution des pics de tous les composés soient au moins égaux à 1.

5.3.2 Injecter l'échantillon tel que préparé en 5.1 après l'avoir filtré sur membrane.

5.3.3 Mesurer la surface des pics dans la solution de référence et dans la boisson spiritueuse et calculer les concentrations.

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS.

Exprimer la concentration de chaque constituant en mg/l.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

7. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DE LA METHODE (PRECISION)

Les données suivantes ont été obtenues en 2009 à partir d'une étude internationale de performance de la méthode sur des boissons spiritueuses diverses, effectuée selon les procédures internationalement reconnues.

Légende des tableaux :

nLT	Nombre de laboratoires participants
nL	Nombre de laboratoires pour estimer les limites de fidélité
mean	Moyenne
r	limite de répétabilité
Sr	écart type de répétabilité
RSDr	écart type de répétabilité en % du niveau
R	limite de reproductibilité
SR	écart type de reproductibilité
RSDR	écart type de reproductibilité en % du niveau
PRSDR	RSDR estimé avec l'équation d'Horwitz
HoR	$\text{HorRat} = \text{RSDR} / \text{PRSDR}$

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

7.1 Acide gallique

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	16	15	1,2	0,2	0,07	6,1	1,2	0,43	36	16	2,3
Brandy	15	14	0,4	0,1	0,04	8,1	0,6	0,20	47	18	2,6
Rhum	16	16	2,0	0,2	0,06	2,9	1,7	0,62	31	14	2,1
Cognac 1	16	16	6,1	0,5	0,18	3,0	9,1	3,3	53	12	4,4
Bourbon	16	16	7,3	0,5	0,18	2,4	6,2	2,2	30	12	2,6
Cognac 2	16	16	21,8	1,7	0,60	2,8	21,7	7,7	35	10	3,5

7.2 5-(Hydroxyméthyl)furfural

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	16	14	5,0	0,2	0,09	1,7	1,1	0,39	8	13	0,6
Brandy	16	14	11,1	0,3	0,09	0,8	2,8	1,01	9	11	0,8
Rhum	16	14	9,4	0,3	0,09	1,0	1,4	0,50	5	11	0,5
Cognac 1	16	14	33,7	1,2	0,42	1,3	12,5	4,5	13	9	1,4
Bourbon	16	14	5,8	0,2	0,07	1,2	1,1	0,4	7	12	0,6
Cognac 2	16	14	17,5	0,4	0,13	0,8	4,6	1,6	9	10	0,9

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

7.3 Furfural

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	15	14	2,9	0,1	0,04	1,4	0,7	0,24	8	14	0,6
Brandy	15	12	1,2	0,2	0,05	4,5	0,5	0,18	15	16	0,9
Rhum	15	13	1,7	0,1	0,04	2,3	0,3	0,09	5	15	0,4
Cognac 1	15	14	10,6	0,5	0,18	1,7	3,8	1,4	13	11	1,1
Bourbon	15	13	15,3	0,6	0,23	1,5	1,4	0,49	3	11	0,3
Cognac 2	15	13	13,9	0,6	0,20	1,5	1,9	0,69	5	11	0,5

7.4 Acide vanillique

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	15	12	0,2	0,1	0,03	14,2	0,2	0,06	28	20	1,4
Brandy	15	11	0,2	0,1	0,04	16,5	0,1	0,05	20	20	1,0
Rhum	15	14	1,5	0,1	0,03	2,3	1,4	0,51	35	15	2,3
Cognac 1	15	14	0,8	0,3	0,10	12,6	0,7	0,2	31	17	1,9
Bourbon	15	15	2,4	0,4	0,13	5,3	3,4	1,22	51	14	3,6
Cognac 2	15	14	2,7	0,6	0,21	7,7	2,0	0,70	26	14	1,9

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

7.5 5-Méthylfurfural

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	11	11	0,1	0,0	0,01	10,7	0,1	0,03	35	24	1,5
Brandy	11	11	0,2	0,0	0,01	6,1	0,1	0,04	18	20	0,9
Rhum	11	8	0,1	0,1	0,02	13,6	0,1	0,03	22	22	1,0
Cognac 1	11	11	0,5	0,1	0,02	4,7	0,5	0,18	39	18	2,2
Bourbon	11	10	1,7	0,1	0,03	2,0	0,6	0,20	12	15	0,8
Cognac 2	11	11	0,8	0,2	0,07	10,0	0,7	0,26	35	17	2,1

7.6 Acide syringique

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	16	16	0.4	0.1	0.03	6.7	0.2	0.08	19	18	1.0
Brandy	15	15	0.2	0.1	0.02	12.6	0.1	0.05	29	21	1.4
Rhum	16	15	2.5	0.2	0.06	2.3	0.8	0.29	11	14	0.8
Cognac 1	16	15	1.4	0.4	0.13	9.0	0.7	0.26	18	15	1.2
Bourbon	16	16	3.4	0.2	0.08	2.3	1.2	0.43	13	13	0.9
Cognac 2	16	15	4.8	0.3	0.11	2.3	1.9	0.67	14	13	1.1

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

7.7 Vanilline

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	16	16	0,5	0,1	0,03	6,8	0,3	0,09	19	18	1,1
Brandy	15	15	0,2	0,1	0,02	9,6	0,2	0,06	25	20	1,2
Rhum	16	16	1,2	0,2	0,06	4,6	0,5	0,18	15	16	1,0
Cognac 1	16	16	1,2	0,3	0,11	8,9	0,8	0,27	22	16	1,4
Bourbon	16	16	3,2	0,3	0,11	3,5	1,2	0,41	13	13	0,9
Cognac 2	16	16	3,9	0,3	0,09	2,3	1,7	0,62	16	13	1,2

7.8 Syringaldéhyde

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	16	13	1,0	0,1	0,03	2,6	0,2	0,08	8	16	0,5
Brandy	15	13	0,2	0,1	0,02	8,1	0,2	0,07	33	20	1,6
Rhum	16	13	4,8	0,1	0,04	0,8	0,7	0,23	5	13	0,4
Cognac 1	16	12	3,2	0,2	0,08	2,6	0,5	0,19	6	14	0,4
Bourbon	16	14	10,5	0,3	0,10	0,9	1,1	0,39	4	11	0,3
Cognac 2	16	13	9,7	0,3	0,09	0,9	1,2	0,43	4	11	0,4

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

7.9 Scopolétine

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	10	9	0,09	0,007	0,0024	2,6	0,04	0,01	15	23	0,6
Brandy	10	8	0,04	0,002	0,0008	2,2	0,02	0,01	16	26	0,6
Rhum	10	9	0,11	0,005	0,0018	1,6	0,07	0,03	23	22	1,0
Cognac 1	10	8	0,04	0,004	0,0014	3,3	0,02	0,01	17	26	0,7
Bourbon	10	8	0,65	0,015	0,0054	0,8	0,26	0,09	15	17	0,8
Cognac 2	10	8	0,15	0,011	0,0040	2,7	0,06	0,02	15	21	0,7

7.10 Coniféraldéhyde

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	13	12	0,2	0,04	0,02	9,2	0,1	0,04	23	21	1,1
Brandy	12	12	0,2	0,04	0,02	9,8	0,1	0,04	27	21	1,3
Rhum	13	13	0,6	0,07	0,03	4,6	0,3	0,11	21	18	1,2
Cognac 1	12	12	0,8	0,09	0,03	4,3	0,5	0,18	23	17	1,4
Bourbon	13	13	4,6	0,24	0,09	1,9	1,1	0,38	8	13	0,6
Cognac 2	13	13	1,3	0,16	0,06	4,5	0,7	0,25	19	15	1,2

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

7.11 Sinapaldéhyde

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	14	14	0.3	0.06	0.02	7.5	0.2	0.09	31	19	1.6
Brandy	14	13	0.2	0.03	0.01	4.6	0.2	0.05	27	20	1.3
Rhum	14	12	0.2	0.06	0.02	11.2	0.2	0.08	46	21	2.2
Cognac 1	14	13	1.6	0.17	0.06	3.7	0.6	0.20	13	15	0.8
Bourbon	15	13	8.3	0.38	0.14	1.6	2.3	0.81	10	12	0.8
Cognac 2	14	12	0.3	0.08	0.03	11.4	0.5	0.18	73	20	3.7

7.12 Acide ellagique

	nLT	nL	Mean (mg/L)	r (mg/L)	Sr (mg/L)	RSDr (%)	R (mg/L)	SR (mg/L)	RSDR (%)	PRSDR (%)	HoR
Whisky	7	7	3,2	0,6	0,20	6,3	4,0	1,41	44	13	3,2
Brandy	7	7	1,0	0,4	0,16	16	1,2	0,42	43	16	2,7
Rhum	7	7	9,5	0,9	0,30	3,2	11	4,0	42	11	3,7
Cognac 1	7	7	13	1,1	0,41	3,2	14	5,0	39	11	3,6
Bourbon	7	7	13	2,7	0,95	7,4	14	4,9	39	11	3,5
Cognac 2	7	6	36	1,0	0,34	1,0	40	14	40	9	4,3

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Dosage des principaux composés extraits du bois lors du vieillissement

8. BIBLIOGRAPHIE

- PUECH J.M. 1986. in Les arômes des vins (Montpellier).
- Méthodes d'analyse des boissons spiritueuses d'origine viticole, 1990, BERTRAND A., F.V. O.I.V. n° 867.
- Comparaison de trois méthodes de dosages des composés phénoliques totaux dans les spiritueux, 1992, VIDAL J-P., CANTAGREL R., FAURE A., BOULESTEIX J-M., F.V. O.I.V. n° 904.
- FV 1323 (2009) - Validation de l'analyse par HPLC des composés issus de la maturation sous bois des spiritueux

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène

Méthode OIV-MA-BS-17

**Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons
spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en
phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène**

Méthode de type IV

1. Introduction

Les principaux composés α -dicarbonylés des eaux-de-vie de vin (Figure 1) sont :
glyoxal, méthylglyoxal, diacétyle et pentane-2,3-dione.

Glyoxal : $\text{OCH}-\text{CHO}$ (éthanedial)

Méthylglyoxal : $\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CHO}$ (2-oxopropanal)

Diacétyle : $\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CO}-\text{CH}_3$ (butane-2,3-dione)

Pentane-2,3-dione : $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CO}-\text{CH}_3$

Hexane-2,3-dione : $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CO}-\text{CH}_3$

Figure 1. Les principaux composés α -dicarbonylés du vin (l'hexane-2,3-dione n'est pas naturellement présente dans le vin mais elle est utilisée comme étalon interne).

Les composés dicarbonylés sont importants en raison de leur impact sensoriel.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

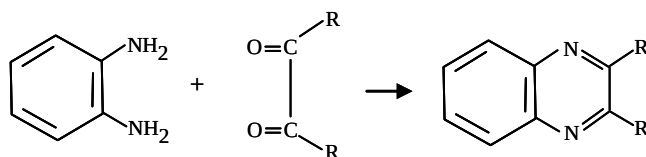
Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène

2. Domaine d'application

Cette méthode s'applique aux boissons spiritueuses d'origine vitivinicole pour des teneurs en composés carbonylés compris entre 0,05 mg/L à 20 mg/L.

3. Principe

La méthode est basée sur la formation de dérivés de type quinoxaline à partir des composés α -dicarbonylés avec le 1,2-diaminobenzène (figure 2).



1,2-Diaminobenzène Dicarbonyle Quinoxaline

Figure 2 Formation des dérivés.

La réaction a lieu dans la boisson spiritueuse diluée au quart, à pH 8 et après une durée de réaction de 3 h à 60 °C. L'analyse des dérivés est ensuite effectuée après extraction des dérivés par le dichlorométhane et analyse par chromatographie en phase gazeuse avec une détection par spectrométrie de masse (GC-MS) ou à l'aide d'un détecteur spécifique des composés azotés.

4. Réactifs et produits

4.1 Composés dicarbonylés

- 4.1.1 Glyoxal (n° cas 107-22-3) en solution à 40 %
- 4.1.2 Méthylglyoxal (n° cas 78-98-8) en solution à 40 %
- 4.1.3 Diacétyle (n° cas 431-03-8) de pureté > 99 %
- 4.1.4 Pentane-2,3-dione (n° cas 600-14-6) de pureté > 97 %
- 4.1.5 Hexane-2,3-dione (n° cas 3848-24-6) de pureté > 90 %

4.2 1,2-Diaminobenzène (n° cas 95-54-5) sous forme de poudre, de pureté > 97 %

4.3 Eau pour HPLC (selon la norme EN ISO 3696)

4.4 Ethanol (n° cas 64-17-5) pur pour HPLC

4.5 Hydroxyde de sodium (n° cas 1310-73-2) en solution 0,1M

4.6 Acide sulfurique (n° cas 7664-93-9) en solution 2M

4.7 Dichlorométhane (n° cas 75-09-2)

4.8 Sulfate de sodium anhydre (n° cas 7757-82-6)

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène

4.9 Solution hydroalcoolique à 50 % vol.

Mélanger 50 ml d'éthanol pur pour HPLC (4.4) avec 50 ml d'eau (4.3)

4.10 Solution d'étalon interne hexane-2,3-dione à 2,0 g/l

Placer 40 mg d'hexane-2,3-dione (4.2) dans un flacon de 30 ml, diluer dans 20 ml de solution hydroalcoolique à 50 % vol (4.9) agiter jusqu'à dissolution complète.

5. Appareillage

5.1 Chromatographe en phase gazeuse avec une détection par spectrométrie de masse (GC-MS) ou à l'aide d'un détecteur spécifique des composés azotés.

5.1.1 Colonne analytique capillaire polyéthylène glycol moyennement polaire (par exemple Carbowax 20M, BP21) avec les caractéristiques suivantes (à titre d'exemple) 50 m x 0,32 mm x 0,25 μ m.

5.1.2 Système d'acquisition des données

5.2 Appareil de mesure du pH

5.3 Agitateur magnétique

5.4 Balance de précision à 0,1 mg.

5.5 Four pouvant être réglé à 60 °C

5.6 Verrerie courante de laboratoire dont pipettes, flacons à vis de 30 ml et micro-seringues.

6. Préparation de l'échantillon

Diluer la boisson spiritueuse au quart dans l'eau (4.3)

7. Mode opératoire

Placer 10 ml de boisson spiritueuse diluée au quart (6) dans un flacon de 30 ml (5.6)

Amener à pH 8 sous agitation, avec de l'hydroxyde de sodium 0,1 M (4.5)

Ajouter 5 mg de 1,2-diaminobenzène (4.2)

Ajouter 10 μ l d'hexane-2,3-dione (étalon interne) à 2,0 g/l (4.10).

Fermer le flacon à l'aide d'un bouchon à vis muni d'un joint à face téflonée

Agiter jusqu'à disparition complète du réactif (5.3)

Placer dans le four à 60 °C pendant 3 h. (5.5)

Refroidir.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène

7.1 Analyse

7.1.1 Extraction des quinoxalines

- Le milieu réactionnel préparé en 7, est amené à pH 2 à l'aide de H₂SO₄ 2M (4.6) ;
- Extraire à 2 reprises par 5 ml de dichlorométhane (4.7) par agitation magnétique durant 5 minutes ;
- Décanter la phase inférieure à chaque reprise ;
- Mélanger les deux phases de solvant ;
- Sécher sur 1 g environ de sulfate de sodium anhydre (4.8) ;
- Décanter.

7.1.2 Analyse chromatographique (donnée à titre d'exemple)

- *Détection.* Pour l'analyse par GC-MS, un chromatographe en phase gazeuse Hewlett Packard HP 5890 a été couplé avec une chemstation et un spectromètre de masse HP 5970 (impact électronique 70 eV, 2,7 kV),
Remarque : Un détecteur spécifique des composés azotés peut être utilisé.
- *Colonne.* La colonne est une BP21 (SGE, 50 m x 0,32 mm x 0,25 μ m).
- *Températures.* Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement de 250 °C et 280 °C ; celle du four est maintenue à 60 °C pendant 1min, puis programmée à raison de 2 °C/min jusqu'à 220 °C et l'isotherme final dure 20 min.
- *Injection.* Le volume injecté est de 2 μ l et le temps de fermeture des vannes de l'injecteur (splitless) est de 30 s.

7.1.3 Analyse des quinoxalines formées

- *Séparation.* Le chromatogramme des dérivés par 1,2-diaminobenzène d'une boisson spiritueuse selon la méthode de sélection d'ions (SIM) est montré à la Figure 3.
- *Identification des pics.* L'utilisation de la GC-MS a permis d'identifier les composés dicarbonylés dérivés d'une eau-de-vie de vin en utilisant la méthode du courant ionique total (scan) qui permet d'obtenir les spectres de masse des dérivés quinoxalines et de les comparer à ceux en mémoire dans la bibliothèque de spectres ; par ailleurs les temps de rétention ont été comparés avec ceux de composés purs traités de la même manière. Le tableau 1 montre les ions principaux des spectres de masse des composés dicarbonylés dérivés obtenus.
- *Dosage.* La détermination quantitative des composés dicarbonylés est effectuée avec le mode SIM, en sélectionnant des ions $M/Z = 76, 77, 103, 117, 130, 144, 158$ et 171 . Les ions $M/Z = 76$ et 77 sont utilisés pour la quantification et les autres

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène

comme qualifieurs, c'est-à-dire glyoxal : ions $M/Z = 103$ et 130 , méthylglyoxal : ions $M/Z = 117$ et 144 , diacétyle : ions $M/Z = 117$ et 158 , pentan-2,3-dione : ions $M/Z = 171$ et hexane-2,3-dione : ions $M/Z = 158$ et 171 .

