
RECUEIL DES METHODES

INTERNATIONALES D'ANALYSE

DES VINS ET DES MOUTS



**ORGANISATION INTERNATIONALE
DE LA VIGNE ET DU VIN**

***RECUEIL
DES METHODES
INTERNATIONALES
D'ANALYSE DES
VINS ET DES MOUTS***

EDITION 2009

VOLUME 1



INCLUDES:

Résolutions adoptées à Vérone (Italie)

6^{ème} A.G. – 20 juin 2008

Plan général du Recueil

Table des matières

Avant-propos

ANNEXE A – METHODES D'ANALYSE DES VINS ET DES MOUTS

SECTION 1 – DEFINITIONS ET PRINCIPES GENERAUX

SECTION 2 – ANALYSES PHYSIQUES

SECTION 3 – ANALYSES CHIMIQUES

SECTION 3.1 – COMPOSÉS ORGANIQUES

SECTION 3.1.1 – SUCRES

SECTION 3.1.2 – ALCOOLS

SECTION 3.1.3 – ACIDES

SECTION 3.1.4 – GAZ

SECTION 3.1.5 – AUTRES COMPOSÉS ORGANIQUES

SECTION 3.2 – COMPOSÉS NON ORGANIQUES

SECTION 3.2.1 – ANIONS

SECTION 3.2.2 – CATIONS

SECTION 3.2.3 – AUTRES COMPOSÉS NON ORGANIQUES

SECTION 4 – ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

SECTION 5 – AUTRES ANALYSES

ANNEXE B - MODELES DE CERTIFICATS D'ANALYSE

ANNEXE C - LIMITES MAXIMALES ACCEPTABLES DE DIVERS ELEMENTS

ANNEXE D – AVIS

ANNEXE E – ASSURANCE QUALITE DANS LES LABORATOIRES

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSE – OIV
Table des matières

Table des matières MA-F-INT-00-TABMAT

VOLUME 1

Avant-propos MA-F-INT-01-AVPROP
Mode rédactionnel d'une méthode d'analyse OIV MA-F-INT-04-REDMET

ANNEXE A – METHODES D'ANALYSE DES VINS ET DES MOÛTS

SECTION 1 – DEFINITIONS ET PRINCIPES GENERAUX

Remarques générales (eco 3/2003) MA-F-AS1-02-REMGEN
Classification des méthodes d'analyse (oeno 9/2000) MA-F-AS1-03-CLASMA
Effet matrice pour le dosage des métaux (oeno 5/2000) MA-F-AS1-04-EFFMAT

SECTION 2 – ANALYSES PHYSIQUES

Masse volumique (A 1) MA-F-AS2-01-MASVOL
Evaluation de la teneur en sucres des moûts, des moûts
concentrés et du raisin par réfractométrie MA-F-AS2-02-SUCREF
Extrait sec total (A 3) MA-F-AS2-03-EXTSEC
Cendres (A 6) MA-F-AS2-04-CENDRE
Alcalinité des cendres (A 7) MA-F-AS2-05-ALCCEN
Potentiel d'oxydoréduction (oeno 3/2000) MA-F-AS2-06-POTOXY
Caractéristiques chromatiques (A0 mod.) MA-F-AS2-07-CACHR2
Turbidité des vins (oeno 4/2000) MA-F-AS2-08-TURBID
Mouillage - rapport isotopique 18O/16O (oeno 2/96) MA-F-AS2-09-MOUO18
Indice de Folin-Ciocalteu MA-F-AS2-10-INDFOL
Caractéristiques chromatiques (oeno 1/2006) MA-F-AS2-11-CARCHR

SECTION 3 – ANALYSES CHIMIQUES

SECTION 3.1 – COMPOSÉS ORGANIQUES

SECTION 3.1.1 – SUCRES

Sucres réducteurs (A 4) MA-F-AS311-01-SUCRED
Glucose et fructose (méthode enzymatique) MA-F-AS311-02-GLUFRU
Dosage des sucres par CLHP (oeno 23/2003) MA-F-AS311-03-SUCRES
Stabilisation des moûts en vue de la recherche
du saccharose (A 5) MA-F-AS311-04-STAMOU
Détection de l'enrichissement des moûts, des moûts concentrés,
du sucre de raisin et des vins par ²H-RMN MA-F-AS311-05-ENRRMN
Polyols dérivant des sucres (Oeno 9/2006) MA-F-AS311-06-POLYOL
Glucose et fructose (pHmétrie) (Oeno 10/2006) MA-F-AS311-07-GLCFR2
Glucose, fructose et saccharose (pHmétrie) (Oeno 11/2006) MA-F-AS311-08-SACCHA

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSE – OIV
Table des matières

SECTION 3.1.2 – ALCOOLS

Titre alcoométrique volumique	
- par pycnométrie (A 2).....	MA-F-AS312-01-TALVOL
- par résonateur de flexion (oeno 8/2000)	MA-F-AS312-01- TALVOL
- par balance hydrostatique (oeno 24/2003).....	MA-F-AS312-01- TALVOL
- tables de conversion	MA-F-AS312-02- TALVOL
Méthanol (A 41)	MA-F-AS312-03-METHAN
Glycérol et butane-2,3-diol (A 21)	MA-F-AS312-04-GLYBUT
Glycérol (méthode enzymatique).....	MA-F-AS312-05-GLYENZ
Détermination du rapport isotopique de l'éthanol (oeno 17/2001)	MA-F-AS312-06-ETHANO

SECTION 3.1.3 – ACIDES

Acidité totale (A 10)	MA-F-AS313-01-ACITOT
Acidité volatile (A 11)	MA-F-AS313-02-ACIVOL
Acidité fixe (A 11).....	MA-F-AS313-03-ACIFIX
Acides organiques : méthode générale par HPLC.....	MA-F-AS313-04-ACIORG
Acide tartrique (A 12).....	MA-F-AS313-05-ACITAR
Acide lactique	
- méthode chimique (A 27).....	MA-F-AS313-06-ALACHI
-méthode enzymatique	MA-F-AS313-07-ALAENZ
Acide citrique	
- méthode chimique (A 29).....	MA-F-AS313-08-ACICHI
- méthode enzymatique	MA-F-AS313-09-ACIENZ
Acide malique total : méthode usuelle (A 33).....	MA-F-AS313-10-AMALTO
Acide L-malique : méthode enzymatique.....	MA-F-AS313-11-ALMENZ
Acide D-malique : méthode enzymatique (oeno 6/98)	MA-F-AS313-12-ADMENZ
Acide D-malique - faibles teneurs :	
méthode enzymatique (oeno 16/2002)	MA-F-AS313-12-ADMEZ2
Acide L-ascorbique (A 28)	MA-F-AS313-13-ALASCO
Acide sorbique (A 30)	MA-F-AS313-14-ACISOR
pH (A 31)	MA-F-AS313-15-PH
Acide organique : chromatographie ionique (oeno 23/2004)	MA-F-AS313-16-ORGION
Acide shikimique (oeno 33/2004)	MA-F-AS313-17-ACSHIK
Acide sorbique (électrophorèse cap.) (oeno 4/2006)	MA-F-AS313-18-SORCAP
Acides organiques (électrophorèse cap.) (oeno 5/2006)	MA-F-AS313-19-ACORG2
Acide sorbique, benzoïque, salicylique (oeno 6/2006)	MA-F-AS313-20-SOBESA
Acide métatartrique (oeno 10/2007)	MA-F-AS313-21-METTAR
Dosage simultané de l'acide L-ascorbique et de l'acide D-isoascorbique par HPLC (oeno 11/2008)	MA-F-AS313-22-ACASCO
Identification de l'acide L- tartrique (oeno 12/2008)	MA-F-AS313-23-IDALAC

SECTION 3.1.4 – GAZ

Dioxyde de carbone (A 39 modifié par oeno 21/2003 et complété par la résolution Oeno 3/2006).....	MA-F-AS314-01-DIOCAR
Méthode de mesure de la surpression des vins effervescents (oeno 21/2003)	MA-F-AS314-02-SUPRES
Détermination du rapport isotopique ¹³ C/ ¹² C du CO ₂ dans les vins mousseux (Oeno 7/2005).....	MA-F-AS314-03-CO2MOU

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSE – OIV
Table des matières

Dioxyde de carbone (méthode manométrique) (oeno 2/2006)	MA-F-AS314-04-CO2MAN
--	----------------------

VOLUME 2

SECTION 3.1.5 – AUTRES COMPOSÉS ORGANIQUES

Ethanal (A 37)	MA-F-AS315-01-ETHANA
Acétate d'éthyle	MA-F-AS315-02-ACEETH
Diglycoside de malvidol (A 18)	MA-F-AS315-03-DIGMAL
Carbamate d'éthyle (oeno 8/98)	MA-F-AS315-04-CARETH
5-(Hydroxyméthyl)furfural (A 19)	MA-F-AS315-05-HYDMFF
Dérivés cyanés (oeno 4/94)	MA-F-AS315-06-DERCYA
Edulcorants de synthèse (A 36)	MA-F-AS315-07-EDUSYN
Colorants de synthèse (A 43)	MA-F-AS315-08-COLSYN
Diéthylèneglycol	MA-F-AS315-09-DIEGLY
Ochratoxine A (oeno 16/2001)	MA-F-AS315-10-OCHRAT
Détermination par CLHP de neuf Anthocyanes principales dans le vin rouge et rosé (oeno 22/2003, Oeno 12/2007)	MA-F-AS315-11-ANCYAN
Matières protéiques d'origine végétale (oeno 24/2004)	MA-F-AS315-12-PROVEG
Polychlorophénols et polychloroanisoles (oeno 8/2006)	MA-F-AS315-13-PCAPCP
Détermination du lysozyme par HPLC (oeno 8/2007)	MA-F-AS315-14-LYSOZY
Détermination du 3-Methoxypropane-1,2-diols et des glycérols cycliques (oeno 11/2007)	MA-F-AS315-15-GLYCYC

SECTION 3.2 – COMPOSÉS NON ORGANIQUES

SECTION 3.2.1 – ANIONS

Brome total (A 23)	MA-F-AS321-01-BROTOT
Chlorures (A 15)	MA-F-SA321-02-CHLORU
Fluorures (oeno 22/2004)	MA-F-AS321-03-FLUORU
Phosphore total (A 16)	MA-F-AS321-04-PHOTOT
Sulfates (A 14)	MA-F-AS321-05-SULFAT

SECTION 3.2.2 – CATIONS

Ammonium (A 20)	MA-F-AS322-01-AMMONI
Potassium (A 8)	MA-F-AS322-02-POTASS
Sodium (A 25)	MA-F-AS322-03-SODIUM
Calcium (A 26)	MA-F-AS322-04-CALCIU
Fer (A 9)	MA-F-AS322-05-FER
Cuivre	MA-F-AS322-06-CUIVRE
Magnésium (A 26)	MA-F-AS322-07-MAGNES
Zinc (A 45)	MA-F-AS322-08-ZINC
Argent	MA-F-AS322-09-ARGENT
Cadmium	MA-F-AS322-10-CADMIU
Plomb (critères pour méthodes) (oeno 7/2006)	MA-F-AS322-12-CRIPLO

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSE – OIV
Table des matières

SECTION 3.2.3 – AUTRES COMPOSÉS NON ORGANIQUES

Arsenic (A 34)	MA-F-AS323-01-ARSENI
Arsenic - Absorption atomique (oeno 14/2002).....	MA-F-AS323-01-ASSAA
Azote total (A 40)	MA-F-AS323-02-AZOTOT
Azote total - Méthode Dumas (oeno 13/2002)	MA-F-AS323-02-AZOTDU
Bore (A 44)	MA-F-AS323-03-BORE
Dioxyde de soufre	
- vin (A 17)	MA-F-AS323-04-DIOSOU
- jus de raisin	MA-F-AS323-05-SO2JUS
Mercure - Fluorescence atomique (oeno 15/2002)	MA-F-AS323-06-MERCUR

SECTION 4 – ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Analyse microbiologique (oeno 8/95).....	MA-F-AS4-01-ANMICR
Recherche des antiseptiques et des inhibiteurs de fermentation (A 35 modifiée par Oeno 6/2006).....	MA-F-AS4-02-RECANT

SECTION 5 – AUTRES ANALYSES

Différentiation des mistelles et des vins de liqueur doux	MA-F-AS5-01-DIFMIS
---	--------------------

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSE – OIV
Table des matières

ANNEXE B

Règles d'application des méthodes d'analyse	MA-F-B1-01-REGAPL
Modèles de certificats d'analyse	MA-F-B1-02-MODCER

ANNEXE C

Limites maximales acceptables de divers éléments contenus dans le vin (oenos 9/2007)	MA-F-C1-01-LIMMAX
---	-------------------

ANNEXE D – AVIS

Acide gluconique (oenos 4/91)	MA-F-D1-01-ACIGLU
Caractérisation des vins issus du surpressurage (oenos 5/91)	MA-F-D1-02-SURPRE
Teneur en ions chlorures et en ions sodium des vins (oenos 6/91)	MA-F-D1-03-TENION

ANNEXE E – ASSURANCE QUALITE DANS LES LABORATOIRES

Principe de validation (oenos 7/98)	MA-F-AS1-05-PPEVAL
Etude collaborative	MA-F-AS1-07-ETCOL
Fidélité des méthodes (oenos 5/99)	MA-F-AS1-08-FIDMET
Protocole pour la planification, la conduite et l'interprétation des études de performance des méthodes d'analyse (oenos 6/2000)	MA-F-AS1-09-PROPER
Estimation limite de détection et limite de quantification (oenos 7/2000)	MA-F-AS1-10-LIMDET
Contrôle interne de qualité dans les laboratoires d'analyse (oenos 19/2002)	MA-F-AS1-11-COQUAL
Guide de validation (oenos 10/05)	MA-F-AS1-12-GUIVAL
Recommandations pour la validation par un seul laboratoire (Oeno 8/05)	MA-F-AS1-13-SINVAL
Recommandations sur l'incertitude de mesure (Oeno 9/05) ..	MA-F-AS1-14-INCERT

Avant-propos

Le *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins* a été publié pour la première fois en 1962. Il a été réédité en 1965, en 1972, en 1978, en 1990 et à nouveau en 2000, intégrant chaque fois les textes complémentaires approuvés par l'Assemblée générale et établis annuellement par la sous-Commission des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins.

La présente édition comprend tous les textes approuvés par l'Assemblée générale des représentants des gouvernements membres de l'O.I.V., révisés et mis à jour depuis 2000.

Le Recueil joue un grand rôle pour l'harmonisation des méthodes d'analyse. Beaucoup de pays viticoles ont introduit dans leur réglementation propre ses définitions et ses méthodes. La Commission des Communautés Européennes avait considéré, pour l'établissement des règlements successifs concernant les méthodes d'analyse (1539/71, 2948/78, 1108/82, 1676/90), "que devaient être retenues, dans la mesure du possible, les méthodes bénéficiant d'une reconnaissance générale telles que les méthodes développées dans le cadre de la Convention internationale pour l'unification des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins de 1954, et qui sont publiées par l'Office International de la Vigne et du Vin dans le *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins*".

Dans le règlement C.E. 1493/99, du Conseil du 14 mai 1999, l'Union Européenne, en précisant que, *lorsque des méthodes d'analyse communautaires ne sont pas prévues pour la détection et la quantification de substances recherchées, les méthodes d'analyse reconnues par l'Assemblée générale de l'Office International de la Vigne et du Vin, et publiées par les soins de celui-ci, sont applicables*, reconnaît l'ensemble des méthodes qui font l'objet de ce Recueil, leur confère, en l'absence de méthodes communautaires de même objet, un caractère obligatoire dans tous les États-membres et consacre la collaboration étroite qui s'est établie entre l'U.E. et l'O.I.V.

Ainsi, le Recueil, par son rôle éminent dans l'harmonisation des méthodes d'analyse contribue à faciliter les échanges internationaux. Avec le *Code International des Pratiques Oenologiques* et le *Codex Oenologique International*, il constitue un ensemble dont l'intérêt scientifique, juridique et pratique est évident.

MODE REDACTIONNEL D'UNE METHODE D'ANALYSE OIV
extrait de la norme ISO 78-2: 1999

1. Titre

2. Introduction

facultatif

3. Domaine d'application

Cet article doit indiquer succinctement la méthode d'analyse chimique et notamment les produits auxquels elle s'applique.

4. Définition

5. Principe

Cet article facultatif indique les phases essentielles de la méthode utilisée ainsi que les principes de base.

6. Réactifs et produits

Cet article doit donner la liste ainsi que les caractéristiques essentielles de tous les réactifs et produits utilisés au cours de l'essai et, au besoin, préciser leur degré de pureté.

Doivent être indiqués :

les produits utilisés tels qu'ils sont commercialisés

Les solutions à concentration définie

solution titrée

solution étalon de référence

solution étalon

solution témoin

note chaque réactif acheté ou préparé doit faire l'objet d'un alinéa numéroté

7. Appareillage

Cet article doit énumérer les noms et les caractéristiques utiles de tous les appareils et équipements qui doivent être utilisés au cours de l'analyse ou de l'essai.

8. Echantillonnage (Préparation de l'échantillon)

Doivent être indiquées :
les procédures d'échantillonnage
La préparation de l'échantillon pour l'essai

9. Mode opératoire

Chacune des opérations doit être décrite sans ambiguïté et de façon concise.