7.1.4 Caractéristiques de la méthode

Certains éléments de validation interne ont été déterminés mais il ne s'agit pas d'une validation formelle selon le protocole pour la planification, la conduite et l'interprétation des études de performances des méthodes d'analyse (OIV 6/2000)

- *Répétabilité*. La répétabilité de la méthode par GC-MS-SIM. montre des coefficients de variation compris entre 2 et 5 % pour les quatre composés dicarbonylés ;
- *Taux de récupération*. Les quantités ajoutées à un vin ont été récupérées avec un écart par rapport à la valeur attendue inférieur à 6% ;
- *Linéarité*. Des corrélations linéaires ont été obtenues dans des domaines de concentrations compris entre 0,05 à 20 mg/l.
- *Limite de détection*. La limite de détection de la plupart des produits dicarbonylés dérivés est de 0,05 mg/l

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène

Tableau 1. Spectres de masse (ion m/z (intensité de l'ion moléculaire relative à celle du pic de base)) des dérivés de composés dicarbonylés par le 1,2-diaminobenzène

Composé et abondance) dicarbonylé	Dérivé	Spectre de masse (principaux ions
Glyoxal (46.8), 50 (20.2)	Quinoxaline	130 (100), 103 (56.2), 76 75 (10.4), 131 (9.4)
Méthylglyoxal (40.5), 77 (23.3)	2-Méthylquinoxaline	144 (100), 117 (77.8), 76 50 (21.9), 75 (11.3), 145 (10.3)
Diacétyl (23.1)	2,3-Diméthylquinoxaline	117 (100), 158 (75.6), 76 (32.3), 77 50 (18.3), 75 (10.4)
Pentane-2,3-dione 75 (33.3),	2-Ethyl-3-méthylquinoxaline	171 (100), 172 (98), 130 (34.1), 77 (21), 50 (19.4), 144 (19), 143 (14.1), 103 (14)
Hexane-2,3-dione (13.7),	2,3-Diéthylquinoxaline	158 (100), 171 (20.1), 76 77 (12.8), 159 (11.4), 157 (10.8), 50 (8.1)

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène**

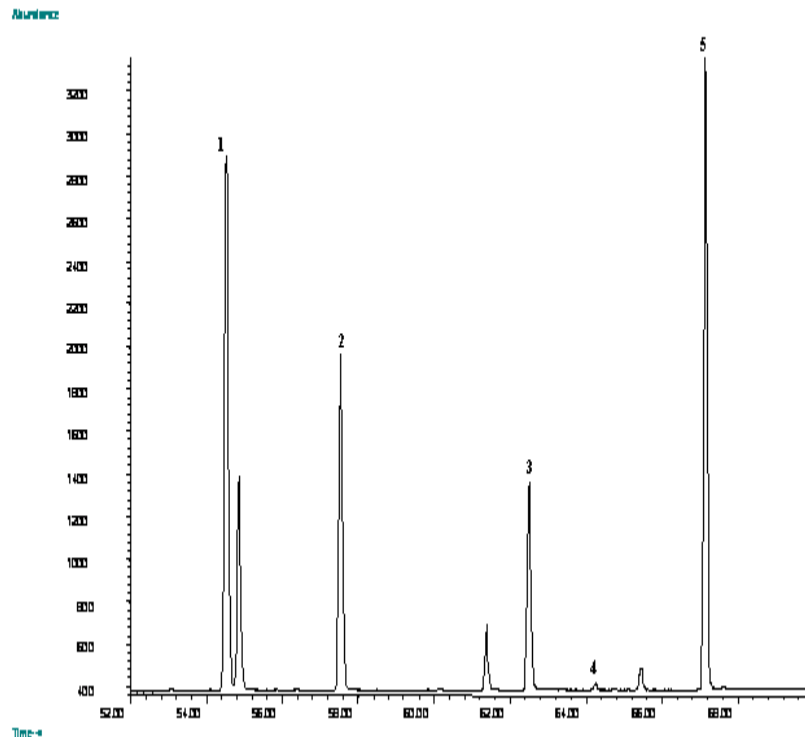


Figure 3. Chromatogramme en phase gazeuse de l'extrait des composés dicarbonylés dérivés par le 1,2-diaminobenzène d'une eau-de-vie de vin, détectés en spectrométrie de masse en choisissant les ions $m/z = 76, 77, 103, 117, 130, 131, 144, 158, 160$ et 171 . Colonne BP21, 50 m X 0,32mm 0,25 μ m. Température de four 60 °C pendant 1min, puis programmation à 2 °C/min jusqu'à 220 °C. Température de l'injecteur : 250 °C.
1. glyoxal ; 2. méthylglyoxal ; 3. diacétyle ; 4. pentane-2,3-dione ; 5. hexane-2,3-dione (étalon interne) ; 6. phénylglyoxal (non dosé par cette méthode).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène**

8. Bibliographie

Bartowski E.J. and Henschke P.A. The buttery attribute of wine – diacetyl – desirability spoilage and beyond. *Int. j. food microbial.* 96 : 235-252 (2004).

Bednarski W, Jedrychowski L, Hammond E and Nikolov L, A method for determination of α -dicarbonyl compounds. *J Dairy Sci* 72:2474-2477 (1989).

Leppanen O, Ronkainen P, Koivisto T and Denslow J, A semiautomatic method for the gas chromatographic determination of vicinal diketones in alcoholic beverages. *J Inst Brew* 85:278- 281 (1979).

Martineau B, Acree TE and Henick-Kling T, Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Res Int* 28:139-143 (1995).

Moree-Testa P and Saint-Jalm Y, Determination of α -dicarbonyl compounds in cigarette smoke. *J Chromatogr* 217:197-208 (1981).

de Revel G Pripis-Nicolau L. Barbe J.-C; and Bertrand A, The detection of α -dicarbonyl compounds in wine: by formation of quinoxaline derivatives. *J Sci. Food Agric.* 80:102-108 (2000).

de Revel G and Bertrand A, Dicarbonyl compounds and their reduction products in wine. Identification of wine aldehydes. *Proc 7th Weurman Flavour Research Symp, Zeist, June, pp 353-361* (1994).

de Revel G and Bertrand A, A method for the detection of carbonyl compounds in wine: glyoxal and methylglyoxal. *J Sci. Food Agric* 61:267-272 (1993).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
chromatographie en phase gazeuse après dérivation par le 1,2-diaminobenzène**

Voulgaropoulos A, Soilis T and Andricopoulos N, Fluorimetric determination of diacetyl in wines after condensation with 3,4-diaminoanisole. Am J Enol Vitic 42:73-75 (1991).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
HPLC après dérivation par le 1,2 diaminobenzène

Méthode OIV-MA-BS-18

**Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons
spiritueuses d'origine vitivinicole par HPLC après dérivation par
le 1,2 diaminobenzène**

Méthode de type IV

1. Introduction

Les principaux composés α -dicarbonylés des eaux-de-vie de vin (Figure 1) sont :
glyoxal, méthylglyoxal, diacétyle et pentane-2,3-dione. Glyoxal : $\text{OCH}-\text{CHO}$
(éthanedial)

Méthylglyoxal : $\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CHO}$ (2-oxopropanal)

Diacétyle : $\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CO}-\text{CH}_3$ (butane-2,3-dione)

Pentane-2,3-dione : $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CO}-\text{CH}_3$

Hexane-2,3-dione : $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CO}-\text{CH}_3$

Figure 1. Les principaux composés α -dicarbonylés des eaux-de-vie de vin
(l'hexane-2,3-dione n'est pas naturellement présente mais elle est utilisée comme
étalon interne).

Les composés dicarbonylés sont importants en raison de leur impact sensoriel.

2. Domaine d'application

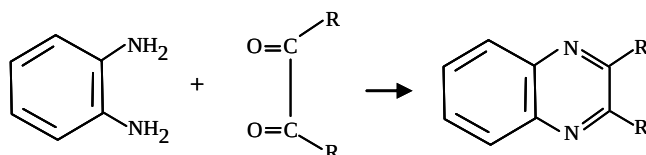
Cette méthode s'applique aux boissons spiritueuses d'origine vitivinicole pour des
composés dicarbonylés dont la teneur est comprise entre 0,05 mg/L et 20 mg/L ;

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
HPLC après dérivation par le 1,2-diaminobenzène

3. Principe

La méthode est basée sur la formation de dérivés de type quinoxaline à partir des composés α -dicarbonylés avec le 1,2-diaminobenzène (figure 2).



1,2-Diaminobenzène Dicarbonyle Quinoxaline

Figure 2 Formation des dérivés.

La réaction a lieu dans la boisson spiritueuse diluée au quart, à pH 8 et après une durée de réaction de 3 h à 60 °C. L'analyse des dérivés est ensuite effectuée directement par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et détection par absorption UV à 313 nm.

4. Réactifs et produits

4.1 Composés dicarbonylés

- 4.1.1 Glyoxal (n° cas 107-22-3) en solution à 40 %
- 4.1.2 Méthylglyoxal (n° cas 78-98-8) en solution à 40 %
- 4.1.3 Diacétyle (n° cas 431-03-8) de pureté > 99 %
- 4.1.4 Pentane-2,3-dione (n° cas 600-14-6) de pureté > 97 %
- 4.1.5 Hexane-2,3-dione (n° cas 3848-24-6) de pureté > 90 %

4.2 1,2-Diaminobenzène (n° cas 95-54-5) sous forme de poudre, de pureté > 97 %

4.3 Eau pour HPLC (selon la norme EN ISO 3696)

4.4 Ethanol (n° cas 64-17-5) pur pour HPLC

4.5 Hydroxyde de sodium (n° cas 1310-73-2) en solution 0,1M

4.6 Acide acétique (n° cas 64-19-7) pur cristallisable

4.7 Solvant A pour l'analyse par HPLC

Dans 1 l d'eau pour HPLC (4.3) rajouter 0,5 ml d'acide acétique (4.6),
mélanger, dégazer (par exemple par ultrasons)

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
HPLC après dérivation par le 1,2 diaminobenzène

4.8 Solvant B pour HPLC

Méthanol (n° cas 67-56-1) pur HPLC

4.9 Solution hydroalcoolique à 50 % vol.

Mélanger 50 ml d'éthanol pur pour HPLC (4.4) avec 50 ml d'eau (4.3)

4.10 Solution d'étalon interne hexane-2,3-dione à 2,0 g/L

Placer 40 mg d'hexane-2,3-dione (4.2) dans un flacon de 30 ml, diluer dans 20 ml de solution hydroalcoolique à 50 % vol (4.9) agiter jusqu'à dissolution complète.

5. Appareillage

5.1 Chromatographe en phase liquide à haute performance avec détection par absorption UV (313 nm) ;

5.1.1 Colonne analytique remplie de silice greffée par des radicaux octadécyle de 5 μ m dont les dimensions sont par exemple 250 mm x 4,6 mm.

5.1.2 Système d'acquisition des données.

5.2 Appareil de mesure du pH

5.3 Agitateur magnétique

5.4 Balance de précision à 0,1 mg.

5.5 Système de dégazage des solvants pour HPLC (par exemple appareil à ultrasons)

5.6 Four pouvant être réglé à 60 °C

5.7 Verrerie courante de laboratoire dont pipettes, flacons à vis de 30 ml et micro-seringues.

.

6. Préparation de l'échantillon

Diluer la boisson spiritueuse au quart dans l'eau (4.3)

7. Mode opératoire

Placer 10 ml de boisson spiritueuse diluée au quart (6) dans un flacon de 30 ml (5.7)

Amener à pH 8 sous agitation, avec de l'hydroxyde de sodium 0,1 M (4.5)

Ajouter 5 mg de 1,2-diaminobenzène (4.2)

Ajouter 10 μ l d'hexane-2,3-dione (étalon interne) à 2,0 g/l (4.10).

Fermer le flacon à l'aide d'un bouchon à vis muni d'un joint à face téflonée

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par HPLC après dérivation par le 1,2 diaminobenzène

Agiter jusqu'à disparition complète du réactif (5.3)

Placer dans le four à 60 °C pendant 3 h. (5.6)

Refroidir.

7.1 Analyse

- *Injection*. Après refroidissement, le milieu réactionnel contenant les quinoxalines est directement injecté à raison de 20 μ l dans le système HPLC

- *Programme d'élution*. Pour la séparation, un exemple de programme d'élution est présenté dans le tableau 1

Tableau 1. Exemple de programme d'élution de l'analyse par HPLC

Temps en minutes	solvant A	méthanol
0	80	20
8	50	50
26	25	75
30	0	100
32	0	100
40	100	0
45	80	20
50	80	20

Le débit étant de 0,6 ml/min

- *Détection*. Le maximum d'absorption a été étudié pour tous les composés dicarbonylés dérivés et fixé à 313 nm comme étant optimal.

- *Identification des dérivés*. L'identification des dérivés a été réalisée par comparaison des temps de rétention avec des solutions de référence étalons. Les conditions chromatographiques permettent une bonne séparation des pics dans toutes les eaux-de-vie de vins.

7.2.1 Caractéristiques de la méthode

Certains éléments de validation interne ont été déterminés mais il ne s'agit pas d'une validation formelle selon le protocole pour la planification, la conduite et l'interprétation des études de performances des méthodes d'analyse (OIV 6/2000)

- *Linéarité*. La linéarité de la méthode a été testée en utilisant des solutions standards (solution hydroalcoolique à 12 % vol. comme matrice) (Tableau 2).

L'analyse quantitative des ajouts de composés dicarbonylés a montré que la

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par HPLC après dérivation par le 1,2 diaminobenzène

méthode est linéaire pour les quatre composés avec des taux de recouvrements compris entre 92 et 117 %

Tableau 2. Étude de la linéarité et essais de récupération avec des solutions standards (eau-éthanol 12% v/v) coefficients de corrélation

Glyoxal	Méthylglyoxal	Diacétyl	Pentane-2,3-dione
valeur ^a	valeur ^a	valeur ^a	valeur ^a
surface ^b	surface ^b	surface ^b	surface ^b
R =0,992	R =0,997	R =0,999	R =0,999

- *La limite de quantification* des composés dicarbonylés est très basse, les meilleurs résultats étant obtenus avec le diacétyl dont la limite de détection est 10 fois plus faible que celle des autres composés (tableau 3).

Tableau 3. Performance de la méthode par HPLC pour la quantification des composés dicarbonylés

Limites	détection ^a	détermination ^a	quantification ^a
Glyoxal	0,015	0,020	0,028
Méthylglyoxal	0,015	0,020	0,027
Diacétyl	0,002	0,002	0,003
Pentane-2,3-dione	0,003	0,004	0,006

a : résultats en mg/L en solution hydroalcoolique (10 % vol).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Analyse des composés α -dicarbonylés des bossions spiritueuses d'origine vitivinicole par
HPLC après dérivation par le 1,2-diaminobenzene

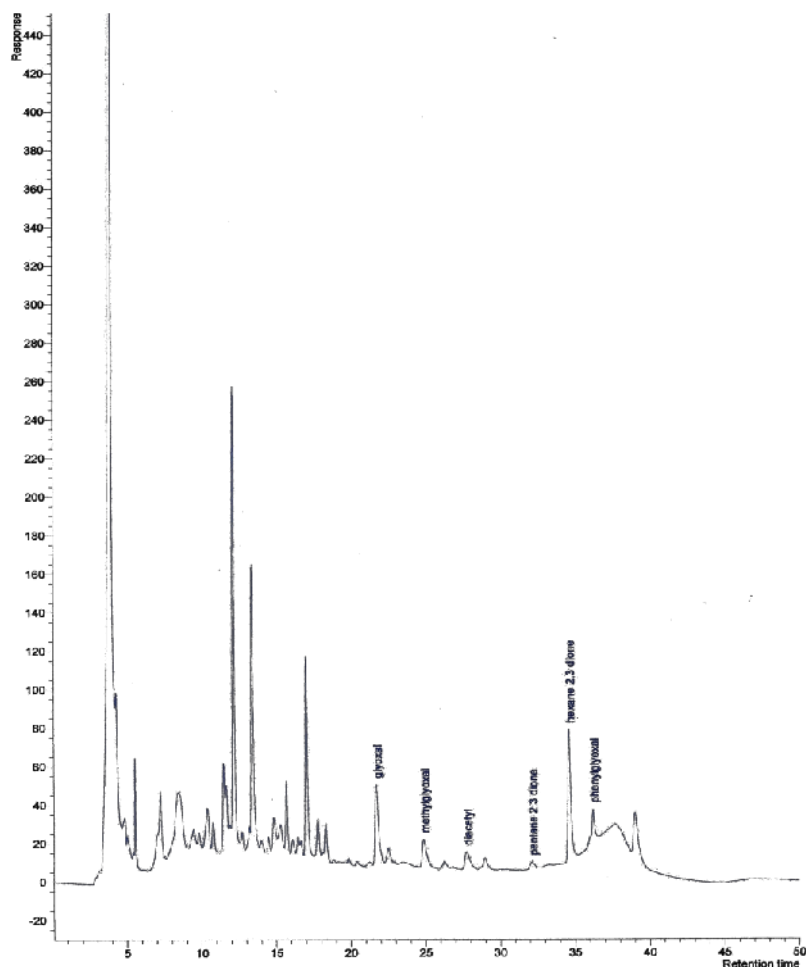


Figure 3 : Chromatogramme en phase liquide à haute performance des composés dicarbonylés dérivés par le 1,2-diaminobenzène, détectés en UV à 313 nm
Colonne Sperisorb ODS 250 mm x 4,6 mm x 5 μ m.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
HPLC après dérivation par le 1,2 diaminobenzène**

8. Bibliographie

Bartowski E.J. and Henschke P.A. The buttery attribute of wine – diacetyl – desirability spoilage and beyond. *Int. j. food microbial.* 96 : 235-252 (2004).

Bednarski W, Jedrychowski L, Hammond E and Nikolov L, A method for determination of α -dicarbonyl compounds. *J Dairy Sci* 72:2474-2477 (1989).

Leppanen O, Ronkainen P, Koivisto T and Denslow J, A semiautomatic method for the gas chromatographic determination of vicinal diketones in alcoholic beverages. *J Inst Brew* 85:278- 281 (1979).

Martineau B, Acree TE and Henick-Kling T, Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Res Int* 28:139-143 (1995).

Moree-Testa P and Saint-Jalm Y, Determination of α -dicarbonyl compounds in cigarette smoke. *J Chromatogr* 217:197-208 (1981).

de Revel G Pripis-Nicolau L. Barbe J.-C; and Bertrand A, The detection of α -dicarbonyl compounds in wine: by formation of quinoxaline derivatives. *J Sci. Food Agric.* 80:102-108 (2000).

de Revel G and Bertrand A, Dicarbonyl compounds and their reduction products in wine. Identification of wine aldehydes. *Proc 7th Weurman Flavour Research Symp, Zeist, June, pp 353-361 (1994).*

de Revel G and Bertrand A, A method for the detection of carbonyl compounds in wine: glyoxal and methylglyoxal. *J Sci. Food Agric* 61:267-272 (1993).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Analyse des composés α -dicarbonylés des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par
HPLC après dérivation par le 1,2 diaminobenzène**

Voulgaropoulos A, Soilis T and Andricopoulos N, Fluorimetric determination of diacetyl in wines after condensation with 3,4-diaminoanisole. Am J Enol Vitic 42:73-75 (1991).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination globale des composés phénoliques dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole sans addition de caramel

Méthode OIV-MA-BS-19

**Détermination globale des composés phénoliques dans les
boissons spiritueuses d'origine vitivinicole sans addition de
caramel**

Méthode de type IV

1. Définition

Le dosage de Folin Ciocalteu permet de quantifier globalement les composés phénoliques provenant du bois présents dans les spiritueux vieillis en fût qui n'ont pas reçu d'addition de caramel.