Cet article doit normalement comporter les paragraphes suivants :

Prise d'essai (ce paragraphe doit donner tous les renseignements nécessaire à la préparation de la prise d'essai à partir de l'échantillon pour essai.

Dosage(s), détermination(s) ou essai(s) (ce paragraphe doit être décrit avec précision pour faciliter la description, la compréhension et l'application du mode opératoire

Etalonnage (si nécessaire).

10. Calculs (Résultats)

Cet article doit indiquer le mode de calcul des résultats. Doivent être précisés les unités, l'équation utilisée, la signification des symboles, le nombre de décimales à donner dans les résultats.

11. Fidélité (si validation interlaboratoire)

Les valeurs de fidélité doivent indiquer notamment :

Le nombre de laboratoire

Les valeurs moyenne de la concentration

L'écart type de répétabilité

L'écart type de reproductibilité

La référence du document contenant les résultats publiés des essais interlaboratoires.

12. Annexes

Annexe relatifs à la fidélité

Annexe relatives aux données statistiques et autres données obtenues à partir des résultats des essais interlaboratoires.

13. Bibliographie

Annexe relative à la fidélité

Cette annexe doit indiquer notamment

- les indications de la répétabilité
- les indications de la reproductibilité

Annexe relative aux données statistiques et autres données obtenues à partir des résultats des essais interlaboratoires.

Les données statistiques et autres données dérivées des résultats des essais interlaboratoires peuvent figurer dans une annexe informative

Exemple de tableau donnant des résultats statistiques

Identification de l'échantillon	A	B	C
Nombre de laboratoires participant			
Nombre de résultats d'essai acceptés			
Valeur moyenne (g/100 g d'échantillon)			
Valeur vraie ou acceptée (g/100 g)			
Écart-type de répétabilité (s_r)			
Coefficient de variation de répétabilité			
Limite de répétabilité (r) ($2.8 \times s_r$)			
Écart-type de reproductibilité (s_R)			
Coefficient de variation de reproductibilité			
Limite de reproductibilité (R) ($2.8 \times s_R$)			

Il peut ne pas être jugé nécessaire de faire figurer toutes les données présentées dans le tableau, il est toutefois recommandé de donner au moins les données suivantes :

- Le nombre de laboratoire
- Les valeurs moyenne de la concentration en élément à analyser
- L'écart type de répétabilité
- L'écart type de reproductibilité
- La référence du document contenant les résultats publiés des essais interlaboratoires

Annexe A

**Méthodes d'Analyse des
vins et des moûts**

Remarques générales

- 1/ L'analyse physique et chimique doit être faite sur du vin ou du moût limpide. Si le vin ou le moût est trouble, il sera préalablement filtré sur papier en entonnoir couvert ou centrifugé en récipient fermé. Mention de cette opération devra figurer sur le certificat d'analyse.
- 2/ La référence de la méthode employée pour chaque détermination doit figurer sur le certificat d'analyse.
- 3/ Les unités de mesure des différentes grandeurs (volume, masse, concentration, température, pression, etc.) sont conformes aux recommandations de l'Union internationale de chimie pure et appliquée (I.U.P.A.C.).
- 4/ En ce qui concerne les réactifs et solutions titrées utilisées, sauf prescription contraire dans le texte, les produits chimiques employés sont de qualité "pour analyse" et l'eau est de l'eau distillée ou de pureté équivalente.
- 5/ Les méthodes enzymatiques ainsi que la détermination de plusieurs paramètres reposent sur des mesures absolues d'absorbance, ce qui implique l'étalonnage des spectrophotomètres en longueurs d'onde et en absorbances au moyen de solutions de référence commercialisées.
- 6/ Les références bibliographiques essentielles sont données. Les références relatives aux documents de travail de la Sous-Commission sont notées *F.V.* *O.I.V.* (feuilletts verts) suivies de l'année de publication et du numéro du document.

Classification des méthodes d'analyse

(Résolution oeno 9/2000)

TYPE I* (METHODE DE REFERENCE CRITERE) : Méthode qui définit une valeur qu'il n'est possible d'établir qu'aux termes de la méthode *per se* et qui est, par définition, la seule utilisée pour établir la valeur acceptée du paramètre mesuré (Titre alcoométrique volumique, acidité totale, acidité volatile, sucres réducteurs).

TYPE II* (METHODE DE REFERENCE) : une méthode de type II est celle que l'on désigne comme Méthode de Référence, lorsque les méthodes du type I ne sont pas applicables. On devrait la choisir parmi les méthodes de type III (définies ci-après). On devrait recommander son emploi dans les cas de litige et aux fins d'étalonnage (Potassium, acide citrique).

TYPE III* (METHODES DE REMPLACEMENT APPROUVEES) : les méthodes de type III répondent à tous les critères définis par la Sous-Commission des Méthodes d'Analyse aux fins de contrôle, d'inspection ou de réglementation (Glucose et fructose par voie enzymatique).

TYPE IV (METHODE PROVISOIRE) : une méthode de type IV est une méthode traditionnelle ou encore une méthode d'application récente, mais pour laquelle on n'a pas encore déterminé les critères exigés par la Sous-Commission des Méthodes d'Analyse (Recherche des colorants de synthèse, mesure du potentiel d'oxydoréduction).

* Méthodes qui nécessitent la validation formelle selon les procédures en vigueur à la Sous-Commission des Méthodes d'Analyse

**Effet matrice pour le dosage des métaux
par absorption atomique**

(Résolution oeno 5/2000)

L'ASSEMBLEE GENERALE,

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

Sur proposition de la Sous-Commission des méthodes internationales d'analyse et d'appréciation des vins,

CONSIDERANT que les méthodes décrites au Recueil international des méthodes d'analyse des vins et des moûts avec utilisation des solutions de référence concernent les vins secs,

ATTIRE l'attention des utilisateurs sur le fait que des déviations peuvent être observées dans d'autres cas : présence de sucres ou de dérivés des sucres,

DECIDE qu'il sera alors nécessaire de procéder à la mesure en utilisant la méthode des ajouts dosés. Au minimum, trois aliquotes de l'échantillon contenant des ajouts différents devront être mis en oeuvre.

DECIDE de compléter les méthodes d'analyse des métaux (fer, plomb, zinc, argent, cadmium) et de l'arsenic par la description de la technique des ajouts dosés, lorsque l'effet matrice la rend nécessaire.

Masse volumique à 20 °C et densité relative 20 °C/À 20 °C

1. Définition

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de vin ou de moût à 20 °C par ce volume. Elle s'exprime en grammes par millilitre et son symbole est $\rho_{20\text{ °C}}$.

La densité relative à 20 °C ou densité 20 °C/20 °C est le rapport exprimé en nombre décimal, de la masse volumique du vin ou de moût à 20 °C à la masse volumique de l'eau à la même température. Son symbole est : $d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$

2. Principe des méthodes

La masse volumique et la densité relative à 20 °C sont déterminées sur l'échantillon pour essai :

- soit par pycnométrie : méthode de référence,
- soit par aréométrie ou densimétrie par la balance hydrostatique : méthodes usuelles.

Remarque : Pour les déterminations très précises, la masse volumique doit être corrigée de l'action du dioxyde de soufre.

$$\begin{aligned}\rho_{20} &= \rho'_{20} - 0.0006 \times S \\ \rho_{20} &= \text{masse volumique corrigée} \\ \rho'_{20} &= \text{masse volumique observée} \\ S &= \text{dioxyde de soufre total en g/l}\end{aligned}$$

3. Traitement préalable de l'échantillon

Si le vin ou le moût contient des quantités notables de dioxyde de carbone, en chasser la plus grande quantité par agitation de 250 ml de vin dans un flacon de 1000 ml, ou par filtration sous pression réduite sur 2 g de coton placé dans une allonge.

4. Méthode de référence

4.1.Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

4.1.1. Pycnomètre, en verre pyrex de 100 ml de capacité environ avec un thermomètre mobile à rodage émeri gradué par dixième de degré de 10 à 30 °C. Ce thermomètre doit être contrôlé (fig. 1).

Tout pycnomètre de caractéristiques équivalentes peut être employé.

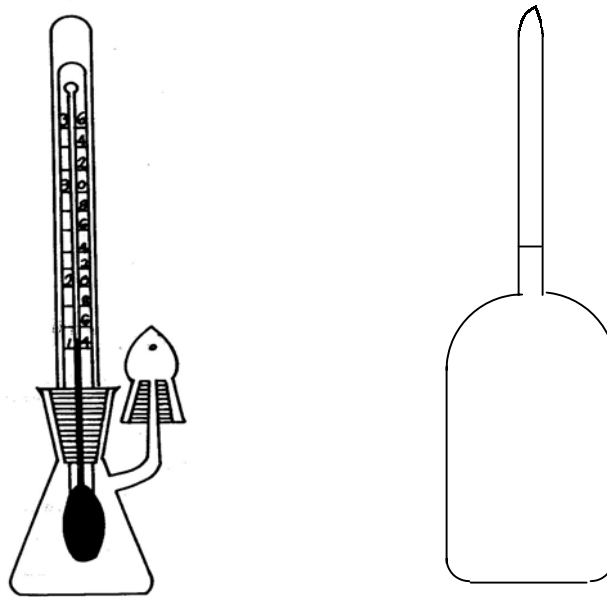


FIGURE 1: Pycnomètre et son flacon tare

Ce pycnomètre comporte un tube latéral de 25 mm de longueur, de 1 mm au plus de diamètre intérieur, terminé par une partie conique rodée. Ce tube latéral peut être coiffé par un «bouchon récepteur» constitué par un tube conique rodé, terminé par une partie effilée. Ce bouchon sert de chambre de dilatation.

Les deux rodages de l'appareil doivent être faits avec un très grand soin.

Flacon tare de même volume extérieur (à moins de 1 ml près) que le pycnomètre et de masse égale à la masse du pycnomètre plein d'un liquide de densité 1,01 [solution à 2 pour 100 (m/v) de chlorure de sodium 2 p. 100, m/v].

Enceinte calorifugée s'adaptant exactement au corps du pycnomètre.

4.1.2. Balance à deux plateaux, sensible au dixième de milligramme
ou
balance monoplateau, sensible au dixième de milligramme.

4.2.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.

4.2.1. *Utilisation d'une balance à deux plateaux*

Le flacon tare étant placé sur le plateau de 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.

Remplir avec soin le pycnomètre avec de l'eau distillée à la température ambiante, 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. Essuyer ce tube latéral, placer le bouchon récepteur ; lire la température t °C avec soin et la corriger éventuellement de l'inexactitude de l'échelle du thermomètre. Peser le pycnomètre plein d'eau, soit p' la masse en grammes qui réalise l'équilibre.

Calculs : *

Tare du pycnomètre vide :

$$\text{Tare à vide} = p + m \quad m = \text{masse d'air contenue dans le pycnomètre}$$
$$m = 0,0012 (p - p')$$

Volume à 20 °C :

$$V_{20\text{ °C}} = (p + m - p') \times F_t$$

F_t = facteur relevé dans la table I pour la température t °C

$V_{20\text{ °C}}$ doit être connu à ± 0.001 ml près

Masse en eau à 20 °C :

$$M_{20\text{ °C}} = V_{20\text{ °C}} \times 0,998203$$

0,998203 = masse volumique de l'eau à 20 °C.

4.2.2. *Utilisation d'une balance monoplateau*

Déterminer :

- la masse du pycnomètre propre et sec : P
- la masse du pycnomètre plein d'eau à t °C : P_1 en suivant les indications décrites en 4.2.1
- la masse du flacon tare T_0

Calculs *

Tare du pycnomètre vide :

$$\text{Tare à vide} : P - m \quad m = \text{masse d'air contenue dans le pycnomètre}$$
$$m = 0,0012 (P_1 - P).$$

Volume à 20 °C :

$$V_{20\text{ °C}} = [P_1 - (P - m)] \times F_t$$

F_t = facteur relevé dans la table I pour la température t °C

$V_{20\text{ °C}}$ doit être connu à ± 0.001 ml près.

Masse en eau à 20 °C :

$$M_{20\text{ °C}} = V_{20\text{ °C}} \times 0,998203$$

0,998203 = masse volumique de l'eau à 20 °C.

4.3. *Technique d'une mesure* : *

4.3.1. *Utilisation d'une balance à deux plateaux*

Peser le pycnomètre plein de l'échantillon préparé pour essais (3) en suivant les indications décrites en 4.2.1.

Soit p'' la masse en grammes qui réalise l'équilibre à t °C.

Masse du liquide contenu dans le pycnomètre = $p + m - p''$

Masse volumique apparente à t °C :

$$\rho_{t\text{ °C}} = \frac{p + m - p''}{V_{20\text{ °C}}}$$

Calculer la masse volumique à 20 °C à l'aide d'une des tables de correction ci-après, suivant la nature du liquide étudié : vin sec (table II), moût naturel ou concentré (table III), vin doux (table IV).

On exprime la densité 20 °C/20 °C du vin en divisant la masse volumique à 20 °C par 0,998203.

4.3.2. *Utilisation d'une balance monoplateau* *

Peser le flacon tare, soit T_1 sa masse

Calculer $dT = T_1 - T_0$

Masse du pycnomètre vide au moment de la mesure = $P - m + dT$

Peser le pycnomètre plein de l'échantillon préparé pour essais en suivant les indications décrites en 4.2.1.

Soit P_2 sa masse à t °C.

Masse du liquide contenu dans le pycnomètre à t °C = $P_2 - (P - m + dT)$

Masse volumique apparente à t °C :

$$\rho_{t\text{ °C}} = \frac{P_2 - (P - m + dT)}{V_{20\text{ °C}}}$$

Calculer la masse volumique à 20 °C du liquide étudié : vin sec, moût naturel et concentré, vin doux, comme il est indiqué en 4.3.1.

La densité 20 °C/20 °C est obtenue en divisant la masse volumique à 20 °C par 0,998203.

4.3.3. *Répétabilité* sur la masse volumique :

pour les vins secs et moelleux : $r = 0,00010$

pour les vins doux : $r = 0,00018$

4.3.4. *Reproductibilité* sur la masse volumique :

* Un exemple numérique est donné en annexe

pour les vins secs et moelleux : $R = 0,00037$
pour les vins doux : $R = 0,00045$.

5. Méthodes usuelles

5.1. Aréométrie

5.1.1. Appareillage

5.1.1.1. Aréomètre

Les aréomètres doivent répondre aux prescriptions de l'ISO en ce qui concerne leurs dimensions et leurs graduations.

Ils doivent avoir une carène cylindrique, une tige de section circulaire de 3 mm de diamètre au moins. Pour les vins secs, ils doivent être gradués de 0,983 à 1,003 par millième et cinquième de millième. Chaque millième doit être séparé par 5 mm au moins du millième suivant. Pour la mesure de la densité des vins désalcoolisés, des vins doux et des moûts, il sera fait usage d'un jeu de cinq aréomètres gradués de 1,000 1,030 ; 1,030 1,060 ; 1,060 1,090 ; 1,090 1,120 ; 1,120 1,150. Ces appareils seront gradués en masses volumiques à 20 °C par millième et demi-millième au moins, chaque millième étant séparé par 3 mm au moins du millième suivant.

Ces aréomètres doivent être gradués de manière à être lus au «sommet du ménisque». L'indication de la graduation en masse volumique à 20 °C ou en densité relative à 20 °C et de la lecture au niveau du sommet du ménisque sera portée soit sur l'échelle graduée, soit sur une bande de papier incluse dans la carène.

Ces appareils doivent être contrôlés par un service officiel.

5.1.1.2. Thermomètre contrôlé gradué par demi degré Celsius au moins.

5.1.1.3. Éprouvette cylindrique de 36 mm de diamètre intérieur et de 320 mm de hauteur, tenue verticalement grâce à un support à vis calantes.

5.1.2. Technique d'une mesure

Dans l'éprouvette 5.1.1.3, placer 250 ml d'échantillon préparé pour essais (3), introduire l'aréomètre et le thermomètre. Lire le thermomètre une minute après avoir agité pour réaliser l'équilibre de température. Retirer le thermomètre et lire la masse volumique apparente à t °C sur la tige de l'aréomètre après une minute de repos.

Corriger la masse volumique apparente lue à t °C de l'action de la température à l'aide de tables qui s'appliquent aux cas des vins secs (table V), des moûts (table VI) et des vins contenant du sucre (table VII).

La densité 20 °C/20 °C est obtenue en divisant la masse volumique à 20 °C par 0,998203.

5.2. Densimétrie par la balance hydrostatique

5.2.1. *Appareillage*

5.2.1.1. *Balance hydrostatique*

Balance hydrostatique, de portée maximale s'élevant au moins à 100 g, sensible à 1/10^{ème} de milligramme.

Sous chaque plateau est fixé un flotteur en verre pyrex d'un volume d'au moins 20 ml. Ces deux flotteurs identiques sont suspendus par un fil de diamètre inférieur ou égal à 0,1 mm.

Le flotteur suspendu sous le plateau de droite doit pouvoir être introduit dans une éprouvette cylindrique comportant un repère de niveau. Cette éprouvette doit avoir un diamètre intérieur supérieur d'au moins 6 mm à celui du flotteur. Ce dernier doit pouvoir être contenu entièrement dans le volume de l'éprouvette situé au-dessous du repère, la surface du liquide à mesurer ne devant être traversée que par le fil de suspension. La température du liquide contenu dans l'éprouvette est mesurée par un thermomètre gradué par cinquième de degré.

Une balance hydrostatique monoplateau peut également être utilisée.

5.2.2. *Mode opératoire*

5.2.2.1. *Étalonnage d'une balance hydrostatique*

Les deux flotteurs étant dans l'air, établir l'équilibre en plaçant sur le plateau de droite les masses marquées p .

Remplir l'éprouvette d'eau pure jusqu'au repère, lire la température t °C après agitation et repos de 2 ou 3 minutes. Rétablir l'équilibre à l'aide des masses marquées placées sur le plateau de droite soit p' ces masses.

Volume du flotteur à 20 °C :

$$V_{20\text{ °C}} = (p' - p) (F + 0,0012)$$

F = facteur donné par la Table I pour la température t °C.

p et $V_{20\text{ °C}}$ sont les caractéristiques du flotteur.

5.2.2.2. *Technique d'une mesure*

Le flotteur de droite est plongé dans l'éprouvette remplie de vin (ou de moût) jusqu'au repère. Lire la température t °C du vin (ou du moût), soient : p'' les masses marquées rétablissant l'équilibre

Calculer la masse volumique apparente, ρ_t °C :

$$\rho_{t\text{ °C}} = \frac{P'' - P}{V_{20\text{ °C}}} + 0,0012$$

Ramener cette masse volumique à 20 °C par l'emploi d'une des Tables II, II ou IV si le flotteur est en verre pyrex ou d'une des Tables V, VI ou VII si le flotteur est en verre ordinaire.

ANNEXE I

Méthode de référence : exemple numérique

I. Pycnométrie sur balance à deux plateaux

A/ Établissement des constantes du pycnomètre

1. Pesée du pycnomètre propre et sec :

$$\text{Tare} = \text{pycnomètre} + p$$

$$p = 104,9454 \text{ g}$$

2. Pesée du pycnomètre plein d'eau à la température t °C :

$$\text{Tare} = \text{pycnomètre} + \text{eau} + p'$$

$$p' = 1,2396 \text{ g pour } t = 20,5 \text{ °C}$$

3. Calcul de la masse d'aire contenue dans le pycnomètre :

$$m = 0,0012 (p - p')$$

$$m = 0,0012 (104,9454 - 1,2396)$$

$$m = 0,1244$$

4. Caractéristiques à retenir :

$$\text{Tare du pycnomètre vide} : p + m$$

$$p + m = 104,9454 + 0,1244$$

$$p + m = 105,0698 \text{ g}$$

$$\text{Volume à } 20 \text{ °C} = (p + m - p') \times F_t \text{ °C}$$

$$F_{20,50 \text{ °C}} = 1,001900$$

$$V_{20 \text{ °C}} = (105,0698 - 1,2396) \times 1,001900$$

$$V_{20 \text{ °C}} = 104,0275 \text{ mL}$$

$$\text{Masse en eau à } 20 \text{ °C} = V_{20 \text{ °C}} \times 0,998203$$

$$M_{20 \text{ °C}} = 103,8405 \text{ g}$$

B/ Détermination de la masse volumique à 20 °C et de la densité 20 °C/20 °C d'un vin sec :

$$p'' = 1,2622 \text{ à } 17,80 \text{ °C}$$

$$\rho_{17,80 \text{ °C}} = \frac{105,0698 - 1,2622}{104,0275}$$

$$\rho_{17,80 \text{ °C}} = 0,99788$$

La table II permet de calculer $\rho_{20 \text{ °C}}$ à partir de $\rho_t \text{ °C}$ à l'aide de la relation :

$$\rho_{20 \text{ °C}} = \rho_t \text{ °C} \pm \frac{c}{1000}$$

Pour $t = 17,80 \text{ °C}$ et pour un titre alcoométrique de 11% vol., on trouve $c = 0,54$:

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99788 - \frac{0,54}{1000}$$

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99734 \text{ g/ml}$$

$$d_{20 \text{ °C}}^{20 \text{ °C}} = \frac{0,99734}{0,998203} = 0,99913$$

II. Pycnomètre sur balance monoplateau

A/ Établissement des constantes du pycnomètre

1. Pesée du pycnomètre propre et sec :
 $P = 67,7913 \text{ g}$
2. Pesée du pycnomètre plein d'eau à la température t °C :
 $P_1 = 169,2715 \text{ g}$ at 21,65 °C
3. Calcul de la masse d'air contenue dans le pycnomètre :
 $m = 0,0012 (P_1 - P)$
 $m = 0,0012 \times 101,4802$
 $m = 0,1218 \text{ g}$

4. Caractéristique à retenir :

Tare du pycnomètre vide : $P - m$
 $P - m = 67,7913 - 0,1218$
 $P - m = 67,6695 \text{ g}$

Volume à 20 °C = $[P_1 - (P - m)] \times F_t$ °C
 $F_{21,65 \text{ °C}} = 1,002140$
 $V_{20 \text{ °C}} = (169,2715 - 67,6695) \times 1,002140$
 $V_{20 \text{ °C}} = 101,8194 \text{ ml}$

Masse en eau à 20 °C = $V_{20 \text{ °C}} \times 0,998203$

$M_{20 \text{ °C}} = 101,6364 \text{ g}$
Masse du flacon tare : T_0
 $T_0 = 171,9160 \text{ g}$

B/ Détermination de la masse volumique à 20 °C et de la densité 20 °C/20 °C d'un vin sec :

$T_1 = 171,9178$
 $dT = 171,9178 - 171,9160 = +0,0018 \text{ g}$
 $P - m + dT = 67,6695 + 0,0018 = 67,6713 \text{ g}$
 $P_2 = 169,2799$ à 18 °C
 $\rho_{18 \text{ °C}} = \frac{169,2799 - 67,6713}{101,8194}$
 $\rho_{18 \text{ °C}} = 0,99793 \text{ g/ml}$

La Table II permet de calculer $\rho_{20 \text{ °C}}$ à partir de $\rho_t \text{ °C}$ à l'aide de la relation :

$$\rho_{20 \text{ °C}} = \rho_t \text{ °C} \pm \frac{c}{1000}$$

Pour $t = 18 \text{ °C}$ et pour un titre alcoométrique de 11% vol., on trouve $c = 0,49$:

$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99793 - \frac{0,49}{1000}$
 $\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99744 \text{ g/ml}$
 $d_{20 \text{ °C}}^{20 \text{ °C}} = \frac{0,99744}{0,998203} = 0,99923$

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Masse volumique à 20° C et densité relative 20°C/A 20° C

ANNEX II

Tables

TABLE I

Facteurs F

par lesquels il faut multiplier la masse de l'eau contenue dans le *pycnomètre en pyrex* à t° C pour 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	1,003797
,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	3	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	1,001286	,2	1,001839	,2	1,002485	1	1,003222	2	1,004042
3	1,000511	3	1,000855	3	1,001306	,3	1,001959	,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	3	1,002602	,7	1,003352	,7	1,004187
,8	1,000560	,8	1,000923	,8	1,001391	,8	1,001961	,8	1,002625	,8	1,003337	,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	1,003459		
,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	1,0010 2	,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		

TABLE II

Corrections de température sur la masse volumique des vins secs et des vins secs débarrassés d'alcool, mesurée dans un pycnomètre en *verre pyrex* à t °C pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{array}{l} - \text{ si } t \text{ °C est inférieure à } 20 \text{ °C} \\ + \text{ si } t \text{ °C est supérieure à } 20 \text{ °C} \end{array}$$

		Titres alcoométriques																									
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27		
Températures en °C	10	1,59	1,64	1,67	1,71	1,77	1,84	1,91	2,01	2,11	2,22	2,34	2,46	2,60	2,73	2,88	3,03	3,19	3,35	3,52	3,70	3,87	4,06	4,25	4,44		
	11	1,48	1,53	1,56	1,60	1,64	1,70	1,77	1,86	1,95	2,05	2,16	2,27	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,06	3,21	3,36	3,53	3,69	3,86	4,03		
	12	1,36	1,40	1,43	1,46	1,50	1,56	1,62	1,69	1,78	1,86	1,96	2,05	2,16	2,27	2,38	2,50	2,62	2,75	2,88	3,02	3,16	3,31	3,46	3,61		
	13	1,22	1,26	1,28	1,32	1,35	1,40	1,45	1,52	1,59	1,67	1,75	1,83	1,92	2,01	2,11	2,22	2,32	2,44	2,55	2,67	2,79	2,92	3,05	3,18		
	14	1,08	1,11	1,13	1,16	1,19	1,23	1,27	1,33	1,39	1,46	1,52	1,60	1,67	1,75	1,94	1,93	2,03	2,11	2,21	2,31	2,42	2,52	2,63	2,74		
	15	0,92	0,96	0,97	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,19	1,24	1,30	1,36	1,42	1,48	1,55	1,63	1,70	1,78	1,86	1,95	2,03	2,12	2,21	2,30		
	16	0,76	0,79	0,80	0,81	0,94	0,86	0,89	0,93	0,97	1,01	1,06	1,10	1,16	1,21	1,26	1,32	1,38	1,44	1,51	1,57	1,64	1,71	1,78	1,85		
	17	0,59	0,61	0,62	0,63	0,65	0,67	0,69	0,72	0,75	0,78	0,81	0,85	0,88	0,95	0,96	1,01	1,05	1,11	1,15	1,20	1,25	1,30	1,35	1,40		
	18	0,40	0,42	0,42	0,43	0,44	0,46	0,47	0,49	0,51	0,53	0,55	0,57	0,60	0,63	0,65	0,68	0,71	0,74	0,77	0,81	0,84	0,87	0,91	0,94		
	19	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,42	0,44	0,46	0,47		
	20																										
	21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,38	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48		
	22	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,49	0,51	0,52	0,54	0,56	0,59	0,61	0,63	0,66	0,69	0,71	0,74	0,77	0,80	0,83	0,87	0,90	0,93	0,97		
	23	0,68	0,70	0,71	0,72	0,74	0,76	0,78	0,80	0,83	0,86	0,90	0,93	0,96	1,00	1,03	1,08	1,13	1,17	1,22	1,26	1,31	1,37	1,41	1,46		
	24	0,93	0,96	0,97	0,99	1,01	1,03	1,06	1,10	1,13	1,18	1,22	1,26	1,31	1,36	1,41	1,47	1,52	1,58	1,64	1,71	1,77	1,84	1,90	1,97		
	25	1,19	1,23	1,25	1,27	1,29	1,32	1,36	1,40	1,45	1,50	1,55	1,61	1,67	1,73	1,80	1,86	1,93	2,00	2,08	2,16	2,24	2,32	2,40	2,48		
	26	1,47	1,51	1,53	1,56	1,59	1,62	1,67	1,72	1,77	1,83	1,90	1,96	2,03	2,11	2,19	2,27	2,35	2,44	2,53	2,62	2,72	2,81	2,91	3,01		
	27	1,75	1,80	1,82	1,85	1,89	1,93	1,98	2,04	2,11	2,18	2,25	2,33	2,41	2,50	2,59	2,68	2,78	2,88	2,98	3,09	3,20	3,31	3,42	3,53		
	28	2,04	2,10	2,13	2,16	2,20	2,25	2,31	2,38	2,45	2,53	2,62	2,70	2,80	2,89	3,00	3,10	3,21	3,32	3,45	3,57	3,69	3,82	3,94	4,07		
	29	2,34	2,41	2,44	2,48	2,53	2,58	2,65	2,72	2,81	2,89	2,99	3,09	3,19	3,30	3,42	3,53	3,65	3,78	3,92	4,05	4,19	4,33	4,47	4,61		
	30	2,66	2,73	2,77	2,81	2,86	2,92	3,00	3,08	3,17	3,27	3,37	3,48	3,59	3,72	3,84	3,97	4,11	4,25	4,40	4,55	4,70	4,85	4,92	5,17		

Note : On peut utiliser cette table pour transformer la densité d_t^t en d_{20}^{20}

TABLE III

Corrections c de température sur la masse volumique des moûts naturels et des moûts concentrés mesurée à t° à l'aide d'un pycnomètre en verre pyrex, pour ramener les résultats à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ si } t^{\circ} \text{ est inférieur à } 20^{\circ}\text{C} \\ + \text{ si } t^{\circ} \text{ est supérieure à } 20^{\circ}\text{C} \end{array}$$

		Masses volumiques																					
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36
Températures en °C	10	2,31	2,48	2,66	2,82	2,99	3,13	3,30	3,44	3,59	3,73	3,88	4,01	4,28	4,52	4,76	4,98	5,18	5,42	5,56	5,73	5,90	6,05
	11	2,12	2,28	2,42	2,57	2,72	2,86	2,99	3,12	3,25	3,37	3,50	3,62	3,85	4,08	4,29	4,148	4,67	4,84	5,00	5,16	5,31	5,45
	12	1,92	2,06	2,19	2,32	2,45	2,58	2,70	2,92	2,94	3,04	3,15	3,26	3,47	3,67	3,85	4,03	4,20	4,36	4,51	4,65	4,78	4,91
	13	1,72	1,84	1,95	2,06	2,17	2,27	2,38	2,48	2,58	2,69	2,78	2,89	3,05	3,22	3,39	3,55	3,65	3,84	3,98	4,11	4,24	4,36
	14	1,52	1,62	1,72	1,81	1,90	2,00	2,09	2,17	2,26	2,34	2,43	2,51	2,66	2,82	2,96	3,09	3,22	3,34	3,45	3,56	3,67	3,76
	15	1,28	1,36	1,44	1,52	1,60	1,67	1,75	1,82	1,89	1,96	2,04	2,11	2,24	2,36	2,48	2,59	2,69	2,79	2,88	2,97	3,03	3,10
	16	1,05	1,12	1,18	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,55	1,60	1,66	1,71	1,81	1,90	2,00	2,08	2,16	2,24	2,30	2,37	2,43	2,49
	17	0,80	0,86	0,90	0,95	1,00	1,04	1,09	1,13	1,18	1,22	1,26	1,30	1,37	1,44	1,51	1,57	1,62	1,68	1,72	1,76	1,80	1,84
	18	0,56	0,59	0,62	0,66	0,68	0,72	0,75	0,77	0,80	0,83	0,85	0,88	0,93	0,98	1,02	1,05	1,09	1,12	1,16	1,19	1,21	1,24
	19	0,29	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56	0,57	0,59	0,60	0,61	0,62
	20																						
	21	0,29	0,30	0,32	0,34	0,35	0,37	0,38	0,40	0,41	0,42	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,58	0,59	0,60	0,61	0,62	0,62
	22	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,79	0,81	0,84	0,87	0,90	0,96	1,03	1,05	1,09	1,12	1,15	1,18	1,20	1,22	1,23
	23	0,89	0,94	0,99	1,03	1,08	1,12	1,16	1,20	1,25	1,29	1,33	1,37	1,44	1,51	1,57	1,63	1,67	1,73	1,77	1,80	1,82	1,94
	24	1,20	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,66	1,71	1,77	1,82	1,92	2,01	2,10	2,17	2,24	2,30	2,36	2,40	2,42	2,44
	25	1,51	1,59	1,66	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,23	2,30	2,42	2,53	2,63	2,72	2,82	2,89	2,95	2,99	3,01	3,05
26	1,84	1,92	2,01	2,10	2,18	2,26	2,34	2,42	2,50	2,58	2,65	2,73	2,87	3,00	3,13	3,25	3,36	3,47	3,57	3,65	3,72	3,79	
27	2,17	2,26	2,36	2,46	2,56	2,66	2,75	2,84	2,93	3,01	3,10	3,18	3,35	3,50	3,66	3,80	3,93	4,06	4,16	4,26	4,35	4,42	
28	2,50	2,62	2,74	2,85	2,96	3,07	3,18	3,28	3,40	3,50	3,60	3,69	3,87	4,04	4,21	4,36	4,50	4,64	4,75	4,86	4,94	5,00	
29	2,86	2,98	3,10	3,22	3,35	3,47	3,59	3,70	3,82	3,93	4,03	4,14	4,34	4,53	4,72	4,89	5,05	5,20	5,34	5,46	5,56	5,64	
30	3,20	3,35	3,49	3,64	3,77	3,91	4,05	4,17	4,30	4,43	4,55	4,67	4,90	5,12	5,39	5,51	5,68	5,94	5,96	6,09	6,16	6,22	

Note : On peut utiliser cette table pour transformer la densité d_{20}^t en d_{20}^{20}

TABLE IV
 Corrections de températures sur la masse volumique des vins de liqueur
 mesurée à l'aide d'un pycnomètre en *verre pyrex*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{array}{l} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieure à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{if } t^\circ \text{ est supérieure à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