Ce dosage n'est pas spécifique des composés phénoliques (cf. principe). Le caramel réagit également avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Toutefois, dans le cas des boissons spiritueuses vieilles sous bois, la réponse est en grande majorité liée à la présence des composés phénoliques issus du bois de chêne (VIDAL et al., 1991).

La teneur en composés phénoliques Folin-Ciocalteu correspond à la réponse au test décrit ci-après. Cette réponse est exprimée en mg d'acide gallique /L par calibrage.

2. Principe

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des substances phénoliques, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination globale des composés phénoliques dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole sans addition de caramel

La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750-760 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques oxydés.

3. Appareillage

3.1 Matériel courant de laboratoire, et notamment :

- Bain thermostaté (70 °C),
- spectrophotomètre.

4. Réactifs

4.1 Réactif de Folin-Ciocalteu

Ce réactif est disponible dans le commerce prêt à l'emploi. Il peut être préparé de la façon suivant :

- 100 g de tungstate de sodium (No. CAS : 13472-45-2),
- 25 g de molybdate de sodium (No. CAS : 7631-95-0),

sont dissous dans 700 mL d'eau distillée (No. CAS : 7732-18-5). Ajouter :

- 50 mL d'acide phosphorique (No. CAS : 7664-38-2) à 85% ($\rho_{20}=1.71$ g/mL),
- 100 mL d'acide chlorhydrique (No. CAS : 7647-01-0) concentré ($\rho_{20}=1.19$ g/mL).

Porter à ébullition sous reflux pendant 10 heures, ajouter ensuite :

- 150 g de sulfate de lithium (No. CAS : 10377-48-7),
- quelques gouttes de brome (No. CAS : 7726-95-6),

et porter à nouveau à ébullition durant 15 minutes. Refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

4.2 Carbonate de sodium anhydre.

Préparer une solution à 4.25 % (m/v) dans de l'eau distillée.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination globale des composés phénoliques dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole sans addition de caramel

4.3 Acide gallique anhydre (N° CAS 149-91-7)

5. Mode opératoire

5.1 Calibrage en acide gallique

Réaliser par pesée une solution hydroalcoolique mère d'acide gallique, puis par dilution des solutions filles (au moins 2). La gamme de calibrage comprend également un blanc (solution hydroalcoolique). A titre d'exemple la gamme peut comprendre les niveaux suivants : 0, 200 et 400 mg/L. Vérifier la linéarité du calibrage.

5.2 Préparation des échantillons

L'échantillon doit être parfaitement limpide et exempt de voltigeurs.

5.3 Réaction

Dans un tube à essai introduire :

- 0.2 ml d'échantillon (ou de solution de calibrage)
- 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu,
- 18.8 ml de solution carbonate de sodium.

Après agitation, porter à environ 70°C pendant 20 minutes au bain thermostaté, puis refroidir sous un courant d'eau froide.

5.4 Mesure de l'absorbance à 760 nm.

L'absorbance à 760 nm est mesurée sous parcours optique de 1 cm.

6. Expression des résultats

Exprimer le résultat en mg d'acide gallique/L (calibrage linéaire), en tenant compte de la dilution éventuelle de l'échantillon. Si l'absorbance est supérieure à

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination globale des composés phénoliques dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole sans addition de caramel

1, une nouvelle mesure est réalisée après dilution de l'échantillon si la linéarité est garantie

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination globale des composés phénoliques dans les boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole sans addition de caramel

7. Références

BLOUIN J., LLORCA L., MONTREAU F.R., DUFOUR J.H., 1972. Etude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. Connaissance de la vigne et du vin, 6, 405-413.

VIDAL J.-P., CANTAGREL R., FAURE A., BOULESTEIX J.M., 1991. Comparaison de trois méthodes de dosage des composés phénoliques totaux dans les spiritueux. FV OIV n°904.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
PROPAN-2-OL Dosage par chromatographie en phase gazeuse**

Méthode OIV-MA-BS-20

PROPAN-2-OL Dosage par chromatographie en phase gazeuse

Méthode de type IV

INTRODUCTION

Ce dosage ne fait pas partie des déterminations officielles prévues par les règlements internationaux cependant il est assez souvent demandé car le propan-2-ol n'est pas un constituant naturel des boissons fermentées d'origine vinique. Il peut être rajouté dans l'alcool lors de sa dénaturation. La présence (ou plus précisément l'absence) de ce composé doit pouvoir être vérifiée. En outre il peut être présent dans différentes boissons spiritueuses.

1. OBJET.

Dosage du propan-2-ol dans les boissons spiritueuses d'origine vitivinicoles

2. PRINCIPE, MATERIEL.

2.1 La séparation du propan-2-ol de l'éthanol est effectuée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse.

2.2 Matériel

- Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.
- Colonne classique en acier inoxydable de 6 m de long et 2 mm de diamètre intérieur.
- Phase stationnaire : à titre d'exemple Diglycérol enrobé à raison de 5 % sur Chromosorb P 60-80 mesh (0,22 - 0,32 mm).

Il est également possible d'utiliser un mélange de phases connu sous le nom de E.S.D.: Erytritol, sorbitol, diglycérol ; 1 %, 2,5%, 5%, respectivement en poids du

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
PROPAN-2-OL Dosage par chromatographie en phase gazeuse**

support. (il peut être utilisé d'autres phases : porapak, poraplot ...)
- Gaz vecteur Azote R* (norme Air Liquide). - Température isotherme 80 °C.
Les réglages de débits des différents gaz doivent être effectués afin d'obtenir un bon fonctionnement du chromatographe.

3. PREPARATION DE L'ECHANTILLON.

Pour un test qualitatif l'échantillon de boisson spiritueuse peut être injecté directement dans le chromatographe (1 à 2 µl).
Pour un dosage précis il est possible d'utiliser un étalon interne séparé des autres alcools par exemple le pentan-1-ol
Sa teneur doit être du même ordre de grandeur que celle du propan-2-ol.

4. DOSAGE.

Selon qu'il s'agit de déceler la présence ou de doser le propan-2-ol il faut injecter une solution de référence de propan-2-ol dans l'alcool pur sa teneur sera fonction de la dose recherchée (en principe plusieurs grammes par litre)
Pour un dosage précis il sera pratiqué la méthode de l'étalonnage interne en utilisant le pentan-1-ol

5. EXPRESSION DES RESULTATS.

Les concentrations en propan-2-ol seront calculées selon la méthode traditionnelle en chromatographie en phase gazeuse avec utilisation d'un étalon interne
(C.F. substances volatiles) et exprimées en g/hl d'alcool à 100 % vol.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Test d'absorbance en lumière ultraviolette de l'alcool neutre

Méthode OIV-MA-BS-21

Test d'absorbance en lumière ultraviolette de l'alcool neutre

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION.

Cette méthode permet de déterminer la perméabilité optique de l'alcool neutre susceptible d'entrer dans la composition de certaines boissons spiritueuses.

2. PRINCIPE.

La perméabilité optique de l'échantillon dans la gamme d'ondes de 220 à 270 nm sera mesurée par rapport à une substance de référence définie et possédant une grande perméabilité optique.

3. APPAREILLAGE.

3.1 Spectrophotomètre UV-Visible.

3.2 Cuves en quartz de 10 mm d'épaisseur, de transmission spectrale identique.

4. RÉACTIFS.

Hexane pour spectroscopie.

5. MODE OPÉRATOIRE.

- Rincer préalablement des cuves propres avec une solution d'échantillon puis remplir avec l'échantillon, sécher les cuves à l'extérieur,
- traiter la cuve de référence (n) avec de l'hexane de la même manière et la remplir,
- déterminer la valeur d'extinction et construire le graphe.

6. EVALUATION DES RÉSULTATS.

Les valeurs d'extinction constatées à 270, 240, 230 et 220 nm ne doivent pas dépasser les valeurs suivantes : 0,02 ; 0,08 ; 0,18 et 0,3. La courbe d'extinction doit avoir un tracé lisse et régulier.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Test d'absorbance en lumière ultraviolette de l'alcool neutre

BIBLIOGRAPHIE

- Méthodes d'analyse de l'alcool neutre applicables dans le secteur du vin.
Règlement C.E.E. N° 1238/92 (8 mai 1992), Règlement C.E.E. N° 2009/92 (20 juillet 1992).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Méthode OIV-MA-BS-22

**Détermination par spectrométrie de masse isotopique du
rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol des boissons
spiritueuses d'origine vitivinicole**

Méthode de type II

1. CHAMP D'APPLICATION

La méthode permet la mesure du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole.

2. REFERENCES NORMATIVES

ISO 5725 : 1994 « Fidélité des méthodes d'essai- Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essai normalisée par essais interlaboratoires. »

V-PDB : Vienna-Pee-Dee Belemnite ($R_{\text{PDB}} = 0,0112372$).

Méthode OIV «Détection de l'enrichissement des moûts , des moûts concentrés, du sucre de raisin et des vins par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium (RMN-FINS): »

3. TERMES ET DEFINITIONS

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: rapport des isotopes du carbone 13 et du carbone 12 pour un échantillon donné

$\delta^{13}\text{C}$: teneur en carbone 13 (^{13}C) exprimée en parties pour mille (‰)

RMN-FINS : Fractionnement Isotopique Naturel Spécifique étudié par Résonance Magnétique Nucléaire

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

V-PDB : Vienna-Pee-Dee Belemnite. Le PDB, référence primaire pour la mesure des variations naturelles des teneurs isotopiques en carbone 13, était un carbonate de calcium provenant d'un rostre de bélemnite du Crétacé de la formation Peedee de la Caroline du sud (USA). Son rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou R_{PDB} est

$R_{\text{PDB}} = 0,0112372$. Le PDB est épuisé depuis longtemps mais est resté la référence primaire pour exprimer les variations naturelles des teneurs isotopiques en carbone 13, contre laquelle sont calibrés les matériaux de référence, disponibles à l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (IAEA) à Vienne (Autriche).

Les déterminations isotopiques des abondances naturelles en carbone 13 sont alors exprimées, par convention, par rapport au V-PDB.

m/z : rapport masse sur charge

4. PRINCIPE

Lors de la photosynthèse, l'assimilation du gaz carbonique par les végétaux s'effectue selon deux principaux types de métabolismes qui sont les métabolismes C_3 (cycle de Calvin) et C_4 (Hatch et Slack). Ces deux mécanismes de photosynthèse présentent un fractionnement isotopique différent. Ainsi, les produits issus des plantes C_4 , tel que les sucres et l'alcool dérivé par fermentation, présentent des teneurs en carbone 13 plus élevées que celles de leurs homologues provenant des plantes C_3 . La plupart des végétaux tels que la vigne et la betterave, appartiennent au groupe C_3 . La canne à sucre et le maïs appartiennent au groupe C_4 . La mesure de la teneur en carbone 13 permet donc la détection et la quantification du sucre d'origine C_4 (sucre de canne ou l'isoglucose de maïs) ajouté aux produits dérivés du raisin (moûts de raisins, vins...). Les informations combinées de la teneur en carbone 13 avec celles obtenues par RMN-FINS permettent également la quantification de l'addition de mélanges de sucres ou d'alcools d'origine des plantes C_3 et C_4 .

La teneur en carbone 13 est déterminée sur le gaz carbonique résultant de la combustion complète de l'échantillon. Les abondances des principaux isotopomères de masses 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ et $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) et 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$), résultant des différentes combinaisons possibles des isotopes ^{18}O , ^{17}O , ^{16}O , ^{13}C et

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

^{12}C , sont déterminées à partir des courants ioniques mesurés sur trois collecteurs différents d'un spectromètre de masse isotopique. Les contributions des isotopomères $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ et $^{12}\text{C}^{17}\text{O}_2$ peuvent être négligées en raison de leur très faible abondance. Le courant ionique pour $m/z = 45$ est corrigé de la contribution de $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ qui est calculée en fonction de l'intensité du courant mesuré pour $m/z = 46$ en considérant les abondances relatives de ^{18}O et ^{17}O (correction de Craig). La comparaison avec une référence calibrée contre la référence internationale V-PDB permet le calcul de la teneur en carbone 13 sur l'échelle relative $\delta^{13}\text{C}$.

5. REACTIFS

Les matériaux et les consommables dépendent de l'appareillage (6) utilisé par le laboratoire. Les systèmes généralement utilisés sont ceux fondés sur l'analyseur élémentaire. Celui ci peut être équipé pour l'introduction d'échantillons placés dans des capsules métalliques scellées, ou pour l'injection d'échantillons liquides à travers un septum au moyen d'une seringue.

Selon le type d'instrumentation utilisé, les matériaux de référence, réactifs et consommables suivants peuvent être utilisés :

- Matériaux de référence disponibles auprès de l'IAEA :

Nom	Matériel	$\delta^{13}\text{C}$ versus V-PDB (9)
- IAEA-CH-6	saccharose	-10,4 ‰
-IAEA-CH-7	polyéthylène	-31,8 ‰
- NBS22	huile	-29,7 ‰
- USGS24	graphite	-16,1 ‰

disponibles auprès de l'IRMM de Geel (B) (Institut des Matériaux et Mesures de Référence) :

Nom	Matériel	$\delta^{13}\text{C}$ versus V-PDB (9)
- CRM 656	alcool de vin	-26,93 ‰
- CRM 657	glucose	-10,75 ‰
- CRM 660	solution hydroalcoolique (TAV 12%)	-26,72 ‰

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Echantillon standard de travail ayant un rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ connu calibré contre les matériaux de référence internationaux.

La liste indicative de consommables ci-dessous est établie pour les systèmes à flux continu :

- Hélium pour analyse (CAS 07440-59-7)
- Oxygène pour analyse (CAS 07782-44-7)
- Dioxyde de carbone pour analyse, utilisé comme gaz de référence secondaire pour la teneur en carbone 13 (CAS 00124-38-9)
- Réactif d'oxydation pour le four du système de combustion comme par exemple oxyde de cuivre (II) pour analyse élémentaire (CAS 1317-38-0)
 - Desséchant pour éliminer de l'eau produite par la combustion. Par exemple anhydronne pour analyse élémentaire (perchlorate de magnésium) (CAS 10034-81-8).

Non nécessaire pour les appareillages équipés avec un système d'élimination de l'eau par cryopiéage ou au moyen d'un capillaire sélectivement perméable.

6. APPAREILLAGE ET MATERIEL

6.1. Spectromètre de masse de rapport isotopique (SMRI)

Spectromètre de masse de rapport isotopique (SMRI), permettant de déterminer la teneur relative de ^{13}C du gaz CO_2 en abondance naturelle avec une précision interne de 0,05 ‰ ou mieux exprimée en valeur relative (9). La précision interne est ici définie comme la différence entre deux mesures du même échantillon de CO_2 . Le spectromètre de masse, destiné à la mesure des rapports isotopiques, est généralement équipé d'un collecteur triple pour mesurer simultanément les intensités pour $m/z = 44, 45$ et 46 . Le spectromètre de masse de rapport isotopique doit, soit être équipé d'un système d'introduction double, pour mesurer en alternance l'échantillon inconnu et un échantillon de référence, soit utiliser un système intégré qui effectue la combustion quantitative des échantillons et sépare le dioxyde de carbone des autres produits de combustion préalablement à la mesure dans le spectromètre de masse.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

6.2. Appareillage de combustion

Appareillage de combustion capable de convertir quantitativement l'éthanol en dioxyde de carbone et d'éliminer tous les autres produits de combustion y compris l'eau sans aucun fractionnement isotopique. L'appareillage peut être, soit un système à flux continu intégré à l'instrumentation de spectrométrie de masse (6.2.1), soit un système de combustion autonome (6.2.2). L'appareillage doit permettre d'obtenir une précision au moins équivalente à celle indiquée en (11).

6.2.1. Systèmes à flux continu

Ceux-ci sont constitués soit par un analyseur élémentaire, soit par un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un système de combustion en ligne.

Pour les systèmes équipés pour l'introduction des échantillons contenus dans des capsules métalliques, le matériel de laboratoire suivant est utilisé :

- micropipette volumétrique avec cônes appropriés
- balance à 1 µg de précision ou mieux
- pince pour encapsulage
- capsules d'étain pour échantillons liquides
- capsules d'étain pour échantillons solides

Lors de l'utilisation d'un analyseur élémentaire équipé d'un injecteur pour liquides ou dans le cas d'un système de préparation par chromatographie-combustion, le matériel de laboratoire suivant est utilisé :

- seringue pour liquides
- flacons équipés d'un système de fermeture étanche et de septa inertes.

Les matériels de laboratoire indiqués dans les listes ci-dessus constituent des exemples et sont susceptibles d'être remplacés par d'autres matériels de performances équivalentes selon le type d'appareillage de combustion et de spectrométrie de masse utilisé par le laboratoire.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

6.2.2. Systèmes autonomes de préparation

Dans ce cas, les échantillons de dioxyde de carbone résultant de la combustion des échantillons à analyser et de la référence sont collectés dans des ampoules qui sont ensuite installées au double système d'entrée du spectromètre pour réaliser l'analyse isotopique. Plusieurs types d'appareillages de combustion décrits dans la littérature sont utilisables:

- Système clos de combustion rempli avec du gaz oxygène circulant
- Analyseur élémentaire avec flux d'hélium et d'oxygène
- Ampoule scellée en verre remplie avec de l'oxyde de cuivre (II) comme agent d'oxydation

7. PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR ESSAI

L'éthanol doit être extrait à partir de la boisson spiritueuse avant détermination isotopique. Cette extraction est effectuée par la distillation de la boisson comme décrit dans §3.1 de la méthode RMN-FINS pour la détermination par RMN de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole.

8. MODE OPERATOIRE

Toutes les étapes préparatoires doivent être effectuées sans aucune perte significative d'éthanol par évaporation qui changerait la composition isotopique de l'échantillon.

La description qui suit fait référence aux procédures généralement utilisées pour la combustion des échantillons d'éthanol au moyen des systèmes automatisés de combustion commerciaux. Toute autre méthode, assurant que l'échantillon d'éthanol est quantitativement converti en dioxyde de carbone sans aucune perte par évaporation d'éthanol peut convenir pour la préparation du dioxyde de carbone pour l'analyse isotopique.

Procédure expérimentale fondée sur l'utilisation d'un analyseur élémentaire :

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

a) Mise en capsule des échantillons :

- utiliser des capsules, une pince et un plateau de préparation propres
- prendre une capsule de la dimension appropriée à l'aide de la pince
- introduire le volume nécessaire de liquide dans la capsule à l'aide de la micropipette

Note: 3,84 mg d'éthanol absolu ou 4,17 mg de distillat ayant un titre alcoolique de 92% m/m sont nécessaires pour obtenir 2 mg de carbone. La quantité appropriée de distillat doit être calculée de la même manière selon la quantité de carbone nécessaire en fonction de la sensibilité de l'instrumentation de spectrométrie de masse.