		Vins de 13% vol,						Vins de 15% vol,						Vins de 17% vol,								
		Masses volumiques						Masses volumiques						Masses volumiques								
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Températures en °C	10	2,36	2,71	3,06	3,42	3,72	3,96	4,32	2,64	2,99	3,36	3,68	3,99	4,30	4,59	2,94	3,29	3,64	3,98	4,29	4,60	4,89
	11	2,17	2,49	2,80	2,99	3,39	3,65	3,90	2,42	2,73	3,05	3,34	3,63	3,89	4,15	2,69	3,00	3,32	3,61	3,90	4,16	4,41
	12	1,97	2,25	2,53	2,79	3,05	3,29	3,52	2,19	2,47	2,75	3,01	3,27	3,51	3,73	2,42	2,70	2,98	3,24	3,50	3,74	3,96
	13	1,78	2,02	2,25	2,47	2,69	2,89	3,09	1,97	2,21	2,44	2,66	2,87	3,08	3,29	2,18	2,42	2,64	2,87	3,08	3,29	3,49
	14	1,57	1,78	1,98	2,16	2,35	2,53	2,70	1,74	1,94	2,14	2,32	2,52	2,69	2,86	1,91	2,11	2,31	2,50	2,69	2,86	3,03
	15	1,32	1,49	1,66	1,82	1,97	2,12	2,26	1,46	1,63	1,79	1,95	2,10	2,25	2,39	1,60	1,77	1,93	2,09	2,24	2,39	2,53
	16	1,08	1,22	1,36	1,48	1,61	1,73	1,84	1,18	1,32	1,46	1,59	1,71	1,83	1,94	1,30	1,44	1,58	1,71	1,83	1,95	2,06
	17	0,83	0,94	1,04	1,13	1,22	1,31	1,40	0,91	1,02	1,12	1,21	1,30	1,39	1,48	1,00	1,10	1,20	1,30	1,39	1,48	1,56
	18	0,58	0,64	0,71	0,78	0,84	0,89	0,95	0,63	0,69	0,76	0,83	0,89	0,94	1,00	0,69	0,75	0,82	0,89	0,95	1,00	1,06
	19	0,30	0,34	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,52	0,36	0,39	0,42	0,46	0,49	0,52	0,54
	20																					
21	0,30	0,33	0,36	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,36	0,39	0,43	0,46	0,49	0,51	0,35	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54	
22	0,60	0,67	0,73	0,80	0,85	0,91	0,98	0,65	0,72	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	0,71	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	1,07	
23	0,93	1,02	1,12	1,22	1,30	1,39	1,49	1,01	1,10	1,20	1,29	1,38	1,46	1,55	1,10	1,19	1,29	1,38	1,46	1,55	1,63	
24	1,27	1,39	1,50	1,61	1,74	1,84	1,95	1,37	1,49	1,59	1,72	1,84	1,95	2,06	1,48	1,60	1,71	1,83	1,95	2,06	2,17	
25	1,61	1,75	1,90	2,05	2,19	2,33	2,47	1,73	1,87	2,02	2,17	2,31	2,45	2,59	1,87	2,01	2,16	2,31	2,45	2,59	2,73	
26	1,94	2,12	2,29	2,47	2,63	2,79	2,95	2,09	2,27	2,44	2,62	2,78	2,94	3,10	2,26	2,44	2,61	2,79	2,95	3,11	3,26	
27	2,30	2,51	2,70	2,90	3,09	3,27	3,44	2,48	2,68	2,87	3,07	3,27	3,45	3,62	2,67	2,88	3,07	3,27	3,46	3,64	3,81	
28	2,66	2,90	3,13	3,35	3,57	3,86	4,00	2,86	3,10	3,23	3,55	3,77	3,99	4,20	3,08	3,31	3,55	3,76	3,99	4,21	4,41	
29	3,05	3,31	3,56	3,79	4,04	4,27	4,49	3,28	3,53	3,77	4,02	4,26	4,49	4,71	3,52	3,77	4,01	4,26	4,50	4,73	4,95	
30	3,44	3,70	3,99	4,28	4,54	4,80	5,06	3,68	3,94	4,23	4,52	4,79	5,05	5,30	3,95	4,22	4,51	4,79	5,07	5,32	5,57	

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Masse volumique à 20° C et densité relative 20°C/A 20°C

TABLE IV (suite)

corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur
 mesurée à l'aide d'un pycnomètre en *verre pyrex*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_{\tau} \pm \frac{c}{1000} \begin{array}{l} - \text{si } t^{\circ} \text{ est inférieure à } 20^{\circ} \text{C} \\ + \text{if } t^{\circ} \text{ est supérieure à } 20^{\circ} \text{C} \end{array}$$

		Vins de 19% vol,							Vins de 21% vol,						
		Masses volumiques							Masses volumiques						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,000	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Températures en °C	10	3,27	3,62	3,97	4,30	4,62	4,92	5,21	3,62	3,97	4,32	4,66	4,97	5,27	5,56
	11	2,99	3,30	3,61	3,90	4,19	4,45	4,70	3,28	3,61	3,92	4,22	4,50	4,76	5,01
	12	2,68	2,96	3,24	3,50	3,76	4,00	4,21	2,96	3,24	3,52	3,78	4,03	4,27	4,49
	13	2,68	2,96	3,24	3,50	3,76	4,00	4,21	2,96	3,24	3,52	3,78	4,03	4,27	4,49
	14	2,11	2,31	2,51	2,69	2,88	3,05	3,22	2,31	2,51	2,71	2,89	3,08	3,25	3,43
	15	1,76	1,93	2,09	2,25	2,40	2,55	2,69	1,93	2,10	2,26	2,42	2,57	2,72	2,86
	16	1,43	1,57	1,70	1,83	1,95	2,08	2,18	1,56	1,70	1,84	1,97	2,09	2,21	2,32
	17	1,09	1,20	1,30	1,39	1,48	1,57	1,65	1,20	1,31	1,41	1,50	1,59	1,68	1,77
	18	0,76	0,82	0,88	0,95	1,01	1,06	1,12	0,82	0,88	0,95	1,01	1,08	1,13	1,18
	19	0,39	0,42	0,45	0,49	0,52	0,55	0,57	0,42	0,46	0,49	0,52	0,55	0,58	0,61
	20														
21	0,38	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,41	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,60	
22	0,78	0,84	0,90	0,96	1,02	1,07	1,13	0,84	0,90	0,96	1,02	1,08	1,14	1,19	
23	1,19	1,28	1,38	1,47	1,55	1,64	1,72	1,29	1,39	1,48	1,57	1,65	1,74	1,82	
24	1,60	1,72	1,83	1,95	2,06	2,18	2,29	1,73	1,85	1,96	2,08	2,19	2,31	2,42	
25	2,02	2,16	2,31	2,46	2,60	2,74	2,88	2,18	2,32	2,47	2,62	2,76	2,90	3,04	
26	2,44	2,62	2,79	2,96	3,12	3,28	3,43	2,53	2,81	2,97	3,15	3,31	3,47	3,62	
27	2,88	3,08	3,27	3,42	3,66	3,84	4,01	3,10	3,30	3,47	3,69	3,88	4,06	4,23	
28	3,31	3,54	3,78	4,00	4,22	4,44	4,64	3,56	3,79	4,03	4,25	4,47	4,69	4,89	
29	3,78	4,03	4,27	4,52	4,76	4,99	5,21	4,06	4,31	4,55	4,80	5,04	5,27	5,48	
30	4,24	4,51	4,80	5,08	5,36	5,61	5,86	4,54	4,82	5,11	5,39	5,66	5,91	6,16	

TABLE V

Corrections c de température sur la masse volumique des vins secs et des vins secs débarrassés d'alcool
Mesurée à l'aide d'un pycnomètre ou d'un aréomètre en verre ordinaire, à t °C, pour la ramener à 20°C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{array}{l} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

		Titres alcoométriques																										
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27			
Températures en °C	10	1,45	1,51	1,55	1,58	1,64	1,76	1,78	1,89	1,98	2,09	2,21	2,34	2,47	2,60	2,75	2,93	3,06	3,22	3,39	3,57	3,75	3,93	4,12	4,31			
	11	1,35	1,40	1,43	1,47	1,52	1,58	1,65	1,73	1,83	1,93	2,03	2,15	2,26	2,38	2,51	2,65	2,78	2,93	3,08	3,24	3,40	3,57	3,73	3,90			
	12	1,24	1,28	1,31	1,34	1,39	1,44	1,50	1,58	1,66	1,75	1,84	1,94	2,04	2,15	2,26	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,05	3,19	3,34	3,49			
	13	1,12	1,16	1,18	1,21	1,25	1,30	1,35	1,42	1,49	1,56	1,64	1,73	1,82	1,91	2,01	2,11	2,22	2,33	2,45	2,57	2,69	2,81	2,95	3,07			
	14	0,99	1,03	1,05	1,07	1,11	1,14	1,19	1,24	1,31	1,37	1,44	1,52	1,59	1,67	1,75	1,84	1,93	2,03	2,13	2,23	2,33	2,44	2,55	2,66			
	15	0,86	0,89	0,90	0,92	0,95	0,98	1,02	1,07	1,12	1,17	1,23	1,29	1,35	1,42	1,49	1,56	1,63	1,71	1,80	1,88	1,96	2,05	2,14	2,23			
	16	0,71	0,73	0,74	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,91	0,95	0,99	1,05	1,10	1,15	1,21	1,27	1,33	1,39	1,45	1,52	1,59	1,66	1,73	1,80			
	17	0,55	0,57	0,57	0,59	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,74	0,77	0,81	0,84	0,88	0,92	0,96	1,01	1,05	1,10	1,15	1,20	1,26	1,31	1,36			
	18	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,74	0,78	0,81	0,85	0,88	0,91			
	19	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46			
	20																											
	21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,31	0,32	0,34	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48			
	22	0,43	0,45	0,45	0,46	0,47	0,49	0,50	0,52	0,54	0,56	0,58	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,73	0,77	0,80	0,83	0,86	0,89	0,93	0,96			
	23	0,67	0,69	0,70	0,71	0,72	0,74	0,77	0,79	0,82	0,85	0,88	0,91	0,95	0,99	1,03	1,07	1,12	1,16	1,21	1,25	1,30	1,35	1,40	1,45			
	24	0,91	0,93	0,95	0,97	0,99	1,01	1,04	1,07	1,11	1,15	1,20	1,24	1,29	1,34	1,39	1,45	1,50	1,56	1,62	1,69	1,76	1,82	1,88	1,95			
	25	1,16	1,19	1,21	1,23	1,26	1,29	1,33	1,37	1,42	1,47	1,52	1,57	1,63	1,70	1,76	1,83	1,90	1,97	2,05	2,13	2,21	2,29	2,37	2,45			
	26	1,42	1,46	1,49	1,51	1,54	1,58	1,62	1,67	1,73	1,79	1,85	1,92	1,99	2,07	2,14	2,22	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,77	2,86	2,96			
	27	1,69	1,74	1,77	1,80	1,83	1,88	1,93	1,98	2,05	2,12	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,72	2,82	2,93	3,04	3,14	3,25	3,37	3,48			
	28	1,97	2,03	2,06	2,09	2,14	2,19	2,24	2,31	2,38	2,46	2,55	2,63	2,73	2,83	2,93	3,03	3,14	3,26	3,38	3,50	3,62	3,75	3,85	4,00			
	29	2,26	2,33	2,37	2,41	2,45	2,50	2,57	2,64	2,73	2,82	2,91	2,99	3,11	3,22	3,34	3,46	3,58	3,70	3,84	3,97	4,11	4,25	4,39	4,54			
	30	2,56	2,64	2,67	2,72	2,77	2,83	2,90	2,98	3,08	3,18	3,28	3,38	3,50	3,62	3,75	3,88	4,02	4,16	4,30	4,46	4,61	4,76	4,92	5,07			

Note : On peut utiliser cette table pour transformer la densité d_{20}^t en d_{20}^{20}

TABLE VI
 Corrections c de température sur la masse volumique des moûts concentrés
 mesurée à t° à l'aide d'un pycnomètre ou d'un aréomètre en *verre ordinaire*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{matrix} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{matrix}$$

		Masses volumiques																						
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36	
Température en °C	10	2,17	2,34	2,52	2,68	2,85	2,99	3,16	3,29	3,44	3,58	3,73	3,86	4,13	4,36	4,60	4,82	5,02	5,25	5,39	5,56	-5,73	5,87	
	11	2,00	2,16	2,29	2,44	2,59	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,37	3,48	3,71	3,94	4,15	4,33	4,52	4,69	4,85	5,01	5,15	5,29	
	12	1,81	1,95	2,08	2,21	2,34	2,47	2,58	2,70	2,82	2,92	3,03	3,14	3,35	3,55	3,72	3,90	4,07	4,23	4,37	4,52	4,64	4,77	
	13	1,62	1,74	1,85	1,96	2,07	2,17	2,28	2,38	2,48	2,59	2,68	2,77	2,94	3,11	3,28	3,44	3,54	3,72	3,86	3,99	4,12	4,24	
	14	1,44	1,54	1,64	1,73	1,82	1,92	2,00	2,08	2,17	2,25	2,34	2,42	2,57	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,35	3,46	3,57	3,65	
	15	1,21	1,29	1,37	1,45	1,53	1,60	1,68	1,75	1,82	1,89	1,97	2,03	2,16	2,28	2,40	2,51	2,61	2,71	2,80	2,89	2,94	3,01	
	16	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,65	1,75	1,84	1,94	2,02	2,09	2,17	2,23	2,30	2,36	2,42	
	17	0,76	0,82	0,86	0,91	0,96	1,00	1,05	1,09	1,14	1,18	1,22	1,25	1,32	1,39	1,46	1,52	1,57	1,63	1,67	1,71	1,75	1,79	
	18	0,53	0,56	0,59	0,63	0,65	0,69	0,72	0,74	0,77	0,80	0,82	0,85	0,90	0,95	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,16	1,18	1,20	
	19	0,28	0,30	0,31	0,33	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,42	0,43	0,43	0,46	0,48	0,50	0,52	0,54	0,55	0,57	0,58	0,59	0,60	
	20																							
	21	0,28	0,29	0,31	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,51	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60	
	22	0,55	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,93	0,97	1,02	1,06	1,09	1,12	1,15	1,17	1,19	1,19	
	23	0,85	0,90	0,95	0,99	1,04	1,08	1,12	1,16	1,21	1,25	1,29	1,32	1,39	1,46	1,52	1,58	1,62	1,68	1,72	1,75	1,77	1,79	
	24	1,15	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,48	1,54	1,60	1,65	1,71	1,76	1,86	1,95	2,04	2,11	2,17	2,23	2,29	2,33	2,35	2,37	
	25	1,44	1,52	1,59	1,67	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,22	2,34	2,45	2,55	2,64	2,74	2,81	7,87	2,90	2,92	2,96	
	26	1,76	1,84	1,93	2,02	2,10	2,18	2,25	2,33	2,41	2,49	2,56	2,64	2,78	2,91	3,03	3,15	3,26	3,37	3,47	3,55	3,62	3,60	
	27	2,07	2,16	2,26	2,36	2,46	2,56	2,65	2,74	2,83	2,91	3,00	3,07	3,24	3,39	3,55	3,69	3,82	3,94	4,04	4,14	4,23	4,30	
	28	2,39	2,51	2,63	2,74	2,85	2,96	3,06	3,16	3,28	3,38	3,48	3,57	3,75	3,92	4,08	4,23	4,37	4,51	4,62	4,73	4,80	4,86	
	29	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22	3,34	3,46	3,57	3,69	3,90	3,90	4,00	4,20	4,39	4,58	4,74	4,90	5,05	5,19	5,31	5,40	5,48	
	30	3,06	3,21	3,35	3,50	3,63	3,77	3,91	4,02	4,15	4,28	4,40	4,52	4,75	4,96	5,16	5,35	5,52	5,67	5,79	5,91	5,99	6,04	

Note : n peut utiliser cette table pour transformer la densité d_{20}^t en d_{20}^{20}

TABLE VII

Corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur mesurée à t° à l'aide d'un aréomètre ou d'un pycnomètre en *verre ordinaire*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{ si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