- refermer la capsule à l'aide des pinces.
- chaque capsule doit être fermée de façon absolument étanche. En cas contraire, elle doit être rejetée et une nouvelle capsule doit être réparée.
- pour chaque échantillon, préparer deux capsules.
- placer les capsules à l'endroit approprié sur le plateau du passeur automatique d'échantillon de l'analyseur élémentaire. Chaque capsule doit être soigneusement identifiée par un numéro d'ordre.
- placer systématiquement des capsules contenant les références de travail au début et à la fin de la série d'échantillons.
- insérer régulièrement des échantillons de contrôle dans la série d'échantillons.

b) Contrôle et ajustement de l'instrumentation d'analyse élémentaire et de spectrométrie de masse

- ajuster la température des fours de l'analyseur élémentaire et les flux de gaz d'hélium et d'oxygène pour une combustion optimale de l'échantillon.
- vérifier l'absence de fuite dans le système d'analyse élémentaire et de spectrométrie de masse (par exemple en contrôlant le courant ionique pour $m/z = 28$ correspondant à N_2).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

- ajuster le spectromètre de masse pour mesurer les intensités des courants ioniques pour $m/z = 44, 45$ et 46 .

- vérifier le système à l'aide d'échantillons de contrôle connus avant de commencer les mesures sur les échantillons.

c) Déroulement d'une série de mesures

Les échantillons placés sur le passeur automatique d'échantillons de l'analyseur élémentaire (ou du chromatographe) sont introduits successivement. Le dioxyde de carbone de chaque combustion d'échantillon est élué vers le spectromètre de masse qui mesure les courants ioniques. L'ordinateur interfacé à l'instrumentation enregistre les intensités des courants ioniques et calcule les valeurs δ pour chaque échantillon (9).

9. CALCUL

L'objectif de la méthode est de mesurer le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol extrait à partir de la boisson spiritueuse. Le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ peut être exprimé par sa déviation par rapport à une référence de travail. La déviation isotopique carbone 13 ($\delta^{13}\text{C}$) est alors calculée sur une échelle delta pour mille par comparaison des résultats obtenus pour l'échantillon à mesurer contre ceux de la référence de travail précédemment calibrée par rapport à la référence primaire internationale (V-PDB). Les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ sont exprimées par rapport à la référence de travail selon :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{ech/ref}} \text{‰} = 1000 \times (R_{\text{ech}} - R_{\text{ref}}) / R_{\text{ref}}$$

où R_{ech} et R_{ref} sont respectivement les rapports isotopiques $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'échantillon et ceux de la référence de travail.

Les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ sont alors exprimées par rapport au V-PDB selon :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{ech/V-PDB}} \text{‰} = \delta^{13}\text{C}_{\text{ech/ref}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}} + (\delta^{13}\text{C}_{\text{ech/ref}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}}) / 1000$$

où $\delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}}$ est la déviation isotopique préalablement déterminée pour la référence de travail contre le V-PDB.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Pendant la mesure en ligne des petites dérives dues à la variation, des conditions instrumentales peuvent être observées. Dans ce cas, les $\delta^{13}\text{C}$ des échantillons doivent être corrigés en fonction de la différence de la valeur $\delta^{13}\text{C}$ de la référence de travail et sa valeur vraie, précédemment calibrée contre le V-PDB par comparaison avec l'un des matériaux de référence international. Entre deux mesures de la référence de travail, la dérive et donc la correction à appliquer aux résultats des échantillons peuvent être assumées linéaires. La référence de travail doit être mesurée en début et en fin de toute série d'échantillons. Une correction peut ensuite être calculée pour chaque échantillon au moyen d'une interpolation linéaire entre les deux valeurs des différences entre la valeur assignée à la référence de travail et les mesures de valeurs obtenues.

10. ASSURANCE QUALITE ET CONTROLE

Contrôler que la valeur ^{13}C pour la référence de travail ne diffère pas de plus de 0,5‰ de la valeur admise. En cas contraire, les réglages de l'instrumentation du spectromètre devront être contrôlés et éventuellement réajustés.

Pour chaque échantillon, vérifier que la différence de résultat entre les deux capsules mesurées successivement est inférieure à 0,3 ‰. Le résultat final pour un échantillon donné est alors la valeur moyenne des deux capsules. Si la déviation est plus élevée que 0,3‰, la mesure doit être répétée.

Un contrôle du fonctionnement correct de la mesure peut être fondé sur l'intensité du courant ionique pour $m/z = 44$ qui est proportionnel à la quantité de carbone injectée dans l'analyseur élémentaire. Dans les conditions type, l'intensité de ce courant ionique devrait être pratiquement constante pour les échantillons en analyse. Une déviation significative doit conduire à soupçonner une évaporation d'éthanol (par exemple une capsule imparfaitement scellée) ou bien une instabilité de l'analyseur élémentaire ou du spectromètre de masse.

11. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DE LA METHODE (Précision)

Une première analyse collaborative (11.1) a été réalisée sur des distillats comportant des alcools d'origine vinique, et des alcools de canne et de betterave ainsi que différents mélanges de ces trois origines. Cette étude n'ayant pas pris en

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole**

compte l'étape de distillation, des informations complémentaires provenant d'autres essais interlaboratoires réalisés sur des vins (11.2) et notamment des circuits de tests d'aptitudes (11.3) pour les mesures isotopiques ont également été considérées. Les résultats démontrent que les différents systèmes de distillation utilisés dans des conditions satisfaisantes, et en particulier ceux applicables pour les mesures RMN-FINS, n'apportent pas de variabilité significative pour les déterminations $\delta^{13}\text{C}$ de l'éthanol du vin, et il est raisonnable de supposer qu'il en sera de même pour l'éthanol des boissons spiritueuses. Les paramètres de fidélité observés pour les vins sont quasiment identiques à ceux obtenus lors de l'étude collaborative (11.1) sur les distillats.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole**

11.1. Étude collaborative sur les distillats

Année de l'essai interlaboratoires : 1996

Nombre de laboratoires : 20

Nombre d'échantillons 6 échantillons en double aveugle

Analyte : $\delta^{13}\text{C}$ de l'éthanol

Code des échantillons	Alcool d'origine vinique	Alcool de betterave	Alcool de canne
A & G	80%	10%	10%
B & C	90%	10%	0%
D & F	0%	100%	0%
E & I	90%	0%	10%
H & K	100%	0%	0%
J & L	0%	0%	100%

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Échantillons	A / G	B / C	D / F	E / I	H / K	J / L
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	19	18	17	19	19	19
Nombre de résultats acceptés	38	36	34	38	38	38
Valeur moyenne ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	-25,32	-26,75	-27,79	-25,26	-26,63	-12,54
Sr^2	0,0064	0,0077	0,0031	0,0127	0,0069	0,0041
Écart-type de répétabilité (Sr) ‰	0,08	0,09	0,06	0,11	0,08	0,06

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Limite de répétabilité r ($2,8 \times S_r$) ‰	0,22	0,25	0,16	0,32	0,23	0,18
S_R^2	0,0389	0,0309	0,0382	0,0459	0,0316	0,0584
Écart-type de reproductibilité (S_R) ‰	0,20	0,18	0,20	0,21	0,18	0,24
Limite de reproductibilité R ($2,8 \times$ S_R) ‰	0,55	0,49	0,55	0,60	0,50	0,68

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

11.2. Etude interlaboratoires sur deux vins et un alcool

Année de l'essai interlaboratoires : 1996

Nombre de laboratoires : 14 pour la distillation des vins dont 7 pour également la mesure $\delta^{13}\text{C}$ de l'éthanol des vins

8 pour la mesure $\delta^{13}\text{C}$ de l'échantillon d'alcool

Nombre d'échantillons 3 (Vin blanc TAV 9,3% vol., Vin blanc de TAV 9,6% vol. et Alcool de titre alcoométrique 93% m/m)

Analyte : $\delta^{13}\text{C}$ de l'éthanol

Échantillons	Vin rouge	Vin blanc	Alcool
Nombre de laboratoires	7	7	8
Nombre de résultats acceptés	7	7	8
Valeur moyenne ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	-26,20	-26,20	-25,08

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Variance de reproductibilité S_R^2	0,0525	0,0740	0,0962
Écart-type de reproductibilité (S_R) ‰	0,23	0,27	0,31
Limite de reproductibilité R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,64	0,76	0,87

Différents systèmes de distillation ont été utilisés par les laboratoires participants. Les déterminations isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ réalisées dans un seul laboratoire sur l'ensemble des distillats retournés par les participants ne montrent ni valeur aberrante ni valeur significativement distincte des valeurs moyennes. La variance des résultats ($S^2 = 0,0059$) est comparable aux variances de répétabilité S_r^2 de l'étude collaborative sur les distillats (11.1).

11.3. Résultats des exercices des circuits d'aptitude aux essais isotopiques

Depuis décembre 1994 des exercices d'aptitude internationaux pour les déterminations isotopiques sur les vins et alcools (distillats de TAV 96% vol.) sont organisés régulièrement. Les résultats permettent aux laboratoires participants de contrôler la qualité de leurs analyses. L'exploitation statistique des résultats permet d'apprécier la variabilité des déterminations dans des conditions de reproductibilité et donc d'estimer les paramètres de variance et de limite de reproductibilité. Les résultats obtenus pour les déterminations $\delta^{13}\text{C}$ de l'éthanol des vins et distillats sont résumés dans le tableau suivant :

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Vins					Distillats				
Date	N	SR	S2R	R	N	SR	S2R	R	
Déc. 1994	6	0,210	0,044	0,59	6	0,151	0,023	0,42	
Juin 1995	8	0,133	0,018	0,37	8	0,147	0,021	0,41	
Déc. 1995	7	0,075	0,006	0,21	8	0,115	0,013	0,32	
Mars 1996	9	0,249	0,062	0,70	11	0,278	0,077	0,78	
Juin 1996	8	0,127	0,016	0,36	8	0,189	0,036	0,53	
Sep. 1996	10	0,147	0,022	0,41	11	0,224	0,050	0,63	
Déc. 1996	10	0,330	0,109	0,92	9	0,057	0,003	0,16	
Mars 1997	10	0,069	0,005	0,19	8	0,059	0,003	0,16	
Juin 1997	11	0,280	0,079	0,78	11	0,175	0,031	0,49	
Sep 1997	12	0,237	0,056	0,66	11	0,203	0,041	0,57	
Déc. 1997	11	0,127	0,016	0,36	12	0,156	0,024	0,44	
Mars 1998	12	0,285	0,081	0,80	13	0,245	0,060	0,69	
Juin 1998	12	0,182	0,033	0,51	12	0,263	0,069	0,74	
Sep 1998	11	0,264	0,070	0,74	12	0,327	0,107	0,91	
Moyenne pondérée		0,215	0,046	0,60		0,209	0,044	0,59	

N : nombre de laboratoires participants

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

12. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Détermination par RMN de la distribution de deutérium dans l'éthanol des
boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

OIV Recueil des méthodes internationales d'analyse des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole.

Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
de l'éthanol du vin ou de celui obtenu par fermentation des moûts, des moûts
concentrés ou du sucre de raisin

OIV Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts.

Détection de l'enrichissement des moûts, des moûts concentrés, du sucre de
raisin et des vins par l'application de la résonance magnétique nucléaire du
deutérium (RMN-FINS/SNIF-NMR)

OIV Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts.

E.C. Regulation. Community analytical methods which can be applied in the wine
sector, N°.2676/90. Detecting enrichment of grape musts, concentrated grape
musts, rectified concentrated grape musts and wines by application of nuclear
magnetic resonance of deuterium (SNIF-NMR)

Official Journal of the European Communities, N°L 272, Vol 33, 64-73, 3 October
1990.

Interlaboratory study about the determination of $\delta^{13}\text{C}$ in wine ethanols

OIV FV N° 1051

Fidélité de la détermination du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol du vin

OIV FV N° 1116.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Détermination par spectrométrie de masse isotopique du rapport d'isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de
l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole

Stable carbon isotope content in ethanol of EC data bank wines from Italy, France and Germany. A. Rossmann ; H.-L. Schmidt ; F. Reniero ; G. Versini ; I. Moussa ; M.-H. Merle.

z. Lebensm. Unters. Forsch., 1996, 203, p 293-301.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

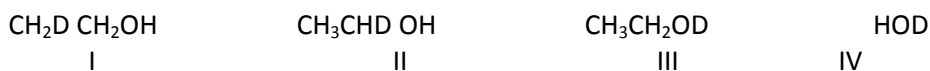
Méthode OIV-MA-BS-23

**Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol
des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par application
de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)**

Méthode de type I

1 Définition

Les atomes de deutérium contenus dans les sucres et dans l'eau d'un moût de raisin vont être redistribués après fermentation dans les molécules I, II, III et IV du vin:



L'addition de sucres exogènes (chaptalisation) avant la fermentation du moût se répercutera sur la redistribution du deutérium.

Par comparaison avec les valeurs des paramètres relatifs à un vin témoin naturel de la même région, l'enrichissement avec un sucre exogène se traduira par les variations suivantes:

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE

DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium (RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

Paramètres	(D/H) _I	(D/H) _{II}	(D/H) _W ^Q	R
Vin naturel	→	→	→	→
Vin enrichi:				
- sucre de betterave	↘	↗	↗	↗
- sucre de canne	} ↗	↗	↗	↘
- sucre de maïs.....				

(D/H)_I : rapport isotopique associé à la molécule I.

(D/H)_{II} : rapport isotopique associé à la molécule II

(D/H)_W^Q : rapport isotopique de l'eau du vin.

$R = 2 (D/H)_{II} / (D/H)_I$, exprime la distribution relative du deutérium dans les molécules I et II; R est directement mesuré à partir des intensités h des signaux et alors $R = 3h_{II} / h_I$.

(D/H)_I caractérise principalement l'espèce végétale qui a synthétisé le sucre et dans une mesure moindre la géographie du lieu de récolte (nature de l'eau utilisée au cours de la photosynthèse).

(D/H)_{II} représente la climatologie du lieu de production des raisins (nature de l'eau de pluie et conditions météorologiques) et dans une mesure moindre, la concentration en sucre du moût initial.

(D/H)_W^Q représente la climatologie du lieu de production et la richesse en sucre du moût initial. Par la suite ce paramètre ne sera plus considéré, car il n'est plus caractéristique de l'eau d'une boisson spiritueuse.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

2 Principe

La détermination des paramètres définis ci-dessus R , $(D/H)_I$ et $(D/H)_{II}$, est effectuée par RMN du deutérium sur l'éthanol extrait de la boisson spiritueuse; elle est éventuellement complétée par la détermination du rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$ de l'éthanol.

3 Préparation de l'échantillon pour l'analyse

Remarque: Tout dispositif d'extraction de l'éthanol peut être utilisé à la condition qu'il permette de récupérer entre 98 et 98,5 % de l'alcool du vin en un distillat qui titre entre 92 et 93 % mas. (95 % vol.)

3.1 Extraction de l'éthanol

3.1.1 Appareillage et réactifs

- Dispositif pour extraction de l'éthanol (fig. 1) comportant :
 - Chauffe-ballon électrique avec régulateur de tension;
 - Ballon à rodage de 1 litre,
 - Colonne Cadiot à bande tournante (mobile en téflon),
 - Fioles coniques à rodage de 125 ml,
 - Flacons à bouchon plastique de 125 et 60 ml.
- Réactifs pour le dosage de l'eau selon la technique de Karl Fischer.

3.1.2. Mode opératoire

3.1.2.1. Extraction de l'éthanol

Introduire une prise d'essai homogène de 50 à 300 ml (selon son titre alcoométrique) de boisson spiritueuse dans le ballon de l'appareil à distiller avec un taux de reflux constant voisin de 0,9. Mettre en place une fiole conique rodée de 125 ml préalablement tarée, pour recevoir le distillat. Recueillir le liquide bouillant entre 78,0 et 78,2° C, soit environ 40 à 60 ml. Quand la température dépasse 78,5° C, arrêter le prélèvement pendant 5 minutes.

Quand la température est revenue à 78° C, prélever à nouveau le distillat jusqu'à 78,5° C et répéter cette opération jusqu'à ce que la température après arrêt du prélèvement et fonctionnement en circuit fermé ne redescende plus.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

La distillation complète dure environ 5 heures. Cette façon de procéder permet de récupérer entre 98 et 98,5 % de l'alcool total la boisson spiritueuse en un distillat qui titre entre 92 et 93 % mas. (95 % vol.), titre pour lequel les conditions RMN décrites au paragraphe 4 ont été établies.

L'éthanol récupéré est pesé.

3.1.2.2. Détermination du titre alcoométrique de l'alcool extrait

Sur une prise d'essai voisine de 0,5 ml d'alcool, de masse p exactement connue, la teneur en eau est déterminée par la méthode de Karl Fischer, soit φ 'g.

Le titre massique de l'éthanol est donné par :

$$t_m^D = \frac{\rho - \rho'}{\rho} \times 100$$

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

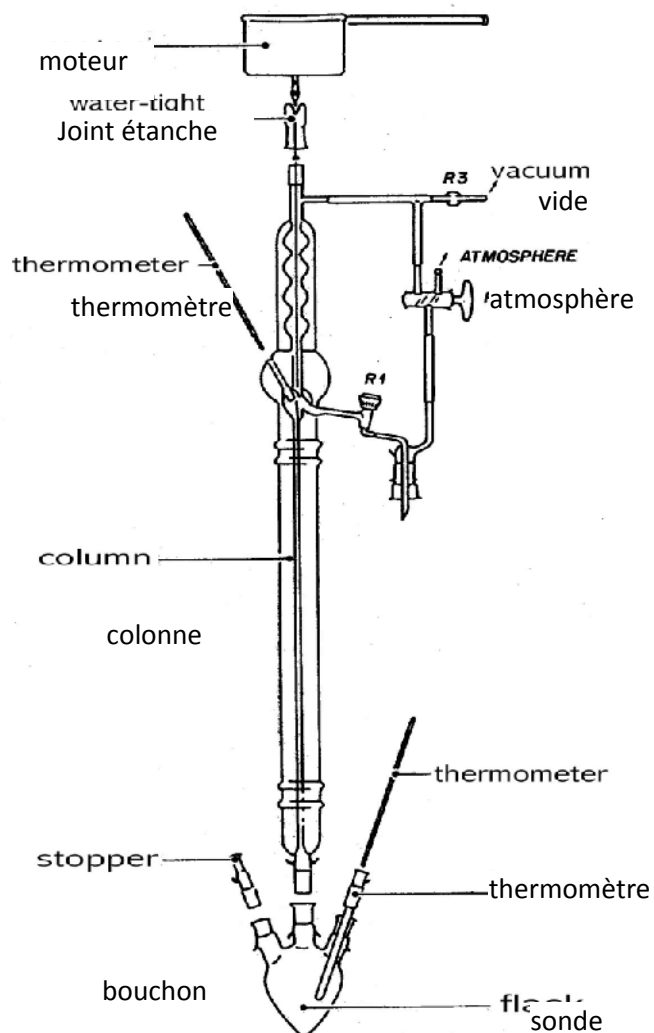


Figure 1 – Dispositif pour extraction de ballon

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

3.2. Préparation de l'échantillon d'alcool pour la mesure RMN

3.2.1. Réactifs

N,N-tétraméthylurée (TMU); utiliser un échantillon de TMU de référence de rapport isotopique D/H donné et contrôlé. Cet échantillon est fourni par le Bureau communautaire de Référence, à Bruxelles.

3.2.2. Mode opératoire

- Sonde RMN de 15 mm de diamètre:

Dans un flacon préalablement taré, prélever 7 ml d'alcool obtenu en 3.1.2 et le peser à 0,1 mg près, soit m_A ; prélever ensuite 3 ml du standard interne (TMU) et peser à 0,1 mg près, soit m_{st} . Homogénéiser le mélange par agitation.

- Sonde RMN de 10 mm de diamètre:

3,2 ml d'alcool et 1,3 ml de TMU suffisent.

Selon les types de spectromètre et de sonde utilisés (cf. paragraphe 4), ajouter une quantité suffisante d'hexafluorobenzène comme substance de stabilisation champ-fréquence (lock).

Spectromètre	Sonde	
	10 mm	15 mm
7,05 T	150 µl	200 µl
9,4 T	35 µl	50 µl

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

4. Enregistrement des spectres RMN ²H de l'alcool.

Détermination des paramètres isotopiques.

4.1. Matériel

- Spectromètre RMN muni d'une sonde spécifique «deutérium» accordée à la fréquence ν_0 caractéristique, du champ B_0 (par exemple, pour $B_0 = 7,05$ T, $\nu_0 = 46,05$ MHz et pour $B_0 = 9,4$ T, $\nu_0 = 61,4$ MHz), possédant un canal de découplage du proton B_2 et un canal de stabilisation champ-fréquence (lock) à la fréquence du fluor.

La résolution, mesurée sur le spectre, transformé sans multiplication exponentielle (c'est-à-dire $LB = 0$, fig. 2b) et exprimée par la largeur à mi-hauteur des signaux méthyle et méthylène de l'éthanol et du signal méthyle du TMU, doit être inférieure à 0,5 Hz.

La sensibilité mesurée avec un facteur de multiplication exponentielle LB égal à 2 (fig. 2a) doit être supérieure ou égale à 150 pour le signal méthyle de l'éthanol titrant 95% vol. (93,5% mas.)

Dans ces conditions, l'intervalle de confiance sur la mesure de la hauteur du signal, calculé pour une probabilité de 97,5% (test à 1 aile) et 10 répétitions du spectre, est de 0,35 %.

- Changeur automatique d'échantillons (éventuellement).
- Logiciel de traitement des données.
- Tubes échantillons de 15 mm ou de 10 mm selon les performances du spectromètre.

4.2. Réglages du spectromètre et vérifications

4.2.1. Réglages

Procéder aux réglages habituels d'homogénéité et de sensibilité selon les indications du constructeur.

4.2.2. Vérification de la validité des réglages

Utiliser des éthanols de référence, désignés par les lettres C (éthanol de canne à sucre), V (éthanol de vin) et B (éthanol de betterave), présentant une teneur

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

isotopique différente mais étalonnés avec précision. Ces échantillons sont fournis par le Bureau Communautaire de Référence à Bruxelles.

En suivant le mode opératoire décrit en 4.3, déterminer les valeurs isotopiques de ces alcools désignés en notant en indice supérieur C_{mes} , V_{mes} , B_{mes} (voir 5.3).

Les comparer aux valeurs de référence correspondantes, désignées en notant en indice supérieur C_{str} , B_{str} , V_{st} (voir 5.3).

L'écart-type de répétabilité obtenu sur la moyenne de 10 répétitions de chaque spectre doit être inférieur à 0,01 sur le rapport R et inférieur à 0,3 ppm sur $(D/H)_I$ et sur $(D/H)_{II}$.

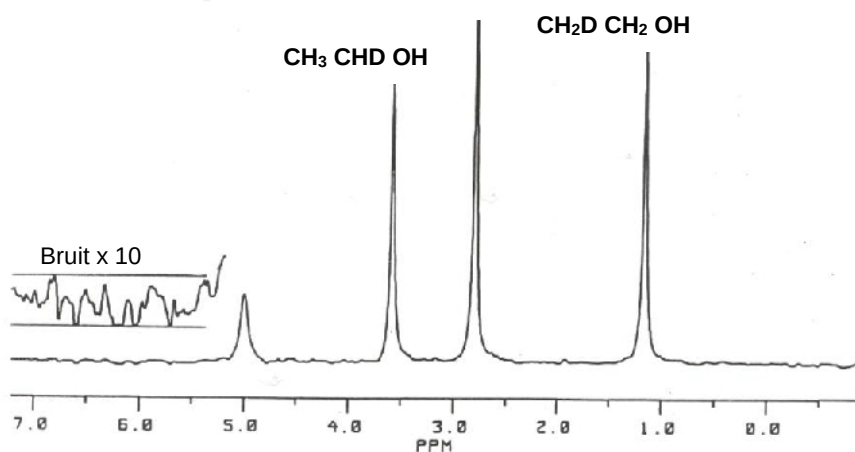


Figure 2a

Spectre RMN ²H d'un éthanol de vin avec une référence interne

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

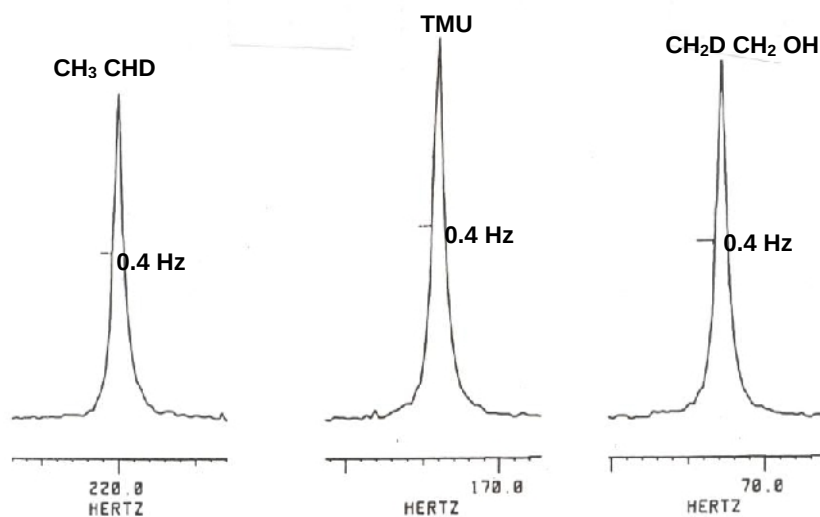


Figure 2b

Spectre ²H de l'éthanol réalisé dans les mêmes conditions que celles de la figure

Les valeurs moyennes obtenues pour les différents paramètres isotopiques [R, (D/H)_I, (D/H)_{II}] doivent se situer dans l'écart-type de répétabilité correspondant, donné, pour ces paramètres et pour les trois alcools de référence, par le Bureau Communautaire de Référence. Sinon reprendre les réglages.

4.3. Conditions d'acquisition des spectres RMN

Placer l'échantillon d'alcool préparé en 3.2 dans un tube de 15 ou de 10 mm et l'introduire dans la sonde.

Les conditions d'acquisition des spectres RMN sont les suivantes:

- La température de la sonde (par exemple 302 K) doit être constante ;
- Temps d'acquisition de 6,8 s au moins pour 1200 Hz de largeur spectrale

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

(Mémoire 16 K), c'est-à-dire environ 20 ppm à 61,4 MHz ou 27 ppm à 46,1 MHz.

- Impulsion: 90 °.
- Régler le délai à l'acquisition; sa valeur doit être du même ordre de grandeur que le temps d'échantillonnage (Dwell time).
- Détection en quadrature: fixer l'«offset» 01 entre les signaux - OD et - CHD pour l'éthanol et entre les signaux HOD et TMU pour l'eau.
- Déterminer la valeur de l'offset de découplage 02 à partir du spectre protonique mesuré par la bobine de découplage sur le même tube. Un bon découplage est obtenu quand 02 est situé au milieu de l'intervalle de fréquence existant entre les groupes CH₃– et CH₂–.

Utiliser le mode de découplage par large bande.

Effectuer pour chaque spectre, un nombre d'accumulations NS suffisant pour obtenir le rapport signal-sur-bruit donné en paragraphe 4.1 et répéter NE = 10 fois cette série de NS accumulations. Les valeurs de NS dépendent des types de spectromètre et de sonde utilisés (cf. 4) et on choisira par exemple:

Spectromètre	Sonde	
	10 mm	15 mm
7,05 T	NS = 304	NS = 200
9,4 T	NS = 200	NS = 128

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

5. Expression des résultats

5.1. Pour chacun des 10 spectres (voir spectre RMN de l'éthanol, figure 2a), déterminer:

h_{II} hauteur du signal II ($\text{CH}_3\text{CHD OH}$)

$$R = 3 \cdot \frac{h_{II}}{h_I} = 3 \times \frac{\text{hauteur du signal II}}{\text{hauteur du signal I}}$$

$$(D/H)_I = 1,5866 \cdot T_I \cdot \frac{m_{st}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$$

$$(D/H)_{II} = 2,3799 \cdot T_{II} \cdot \frac{m_{st}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$$

avec

$$\bullet T_I = \frac{\text{hauteur du signal I (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}{\text{hauteur du signal du standard interne (TMU)}}$$

$$\bullet T_{II} = \frac{\text{hauteur du signal II (CH}_3\text{CHD OH)}}{\text{hauteur du signal du standard interne (TMU)}}$$

• m_{st} et m_A , voir 3.3.2.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium (RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

- t_D , voir 3.1.2.2.
- $(D/H)_{st}$ = rapport isotopique du standard interne (TMU) indiqué sur le flacon fourni par le Bureau Communautaire de Référence

L'utilisation des hauteurs de signaux au lieu des surfaces, mesurables avec moins de précision, suppose des largeurs de raies à mi-hauteurs égales, ce qui est une approximation raisonnable (fig. 2b).

5.2. Pour chacun des paramètres isotopiques, calculer la moyenne des 10 déterminations et l'intervalle de confiance.

Un logiciel optionnel (par exemple SNIF-NMR) adaptable sur le calculateur du spectromètre permet d'effectuer ces calculs en ligne.

Remarque: Si, après le réglage du spectromètre, il y a un écart systématique entre les valeurs moyennes obtenues pour les caractéristiques isotopiques des alcools de référence (4.2.2) et les valeurs indiquées par le Bureau Communautaire de Référence, à l'écart-type près, on pourra appliquer la correction suivante pour retrouver la vraie valeur d'un échantillon X quelconque.

L'interpolation sera effectuée en prenant les valeurs des échantillons de référence qui encadrent celle de l'échantillon X.

Soit $(D/H)_I^{Xmesr}$ la valeur mesurée et $(D/H)_I^{Xconr}$ la valeur corrigée, on a:

$$(D/H)_I^{Xconr} = (D/H)_I^{Bst} + \alpha [(D/H)_I^{Xmes} - (D/H)_I^{Bmes}]$$

$$\text{avec } \alpha = \frac{(D/H)_I^{Yst} - (D/H)_I^{Bst}}{(D/H)_I^{Ymes} - (D/H)_I^{Bmes}}$$

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)**

Exemple:

Échantillons de référence fournis et étalonnés par le Bureau Communautaire de Référence:

$$(D/H)_I^{Vst} = 102,0 \text{ ppm} \qquad (D/H)_I^{Bst} = 91,95 \text{ ppm}$$

Échantillons de référence mesurés par le laboratoire:

$$(D/H)_I^{Vmes} = 102,8 \text{ ppm} \qquad (D/H)_I^{Bmes} = 93,0 \text{ ppm}$$

Échantillon examiné non corrigé:

$$(D/H)_I^{Xmes} = 100,2 \text{ ppm}$$

On calcule : $\alpha = 1,0255$ et $(D/H)_I^{Xcor} = 99,3 \text{ ppm}$

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination de la distribution de deutérium dans l'éthanol des boissons spiritueuses
d'origine vitivinicole par application de la résonance magnétique nucléaire du deutérium
(RMN-FINS/SNIF-NMR¹)

BIBLIOGRAPHIE

MARTIN G.J., MARTIN M.L., MABON F., *Anal. Chem.*, 1982, **54**, 2380-2382.

MARTIN G.J., MARTIN M.L., *J. Chim. Phys.*, 1983, **80**, 294-297.

MARTIN G.J., GUILLOU C., NAULET N., BRUN S., Tep Y., Cabanis J.C.,

CABANIS M.T., SUDRAUD P., *Sci. Alim.*, 1986, **6**, 385-405.

MARTIN G.J., ZHANG B.L., NAULET N. and MARTIN M.L., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1986,
108, 5116-5122.

MARTIN G.J., GUILLOU C., MARTIN M.L., CABANIS M.T., Tep Y. et Aerny J., *J. Agric.
Food Chem.*, 1988, **36**, 316.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination de la teneur en ^{14}C dans l'éthanol

Méthode OIV-MA-BS-24

Détermination de la teneur en ^{14}C dans l'éthanol

INTRODUCTION

De l'alcool pouvant être utilisé pour l'élaboration de certaines boissons spiritueuses il est nécessaire de pouvoir en vérifier l'origine agricole ou fossile.

1. PROCÉDURE À SUIVRE POUR DÉTERMINER LA NATURE DE L'ALCOOL.

La détermination de la teneur en ^{14}C dans l'éthanol permet de faire la distinction entre l'alcool à base de matières premières fossiles (dit alcool de synthèse) et l'alcool à base de matières premières actuelles (dit alcool de fermentation).

2. DÉFINITION.

Par teneur en ^{14}C de l'éthanol, on entend la teneur en ^{14}C déterminée par la méthode spécifiée. La teneur naturelle de l'atmosphère en ^{14}C (valeur de référence) qui est assimilée par les plantes vivantes n'est pas une valeur constante. En conséquence, la valeur de référence est déterminée à partir de l'éthanol provenant chaque fois de matières premières des dernières périodes de croissance. Cette valeur de référence, dénommée valeur annuelle de référence, est déterminée chaque année par des analyses collaboratives organisées, notamment, par le Bureau communautaire de référence et le Centre commun de recherche à Ispra.

3. PRINCIPE.

La teneur en ^{14}C est déterminée directement par comptage à scintillation liquide dans des échantillons contenant de l'alcool avec au moins 85 % (en masse) d'éthanol.

4. RÉACTIFS.

4.1 Scintillateur au toluène.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Determination de la teneur en ^{14}C dans l'éthanol

5,0 g 2,5-diphényloxazole (PPO).

0,5 g p- p-bis [4-méthyle-5-phényloxazole (2)]-benzène (diméthyle-POPOP) dans un litre de toluène pur.

Des scintillateurs au toluène de cette composition, disponibles dans le commerce, prêts à l'emploi, peuvent également être utilisés.

4.2 ^{14}C étalon.

^{14}C n-hexadécane avec une activité d'environ 1×10^6 dpm/g (environ 1,67. 10^6 cBq/g) et une précision garantie de l'activité déterminée de ± 2 % rel.

4.3 Ethanol exempt de ^{14}C . L'alcool de synthèse à base de matières premières d'origine fossile avec au moins 85 % en masse d'éthanol pour déterminer l'effet nul.

4.4 La solution de référence.; à savoir l'alcool à base de matières premières actuelles provenant chaque fois de la dernière période de croissance avec au moins 85 % en masse d'éthanol.

5. APPAREILLAGE.

5.1 Spectromètre à scintillation liquide à plusieurs canaux avec ordinateur et standardisation externe automatique et indication des conditions du canal standard externe (construction habituelle : trois canaux jaugeurs et deux canaux standards externes).

5.2 Flacons compteurs pauvres en potassium adaptés à l'appareillage, munis de bouchons filetés sombres qui présentent une protection intérieure en polyéthylène.

5.3 Pipettes volumétriques 10 ml.

5.4 Doseur automatique 10 ml.

5.5 Ballon rond rodé de 250 ml.

5.6 Appareillage de distillation de l'alcool muni d'un dôme, par exemple selon Micko.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination de la teneur en ¹⁴C dans l'éthanol

5.7 Injecteur microlitre de 50 µl.

5.8 Pycnomètres de 25 et de 50 ml. Entonnoir de pycnomètre.

5.9 Thermostat à une température constante $\pm 0,01$ °C.

5.10 Tables alcoométriques aux normes internationales.

6. MODE OPÉRATOIRE.

6.1 Réglage de l'appareillage. Le réglage de l'appareillage se fera conformément aux prescriptions du fabricant. Les conditions de mesure seront optimales lorsque la valeur E2/B dite facteur de mérite est au maximum.

E = efficiency (rendement)

B = background (bruit de fond)

Seuls deux canaux de mesures seront optimisés. Le troisième canal de mesure restera totalement ouvert pour des raisons de contrôle.

6.2 Sélection des flacons d'étalonnage. Davantage de flacons d'étalonnage que ceux requis ultérieurement seront remplis chacun de 10 ml d'éthanol de synthèse exempt de ¹⁴C et de 10 ml de scintillateur au toluène et mesurés au moins 4 x 100 minutes. Les flacons qui, avec un bruit de fond, s'écartent de plus de ± 1 % rel. de la valeur moyenne, seront écartés. Pour la sélection, seuls des flacons d'étalonnage neufs provenant d'un même lot seront utilisés.

6.3 Détermination du rapport canal standard externe (RCSE). Lors du réglage du canal effectué conformément au point 6.10, l'on déterminera en même temps, lors du calcul du coefficient d'efficacité à l'aide du programme de calcul correspondant; le rapport canal standard externe (RCSE). Pour l'état externe, il convient d'utiliser le césium 137 qui est déjà intégré solidement par le fabricant.

6.4 Préparation de l'échantillon. Pour la mesure, l'on fera appel à des échantillons qui présentent au moins une teneur en éthanol de 85 % en masse, exempts d'impureté et présentant une absorbance inférieure à 450 nm. Le faible résidu en aldéhydes et en esters n'a pas d'effet perturbateur. Après rejet des premiers ml de distillat, la distillation se fait directement dans le pycnomètre puis la teneur en

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Determination de la teneur en ^{14}C dans l'éthanol

alcool est mesurée à l'aide du pycnomètre. Les valeurs à déterminer seront prises dans les tableaux d'alcool officiels.