		Vins de 13% volume							Vins de 15% volume							Vins de 17% volume						
		Masses volumiques							Masses volumiques							Masses volumiques						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Température en °C	10	2,24	2,58	2,93	3,27	3,59	3,89	4,18	2,51	2,85	3,20	3,54	3,85	4,02	4,46	2,81	3,15	3,50	3,84	4,15	4,45	4,74
	11	2,06	2,37	2,69	2,97	3,26	3,53	3,78	2,31	2,61	2,93	3,21	3,51	3,64	4,02	2,57	2,89	3,20	3,49	3,77	4,03	4,28
	12	1,87	2,14	2,42	2,67	2,94	3,17	3,40	2,09	2,36	2,64	2,90	3,16	3,27	3,61	2,32	2,60	2,87	3,13	3,39	3,63	3,84
	13	1,69	1,93	2,14	2,37	2,59	2,80	3,00	1,88	2,12	2,34	2,56	2,78	2,88	3,19	2,09	2,33	2,55	2,77	2,98	3,19	3,39
	14	1,49	1,70	1,90	2,09	2,27	2,44	2,61	1,67	1,86	2,06	2,25	2,45	2,51	2,77	1,83	2,03	2,23	2,42	2,61	2,77	2,94
	15	1,25	1,42	1,59	1,75	1,90	2,05	2,19	1,39	1,56	1,72	1,88	2,03	2,11	2,32	1,54	1,71	1,87	2,03	2,18	2,32	2,47
	16	1,03	1,17	1,30	1,43	1,55	1,67	1,78	1,06	1,27	1,40	1,53	1,65	1,77	1,88	1,25	1,39	1,52	1,65	1,77	1,89	2,00
	17	0,80	0,90	1,00	1,09	1,17	1,27	1,36	0,87	0,98	1,08	1,17	1,26	1,35	1,44	0,96	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,52
	18	0,54	0,61	0,68	0,75	0,81	0,86	0,92	0,60	0,66	0,73	0,80	0,85	0,91	0,97	0,66	0,72	0,79	0,86	0,92	0,97	1,03
	19	0,29	0,33	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,32	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,35	0,38	0,41	0,45	0,48	0,51	0,53
	20																					
21	0,29	0,32	0,35	0,39	0,42	0,45	0,47	0,32	0,35	0,38	0,42	0,45	0,48	0,50	0,34	0,38	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53	
22	0,57	0,64	0,70	0,76	0,82	0,88	0,93	0,63	0,69	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	0,68	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04	
23	0,89	0,98	1,08	1,17	1,26	1,34	1,43	0,97	1,06	1,16	1,25	1,34	1,42	1,51	1,06	1,15	1,25	1,34	1,42	1,51	1,59	
24	1,22	1,34	1,44	1,56	1,68	1,79	1,90	1,32	1,44	1,54	1,66	1,78	1,89	2,00	1,43	1,56	1,65	1,77	1,89	2,00	2,11	
25	1,61	1,68	1,83	1,98	2,12	2,26	2,40	1,66	1,81	1,96	2,11	2,25	2,39	2,52	1,80	1,94	2,09	2,24	2,39	2,52	2,66	
26	1,87	2,05	2,22	2,40	2,56	2,71	2,87	2,02	2,20	2,37	2,54	2,70	2,85	3,01	2,18	2,36	2,53	2,71	2,86	3,02	3,17	
27	2,21	2,42	2,60	2,80	3,00	3,18	3,35	2,39	2,59	2,78	2,98	3,17	3,35	3,52	2,58	2,78	2,97	3,17	3,36	3,54	3,71	
28	2,56	2,80	3,02	3,25	3,47	3,67	3,89	2,75	2,89	3,22	3,44	3,66	3,96	4,07	2,97	3,21	3,44	3,66	3,88	4,09	4,30	
29	2,93	3,19	3,43	3,66	3,91	4,14	4,37	3,16	3,41	3,65	3,89	4,13	4,36	4,59	3,40	3,66	3,89	4,13	4,38	4,61	4,82	
30	3,31	3,57	3,86	4,15	4,41	4,66	4,92	3,55	3,81	4,10	4,38	4,66	4,90	5,16	3,82	4,08	4,37	4,65	4,93	5,17	5,42	

TABLE VII (suite)

Corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur mesurée à t° à l'aide d'un aréomètre ou d'un pycnomètre en *verre ordinaire*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{ si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

		Vins de 19% volume							Vins de 21% volume							
		Masses volumiques							Masses volumiques							
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	
Températures en °C	10	3,14	3,48	3,83	4,17	4,48	4,78	5,07	3,50	3,84	4,19	4,52	4,83	5,12	5,41	
	11	2,87	3,18	3,49	3,78	4,06	4,32	4,57	3,18	3,49	3,80	4,09	4,34	4,63	4,88	
	12	2,58	2,96	3,13	3,39	3,65	3,88	4,10	2,86	3,13	3,41	3,67	3,92	4,15	4,37	
	13	2,31	2,55	2,77	2,99	3,20	3,41	3,61	2,56	2,79	3,01	3,23	3,44	3,65	3,85	
	14	2,03	2,23	2,43	2,61	2,80	2,96	3,13	2,23	2,43	2,63	2,81	3,00	3,16	3,33	
	15	1,69	1,86	2,02	2,18	2,33	2,48	2,62	1,86	2,03	2,19	2,35	2,50	2,65	2,80	
	16	1,38	1,52	1,65	1,78	1,90	2,02	2,13	1,51	1,65	1,78	1,91	2,03	2,15	2,26	
	17	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,53	1,62	1,15	1,25	1,35	1,45	1,54	1,63	1,71	
	18	0,73	0,79	0,85	0,92	0,98	1,03	1,09	0,79	0,85	0,92	0,98	1,05	1,10	1,15	
	19	0,38	0,41	0,44	0,48	0,51	0,52	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59	
	20															
	21	0,37	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59	
	22	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04	1,10	0,81	0,88	0,94	1,00	1,06	1,10	1,17	
	23	1,15	1,30	1,34	1,43	1,51	1,60	1,68	1,25	1,34	1,44	1,63	1,61	1,70	1,78	
24	1,55	1,67	1,77	1,89	2,00	2,11	2,23	1,68	1,80	1,90	2,02	2,13	2,25	2,36		
25	1,95	2,09	2,24	2,39	2,53	2,67	2,71	2,11	2,25	2,40	2,55	2,69	2,83	2,97		
26	2,36	2,54	2,71	2,89	3,04	3,20	3,35	2,55	2,73	2,90	3,07	3,22	3,38	3,54		
27	2,79	2,99	3,18	3,38	3,57	3,75	3,92	3,01	3,20	3,40	3,59	3,78	3,96	4,13		
28	3,20	3,44	3,66	3,89	4,11	4,32	4,53	3,46	3,69	3,93	4,15	4,36	4,58	4,77		
29	3,66	3,92	4,15	4,40	4,64	4,87	5,08	3,95	4,20	4,43	4,68	4,92	5,15	5,36		
30	4,11	4,37	4,66	4,94	5,22	5,46	5,71	4,42	4,68	4,97	5,25	5,53	5,77	6,02		

BIBLIOGRAPHIE

PYCNOMETRIE

Méthode de référence et méthode usuelle :

JAULMES P., *Bull, O,I,V.*, 1953, **26**, No 274, 6,

JAULMES P., BRUN Mme S., *Trav, Soc, Pharm., Montpellier*, 1956, **16**, 115 ;
1960,

20, 137 ; *Ann, Fals, Exp, Chim.*, 1963, **46**, 129 et 143,

BRUN Mme S, et TEP Y., *Ann, Fals, Exp, Chim.*, 37-40 ; *F,V., O,I,V.*, 1975, No
539,

**Évaluation de la teneur en sucres des moûts, des moûts concentrés et du sucre
de raisin par réfractométrie**
(Oeno 21/2004)

1. Principe de la méthode

L'indice de réfraction à 20 °C, exprimé en indice absolu ou en pourcentage en masse de saccharose, est reporté dans la table correspondante pour obtenir la teneur en sucres en grammes par litre et en grammes par kilogramme des moûts, des moûts concentrés et du sucre de raisin.

2. Appareillage

- Réfractomètre du type Abbé.

Le réfractomètre utilisé doit être pourvu d'une échelle indiquant :

- soit les pourcentages en masse de saccharose à 0,1 % près,
- soit les indices de réfraction avec 4 décimales.

Le réfractomètre doit être pourvu d'un thermomètre dont l'échelle s'étendra au moins de + 15 °C à + 25 °C et d'un dispositif de circulation d'eau permettant de faire les mesures à une température de 20 °C ± 5 °C.

Les instructions opératoires de cet instrument doivent être strictement suivies, notamment en ce qui concerne l'étalonnage et la source lumineuse.

3. Préparation de l'échantillon

3.1. Moûts et moûts concentrés

Passer les moûts éventuellement à travers une gaze sèche pliée en quatre et, après avoir éliminé les premières gouttes de filtrat, faire la détermination sur le produit filtré.

3.2. Sucre de raisin

Utiliser, selon sa concentration, soit le sucre de raisin, soit la solution obtenue en portant à 500 g, avec de l'eau, 200 g du sucre de raisin exactement pesés.

4. Mode opératoire

Amener l'échantillon à une température voisine de 20 °C.

Déposer une petite prise d'essai sur le prisme inférieur du réfractomètre en veillant à ce que, les prismes étant pressés l'un contre l'autre, la prise d'essai couvre uniformément la surface du verre, et effectuer la mesure conformément aux instructions opératoires de l'appareil utilisé.

Lire le pourcentage en masse de saccharose à 0,1 % près ou relever l'indice de réfraction avec quatre décimales.

Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé. Relever la température t °C.

5. Calculs

5.1. Correction de température

- Appareils gradués en % en masse de saccharose : utiliser la Table I pour la correction de température.
- Appareils gradués en indices de réfraction; reporter l'indice mesuré à t °C dans la Table II pour obtenir (colonne 1) la valeur correspondante du pourcentage en masse de saccharose à t °C. Cette valeur est corrigée de la température et exprimée à 20 °C au moyen de la Table I.

5.2. Teneur en sucres des moûts et des moûts concentrés

Reporter le pourcentage en masse de saccharose à 20 °C dans la Table II pour obtenir la teneur en sucres en grammes par litre et en grammes par kilogramme. La teneur en sucres est exprimée en sucre interverti avec une décimale.

5.3. Teneur en sucres du sucre de raisin

Reporter le pourcentage en masse de saccharose à 20 °C dans la table III pour obtenir la teneur en sucres en grammes par litre et en grammes par kilogramme. La teneur en sucre est exprimée en sucre interverti avec une décimale.

Si la mesure a été effectuée sur le sucre de raisin dilué, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

5.4. Indice de réfraction des moûts, des moûts concentrés et du sucre de raisin

Reporter le pourcentage en masse de saccharose à 20 °C dans la Table II pour obtenir l'indice de réfraction à 20 °C. Cet indice est exprimé avec quatre décimales.

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

Table I

Correction à apporter dans le cas où le pourcentage en masse de saccharose a été déterminé à une température différente de 20 °C.

Température °C	Titre massique mesuré en %													
	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
5	-0,82	-0,87	-0,92	-0,95	-0,99									
6	-0,80	-0,82	-0,87	-0,90	-0,94									
7	-0,74	-0,78	-0,82	-0,84	-0,88									
8	-0,69	-0,73	-0,76	-0,79	-0,82									
9	-0,64	-0,67	-0,71	-0,73	-0,75									
10	-0,59	-0,62	-0,65	-0,67	-0,69	-0,71	-0,72	-0,73	-0,74	-0,75	-0,75	-0,75	-0,75	-0,75
11	-0,54	-0,57	-0,59	-0,61	-0,63	-0,64	-0,65	-0,66	-0,67	-0,68	-0,68	-0,68	-0,68	-0,67
12	-0,49	-0,51	-0,53	-0,55	-0,56	-0,57	-0,58	-0,59	-0,60	-0,60	-0,61	-0,61	-0,60	-0,60
13	-0,43	-0,45	-0,47	-0,48	-0,50	-0,51	-0,52	-0,52	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53
14	-0,38	-0,39	-0,40	-0,42	-0,43	-0,44	-0,44	-0,45	-0,45	-0,46	-0,46	-0,46	-0,46	-0,45
15	-0,32	-0,33	-0,34	-0,35	-0,36	-0,37	-0,37	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38
16	-0,26	-0,27	-0,28	-0,28	-0,29	-0,30	-0,30	-0,30	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,30
17	-0,20	-0,20	-0,21	-0,21	-0,22	-0,22	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23
18	-0,13	-0,14	-0,14	-0,14	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15
19	-0,07	-0,07	-0,07	-0,07	-0,07	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08
20	0	R É F É R E N C E												0
21	+0,07	+0,07	+0,07	+0,07	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08
22	+0,14	+0,14	+0,15	+0,15	+0,15	+0,15	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,15	+0,15
23	+0,21	+0,22	+0,22	+0,23	+0,23	+0,23	+0,23	+0,24	+0,24	+0,24	+0,24	+0,23	+0,23	+0,23
24	+0,29	+0,29	+0,30	+0,30	+0,31	+0,31	+0,31	+0,32	+0,32	+0,32	+0,32	+0,31	+0,31	+0,31
25	+0,36	+0,37	+0,38	+0,38	+0,39	+0,39	+0,40	+0,40	+0,40	+0,40	+0,40	+0,39	+0,39	+0,39
26	+0,44	+0,45	+0,46	+0,46	+0,47	+0,47	+0,48	+0,48	+0,48	+0,48	+0,48	+0,47	+0,47	+0,46
27	+0,52	+0,53	+0,54	+0,55	+0,55	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,55	+0,55	+0,54
28	+0,60	+0,61	+0,62	+0,63	+0,64	+0,64	+0,64	+0,65	+0,65	+0,64	+0,64	+0,64	+0,63	+0,62
29	+0,68	+0,69	+0,70	+0,71	+0,72	+0,73	+0,73	+0,73	+0,73	+0,73	+0,72	+0,72	+0,71	+0,70
30	+0,77	+0,78	+0,79	+0,80	+0,81	+0,81	+0,81	+0,82	+0,81	+0,81	+0,81	+0,80	+0,79	+0,78
31	+0,85	+0,87	+0,88	+0,89	+0,89	+0,90	+0,90	+0,90	+0,90	+0,90	+0,89	+0,88	+0,87	+0,86
32	+0,94	+0,95	+0,96	+0,97	+0,98	+0,99	+0,99	+0,99	+0,99	+0,98	+0,97	+0,96	+0,95	+0,94
33	+1,03	+1,04	+1,05	+1,06	+1,07	+1,08	+1,08	+1,08	+1,07	+1,07	+1,06	+1,05	+1,03	+1,02
34	+1,12	+1,19	+1,15	+1,15	+1,16	+1,17	+1,17	+1,17	+1,16	+1,15	+1,14	+1,13	+1,12	+1,10
35	+1,22	+1,23	+1,24	+1,25	+1,25	+1,26	+1,26	+1,25	+1,25	+1,24	+1,23	+1,21	+1,20	+1,18
36	+1,31	+1,32	+1,33	+1,34	+1,35	+1,35	+1,35	+1,35	+1,34	+1,33	+1,32	+1,30	+1,28	+1,26
37	+1,41	+1,42	+1,43	+1,44	+1,44	+1,44	+1,44	+1,44	+1,43	+1,42	+1,40	+1,38	+1,36	+1,34
38	+1,51	+1,52	+1,53	+1,53	+1,54	+1,54	+1,53	+1,53	+1,52	+1,51	+1,49	+1,47	+1,45	+1,42
39	+1,61	+1,62	+1,62	+1,63	+1,63	+1,63	+1,63	+1,62	+1,61	+1,60	+1,58	+1,56	+1,53	+1,50
40	+1,71	+1,72	+1,72	+1,73	+1,73	+1,73	+1,72	+1,71	+1,70	+1,69	+1,67	+1,64	+1,62	+1,59

Il est préférable que les variations de température par rapport à 20 °C n'excèdent pas ± 5 °C.

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II

Table donnant la teneur en sucres des moûts et des moûts concentrés en grammes par litre et en grammes par kilogramme, déterminée au moyen d'un réfractomètre gradué, soit en pourcentage en masse de saccharose à 20 °C, soit en indice de réfraction à 20 °C. La masse volumique à 20 °C est également donnée.

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
10.0	1.34782	1.0391	82.2	79.1
10.1	1.34798	1.0395	83.3	80.1
10.2	1.34813	1.0399	84.3	81.1
10.3	1.34829	1.0403	85.4	82.1
10.4	1.34844	1.0407	86.5	83.1
10.5	1.34860	1.0411	87.5	84.1
10.6	1.34875	1.0415	88.6	85.0
10.7	1.34891	1.0419	89.6	86.0
10.8	1.34906	1.0423	90.7	87.0
10.9	1.34922	1.0427	91.8	88.0
11.0	1.34937	1.0431	92.8	89.0
11.1	1.34953	1.0436	93.9	90.0
11.2	1.34968	1.0440	95.0	91.0
11.3	1.34984	1.0444	96.0	92.0
11.4	1.34999	1.0448	97.1	92.9
11.5	1.35015	1.0452	98.2	93.9
11.6	1.35031	1.0456	99.3	94.9
11.7	1.35046	1.0460	100.3	95.9
11.8	1.35062	1.0464	101.4	96.9
11.9	1.35077	1.0468	102.5	97.9
12.0	1.35093	1.0472	103.5	98.9
12.1	1.35109	1.0477	104.6	99.9
12.2	1.35124	1.0481	105.7	100.8
12.3	1.35140	1.0485	106.8	101.8
12.4	1.35156	1.0489	107.8	102.8
12.5	1.35171	1.0493	108.9	103.8
12.6	1.35187	1.0497	110.0	104.8
12.7	1.35203	1.0501	111.1	105.8
12.8	1.35219	1.0506	112.2	106.8
12.9	1.35234	1.0510	113.2	107.8
13.0	1.35250	1.0514	114.3	108.7
13.1	1.35266	1.0518	115.4	109.7
13.2	1.35282	1.0522	116.5	110.7
13.3	1.35298	1.0527	117.6	111.7
13.4	1.35313	1.0531	118.7	112.7
13.5	1.35329	1.0535	119.7	113.7
13.6	1.35345	1.0539	120.8	114.7
13.7	1.35361	1.0543	121.9	115.6
13.8	1.35377	1.0548	123.0	116.6
13.9	1.35393	1.0552	124.1	117.6
14.0	1.35408	1.0556	125.2	118.6
14.1	1.35424	1.0560	126.3	119.6
14.2	1.35440	1.0564	127.4	120.6
14.3	1.35456	1.0569	128.5	121.6
14.4	1.35472	1.0573	129.6	122.5
14.5	1.35488	1.0577	130.6	123.5
14.6	1.35504	1.0581	131.7	124.5
14.7	1.35520	1.0586	132.8	125.5
14.8	1.35536	1.0590	133.9	126.5
14.9	1.35552	1.0594	135.0	127.5