7. MESURE DES ÉCHANTILLONS AVEC UN STANDARD EXTERNE.

7.1 Les échantillons de faible absorbance comme ceux décrits au point 6.4 avec une valeur RCSE d'environ 1,8 peuvent être mesurés par le biais du rapport canal standard externe, qui constitue une mesure pour le coefficient d'efficacité.

7.2 Mode opératoire.

Introduire chaque fois, à l'aide d'une pipette, dans un flacon compteur contrôlé (sélectionné) pour le bruit de fond, 10 ml de l'échantillon préparé conformément au point 6.40 puis ajouter chaque fois 10 ml de scintillateur au toluène à l'aide d'un doseur automatique. Les échantillons sont homogénéisés dans le flacon d'étalonnage par des rotations en veillant à ce que le liquide ne mouille pas la protection intérieure en polyéthylène du bouchon fileté. Pour déterminer le bruit de fond, on préparera de la même manière un flacon d'étalonnage avec de l'éthanol fossile exempt de ^{14}C . Pour vérifier la valeur annuelle de ^{14}C , on préparera un double d'éthanol actuel provenant de la dernière période de croissance en mélangeant un flacon compteur avec un standard interne conformément au point 8.

Les échantillons de contrôle ainsi que les échantillons pour bruit de fond seront placés au début de la série de mesures. La série de mesures ne doit pas comprendre plus de 10 échantillons d'analyse. La durée totale des mesures par échantillon est de 2×100 minutes au minimum, les mesures des échantillons individuels étant effectuées par étape partielle de 100 minutes chacune afin de pouvoir identifier une éventuelle dérive ou autre perturbation. (Un cycle comprend ainsi chaque fois, par échantillon, un intervalle de 100 minutes). Les échantillons pour bruit de fond ou les échantillons de contrôle doivent être renouvelés après 4 semaines.

Cette procédure de mesure ne requiert que peu de matériel et de temps. Elle convient aux laboratoires expérimentés traitant un grand nombre d'échantillons. Pour les échantillons à faible absorbance (rapport canal standard externe d'environ 1,8) le rendement n'est que peu influencé par la modification de cette valeur. Lorsque cette modification ne dépasse pas $\pm 5\%$ rel., le calcul peut se faire avec le même rendement. Pour les échantillons à plus forte absorbance comme par exemple pour les alcools dénaturés, le rendement peut être calculé par la

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Determination de la teneur en ^{14}C dans l'éthanol

courbe dite de correction d'absorbance. Si l'on ne dispose pas d'un programme de calcul approprié, il faudra mesurer avec un standard interne ce qui déterminera clairement le rendement.

8. MESURES DES ÉCHANTILLONS AVEC UN STANDARD INTERNE HEXADÉCANE ^{14}C .

8.1 Mode opératoire.

Les échantillons de contrôle et les échantillons pour bruit de fond (éthanol actuel et fossile) ainsi que le matériel inconnu seront chacun mesurés en double. Un échantillon du double sera préparé dans un flacon non sélectionné auquel on aura ajouté une quantité bien dosée (30 μl) d'hexadécane ^{14}C comme standard interne (activité supplémentaire environ 26269 dpm/g C (environ 43,782 cBq/gC). Pour la préparation des autres échantillons et temps de mesures, il convient de procéder comme indiqué au point 7.20, les échantillons avec un standard interne ayant un temps de mesure limité à environ 5 minutes par un préréglage de 105 impulsions. Par série de mesures (10 échantillons), on préparera chaque fois un double pour les échantillons de contrôle et de bruit de fond qui seront placés au début de la série d'analyse.

8.2 Utilisation du standard interne et des flacons d'étalonnage.

Pour les mesures avec un standard interne, il faudra, pour éviter les contaminations, que le stockage et la manipulation de ces standards se fassent en un autre lieu que la préparation et la mesure des échantillons d'analyse. Après la mesure, les flacons pour bruit de fond contrôlés pourront être réutilisés. Les bouchons filetés et les flacons contenant les standards internes seront jetés.

9. EVALUATION.

9.1 L'unité de l'activité d'une substance radioactive est le Becquerel. 1 Bq = 1 désintégration/sec.

L'indication de la radioactivité spécifique se fait en Becquerel par rapport à 1 gramme de carbone = Bq/gC.

Afin d'obtenir des valeurs proches de la réalité, il est préférable d'indiquer le résultat en cit-Becquerel : cBq/gC.

Les désignations et les formules de calcul indiquées jusqu'ici dans les publications et qui sont basées sur les données dpm, peuvent être conservées pour l'instant.

Afin d'obtenir la valeur correspondante en centiBecquerel, il suffit de multiplier le

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Determination de la teneur en ^{14}C dans l'éthanol

résultat dpm avec le facteur 100/60.

9.2 Evaluation avec un standard externe

$(\text{cpm}_{\text{pr}} - \text{cpm}_{\text{Ng}}) \cdot 1,918 \cdot 100 \text{ cBq/g C} = \text{V} \cdot \text{F} \cdot \text{Z} \cdot 60$

9.3 Evaluation avec un standard interne

$(\text{cpm}_{\text{pr}} - \text{cpm}_{\text{Ng}}) \cdot \text{dpm}_{\text{is}} \cdot 1,918 \cdot 100 \text{ cBq/g C} = (\text{cpm}_{\text{is}} - \text{cpm}_{\text{pr}}) \cdot \text{V} \cdot \text{F} \cdot 60$

9.4 Abréviations

cpm_{pr} = moyenne du taux de comptage des échantillons calculée pendant toute la durée des mesures.

cpm_{Ng} = moyenne du taux de comptage du bruit de fond calculée de la même manière.

cpm_{is} = taux de comptage des échantillons, pourvu d'un standard interne.

dpm_{is} = quantité de standard interne ajouté (radioactivité étalonnée dpm).

V = volume des échantillons utilisés en ml.

F = teneur en gramme d'alcool pur par ml selon sa concentration. Z = coefficient d'efficacité selon la valeur du rapport canal standard externe.

1,918 = gramme d'alcool pour 1 g de carbone.

10. FIABILITÉ DE LA MÉTHODE.

10.1 Répétabilité (r).

$r = 0,632 \text{ cBq/g C} ; S(r) = \pm 0,223 \text{ cBq/gC}$

10.2 Reproductibilité (R).

$R = 0,821 \text{ cBq/g C} ; S(R) = \pm 0,290 \text{ cBq/gC}$.

BIBLIOGRAPHIE

- Méthodes d'analyse de l'alcool neutre applicables dans le secteur du vin.

Règlement C.E.E. N° 1238/92 (8 mai 1992), Règlement C.E.E. N° 2009/92 (20 juillet 1992).

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination du carbamate d'éthyle

Méthode OIV-MA-BS-25

Détermination du carbamate d'éthyle

Méthode de type IV

1. PRINCIPE.

Le dosage est effectué par injection directe de la boisson spiritueuse dans un chromatographe couplé à un spectromètre de masse fonctionnant sous le principe de l'impact électronique, en mode d'acquisition "Selected Ion Monitoring (SIM).

2. CHROMATOGRAPHIE.

- Colonne capillaire type Carbowax 20 M (50 m x 0,22 mm) épaisseur du film 0,2 µm.

- Programmation de température de 60 à 200 °C, 3 °C par minute.

- Méthode d'acquisition du spectromètre de masse : Selected Ion monitoring (SIM) ; MZ = 62, 74, 84.

Les chromatogrammes sont retraités avec le seul ion M/Z = 62. Les autres ions permettent de confirmer la pureté des pics en prenant en compte le rapport de leurs intensités respectives.

Remarque : Certains détecteurs N.P. ou de Hall, peuvent être utilisés.

3. PREPARATION DE L'ECHANTILLON.

3.1 Etalon Interne.

Il s'agit du carbamate de propyle (référence ICN, K & K laboratories 217188) à 100 mg/L en solution hydroalcoolique à 50 % vol. (Vérifier que l'alcool utilisé est exempt de carbamate d'éthyle).

3.2 Ajout de l'étalon interne

A 5 ml de boisson spiritueuse rajouter 50 µL de la solution de Carbamate de

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination du carbamate d'éthyle

propyle à 100 mg/L ce qui l'amène à 1 mg/1 dans l'échantillon.

Remarque : cette quantité finale de l'étalon interne dans l'échantillon peut être modulée en fonction de la teneur en carbamate d'éthyle dans le milieu à analyser.

3.3 Dans le cas de boissons spiritueuses sucrées (plus de 10 g/L), après avoir ajouté l'étalon interne il est souhaitable d'effectuer une extraction du carbamate d'éthyle ; à titre d'exemple, on peut utiliser la méthode (1) qui consiste à extraire le carbamate d'éthyle par l'éther après avoir saturé le milieu par un excès de sulfate de sodium destiné à fixer l'eau ou par la méthode (2) qui procède par fixation des carbamates (éthyle et étalon interne) sur un polymère poreux (type extrelut) suivi d'une élution par le dichlorométhane.

4. PREPARATION DE LA SOLUTION DE REFERENCE.

- Selon la boisson spiritueuse à analyser préparer une solution de carbamate d'éthyle à 50 µg/L ou 400 µg/L ou plus si nécessaire.
- 5 ml de la solution de référence sont additionnés par 50 µL de la solution étalon interne (carbamate de propyle à 100 mg/L).
- L'injection de la solution se fait selon le mode Splitless (fermeture des vannes durant 20 à 30 secondes) de 2 µL des solutions ainsi préparées dans le chromatographe convenablement réglé.

5. EXPRESSION DES RESULTATS.

Le carbamate d'éthyle s'exprime en µg/L de boisson spiritueuse.

BIBLIOGRAPHIE

- Dosage du Carbamate d'éthyle dans les vins et eaux de vie, 1988, BERTRAND A. et BARROS P.; connaissance Vigne Vin 22 (1) 39-47.
- Method for the analysis of ethyl carbamate in alcoholic beverages by capillary gas chromatography, 1986, DENNIS M.J. HOWARTH N. MASSEY R.C. PARKER I. SCOTTER M. ET STARTIN J.R. J.AOAC, 369 193.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Mesure de l'intensité colorante

Méthode OIV-MA-BS-26

Mesure de l'intensité colorante

Méthode de type IV

1. PRINCIPE.

L'intensité colorante est déterminée par la mesure de l'absorbance à 445 nm pour un parcours optique de 1 cm d'épaisseur (pour les boissons spiritueuses traditionnelles).

2. APPAREILLAGE.

- Spectrophotomètre permettant d'effectuer des mesures à différentes longueurs d'ondes.
- Cuves en verre de 1 cm et de 0,2 cm de trajet optique.

3. MODE OPERATOIRE.

3.1 Boisson spiritueuse de couleur naturelle "jaune d'or". Mesurer l'absorbance sur la longueur d'onde 445 nm de la boisson spiritueuse placée dans une cuve de verre de 1 cm de trajet optique en réglant le zéro de l'échelle des absorbances par rapport à l'eau distillée.

Remarques.

- Il est possible de mesurer l'absorbance à n'importe quelle longueur d'onde pour les boissons spiritueuses vieilles naturellement sous bois et/ou supplémentées par du caramel et/ou supplémentées par des "boisés" car dans tous les cas les courbes d'absorption sont continues, sans présenter le moindre maximum, ni même un changement de pente significatif.
- En tenant compte du maximum perçu par la vision humaine il serait souhaitable d'effectuer la mesure à 530 nm.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Mesure de l'intensité colorante

- la nuance ou l'écart de nuance entre deux boissons spiritueuses peut s'exprimer, dans certains cas, par une mesure d'absorbance à 620 nm.
- théoriquement il ne faut pas filtrer l'échantillon s'il s'agit d'un produit directement destiné à la consommation, toutefois il convient de s'assurer que la prise d'essai est exempte de particules qui ne sont pas à priori contenues dans la boisson spiritueuse, en particulier celles venant du bouchage.

3.2 Boisson spiritueuse contenant des colorants de synthèse. Dans un premier temps il convient de mesurer le maximum d'absorption puis d'effectuer la mesure à la longueur d'onde correspondant au maximum choisi, éventuellement en utilisant une cuve de 0,2 cm.

4. EXPRESSION DES RESULTATS.

Exprimer l'intensité colorante par l'absorbance mesurée dans les conditions ci-dessus, en donnant la dimension de la cuve du colorimètre et la longueur d'onde choisie.

BIBLIOGRAPHIE

- Méthodes d'analyse des boissons spiritueuses d'origine viticole, 1990, BERTRAND A., F.V. O.J.V. n° 867.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Détermination des caractéristiques chromatiques

Méthode OIV-MA-BS-27

Détermination des caractéristiques chromatiques

Méthode de type IV

1. DEFINITIONS.

On appelle caractéristiques chromatiques d'une boisson spiritueuse, sa luminosité et sa chromaticité. La luminosité correspond à la transmittance qui varie en raison inverse de l'intensité colorante. La chromaticité correspond à la longueur d'onde dominante (nuance) et à la pureté.

Des composantes monochromatiques fictives dites X, Y, Z, ont été définies par la Commission Internationale de l'Eclairage en 1931 (C.I.E.). Donc chaque couleur est définie par ses coordonnées X, Y, Z dans un système de trois axes (encore appelées composantes trichromatiques) faisant entre eux un angle égal.

Les coordonnées trichromatiques d'un quelconque stimulus de couleur s'obtiennent à partir du rapport d'une des composantes à la somme des trois ainsi $x = X/(X+Y+Z)$ de même $y = Y/(X+Y+Z)$, ...

Il est donc possible de réduire la configuration spaciale de la couleur à une présentation plane.

Il manque, pour définir complètement la couleur, une notion d'intensité ; or la valeur Y est directement proportionnelle à l'intensité visuelle perçue par l'œil humain.

La couleur d'une solution est donc parfaitement définie par x, y, et Y (CIE 1931)

Toutefois, cet espace n'est pas homogène et il est très difficile de faire la corrélation entre un écart chromatique et un écart visuel.

Cette technique n'étant finalement pas utilisée, les mathématiciens ont cherché à définir un nouvel espace qui soit plus homogène appelé L^* ,

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des caractéristiques chromatiques

L (clarté psychométrique) est défini à partir de Y ; u et v découlant de X, Y et Z ainsi que de X_n , Y_n , et Z_n couleur de surface choisie comme stimulus blanc nominal sous l'illuminant utilisé pour la mesure. (CIE 1976).

Les travaux d'Adams-Nickerson permettent la définition d'un nouvel espace appelé L^* , a^* , b^* à partir des mêmes composantes trichromatiques X, X_n , Y, ... Il est représenté par une sphère (fig. 2) matérialisée par trois axes L qui varie de 0 pour le blanc à 100 pour le noir, a^* (-a = vert, +a = rouge) et b^* (-b = bleu, +b =jaune).

La clarté est définie par la valeur de L,

La pureté ou chroma ou saturation est la valeur $C = (a^2 + b^2)^{1/2}$

L'angle de teinte, $h = \tan^{-1} (b/a)$.

Fig.2 Représentation de la couleur dans l'espace L^* , a^* , b^* .

La différence entre deux couleurs est mesurée par la relation (écart chromatique total)

$$AE = [(AL)^2 + (Aa)^2 + (Ab)^2]^{1/2} = [(AL)^2 + (AC)^2 + (Ah)^2]^{1/2}$$

$$\text{l'écart de "chroma" } AC = [(C1)^2 + (C2)^2]^{1/2}$$

$$\text{l'écart de clarté } AL = [(L1)^2 + (L2)^2]^{1/2}$$

$$\text{la différence de teinte } Ah = [(AE)^2 - (AL)^2 - (AC)^2]^{1/2}$$

Les Illuminants. Du fait, notamment, de l'observation des couleurs de surface (introduite dans la mesure de X_n , Y_n et Z_n) il était nécessaire de connaître la répartition spectrale de l'éclairage utilisé. L'illuminant actuellement le plus couramment utilisé est l'illuminant D 65 (Lumière du jour de couleur voisine de 6504 °K). Des répartitions spectrales voisines de cet illuminant théorique sont obtenues avec des lampes au tungstène ou arc Xénon.

Mesures en transmission. Il est possible de travailler avec un angle d'illumination et un angle d'observation mais, en fait, il est souhaitable de travailler dans les conditions les plus facilement normalisables, à savoir illumination à 0° et observation à 0° (ou 180°), observation du côté opposé à celui qui est éclairé et dans le prolongement de l'axe du faisceau d'éclairage. (moins de 5° d'écart) ce type de mesure est appelé "0/0".

2. MESURE DE LA COULEUR.

2.1 Choix d'un illuminant. Il est actuellement conseillé de choisir l'illuminant D65

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des caractéristiques chromatiques

bien que l'illuminant C conduise à des résultats très voisins.

2.2 Calcul des composantes trichromatiques X, Y, Z. Ces composantes trichromatiques d'un stimulus de couleur peuvent être déterminées à partir de la sommation de valeurs calculées pour une longueur d'onde allant de 380 à 770 nm (au minimum) et avec une mesure au moins tous les 5 nm (dans quelques cas, une mesure tous les 20 nm peut être acceptable).

Se référer au Recueil des méthodes internationales d'analyses de l'OIV :
Détermination des caractéristiques chromatiques selon CIE Lab. *Résolution* Oeno 1/2006

2.3 Effectuer la calibration de l'appareil en utilisant une cuve appropriée au spectrophotomètre ou colorimètre utilisé. La dimension de cette cuve est fonction de l'intensité colorante de la boisson spiritueuse (en principe 10 mm, exceptionnellement 1 mm ou au contraire 20 mm). Les calculs sont effectués à partir des valeurs de transmittance pour un trajet optique de 10 mm, lorsque d'autres trajets optiques sont utilisés il faut mesurer l'absorbance et la ramener à un parcours optique de 10 mm pour calculer ensuite la transmittance.

2.4 Effectuer la mesure sur la boisson spiritueuse.

Théoriquement il ne faut pas filtrer l'échantillon s'il s'agit d'un produit directement destiné à la consommation, car une certaine opacité peut être recherchée et s'exprime directement par L ; toutefois il convient de s'assurer que la prise d'essai est exempte de particules qui ne sont pas à priori contenues dans la boisson spiritueuse, en particulier celles venant du bouchage. Effectuer la mesure. Noter les résultats.

2.5 Effectuer des comparaisons de couleur.

Éventuellement, si l'appareil utilisé le permet, effectuer des comparaisons de couleur, par exemple par rapport à un étalon de référence choisi et ainsi, déterminer directement

l'écart de pureté AC

l'écart de clarté AL

la différence de teinte Ah

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Détermination des caractéristiques chromatiques

3. EXPRESSION DES RÉSULTATS.

- la référence de l'illuminant A, C, ou D65
- le trajet optique sous lequel s'effectue la mesure, - la luminosité L^* .
- les valeurs de a^* et b^* ,
- la pureté ou saturation C, - l'angle de teinte h.