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
15.0	1.35568	1.0598	136.1	128.4
15.1	1.35584	1.0603	137.2	129.4
15.2	1.35600	1.0607	138.3	130.4
15.3	1.35616	1.0611	139.4	131.4
15.4	1.35632	1.0616	140.5	132.4
15.5	1.35648	1.0620	141.6	133.4
15.6	1.35664	1.0624	142.7	134.3
15.7	1.35680	1.0628	143.8	135.3
15.8	1.35696	1.0633	144.9	136.3
15.9	1.35713	1.0637	146.0	137.3
16.0	1.35729	1.0641	147.1	138.3
16.1	1.35745	1.0646	148.2	139.3
16.2	1.35761	1.0650	149.3	140.2
16.3	1.35777	1.0654	150.5	141.2
16.4	1.35793	1.0659	151.6	142.2
16.5	1.35810	1.0663	152.7	143.2
16.6	1.35826	1.0667	153.8	144.2
16.7	1.35842	1.0672	154.9	145.1
16.8	1.35858	1.0676	156.0	146.1
16.9	1.35874	1.0680	157.1	147.1
17.0	1.35891	1.0685	158.2	148.1
17.1	1.35907	1.0689	159.3	149.1
17.2	1.35923	1.0693	160.4	150.0
17.3	1.35940	1.0698	161.6	151.0
17.4	1.35956	1.0702	162.7	152.0
17.5	1.35972	1.0707	163.8	153.0
17.6	1.35989	1.0711	164.9	154.0
17.7	1.36005	1.0715	166.0	154.9
17.8	1.36021	1.0720	167.1	155.9
17.9	1.36038	1.0724	168.3	156.9
18.0	1.36054	1.0729	169.4	157.9
18.1	1.36070	1.0733	170.5	158.9
18.2	1.36087	1.0737	171.6	159.8
18.3	1.36103	1.0742	172.7	160.8
18.4	1.36120	1.0746	173.9	161.8
18.5	1.36136	1.0751	175.0	162.8
18.6	1.36153	1.0755	176.1	163.7
18.7	1.36169	1.0760	177.2	164.7
18.8	1.36185	1.0764	178.4	165.7
18.9	1.36202	1.0768	179.5	166.7
19.0	1.36219	1.0773	180.6	167.6
19.1	1.36235	1.0777	181.7	168.6
19.2	1.36252	1.0782	182.9	169.6
19.3	1.36268	1.0786	184.0	170.6
19.4	1.36285	1.0791	185.1	171.5
19.5	1.36301	1.0795	186.2	172.5
19.6	1.36318	1.0800	187.4	173.5
19.7	1.36334	1.0804	188.5	174.5
19.8	1.36351	1.0809	189.6	175.4
19.9	1.36368	1.0813	190.8	176.4

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
20.0	1.36384	1.0818	191.9	177.4
20.1	1.36401	1.0822	193.0	178.4
20.2	1.36418	1.0827	194.2	179.3
20.3	1.36434	1.0831	195.3	180.3
20.4	1.36451	1.0836	196.4	181.3
20.5	1.36468	1.0840	197.6	182.3
20.6	1.36484	1.0845	198.7	183.2
20.7	1.36501	1.0849	199.8	184.2
20.8	1.36518	1.0854	201.0	185.2
20.9	1.36535	1.0858	202.1	186.1
21.0	1.36551	1.0863	203.3	187.1
21.1	1.36568	1.0867	204.4	188.1
21.2	1.36585	1.0872	205.5	189.1
21.3	1.36602	1.0876	206.7	190.0
21.4	1.36619	1.0881	207.8	191.0
21.5	1.36635	1.0885	209.0	192.0
21.6	1.36652	1.0890	210.1	192.9
21.7	1.36669	1.0895	211.3	193.9
21.8	1.36686	1.0899	212.4	194.9
21.9	1.36703	1.0904	213.6	195.9
22.0	1.36720	1.0908	214.7	196.8
22.1	1.36737	1.0913	215.9	197.8
22.2	1.36754	1.0917	217.0	198.8
22.3	1.36771	1.0922	218.2	199.7
22.4	1.36787	1.0927	219.3	200.7
22.5	1.36804	1.0931	220.5	201.7
22.6	1.36821	1.0936	221.6	202.6
22.7	1.36838	1.0940	222.8	203.6
22.8	1.36855	1.0945	223.9	204.6
22.9	1.36872	1.0950	225.1	205.5
23.0	1.36889	1.0954	226.2	206.5
23.1	1.36906	1.0959	227.4	207.5
23.2	1.36924	1.0964	228.5	208.4
23.3	1.36941	1.0968	229.7	209.4
23.4	1.36958	1.0973	230.8	210.4
23.5	1.36975	1.0977	232.0	211.3
23.6	1.36992	1.0982	233.2	212.3
23.7	1.37009	1.0987	234.3	213.3
23.8	1.37026	1.0991	235.5	214.2
23.9	1.37043	1.0996	236.6	215.2
24.0	1.37060	1.1001	237.8	216.2
24.1	1.37078	1.1005	239.0	217.1
24.2	1.37095	1.1010	240.1	218.1
24.3	1.37112	1.1015	241.3	219.1
24.4	1.37129	1.1019	242.5	220.0
24.5	1.37146	1.1024	243.6	221.0
24.6	1.37164	1.1029	244.8	222.0
24.7	1.37181	1.1033	246.0	222.9
24.8	1.37198	1.1038	247.1	223.9
24.9	1.37216	1.1043	248.3	224.8

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
25.0	1.37233	1.1047	249.5	225.8
25.1	1.37250	1.1052	250.6	226.8
25.2	1.37267	1.1057	251.8	227.7
25.3	1.37285	1.1062	253.0	228.7
25.4	1.37302	1.1066	254.1	229.7
25.5	1.37319	1.1071	255.3	230.6
25.6	1.37337	1.1076	256.5	231.6
25.7	1.37354	1.1080	257.7	232.5
25.8	1.37372	1.1085	258.8	233.5
25.9	1.37389	1.1090	260.0	234.5
26.0	1.37407	1.1095	261.2	235.4
26.1	1.37424	1.1099	262.4	236.4
26.2	1.37441	1.1104	263.6	237.3
26.3	1.37459	1.1109	264.7	238.3
26.4	1.37476	1.1114	265.9	239.3
26.5	1.37494	1.1118	267.1	240.2
26.6	1.37511	1.1123	268.3	241.2
26.7	1.37529	1.1128	269.5	242.1
26.8	1.37546	1.1133	270.6	243.1
26.9	1.37564	1.1138	271.8	244.1
27.0	1.37582	1.1142	273.0	245.0
27.1	1.37599	1.1147	274.2	246.0
27.2	1.37617	1.1152	275.4	246.9
27.3	1.37634	1.1157	276.6	247.9
27.4	1.37652	1.1161	277.8	248.9
27.5	1.37670	1.1166	278.9	249.8
27.6	1.37687	1.1171	280.1	250.8
27.7	1.37705	1.1176	281.3	251.7
27.8	1.37723	1.1181	282.5	252.7
27.9	1.37740	1.1185	283.7	253.6
28.0	1.37758	1.1190	284.9	254.6
28.1	1.37776	1.1195	286.1	255.5
28.2	1.37793	1.1200	287.3	256.5
28.3	1.37811	1.1205	288.5	257.5
28.4	1.37829	1.1210	289.7	258.4
28.5	1.37847	1.1214	290.9	259.4
28.6	1.37864	1.1219	292.1	260.3
28.7	1.37882	1.1224	293.3	261.3
28.8	1.37900	1.1229	294.5	262.2
28.9	1.37918	1.1234	295.7	263.2
29.0	1.37936	1.1239	296.9	264.2
29.1	1.37954	1.1244	298.1	265.1
29.2	1.37972	1.1248	299.3	266.1
29.3	1.37989	1.1253	300.5	267.0
29.4	1.38007	1.1258	301.7	268.0
29.5	1.38025	1.1263	302.9	268.9
29.6	1.38043	1.1268	304.1	269.9
29.7	1.38061	1.1273	305.3	270.8
29.8	1.38079	1.1278	306.5	271.8
29.9	1.38097	1.1283	307.7	272.7

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
30.0	1.38115	1.1287	308.9	273.7
30.1	1.38133	1.1292	310.1	274.6
30.2	1.38151	1.1297	311.3	275.6
30.3	1.38169	1.1302	312.6	276.5
30.4	1.38187	1.1307	313.8	277.5
30.5	1.38205	1.1312	315.0	278.5
30.6	1.38223	1.1317	316.2	279.4
30.7	1.38241	1.1322	317.4	280.4
30.8	1.38259	1.1327	318.6	281.3
30.9	1.38277	1.1332	319.8	282.3
31.0	1.38296	1.1337	321.1	283.2
31.1	1.38314	1.1342	322.3	284.2
31.2	1.38332	1.1346	323.5	285.1
31.3	1.38350	1.1351	324.7	286.1
31.4	1.38368	1.1356	325.9	287.0
31.5	1.38386	1.1361	327.2	288.0
31.6	1.38405	1.1366	328.4	288.9
31.7	1.38423	1.1371	329.6	289.9
31.8	1.38441	1.1376	330.8	290.8
31.9	1.38459	1.1381	332.1	291.8
32.0	1.38478	1.1386	333.3	292.7
32.1	1.38496	1.1391	334.5	293.7
32.2	1.38514	1.1396	335.7	294.6
32.3	1.38532	1.1401	337.0	295.6
32.4	1.38551	1.1406	338.2	296.5
32.5	1.38569	1.1411	339.4	297.5
32.6	1.38587	1.1416	340.7	298.4
32.7	1.38606	1.1421	341.9	299.4
32.8	1.38624	1.1426	343.1	300.3
32.9	1.38643	1.1431	344.4	301.3
33.0	1.38661	1.1436	345.6	302.2
33.1	1.38679	1.1441	346.8	303.2
33.2	1.38698	1.1446	348.1	304.1
33.3	1.38716	1.1451	349.3	305.0
33.4	1.38735	1.1456	350.6	306.0
33.5	1.38753	1.1461	351.8	306.9
33.6	1.38772	1.1466	353.0	307.9
33.7	1.38790	1.1471	354.3	308.8
33.8	1.38809	1.1476	355.5	309.8
33.9	1.38827	1.1481	356.8	310.7
34.0	1.38846	1.1486	358.0	311.7
34.1	1.38864	1.1491	359.2	312.6
34.2	1.38883	1.1496	360.5	313.6
34.3	1.38902	1.1501	361.7	314.5
34.4	1.38920	1.1507	363.0	315.5
34.5	1.38939	1.1512	364.2	316.4
34.6	1.38958	1.1517	365.5	317.4
34.7	1.38976	1.1522	366.7	318.3
34.8	1.38995	1.1527	368.0	319.2
34.9	1.39014	1.1532	369.2	320.2

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
35.0	1.39032	1.1537	370.5	321.1
35.1	1.39051	1.1542	371.8	322.1
35.2	1.39070	1.1547	373.0	323.0
35.3	1.39088	1.1552	374.3	324.0
35.4	1.39107	1.1557	375.5	324.9
35.5	1.39126	1.1563	376.8	325.9
35.6	1.39145	1.1568	378.0	326.8
35.7	1.39164	1.1573	379.3	327.8
35.8	1.39182	1.1578	380.6	328.7
35.9	1.39201	1.1583	381.8	329.6
36.0	1.39220	1.1588	383.1	330.6
36.1	1.39239	1.1593	384.4	331.5
36.2	1.39258	1.1598	385.6	332.5
36.3	1.39277	1.1603	386.9	333.4
36.4	1.39296	1.1609	388.1	334.4
36.5	1.39314	1.1614	389.4	335.3
36.6	1.39333	1.1619	390.7	336.3
36.7	1.39352	1.1624	392.0	337.2
36.8	1.39371	1.1629	393.2	338.1
36.9	1.39390	1.1634	394.5	339.1
37.0	1.39409	1.1640	395.8	340.0
37.1	1.39428	1.1645	397.0	341.0
37.2	1.39447	1.1650	398.3	341.9
37.3	1.39466	1.1655	399.6	342.9
37.4	1.39485	1.1660	400.9	343.8
37.5	1.39504	1.1665	402.1	344.7
37.6	1.39524	1.1671	403.4	345.7
37.7	1.39543	1.1676	404.7	346.6
37.8	1.39562	1.1681	406.0	347.6
37.9	1.39581	1.1686	407.3	348.5
38.0	1.39600	1.1691	408.6	349.4
38.1	1.39619	1.1697	409.8	350.4
38.2	1.39638	1.1702	411.1	351.3
38.3	1.39658	1.1707	412.4	352.3
38.4	1.39677	1.1712	413.7	353.2
38.5	1.39696	1.1717	415.0	354.2
38.6	1.39715	1.1723	416.3	355.1
38.7	1.39734	1.1728	417.6	356.0
38.8	1.39754	1.1733	418.8	357.0
38.9	1.39773	1.1738	420.1	357.9
39.0	1.39792	1.1744	421.4	358.9
39.1	1.39812	1.1749	422.7	359.8
39.2	1.39831	1.1754	424.0	360.7
39.3	1.39850	1.1759	425.3	361.7
39.4	1.39870	1.1765	426.6	362.6
39.5	1.39889	1.1770	427.9	363.6
39.6	1.39908	1.1775	429.2	364.5
39.7	1.39928	1.1780	430.5	365.4
39.8	1.39947	1.1786	431.8	366.4
39.9	1.39967	1.1791	433.1	367.3

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
40.0	1.39986	1.1796	434.4	368.3
40.1	1.40006	1.1801	435.7	369.2
40.2	1.40025	1.1807	437.0	370.1
40.3	1.40044	1.1812	438.3	371.1
40.4	1.40064	1.1817	439.6	372.0
40.5	1.40083	1.1823	440.9	373.0
40.6	1.40103	1.1828	442.2	373.9
40.7	1.40123	1.1833	443.6	374.8
40.8	1.40142	1.1839	444.9	375.8
40.9	1.40162	1.1844	446.2	376.7
41.0	1.40181	1.1849	447.5	377.7
41.1	1.40201	1.1855	448.8	378.6
41.2	1.40221	1.1860	450.1	379.5
41.3	1.40240	1.1865	451.4	380.5
41.4	1.40260	1.1871	452.8	381.4
41.5	1.40280	1.1876	454.1	382.3
41.6	1.40299	1.1881	455.4	383.3
41.7	1.40319	1.1887	456.7	384.2
41.8	1.40339	1.1892	458.0	385.2
41.9	1.40358	1.1897	459.4	386.1
42.0	1.40378	1.1903	460.7	387.0
42.1	1.40398	1.1908	462.0	388.0
42.2	1.40418	1.1913	463.3	388.9
42.3	1.40437	1.1919	464.7	389.9
42.4	1.40457	1.1924	466.0	390.8
42.5	1.40477	1.1929	467.3	391.7
42.6	1.40497	1.1935	468.6	392.7
42.7	1.40517	1.1940	470.0	393.6
42.8	1.40537	1.1946	471.3	394.5
42.9	1.40557	1.1951	472.6	395.5
43.0	1.40576	1.1956	474.0	396.4
43.1	1.40596	1.1962	475.3	397.3
43.2	1.40616	1.1967	476.6	398.3
43.3	1.40636	1.1973	478.0	399.2
43.4	1.40656	1.1978	479.3	400.2
43.5	1.40676	1.1983	480.7	401.1
43.6	1.40696	1.1989	482.0	402.0
43.7	1.40716	1.1994	483.3	403.0
43.8	1.40736	1.2000	484.7	403.9
43.9	1.40756	1.2005	486.0	404.8
44.0	1.40776	1.2011	487.4	405.8
44.1	1.40796	1.2016	488.7	406.7
44.2	1.40817	1.2022	490.1	407.6
44.3	1.40837	1.2027	491.4	408.6
44.4	1.40857	1.2032	492.8	409.5
44.5	1.40877	1.2038	494.1	410.4
44.6	1.40897	1.2043	495.5	411.4
44.7	1.40917	1.2049	496.8	412.3
44.8	1.40937	1.2054	498.2	413.3
44.9	1.40958	1.2060	499.5	414.2

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
45.0	1.40978	1.2065	500.9	415.1
45.1	1.40998	1.2071	502.2	416.1
45.2	1.41018	1.2076	503.6	417.0
45.3	1.41039	1.2082	504.9	417.9
45.4	1.41059	1.2087	506.3	418.9
45.5	1.41079	1.2093	507.7	419.8
45.6	1.41099	1.2098	509.0	420.7
45.7	1.41120	1.2104	510.4	421.7
45.8	1.41140	1.2109	511.7	422.6
45.9	1.41160	1.2115	513.1	423.5
46.0	1.41181	1.2120	514.5	424.5
46.1	1.41201	1.2126	515.8	425.4
46.2	1.41222	1.2131	517.2	426.3
46.3	1.41242	1.2137	518.6	427.3
46.4	1.41262	1.2142	519.9	428.2
46.5	1.41283	1.2148	521.3	429.1
46.6	1.41303	1.2154	522.7	430.1
46.7	1.41324	1.2159	524.1	431.0
46.8	1.41344	1.2165	525.4	431.9
46.9	1.41365	1.2170	526.8	432.9
47.0	1.41385	1.2176	528.2	433.8
47.1	1.41406	1.2181	529.6	434.7
47.2	1.41427	1.2187	530.9	435.7
47.3	1.41447	1.2192	532.3	436.6
47.4	1.41468	1.2198	533.7	437.5
47.5	1.41488	1.2204	535.1	438.5
47.6	1.41509	1.2209	536.5	439.4
47.7	1.41530	1.2215	537.9	440.3
47.8	1.41550	1.2220	539.2	441.3
47.9	1.41571	1.2226	540.6	442.2
48.0	1.41592	1.2232	542.0	443.1
48.1	1.41612	1.2237	543.4	444.1
48.2	1.41633	1.2243	544.8	445.0
48.3	1.41654	1.2248	546.2	445.9
48.4	1.41674	1.2254	547.6	446.8
48.5	1.41695	1.2260	549.0	447.8
48.6	1.41716	1.2265	550.4	448.7
48.7	1.41737	1.2271	551.8	449.6
48.8	1.41758	1.2277	553.2	450.6
48.9	1.41779	1.2282	554.6	451.5
49.0	1.41799	1.2288	556.0	452.4
49.1	1.41820	1.2294	557.4	453.4
49.2	1.41841	1.2299	558.8	454.3
49.3	1.41862	1.2305	560.2	455.2
49.4	1.41883	1.2311	561.6	456.2
49.5	1.41904	1.2316	563.0	457.1
49.6	1.41925	1.2322	564.4	458.0
49.7	1.41946	1.2328	565.8	458.9
49.8	1.41967	1.2333	567.2	459.9
49.9	1.41988	1.2339	568.6	460.8

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
50.0	1.42009	1.2345	570.0	461.7
50.1	1.42030	1.2350	571.4	462.7
50.2	1.42051	1.2356	572.8	463.6
50.3	1.42072	1.2362	574.2	464.5
50.4	1.42093	1.2368	575.6	465.4
50.5	1.42114	1.2373	577.1	466.4
50.6	1.42135	1.2379	578.5	467.3
50.7	1.42156	1.2385	579.9	468.2
50.8	1.42177	1.2390	581.3	469.2
50.9	1.42199	1.2396	582.7	470.1
51.0	1.42220	1.2402	584.2	471.0
51.1	1.42241	1.2408	585.6	471.9
51.2	1.42262	1.2413	587.0	472.9
51.3	1.42283	1.2419	588.4	473.8
51.4	1.42305	1.2425	589.9	474.7
51.5	1.42326	1.2431	591.3	475.7
51.6	1.42347	1.2436	592.7	476.6
51.7	1.42368	1.2442	594.1	477.5
51.8	1.42390	1.2448	595.6	478.4
51.9	1.42411	1.2454	597.0	479.4
52.0	1.42432	1.2460	598.4	480.3
52.1	1.42454	1.2465	599.9	481.2
52.2	1.42475	1.2471	601.3	482.1
52.3	1.42496	1.2477	602.7	483.1
52.4	1.42518	1.2483	604.2	484.0
52.5	1.42539	1.2488	605.6	484.9
52.6	1.42561	1.2494	607.0	485.8
52.7	1.42582	1.2500	608.5	486.8
52.8	1.42604	1.2506	609.9	487.7
52.9	1.42625	1.2512	611.4	488.6
53.0	1.42647	1.2518	612.8	489.5
53.1	1.42668	1.2523	614.2	490.5
53.2	1.42690	1.2529	615.7	491.4
53.3	1.42711	1.2535	617.1	492.3
53.4	1.42733	1.2541	618.6	493.2
53.5	1.42754	1.2547	620.0	494.2
53.6	1.42776	1.2553	621.5	495.1
53.7	1.42798	1.2558	622.9	496.0
53.8	1.42819	1.2564	624.4	496.9
53.9	1.42841	1.2570	625.8	497.9
54.0	1.42863	1.2576	627.3	498.8
54.1	1.42884	1.2582	628.7	499.7
54.2	1.42906	1.2588	630.2	500.6
54.3	1.42928	1.2594	631.7	501.6
54.4	1.42949	1.2600	633.1	502.5
54.5	1.42971	1.2606	634.6	503.4
54.6	1.42993	1.2611	636.0	504.3
54.7	1.43015	1.2617	637.5	505.2
54.8	1.43036	1.2623	639.0	506.2
54.9	1.43058	1.2629	640.4	507.1

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
55.0	1.43080	1.2635	641.9	508.0
55.1	1.43102	1.2641	643.4	508.9
55.2	1.43124	1.2647	644.8	509.9
55.3	1.43146	1.2653	646.3	510.8
55.4	1.43168	1.2659	647.8	511.7
55.5	1.43189	1.2665	649.2	512.6
55.6	1.43211	1.2671	650.7	513.5
55.7	1.43233	1.2677	652.2	514.5
55.8	1.43255	1.2683	653.7	515.4
55.9	1.43277	1.2689	655.1	516.3
56.0	1.43299	1.2695	656.6	517.2
56.1	1.43321	1.2701	658.1	518.1
56.2	1.43343	1.2706	659.6	519.1
56.3	1.43365	1.2712	661.0	520.0
56.4	1.43387	1.2718	662.5	520.9
56.5	1.43410	1.2724	664.0	521.8
56.6	1.43432	1.2730	665.5	522.7
56.7	1.43454	1.2736	667.0	523.7
56.8	1.43476	1.2742	668.5	524.6
56.9	1.43498	1.2748	669.9	525.5
57.0	1.43520	1.2754	671.4	526.4
57.1	1.43542	1.2760	672.9	527.3
57.2	1.43565	1.2766	674.4	528.3
57.3	1.43587	1.2773	675.9	529.2
57.4	1.43609	1.2779	677.4	530.1
57.5	1.43631	1.2785	678.9	531.0
57.6	1.43653	1.2791	680.4	531.9
57.7	1.43676	1.2797	681.9	532.8
57.8	1.43698	1.2803	683.4	533.8
57.9	1.43720	1.2809	684.9	534.7
58.0	1.43743	1.2815	686.4	535.6
58.1	1.43765	1.2821	687.9	536.5
58.2	1.43787	1.2827	689.4	537.4
58.3	1.43810	1.2833	690.9	538.3
58.4	1.43832	1.2839	692.4	539.3
58.5	1.43855	1.2845	693.9	540.2
58.6	1.43877	1.2851	695.4	541.1
58.7	1.43899	1.2857	696.9	542.0
58.8	1.43922	1.2863	698.4	542.9
58.9	1.43944	1.2870	699.9	543.8
59.0	1.43967	1.2876	701.4	544.8
59.1	1.43989	1.2882	702.9	545.7
59.2	1.44012	1.2888	704.4	546.6
59.3	1.44035	1.2894	706.0	547.5
59.4	1.44057	1.2900	707.5	548.4
59.5	1.44080	1.2906	709.0	549.3
59.6	1.44102	1.2912	710.5	550.2
59.7	1.44125	1.2919	712.0	551.1
59.8	1.44148	1.2925	713.5	552.1
59.9	1.44170	1.2931	715.1	553.0

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
60.0	1.44193	1.2937	716.6	553.9
60.1	1.44216	1.2943	718.1	554.8
60.2	1.44238	1.2949	719.6	555.7
60.3	1.44261	1.2956	721.1	556.6
60.4	1.44284	1.2962	722.7	557.5
60.5	1.44306	1.2968	724.2	558.4
60.6	1.44329	1.2974	725.7	559.4
60.7	1.44352	1.2980	727.3	560.3
60.8	1.44375	1.2986	728.8	561.2
60.9	1.44398	1.2993	730.3	562.1
61.0	1.44420	1.2999	731.8	563.0
61.1	1.44443	1.3005	733.4	563.9
61.2	1.44466	1.3011	734.9	564.8
61.3	1.44489	1.3017	736.4	565.7
61.4	1.44512	1.3024	738.0	566.6
61.5	1.44535	1.3030	739.5	567.6
61.6	1.44558	1.3036	741.1	568.5
61.7	1.44581	1.3042	742.6	569.4
61.8	1.44604	1.3049	744.1	570.3
61.9	1.44627	1.3055	745.7	571.2
62.0	1.44650	1.3061	747.2	572.1
62.1	1.44673	1.3067	748.8	573.0
62.2	1.44696	1.3074	750.3	573.9
62.3	1.44719	1.3080	751.9	574.8
62.4	1.44742	1.3086	753.4	575.7
62.5	1.44765	1.3092	755.0	576.6
62.6	1.44788	1.3099	756.5	577.5
62.7	1.44811	1.3105	758.1	578.5
62.8	1.44834	1.3111	759.6	579.4
62.9	1.44858	1.3118	761.2	580.3
63.0	1.44881	1.3124	762.7	581.2
63.1	1.44904	1.3130	764.3	582.1
63.2	1.44927	1.3137	765.8	583.0
63.3	1.44950	1.3143	767.4	583.9
63.4	1.44974	1.3149	769.0	584.8
63.5	1.44997	1.3155	770.5	585.7
63.6	1.45020	1.3162	772.1	586.6
63.7	1.45043	1.3168	773.6	587.5
63.8	1.45067	1.3174	775.2	588.4
63.9	1.45090	1.3181	776.8	589.3
64.0	1.45113	1.3187	778.3	590.2
64.1	1.45137	1.3193	779.9	591.1
64.2	1.45160	1.3200	781.5	592.0
64.3	1.45184	1.3206	783.0	592.9
64.4	1.45207	1.3213	784.6	593.8
64.5	1.45230	1.3219	786.2	594.7
64.6	1.45254	1.3225	787.8	595.6
64.7	1.45277	1.3232	789.3	596.5
64.8	1.45301	1.3238	790.9	597.4
64.9	1.45324	1.3244	792.5	598.3

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
65.0	1.45348	1.3251	794.1	599.3
65.1	1.45371	1.3257	795.6	600.2
65.2	1.45395	1.3264	797.2	601.1
65.3	1.45418	1.3270	798.8	602.0
65.4	1.45442	1.3276	800.4	602.9
65.5	1.45466	1.3283	802.0	603.8
65.6	1.45489	1.3289	803.6	604.7
65.7	1.45513	1.3296	805.1	605.6
65.8	1.45537	1.3302	806.7	606.5
65.9	1.45560	1.3309	808.3	607.4
66.0	1.45584	1.3315	809.9	608.3
66.1	1.45608	1.3322	811.5	609.2
66.2	1.45631	1.3328	813.1	610.1
66.3	1.45655	1.3334	814.7	611.0
66.4	1.45679	1.3341	816.3	611.9
66.5	1.45703	1.3347	817.9	612.8
66.6	1.45726	1.3354	819.5	613.7
66.7	1.45750	1.3360	821.1	614.6
66.8	1.45774	1.3367	822.7	615.5
66.9	1.45798	1.3373	824.3	616.3
67.0	1.45822	1.3380	825.9	617.2
67.1	1.45846	1.3386	827.5	618.1
67.2	1.45870	1.3393	829.1	619.0
67.3	1.45893	1.3399	830.7	619.9
67.4	1.45917	1.3406	832.3	620.8
67.5	1.45941	1.3412	833.9	621.7
67.6	1.45965	1.3419	835.5	622.6
67.7	1.45989	1.3425	837.1	623.5
67.8	1.46013	1.3432	838.7	624.4
67.9	1.46037	1.3438	840.3	625.3
68.0	1.46061	1.3445	841.9	626.2
68.1	1.46085	1.3451	843.6	627.1
68.2	1.46109	1.3458	845.2	628.0
68.3	1.46134	1.3464	846.8	628.9
68.4	1.46158	1.3471	848.4	629.8
68.5	1.46182	1.3478	850.0	630.7
68.6	1.46206	1.3484	851.6	631.6
68.7	1.46230	1.3491	853.3	632.5
68.8	1.46254	1.3497	854.9	633.4
68.9	1.46278	1.3504	856.5	634.3
69.0	1.46303	1.3510	858.1	635.2
69.1	1.46327	1.3517	859.8	636.1
69.2	1.46351	1.3524	861.4	636.9
69.3	1.46375	1.3530	863.0	637.8
69.4	1.46400	1.3537	864.7	638.7
69.5	1.46424	1.3543	866.3	639.6
69.6	1.46448	1.3550	867.9	640.5
69.7	1.46473	1.3557	869.5	641.4
69.8	1.46497	1.3563	871.2	642.3
69.9	1.46521	1.3570	872.8	643.2

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE II - (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de réfraction à 20 °C	Masse volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
70.0	1.46546	1.3576	874.5	644.1
70.1	1.46570	1.3583	876.1	645.0
70.2	1.46594	1.3590	877.7	645.9
70.3	1.46619	1.3596	879.4	646.8
70.4	1.46643	1.3603	881.0	647.7
70.5	1.46668	1.3610	882.7	648.5
70.6	1.46692	1.3616	884.3	649.4
70.7	1.46717	1.3623	886.0	650.3
70.8	1.46741	1.3630	887.6	651.2
70.9	1.46766	1.3636	889.3	652.1
71.0	1.46790	1.3643	890.9	653.0
71.1	1.46815	1.3650	892.6	653.9
71.2	1.46840	1.3656	894.2	654.8
71.3	1.46864	1.3663	895.9	655.7
71.4	1.46889	1.3670	897.5	656.6
71.5	1.46913	1.3676	899.2	657.5
71.6	1.46938	1.3683	900.8	658.3
71.7	1.46963	1.3690	902.5	659.2
71.8	1.46987	1.3696	904.1	660.1
71.9	1.47012	1.3703	905.8	661.0
72.0	1.47037	1.3710	907.5	661.9
72.1	1.47062	1.3717	909.1	662.8
72.2	1.47086	1.3723	910.8	663.7
72.3	1.47111	1.3730	912.5	664.6
72.4	1.47136	1.3737	914.1	665.5
72.5	1.47161	1.3743	915.8	666.3
72.6	1.47186	1.3750	917.5	667.2
72.7	1.47210	1.3757	919.1	668.1
72.8	1.47235	1.3764	920.8	669.0
72.9	1.47260	1.3770	922.5	669.9
73.0	1.47285	1.3777	924.2	670.8
73.1	1.47310	1.3784	925.8	671.7
73.2	1.47335	1.3791	927.5	672.6
73.3	1.47360	1.3797	929.2	673.5
73.4	1.47385	1.3804	930.9	674.3
73.5	1.47410	1.3811	932.6	675.2
73.6	1.47435	1.3818	934.3	676.1
73.7	1.47460	1.3825	935.9	677.0
73.8	1.47485	1.3831	937.6	677.9
73.9	1.47510	1.3838	939.3	678.8
74.0	1.47535	1.3845	941.0	679.7
74.1	1.47560	1.3852	942.7	680.6
74.2	1.47585	1.3859	944.4	681.4
74.3	1.47610	1.3865	946.1	682.3
74.4	1.47635	1.3872	947.8	683.2
74.5	1.47661	1.3879	949.5	684.1
74.6	1.47686	1.3886	951.2	685.0
74.7	1.47711	1.3893	952.9	685.9
74.8	1.47736	1.3899	954.6	686.8
74.9	1.47761	1.3906	956.3	687.7

TABLE III

Table donnant la teneur en sucres, exprimée en sucre interverti, du sucre de raisin en grammes par litre et es par litre et en grammes par kilogramme, déterminée au moyen d'un réfractomètre gradué, soit en pourcentage en masse de saccharose à 20 °C, soit en indice de réfraction à 20 °C. La masse volumique à 20 °C est également donnée

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE III

Saccharose	Indice de	Masse	Sucres en	Sucres en
50,0	1,42008	1,2342	627,6	508,5
50,1	1,42029	1,2348	629,3	509,6
50,2	1,42050	1,2355	630,9	510,6
50,3	1,42071	1,2362	632,4	511,6
50,4	1,42092	1,2367	634,1	512,7
50,5	1,42113	1,2374	635,7	513,7
50,6	1,42135	1,2381	637,3	514,7
50,7	1,42156	1,2386	638,7	515,7
50,8	1,42177	1,2391	640,4	516,8
50,9	1,42198	1,2396	641,9	517,8
51,0	1,42219	1,2401	643,4	518,8
51,1	1,42240	1,2406	645,0	519,9
51,2	1,42261	1,2411	646,5	520,9
51,3	1,42282	1,2416	648,1	522,0
51,4	1,42304	1,2421	649,6	523,0
51,5	1,42325	1,2427	651,2	524,0
51,6	1,42347	1,2434	652,9	525,1
51,7	1,42368	1,2441	654,5	526,1
51,8	1,42389	1,2447	656,1	527,1
51,9	1,42410	1,2454	657,8	528,2
52,0	1,42432	1,2461	659,4	529,2
52,1	1,42453	1,2466	661,0	530,2
52,2	1,42475	1,2470	662,5	531,3
52,3	1,42496	1,2475	664,1	532,3
52,4	1,42517	1,2480	665,6	533,3
52,5	1,42538	1,2486	667,2	534,4
52,6	1,42560	1,2493	668,9	535,4
52,7	1,42581	1,2500	670,5	536,4
52,8	1,42603	1,2506	672,2	537,5
52,9	1,42624	1,2513	673,8	538,5
53,0	1,42645	1,2520	675,5	539,5
53,1	1,42667	1,2525	677,1	540,6
53,2	1,42689	1,2530	678,5	541,5
53,3	1,42711	1,2535	680,2	542,6
53,4	1,42733	1,2540	681,8	543,7
53,5	1,42754	1,2546	683,4	544,7
53,6	1,42776	1,2553	685,1	545,8
53,7	1,42797	1,2560	686,7	546,7
53,8	1,42819	1,2566	688,4	547,8
53,9	1,42840	1,2573	690,1	548,9
54,0	1,42861	1,2580	691,7	549,8
54,1	1,42884	1,2585	693,3	550,9
54,2	1,42906	1,2590	694,9	551,9
54,3	1,42927	1,2595	696,5	553,0
54,4	1,42949	1,2600	698,1	554,0
54,5	1,42971	1,2606	699,7	555,1
54,6	1,42993	1,2613	701,4	556,1
54,7	1,43014	1,2620	703,1	557,1
54,8	1,43036	1,2625	704,7	558,2
54,9	1,43058	1,2630	706,2	559,1