Pour les mesures comparatives, noter

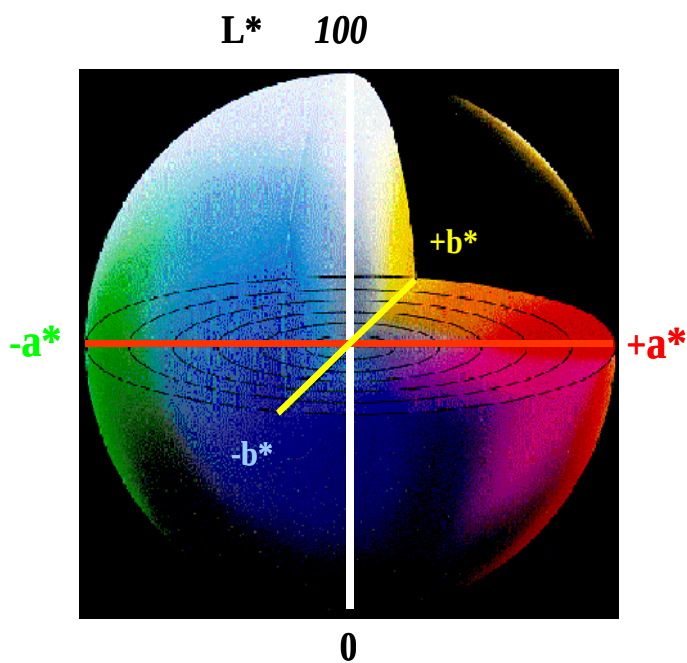
- l'écart de pureté AC
- l'écart de clarté AL
- la différence de teinte Ah

BIBLIOGRAPHIE

- DORET Y. La colorimétrie, principes et applications Eyrolles ed. - Minolta CT-210 doc. Minolta.
- TROUVÉ A. La mesure de la couleur Principes, technique et produits du marché AFNOR CETIM ed.
- Détermination des caractéristiques chromatiques des boissons spiritueuses, 1984, SAUCADO A., ESCOLAR D., HARO Ma R., GOMEZ J. et ALVAREZ J. A., F.V. O.1.V. 981.
- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE, 1976)
- Recueil des méthodes internationales d'analyses de l'OIV : Détermination des caractéristiques chromatiques selon CIELab. *Résolution* Oeno 1/2006.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE
Détermination des caractéristiques chromatiques

Figure 1 Représentation des différents paramètres de la couleur



**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Mesure de la turbidité par néphélométrie

Méthode OIV-MA-BS-28

Mesure de la turbidité par néphélométrie

Méthode de type IV

1. OBJET.

Le présent document a pour objet de décrire une méthode optique permettant de déterminer l'indice de turbidité (ou indice de diffusion) d'un alcool ou d'une boisson spiritueuse.

2. DOMAINE D'APPLICATION.

La méthode décrite est applicable aux alcools et boissons spiritueuses ayant une grande pureté optique ou faiblement chargés en matières suspensoïdes. Son application présente moins d'intérêt pour les produits chargés (très troubles).

3. PRINCIPE.

La turbidité est un effet optique.

L'indice de diffusion est une propriété intrinsèque des liquides permettant de caractériser leur aspect optique.

Cet effet optique est provoqué par la présence de particules très fines réparties dans un milieu de dispersion liquide ; l'indice de réfraction de ces particules diffère de celui du milieu de dispersion.

Si l'on éclaire de l'eau optiquement propre renfermée dans un volume connu et si l'on mesure le flux lumineux diffusé par rapport au faisceau incident, la valeur notée de ce flux diffusé caractérise la diffusion moléculaire de l'eau.

Si la valeur obtenue avec l'eau étudiée est supérieure à celle correspondant à la diffusion moléculaire qui est constante pour une même longueur d'onde, un

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Mesure de la turbidité par néphélométrie

même flux incident sous un même angle de mesure, une même géométrie de cuve et une température donnée, la différence est imputable à la lumière diffusée par les particules solides, liquides ou gazeuses en suspension dans l'eau. La mesure du flux lumineux diffusé, effectuée comme indiqué, constitue une mesure néphélométrique .

4. DEFINITION.

4.1 Unité d'expression de l'indice de turbidité

L'unité de turbidité utilisée est le

N T U - NEPHELOMETRIC TURBIDITY UNIT

(unité de turbidité néphélométrique)

qui correspond à la mesure de la lumière diffusée par une suspension étalon de formazine, d'une valeur de 1 NTU, sous un angle de : 90° par rapport à la direction du faisceau incident.

4.2 Préparation de la suspension étalon de formazine.

4.2.1 Eau, pour la préparation de solutions témoins.

Tremper une membrane filtrante de grosseur de pore 0,1 μm (du type de celles utilisées en bactériologie) pendant 1 h dans 100 ml d'eau distillée. Filtrer à travers celle-ci 250 ml d'eau distillée deux fois sur la membrane et conserver cette eau pour la préparation des solutions étalons.

4.2.2 Formazine ($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_2$), solutions.

La combinaison appelée formazine, de formule $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_2$ ne se trouve pas dans le commerce. Elle est obtenue à l'aide des solutions suivantes

Solution A: Dissoudre 10,0 g d'hexaméthylènetétramine de formule $(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$ dans de l'eau distillée préparée selon 4.2.1. Puis compléter la solution à 100 ml à l'aide d'eau distillée préparée selon 4.2.1

Solution B: Dissoudre 1,0 g de sulfate d'hydrazinium $\text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4$ dans de l'eau distillée préparée selon 4.2.1. Puis compléter la solution à 100 ml à l'aide d'eau distillée préparée selon 4.2.1.

AVERTISSEMENT: Le sulfate d'hydrazinium est un poison et peut être cancérigène.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Mesure de la turbidité par néphélométrie

4.3 Mode opératoire

Mélanger 5 ml de solution A et 5 ml de solution B. Après 24 h à $25\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$, diluer la solution à 100 ml avec de l'eau. (4.2.1).

La turbidité de cette solution standard est de : 400 NTU

Dans l'obscurité, cette suspension standard se conserve à la température ambiante pendant 4 semaines environ.

Par dilution à 1/400 avec de l'eau distillée selon 4.2.1, on obtient une turbidité de: 1 NTU.

Cette solution n'est stable que durant qu'une semaine.

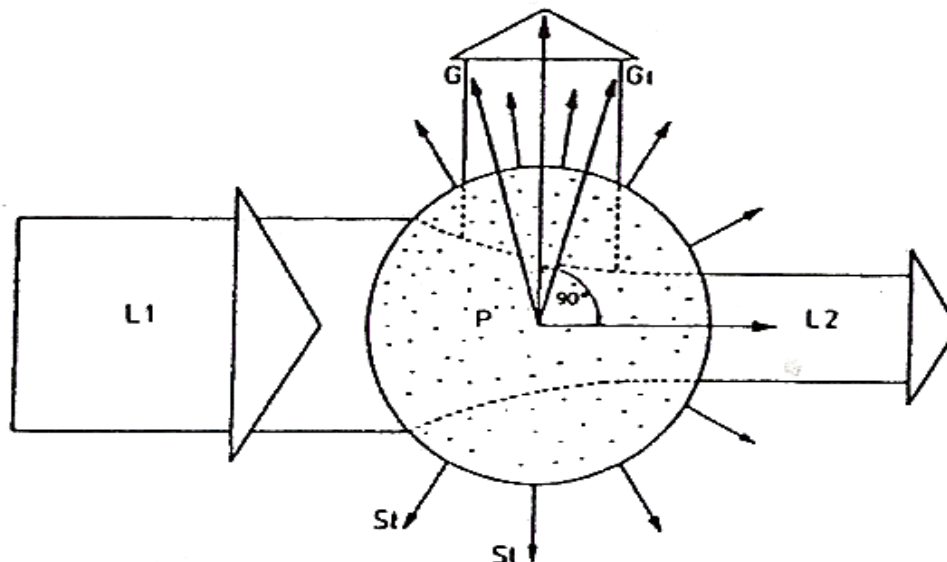
REMARQUE: Des standards de formazine ont été comparés à des standards élaborés à base de polymères. Les écarts observés peuvent être considérés comme négligeables. Les étalons à base de polymères présentent néanmoins les inconvénients suivants : leur coût est très élevé et leur durée d'utilisation limitée. Ils doivent être manipulés avec précaution pour ne pas briser les particules de polymères, ce qui modifierait la valeur de la turbidité. cette possibilité est proposée en tant que solution alternative à la formazine.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Mesure de la turbidité par néphélométrie

4.4 Principe optique de mesure.

Principe de mesure



L1 = Faisceau lumineux incident

L2 = Faisceau ayant traversé l'échantillon

P = Echantillon

St = Lumière diffusée

G/G1 = Rayons limites du faisceau de lumière diffusée, servant à la mesure

G/GL: Rayons limites du faisceau de lumière diffusée servant à la mesure.

L'observation de la lumière diffusée doit se faire à 90° par rapport à la direction du faisceau incident.

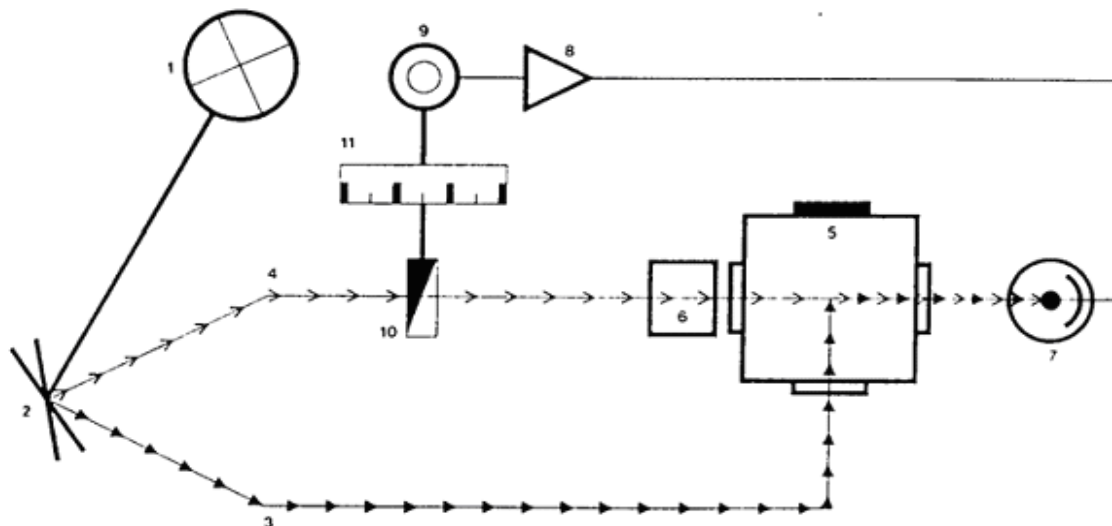
5. APPAREILLAGE.

La présente méthode prend référence dans l'utilisation des matériels mettant en oeuvre la mesure par compensation optique à deux faisceaux lumineux.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Mesure de la turbidité par néphélométrie

5.1. Principe optique.



Une source lumineuse (1), alimentée par le secteur, envoie un faisceau lumineux sur le miroir oscillant (2) qui réfléchit, alternativement, un rayon de mesure (3) et un rayon de comparaison (4) à raison d'environ 600 fois par seconde.

Le rayon de mesure (3) se propage dans le fluide à mesurer (5), tandis que le rayon de comparaison (4) se propage dans un standard de comparaison de turbidité (6) optiquement stable.

La lumière diffusée produite dans le fluide (5) par les particules qui engendrent la turbidité et la lumière diffusée par le standard de comparaison (6) sont reçues, alternativement, par une cellule photoélectrique (7).

Cette cellule reçoit donc, à la même fréquence, d'une part un rayon de mesure (3), d'autre part, un rayon de comparaison (4) dont les intensités lumineuses sont différentes.

La cellule photo-électrique (7) transforme alors ces intensités lumineuses inégales en courants photo-électriques qui sont ensuite amplifiés (8) et alimentent un moteur synchrone (9) jouant le rôle de servomoteur.

Ce dernier fait varier, au moyen d'un diaphragme de mesure mécanique (10) l'intensité du rayon de comparaison jusqu'à ce que les deux rayons parviennent à

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Mesure de la turbidité par néphélométrie

la cellule-photo-électrique avec la même intensité lumineuse.

Cet état d'équilibre permet de mesurer la teneur en particules solides du fluide mesuré.

La valeur absolue de la mesure dépend des dimensions du standard de comparaison et de la position du diaphragme.

5.2 Etendue de mesure.

L'appareil doit permettre l'exécution des mesures dans l'étendue de la plage de 0 à 50 NTU

5.3 Plages de mesure.

Les mesures comprises entre 0 et 5 NTU doivent être réalisées en plaçant la prise d'essai dans une cellule de mesure en verre de qualité optique aux dimensions de : 60 x 60 mm, soit un volume minimum d'échantillon de 140 ml.

Les mesures se situant au-delà de 5 NTU doivent être réalisées en plaçant la prise d'essai dans une cellule de mesure en verre de qualité optique aux dimensions de : 35 x 35 mm, soit un volume minimum d'échantillon de 60 ml.

Des cellules de mesure de forme différente mais possédant des caractéristiques de trajet optique et de volumes identiques peuvent être utilisées.

5.4 Limite de détection de la lumière parasite.

Une partie du faisceau lumineux se trouve diffusée à l'entrée, la sortie et tout autre endroit de la cellule de mesure, y compris lorsque l'on mesure de l'eau claire et limpide.

Cette lumière diffusée, due à l'appareil lui-même, parvient également à la cellule photo-électrique. Celle-ci, dénommée : lumière parasite, vient affecter d'une légère erreur chaque valeur mesurée.

L'appareil ne doit pas induire d'erreur due à la lumière parasite supérieure à : 0,01 NTU sur la plage de mesure de : 0 à 0,1 NTU.

5.5 Influence de la coloration de la prise d'essai.

L'appareil doit pouvoir compenser la coloration du produit à mesurer sans affecter la mesure de turbidité jusqu'aux valeurs d'extinction suivantes

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Mesure de la turbidité par néphélométrie

Plages de mesure NTU	Extinction admissible totale
----------------------	------------------------------

0- 0,1	0,5
--------	-----

0 - 0,2	0,5
---------	-----

0 - 0,5	0,7
---------	-----

0 - 1,0	0,8
---------	-----

0 - 2,0	0,9
---------	-----

0- 5,0	1,1
--------	-----

0-10,0	1,2
--------	-----

0-20,0	1,3
--------	-----

0-50,0	1,5
--------	-----

5.6 Conditions de température.

La mesure doit être faite à une température comprise entre 15 et 25 °C.

6. MODE OPERATOIRE DE LA MESURE.

6.1 Vérification de l'appareil.

Avant toute mesure ou série de mesure, vérifier le fonctionnement électrique et mécanique de l'appareil conformément aux préconisations de son constructeur.

6.2 Vérification du calage de l'échelle de mesure.

Avant toute mesure ou série de mesure, à l'aide d'un appareil préalablement étalonné, vérifier le calage de son échelle de mesure conformément à son principe de construction.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Mesure de la turbidité par néphélométrie

6.3 Nettoyage de la cellule de mesure.

Nettoyer avec le plus grand soin la cuve de mesure avant toute détermination. Prendre toutes les précautions utiles pour éviter l'introduction de poussières dans l'appareil et à plus forte raison dans la cellule de mesure avant et pendant la détermination de l'indice de turbidité.

6.4 Réalisation de la mesure.

- opérer à une température aussi voisine que possible de 20°C. Préalablement à la mesure, - homogénéiser avec soin, et sans mouvement brusque, le flacon contenant le produit à mesurer,
- rincer consciencieusement, à deux reprises, la cellule de mesure à l'aide d'un petit volume de produit à mesurer,
- introduire, avec précautions, le produit à mesurer dans la cellule de mesure en évitant un écoulement turbulent qui conduirait à la formation de bulles d'air et effectuer la mesure de l'essai,
- attendre une minute si la valeur de l'indice est stable
- noter l'indice de turbidité obtenu.

7. EXPRESSION DES RESULTATS.

L'indice de turbidité du produit examiné est relevé et exprimé en NTU

8. PROCES-VERBAL D'ESSAI.

Le procès-verbal d'essai doit mentionner les résultats obtenus, les références et l'identification de l'échantillon, ainsi que toutes les conditions de l'essai, le type d'appareil utilisé et tous les détails opératoires, facultatifs ou non prévus dans la méthode, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Les appareils mettant en oeuvre la méthode de mesure par compensation optique comportent des étalons de turbidité solides dont la lumière de mesure correspond à celle diffusée par une suspension étalon de formazine.

Les étalons solides doivent avoir été contrôlés par un laboratoire d'optique.

Il est recommandé de vérifier périodiquement l'étalonnage en utilisant trois étalons répartis dans la zone de mesure habituellement utilisée.

Ces trois solutions-étalon sont obtenues par dilution de la suspension standard de formazine décrite au point : 4.10 de la méthode.

Les étalons liquides doivent être conditionnés dans des flacons en verre ou en une

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Mesure de la turbidité par néphélométrie

autre matière inerte de faible contenance (200 ml par exemple) pour éviter que de nombreuses manipulations successives n'en altèrent la pureté. Conserver ces flacons au frais et à l'obscurité. Tout flacon ouvert doit être rapidement et soigneusement rebouché après le prélèvement du volume nécessaire à la mesure. Ce prélèvement ne doit jamais être employé pour une seconde détermination.

BIBLIOGRAPHIE

- Norme NF T 90 - 033 - Essai des eaux. Mesure de l'indice de diffusion, dite mesure de la turbidité.
- Standards Methods for the examination of water and wastewater (13ème édition - 1971) ALPHA - American Public Health Association.
- Methods for the Chemical Examination of Water and Wastes (1973) EPA - Environment Protection Agency.
- "Stray light in turbidity measurements" Dr. Ing. W. SIGRIST - Gas, Wasser, Abwasser - Ed N° 5 1976 éditée par l'Association Suisse de l'eau et du gaz.
- Notices techniques de turbidimètres - SOCIETE SIGRIST PHOTOMETER - Horfurlistrasse 1 - CH 6373 - Ennetbürgen - Suisse.
- Informations techniques sur la mesure de turbidité - SOCIETE HACH COMPANY - P.O. BOX 389 - Loveland Colorado - 80539 USA.
- Norme allemande d'analyse des eaux - DIN 38404.
- Aspects pratiques de la filtration des vins - Bernard GAUTIER - Editeur Bourgogne Publications - 1984.
- Projet de norme sur la mesure de l'indice de turbidité dans les boissons spiritueuses, 1991, BOULANGER P., F.V. O1.V. n° 903.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Calcium dosage par absorption atomique

Méthode OIV-MA-BS-29

Calcium dosage par absorption atomique

Méthode de type IV

1. PRINCIPE.

Le calcium est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique avec une flamme air acétylène réductrice en utilisant une lampe à cathode creuse au calcium, à la longueur d'onde de 422,7 nm, sur la boisson spiritueuse désalcoolisée, concentrée 2 fois. La mesure s'effectue en présence de Chlorure de lanthane appelé "modifieur de matrice".

2. APPAREILLAGE.

2.1 Verrerie.

2.1.1 Fioles jaugées 25, 50, 100, 1000 ml (classe A).

2.1.2 Pipettes jaugées 1, 2, 3, 4, 10, 50 ml (classe A).

2.1.3 Eprouvette 100 ml.

2.1.4 Bécher 250 ml (classe A).

2.1.5 Pilulier 20 ml.

2.2 Spectrophotomètre (exemple de réglage pour modèle VARIAN 575).

2.2.1. Flamme air-acétylène réductrice, débits: air : 7,5 Vmin

C₂ H₂ : 4,0 Vmin

2.2.2. Lampe à cathode creuse au calcium ; Longueur d'onde : 422,7 nm, Fente (slit) : 0,2 nm, Intensité de la lampe : 5 mA.

3. REACTIFS.

3.1 Eau déminéralisée ultra pure résistivité 18,2 M4.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Calcium dosage par absorption atomique

3.2 Solution mère à 1 g/l de Calcium : (par ex. Titrisol Merck).

3.3 Solution à 100 mg/1 de Calcium

Placer 10 ml de la solution mère (3.2) dans une fiole de 100 ml (2.1.1), compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1).

3.4 Acide Chlorhydrique d = 1,18 (35% minimum).

3.5 Solution de Chlorure de Lanthane, 25 g/1

Peser 63,6 g de Chlorure de Lanthane ($\text{LaCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dans une fiole de 1000 ml (2.1.1) ; ajouter environ 500 ml d'eau déminéralisée (3.1) puis à l'éprouvette (2.1.3) 50 ml d'acide chlorhydrique (3.4). Après solubilisation laisser refroidir et compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1).

3.6. Gamme d'étalonnage : 2, 4, 6, 8 mg/l de Calcium.

Placer successivement 1,0; 2,0; 3,0 ; 4,0 ml de la solution à 100 mg/1 de Calcium (3.3) dans 4 fioles de 50 ml (2.1.1); ajouter 10 ml de la solution de Chlorure de lanthane (3.5), compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1). Réaliser un essai à blanc sans calcium dans les mêmes conditions.

4. PREPARATION DES ECHANTILLONS.

La teneur en calcium des boissons spiritueuses est souvent très faible, il est donc nécessaire de concentrer l'échantillon par évaporation de l'alcool.

Introduire à la pipette (2.1.2) 50 ml de boisson spiritueuse dans un bécher de 250 ml (2.1.4). Evaporer l'alcool au bain-marie jusqu'à environ un volume de 10 ml. Laisser refroidir puis transvaser le concentrat dans une fiole de 25 ml (2.1.1) ; rincer le bécher et compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1).

Placer 4 ml de cette solution à doser ainsi préparée dans un pilulier propre et sec (2.1.5) et 1 ml de la solution de Chlorure de lanthane (3.5) ; boucher, agiter.

5. DETERMINATIONS.

Présenter successivement les solutions d'étalonnage, le blanc (3.6), les échantillons (4.) ; relever les absorbances correspondantes.

Etablir la droite d'étalonnage absorbances = f (concentrations en mg/1 de Calcium) par la méthode des moindres carrés.

Déduire la teneur en Calcium en mg/l en tenant compte du facteur de concentration.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Calcium dosage par absorption atomique

BIBLIOGRAPHIE

- Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, 1990,
O.I.V. ed.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Cuivre dosage par absorption atomique

Méthode OIV-MA-BS-30

Cuivre dosage par absorption atomique

Méthode de type IV

1. PRINCIPE.

Le cuivre est dosé par spectrophométrie d'absorption atomique à l'aide d'une flamme air acétylène oxydante en utilisant une lampe à cathode creuse au cuivre, à la longueur d'onde de 324,7 nm, sur la boisson spiritueuse désalcoolisée, selon la méthode dite des "ajouts dosés".

2. APPAREILLAGE.

2.1 Verrerie.

2.1.1 Fioles jaugées 50 ml, 200 ml (classe A).

2.1.2 Pipettes jaugées 5 ml, 10 ml, 50 ml (classe A). 2.13. Piluliers 20 ml.

2.1.4 Micropipette automatique de 200 µl. 2.15. Bécher 250 ml (classe A).

2.2. Spectrophotomètre (exemple de réglage pour modèle VARIAN 575)

2.2.1 Flamme air-acétylène oxydante,

débits air : 7,51/min

C2 H2 : 1,81/min

2.2.2. Lampe à cathode creuse au cuivre ; Longueur d'onde : 324,7 nm, Fente (slit) : 0,5 nm, Intensité de la lampe : 3,5 mA.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Cuivre dosage par absorption atomique

3. REACTIFS.

3.1 Eau déminéralisée ultra pure résistivité 18,2 MΩ.m (par ex. Milli Q).

3.2 Solution mère à 1 g/l de Cuivre: (par ex. Titrisol Merck).

3.3 Solution à 10 mg/1 de Cuivre.

Placer 2 ml de la solution mère (3.2) dans une fiole de 200 ml (2.1.1) ; compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1).

4. PREPARATION DES ECHANTILLONS : METHODE DES AJOUTS DOSES.

4.1 Evaporation de l'alcool.

Introduire à la pipette (2.1.2) 50 ml de boisson spiritueuse dans un bécher de 250 ml (2.1.5). Evaporer l'alcool au bain-marie jusqu'à environ 10 ml. Laisser refroidir puis transvaser le concentrat dans une fiole de 50 ml (2.1.1) ; rincer le bécher et compléter avec l'eau déminéralisée (3.1).

4.2 Ajout de 0,2 mg/l de Cuivre.

Placer 5 ml de l'échantillon à doser (3.1) dans un pilulier (1.1.3), ajouter à la micropipette (1.1.4) 100 µl de la solution à 10 mg/l de Cuivre (2.3).

4.3 Ajout de 0,4 mg/1 de Cuivre.

Placer 5 ml de l'échantillon à doser (4.1) dans un pilulier (2.1.3), ajouter à la micropipette (2.1.4) 200 µl de la solution à 10 mg/l de Cuivre (3.3).

5. DETERMINATION.

Présenter successivement l'échantillon à doser (4.1), les solutions d'ajouts (4.2), (4.3) ;

relever les absorbances correspondantes.

Établir la droite des ajouts : absorbances = f (concentration en mg/1 de Cuivre) par la méthode des moindres carrés.

La concentration en Cuivre est donnée par l'intersection de la droite des ajouts absorbances = f (concentration mg/l de Cuivre) avec l'axe des abscisses.

BIBLIOGRAPHIE

- Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, 1990, O.I.V. ed.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Cuivre dosage par absorption atomique

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Fer dosage par absorption atomique

Méthode OIV-MA-BS-31

Fer dosage par absorption atomique

Méthode de type IV

1. PRINCIPE.

Le fer est dosé par spectrophométrie d'absorption atomique à l'aide d'une flamme air acétylène oxydante, en utilisant une lampe à cathode creuse au fer, à la longueur d'onde de 248,3 nm sur la boisson spiritueuse désalcoolisée.

2. APPAREILLAGE.

2.1 Verrerie.

2.1.1 Fioles jaugées 50, 100 ml (classe A).

2.1.2 Pipettes jaugées 1, 2, 3, 4, 10, 50 ml (classe A).

2.1.3 Bécher 250 ml (classe A).

2.2. Spectrophotomètre (exemple de réglage du modèle VARIAN 575)

2.2.1. Flamme air-acétylène oxydante,

débits : air : 7,51/min
 C2 H2 : 3,51/min

2.2.2. Lampe à cathode creuse au fer ; longueur d'onde : 248,3 nm, fente (slit) : 0,5 nm, intensité de la lampe : 5 m A.

3. REACTIFS.

3.1 Eau déminéralisée ultra pure résistivité 18,2 MΩ.m.(par ex. Milli-Q).

3.2 Solution mère à 1 g/l de Fer : (par ex. Titrisol Merck).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Fer dosage par absorption atomique

3.3 Solution à 100 mg/l de Fer.

Placer 10 ml de la solution mère (3.2) dans une fiole de 100 ml (2.1.1), compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1).

3.40. Gamme d'étalonnage : 2, 4, 6, 8 mg/1 de Fer.

Placer successivement 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 ml de la solution à 100 mg/1 de Fer (3.30) dans 4 fioles de 50 ml (2.1.1), compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1).

4. PREPARATION DES ECHANTILLONS.

4.1 Evaporation de l'alcool.

Introduire à la pipette (2.1.2), 50 ml de boisson spiritueuse dans un bécher de 250 ml (2.1.3). Evaporer l'alcool au bain-marie jusqu'à environ 10 ml. Laisser refroidir puis transvaser le concentrat dans une fiole de 50 ml (2.1.1) ; rincer le bécher et compléter au volume avec l'eau déminéralisée (3.1).

Une dilution dans l'eau déminéralisée (3.1) n'est nécessaire que si la concentration en Fer est supérieure à 8 mg/l.

5. DETERMINATION.

Présenter successivement les solutions d'étalonnage (3.4), les échantillons (4.1), relever les absorbances correspondantes.

Établir la droite d'étalonnage $\text{absorbances} = f(\text{concentration en mg/1 de Fer})$ par la méthode des moindres carrés.

Déduire la concentration en Fer (mg/1) en tenant compte d'une éventuelle dilution.

BIBLIOGRAPHIE

- Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, 1990, O.I.V. ed.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Plomb dosage par absorption atomique sans flamme

Méthode OIV-MA-BS-32

Plomb dosage par absorption atomique sans flamme

Méthode de type IV

1. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le plomb est dosé directement dans la boisson spiritueuse, en utilisant une lampe à cathode creuse au plomb, par spectrophotométrie d'absorption atomique sans flamme, en utilisant un modifieur de matrice.

2. APPAREILLAGE

Toute la verrerie doit être lavée au préalable avec de l'acide nitrique concentré chaud (70-80 °C) et rincée à l'eau bidistillée.

2.1 Spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'un four graphite, d'un correcteur d'absorption non spécifique et d'un enregistreur multipotentiométrique.

2.2 Lampe à cathode creuse au plomb.

2.3 Micropipettes de 5 µl munies d'embouts spéciaux pour mesures d'absorption atomique.

3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de pureté analytique reconnue et, en particulier, être exempts de plomb. L'eau utilisée doit être de l'eau bidistillée dans un appareil en verre borosilicale ou de l'eau de pureté équivalente.

3.1 Acide phosphorique à 85 p. 100 (p20=1,71 g/ml)

3.2 Solution d'acide phosphorique obtenue par dilution de 6 ml d'acide

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Plomb dosage par absorption atomique sans flamme

phosphorique à 100 ml avec de l'eau.

3.3 Acide nitrique ($\rho_{20} = 1,38$ g/ml)

3.4 Solution de plomb à 1 g par litre.

Utiliser une solution standard du commerce. Cette solution peut être obtenue par dissolution de 1,600 g de nitrate de plomb II, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dans de l'acide nitrique dilué à 1 % (v/v) et ajustage du volume à 1 litre.

Conserver la solution dans un flacon de verre borosilicaté à bouchon rodé.

3.5 Solution diluée d'acide nitrique à 1 % (v/v).

3.6 Solution obtenue en diluant la solution d'acide phosphorique à 6 % au 1/2 avec la solution d'acide nitrique à 1 %.

4. MODE OPERATOIRE

4.1 Préparation de l'échantillon

Ajouter à la prise d'essai de boisson spiritueuse un volume égal de la solution (3.6) d'acides phosphorique et nitrique. Déterminer son absorbance. Si elle est supérieure à 0,6 procéder à une dilution de la boisson spiritueuse (une dilution au 1/5 suffit dans la plupart des cas).

Préparer la solution à doser en ajoutant à la prise d'essai de boisson spiritueuse diluée un volume égal de la solution d'acides phosphorique et nitrique.

4.2 Préparation des solutions de la gamme d'étalonnage

A partir de la solution de référence de plomb, préparer des dilutions contenant pour 50 % du volume final la solution (3.6) d'acides phosphorique et nitrique. L'échelle de concentration de la gamme dépend de la sensibilité de l'appareillage. Par exemple préparer des solutions titrant 10 - 20 - 30 microgrammes de plomb par litre.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

Plomb dosage par absorption atomique sans flamme

4.3 Détermination

4.31. Programme du four.

Etape	Température (°C)	Temps (s)	Azote (L/min.)	Lecture
1	75	2	3	
2	95	20	3	
3	140	15	3	
4	300	8	3	
5	450	7	3	
6	480	10	3	
7	900	20	3	
8	900	1	0	
9	2 250	0,7	0	L
10	2 250	1	0	L
11	2 250	2	3	

4.3.2 Mesures

Sélectionner la longueur d'onde 283,3 nm. Régler le zéro de l'échelle des absorbances avec de l'eau bidistillée. Injecter dans le four programmé, à l'aide d'une micropipette ou au moyen d'un passeur automatique d'échantillon 3 fois 5 µl de chacune des solutions de la gamme d'étalonnage et de la solution de

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Plomb dosage par absorption atomique sans flamme

l'échantillon à analyser.

Enregistrer les absorbances mesurées. Calculer la valeur moyenne de l'absorbance à partir des résultats relatifs aux 3 injections. Les absorbances sont mesurées en hauteur de pics.

5. EXPRESSION DES RÉSULTATS

5.1 Calcul

Tracer la courbe des variations de l'absorbance en fonction des concentrations en plomb des solutions de la gamme d'étalonnage. La variation est linéaire. Reporter la valeur moyenne de l'absorbance de la solution de l'échantillon sur la droite d'étalonnage, en déduire la concentration C en plomb.

La concentration en plomb exprimée en microgrammes par litre de boisson spiritueuse est égale à : $C \times F$

F = facteur de dilution.

BIBLIOGRAPHIE

- Application de la spectrométrie d'absorption atomique sans flamme au dosage de quelques métaux dans les vins, 1978, MEDINA B., Thèse Doc. en Oenologie, Université de Bordeaux II.
- MEDINA B. et SUDRAUD P., 1979, Feuillet. Vcrt. O.I.V., n° 695.
- Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, 1990, plomb 233-234, O.I.V. ed.
- Comparaison de deux méthodes de minéralisation en vue du dosage du plomb par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique.
- Application à des échantillons de sols, feuilles de vigne, raisins, moûts et lies, 1993, Analisis, TEISSEDRE P.L., CABANIS M.T., CABANIS J.C.
- Dosage du Plomb dans les vins, 1993, TEISSEDRE P.L., BRUN S., MEDINA B., Feuillet. Vert. O.I.V., n° 928.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage
chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse

Méthode OIV-MA-BS-33

**Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses
par couplage chromatographique en phase gazeuse et
spectrométrie de masse**

Méthode de type 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],

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse

- 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 :

- Diisobutyl 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:

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage
chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse**

Tableau 1
Préparation des étalons

Solution hydroalcoolique à 40 % vol. (mL)	Niveau de concentration (mg/L)	Volume de solution fille (μ L) [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,

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage
chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse**

- 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

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
**Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage
chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse**

Quantité

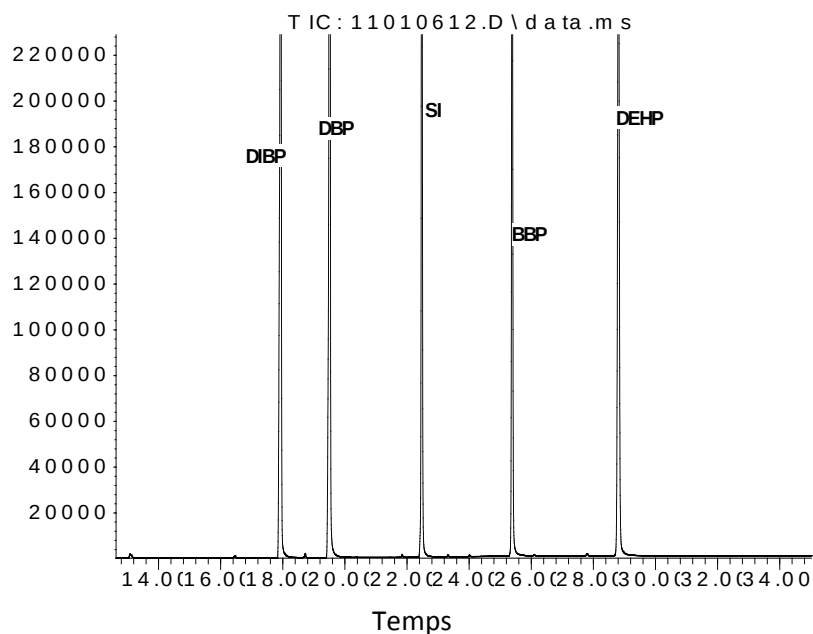


Figure 1-Chromatogrammes GC/MS d'une solution de phtalates et du standard interne

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 :

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE

Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse

- 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. CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

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%

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**

**Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage
chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse**

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.

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage
chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse

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

**RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSE
DES BOISSONS SPIRITUEUSES D'ORIGINE VITIVINICOLE**
Méthode de dosage de phtalates dans les boissons spiritueuses par couplage
chromatographique en phase gazeuse et spectrométrie de masse

7. REFERENCES

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.

Conformément à la jurisprudence, l'OIV décline toute responsabilité pouvant résulter des erreurs ou des omissions involontaires qui, malgré les soins apportés à la rédaction de l'ouvrage, auraient pu se produire. La reproduction des textes publiés dans cet ouvrage est interdite. Ils sont la propriété de l'OIV qui se réserve le droit de reproduction et de traduction dans le monde entier. La loi interdit les copies ou reproductions destinées à une utilisation collective. Toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite par quelque procédé que ce soit sans le consentement de l'OIV, est illicite et constitue une contrefaçon.

© OIV – 2014

Imprimé à Paris (France)

18, rue d'Aguesseau

75008 Paris, France

Dépôt légal : Septembre 2013

ISBN : 979-10-91799-25-6

ORGANISATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN

18, rue d'Aguesseau

75008 PARIS

Tél. (33) 01.44.94.80.80 - Tlc. (33) 01.42.66.90.63

E-mail: oiv@oiv.int - www.oiv.int