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE III (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de Réfraction à 20 °C	Masse Volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
55,0	1,43079	1,2635	707,8	560,2
55,1	1,43102	1,2639	709,4	561,3
55,2	1,43124	1,2645	711,0	562,3
55,3	1,43146	1,2652	712,7	563,3
55,4	1,43168	1,2659	714,4	564,3
55,5	1,43189	1,2665	716,1	565,4
55,6	1,43211	1,2672	717,8	566,4
55,7	1,43233	1,2679	719,5	567,5
55,8	1,43255	1,2685	721,1	568,5
55,9	1,43277	1,2692	722,8	569,5
56,0	1,43298	1,2699	724,5	570,5
56,1	1,43321	1,2703	726,1	571,6
56,2	1,43343	1,2708	727,7	572,6
56,3	1,43365	1,2713	729,3	573,7
56,4	1,43387	1,2718	730,9	574,7
56,5	1,43409	1,2724	732,6	575,8
56,6	1,43431	1,2731	734,3	576,8
56,7	1,43454	1,2738	736,0	577,8
56,8	1,43476	1,2744	737,6	578,8
56,9	1,43498	1,2751	739,4	579,9
57,0	1,43519	1,2758	741,1	580,9
57,1	1,43542	1,2763	742,8	582,0
57,2	1,43564	1,2768	744,4	583,0
57,3	1,43586	1,2773	745,9	584,0
57,4	1,43609	1,2778	747,6	585,1
57,5	1,43631	1,2784	749,3	586,1
57,6	1,43653	1,2791	751,0	587,1
57,7	1,43675	1,2798	752,7	588,1
57,8	1,43698	1,2804	754,4	589,2
57,9	1,43720	1,2810	756,1	590,2
58,0	1,43741	1,2818	757,8	591,2
58,1	1,43764	1,2822	759,5	592,3
58,2	1,43784	1,2827	761,1	593,4
58,3	1,43909	1,2832	762,6	594,3
58,4	1,43832	1,2837	764,3	595,4
58,5	1,43854	1,2843	766,0	596,4
58,6	1,43877	1,2850	767,8	597,5
58,7	1,43899	1,2857	769,5	598,5
58,8	1,43922	1,2863	771,1	599,5
58,9	1,43944	1,2869	772,9	600,6
59,0	1,43966	1,2876	774,6	601,6
59,1	1,43988	1,2882	776,3	602,6
59,2	1,44011	1,2889	778,1	603,7
59,3	1,44034	1,2896	779,8	604,7
59,4	1,44057	1,2902	781,6	605,8
59,5	1,44079	1,2909	783,3	606,8
59,6	1,44102	1,2916	785,2	607,9
59,7	1,44124	1,2921	786,8	608,9
59,8	1,44147	1,2926	788,4	609,9
59,9	1,44169	1,2931	790,0	610,9

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE III (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de Réfraction à 20 °C	Masse Volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
60,0	1,44192	1,2936	791,7	612,0
60,1	1,44215	1,2942	793,3	613,0
60,2	1,44238	1,2949	795,2	614,1
60,3	1,44260	1,2956	796,9	615,1
60,4	1,44283	1,2962	798,6	616,1
60,5	1,44305	1,2969	800,5	617,2
60,6	1,44328	1,2976	802,2	618,2
60,7	1,44351	1,2981	803,9	619,3
60,8	1,44374	1,2986	805,5	620,3
60,9	1,44397	1,2991	807,1	621,3
61,0	1,44419	1,2996	808,7	622,3
61,1	1,44442	1,3002	810,5	623,4
61,2	1,44465	1,3009	812,3	624,4
61,3	1,44488	1,3016	814,2	625,5
61,4	1,44511	1,3022	815,8	626,5
61,5	1,44534	1,3029	817,7	627,6
61,6	1,44557	1,3036	819,4	628,6
61,7	1,44580	1,3042	821,3	629,7
61,8	1,44603	1,3049	823,0	630,7
61,9	1,44626	1,3056	824,8	631,7
62,0	1,44648	1,3062	826,6	632,8
62,1	1,44672	1,3068	828,3	633,8
62,2	1,44695	1,3075	830,0	634,8
62,3	1,44718	1,3080	831,8	635,9
62,4	1,44741	1,3085	833,4	636,9
62,5	1,44764	1,3090	835,1	638,0
62,6	1,44787	1,3095	836,8	639,0
62,7	1,44810	1,3101	838,5	640,0
62,8	1,44833	1,3108	840,2	641,0
62,9	1,44856	1,3115	842,1	642,1
63,0	1,44879	1,3121	843,8	643,1
63,1	1,44902	1,3128	845,7	644,2
63,2	1,44926	1,3135	847,5	645,2
63,3	1,44949	1,3141	849,3	646,3
63,4	1,44972	1,3148	851,1	647,3
63,5	1,44995	1,3155	853,0	648,4
63,6	1,45019	1,3161	854,7	649,4
63,7	1,45042	1,3168	856,5	650,4
63,8	1,45065	1,3175	858,4	651,5
63,9	1,45088	1,3180	860,0	652,5
64,0	1,45112	1,3185	861,6	653,5
64,1	1,45135	1,3190	863,4	654,6
64,2	1,45158	1,3195	865,1	655,6
64,3	1,45181	1,3201	866,9	656,7
64,4	1,45205	1,3208	868,7	657,7
64,5	1,45228	1,3215	870,6	658,8
64,6	1,45252	1,3221	872,3	659,8
64,7	1,45275	1,3228	874,1	660,8
64,8	1,45299	1,3235	876,0	661,9
64,9	1,45322	1,3241	877,8	662,9

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE III (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de Réfraction à 20 °C	Masse Volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
65,0	1,45347	1,3248	879,7	664,0
65,1	1,45369	1,3255	881,5	665,0
65,2	1,45393	1,3261	883,2	666,0
65,3	1,45416	1,3268	885,0	667,0
65,4	1,45440	1,3275	886,9	668,1
65,5	1,45463	1,3281	888,8	669,2
65,6	1,45487	1,3288	890,6	670,2
65,7	1,45510	1,3295	892,4	671,2
65,8	1,45534	1,3301	894,2	672,3
65,9	1,45557	1,3308	896,0	673,3
66,0	1,45583	1,3315	898,0	674,4
66,1	1,45605	1,3320	899,6	675,4
66,2	1,45629	1,3325	901,3	676,4
66,3	1,45652	1,3330	903,1	677,5
66,4	1,45676	1,3335	904,8	678,5
66,5	1,45700	1,3341	906,7	679,6
66,6	1,45724	1,3348	908,5	680,6
66,7	1,45747	1,3355	910,4	681,7
66,8	1,45771	1,3361	912,2	682,7
66,9	1,45795	1,3367	913,9	683,7
67,0	1,45820	1,3374	915,9	684,8
67,1	1,45843	1,3380	917,6	685,8
67,2	1,45867	1,3387	919,6	686,9
67,3	1,45890	1,3395	921,4	687,9
67,4	1,45914	1,3400	923,1	688,9
67,5	1,45938	1,3407	925,1	690,0
67,6	1,45962	1,3415	927,0	691,0
67,7	1,45986	1,3420	928,8	692,1
67,8	1,46010	1,3427	930,6	693,1
67,9	1,46034	1,3434	932,6	694,2
68,0	1,46060	1,3440	934,4	695,2
68,1	1,46082	1,3447	936,2	696,2
68,2	1,46106	1,3454	938,0	697,2
68,3	1,46130	1,3460	939,9	698,3
68,4	1,46154	1,3466	941,8	699,4
68,5	1,46178	1,3473	943,7	700,4
68,6	1,46202	1,3479	945,4	701,4
68,7	1,46226	1,3486	947,4	702,5
68,8	1,46251	1,3493	949,2	703,5
68,9	1,46275	1,3499	951,1	704,6
69,0	1,46301	1,3506	953,0	705,6
69,1	1,46323	1,3513	954,8	706,6
69,2	1,46347	1,3519	956,7	707,7
69,3	1,46371	1,3526	958,6	708,7
69,4	1,46396	1,3533	960,6	709,8
69,5	1,46420	1,3539	962,4	710,8
69,6	1,46444	1,3546	964,3	711,9
69,7	1,46468	1,3553	966,2	712,9
69,8	1,46493	1,3560	968,2	714,0
69,9	1,46517	1,3566	970,0	715,0

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

TABLE III (suite)

Saccharose % (m/m)	Indice de Réfraction à 20 °C	Masse Volumique à 20 °C	Sucres en g/l	Sucres en g/kg
70,0	1,46544	1,3573	971,8	716,0
70,1	1,46565	1,3579	973,8	717,1
70,2	1,46590	1,3586	975,6	718,1
70,3	1,46614	1,3593	977,6	719,2
70,4	1,46639	1,3599	979,4	720,2
70,5	1,46663	1,3606	981,3	721,2
70,6	1,46688	1,3613	983,3	722,3
70,7	1,46712	1,3619	985,2	723,4
70,8	1,46737	1,3626	987,1	724,4
70,9	1,46761	1,3633	988,9	725,4
71,0	1,46789	1,3639	990,9	726,5
71,1	1,46810	1,3646	992,8	727,5
71,2	1,46835	1,3653	994,8	728,6
71,3	1,46859	1,3659	996,6	729,6
71,4	1,46884	1,3665	998,5	730,7
71,5	1,46908	1,3672	1000,4	731,7
71,6	1,46933	1,3678	1002,2	732,7
71,7	1,46957	1,3685	1004,2	733,8
71,8	1,46982	1,3692	1006,1	734,8
71,9	1,47007	1,3698	1008,0	735,9
72,0	1,47036	1,3705	1009,9	736,9
72,1	1,47056	1,3712	1012,0	738,0
72,2	1,47081	1,3718	1013,8	739,0
72,3	1,47106	1,3725	1015,7	740,0
72,4	1,47131	1,3732	1017,7	741,1
72,5	1,47155	1,3738	1019,5	742,1
72,6	1,47180	1,3745	1021,5	743,2
72,7	1,47205	1,3752	1023,4	744,2
72,8	1,47230	1,3758	1025,4	745,3
72,9	1,47254	1,3765	1027,3	746,3
73,0	1,47284	1,3772	1029,3	747,4
73,1	1,47304	1,3778	1031,2	748,4
73,2	1,47329	1,3785	1033,2	749,5
73,3	1,47354	1,3792	1035,1	750,5
73,4	1,47379	1,3798	1037,1	751,6
73,5	1,47404	1,3805	1039,0	752,6
73,6	1,47429	1,3812	1040,9	753,6
73,7	1,47454	1,3818	1042,8	754,7
73,8	1,47479	1,3825	1044,8	755,7
73,9	1,47504	1,3832	1046,8	756,8
74,0	1,47534	1,3838	1048,6	757,8
74,1	1,47554	1,3845	1050,7	758,9
74,2	1,47579	1,3852	1052,6	759,9
74,3	1,47604	1,3858	1054,6	761,0
74,4	1,47629	1,3865	1056,5	762,0
74,5	1,47654	1,3871	1058,5	763,1
74,6	1,47679	1,3878	1060,4	764,1
74,7	1,47704	1,3885	1062,3	765,1
74,8	1,47730	1,3892	1064,4	766,2
74,9	1,47755	1,3898	1066,3	767,2
75,0	1,47785	1,3905	1068,3	768,3

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

Table IV

Tableau de correspondance, à 6 décimales, entre l'indice de réfraction dans les conditions de référence et le titre massique d'une solution de saccharose

Indice de réfraction en fonction du titre massique de saccharose					
titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C
0,0	1,332986	5,0	1,340264	10,0	1,347824
0,1	1,333129	5,1	1,340412	10,1	1,347978
0,2	1,333272	5,2	1,340561	10,2	1,348133
0,3	1,333415	5,3	1,340709	10,3	1,348287
0,4	1,333558	5,4	1,340858	10,4	1,348442
0,5	1,333702	5,5	1,341007	10,5	1,348596
0,6	1,333845	5,6	1,341156	10,6	1,348751
0,7	1,333989	5,7	1,341305	10,7	1,348906
0,8	1,334132	5,8	1,341454	10,8	1,349061
0,9	1,334276	5,9	1,341604	10,9	1,349216
1,0	1,334420	6,0	1,341753	11,0	1,349371
1,1	1,334564	6,1	1,341903	11,1	1,349527
1,2	1,334708	6,2	1,342052	11,2	1,349682
1,3	1,334852	6,3	1,342202	11,3	1,349838
1,4	1,334996	6,4	1,342352	11,4	1,349993
1,5	1,335141	6,5	1,342502	11,5	1,350149
1,6	1,335285	6,6	1,342652	11,6	1,350305
1,7	1,335430	6,7	1,342802	11,7	1,350461
1,8	1,335574	6,8	1,342952	11,8	1,350617
1,9	1,335719	6,9	1,343103	11,9	1,350774
2,0	1,335864	7,0	1,343253	12,0	1,350930
2,1	1,336009	7,1	1,343404	12,1	1,351087
2,2	1,336154	7,2	1,343555	12,2	1,351243
2,3	1,336300	7,3	1,343706	12,3	1,351400
2,4	1,336445	7,4	1,343857	12,4	1,351557
2,5	1,336591	7,5	1,344008	12,5	1,351714
2,6	1,336736	7,6	1,344159	12,6	1,351871
2,7	1,336882	7,7	1,344311	12,7	1,352029
2,8	1,337028	7,8	1,344462	12,8	1,352186
2,9	1,337174	7,9	1,344614	12,9	1,352343
3,0	1,337320	8,0	1,344765	13,0	1,352501
3,1	1,337466	8,1	1,344917	13,1	1,352659
3,2	1,337612	8,2	1,345069	13,2	1,352817
3,3	1,337758	8,3	1,345221	13,3	1,352975
3,4	1,337905	8,4	1,345373	13,4	1,353133
3,5	1,338051	8,5	1,345526	13,5	1,353291
3,6	1,338198	8,6	1,345678	13,6	1,353449
3,7	1,338345	8,7	1,345831	13,7	1,353608
3,8	1,338492	8,8	1,345983	13,8	1,353767
3,9	1,338639	8,9	1,346136	13,9	1,353925
4,0	1,338786	9,0	1,346289	14,0	1,354084
4,1	1,338933	9,1	1,346442	14,1	1,354243
4,2	1,339081	9,2	1,346595	14,2	1,354402
4,3	1,339228	9,3	1,346748	14,3	1,354561
4,4	1,339376	9,4	1,346902	14,4	1,354721
4,5	1,339524	9,5	1,347055	14,5	1,354880
4,6	1,339671	9,6	1,347209	14,6	1,355040
4,7	1,339819	9,7	1,347362	14,7	1,355200
4,8	1,339967	9,8	1,347516	14,8	1,355359
4,9	1,340116	9,9	1,347670	14,9	1,355519

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

Indice de réfraction en fonction du titre massique de saccharose					
titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C
15,0	1,355679	20,0	1,363842	25,0	1,372328
15,1	1,355840	20,1	1,364009	25,1	1,372501
15,2	1,356000	20,2	1,364176	25,2	1,372674
15,3	1,356160	20,3	1,364342	25,3	1,372847
15,4	1,356321	20,4	1,364509	25,4	1,373021
15,5	1,356482	20,5	1,364676	25,5	1,373194
15,6	1,356642	20,6	1,364843	25,6	1,373368
15,7	1,356803	20,7	1,365011	25,7	1,373542
15,8	1,356964	20,8	1,365178	25,8	1,373716
15,9	1,357126	20,9	1,365346	25,9	1,373890
16,0	1,357287	21,0	1,365513	26,0	1,374065
16,1	1,357448	21,1	1,365681	26,1	1,374239
16,2	1,357610	21,2	1,365849	26,2	1,374414
16,3	1,357772	21,3	1,366017	26,3	1,374588
16,4	1,357933	21,4	1,366185	26,4	1,374763
16,5	1,358095	21,5	1,366354	26,5	1,374938
16,6	1,358257	21,6	1,366522	26,6	1,375113
16,7	1,358420	21,7	1,366691	26,7	1,375288
16,8	1,358582	21,8	1,366859	26,8	1,375464
16,9	1,358744	21,9	1,367028	26,9	1,375639
17,0	1,358907	22,0	1,367197	27,0	1,375815
17,1	1,359070	22,1	1,367366	27,1	1,375991
17,2	1,359232	22,2	1,367535	27,2	1,376167
17,3	1,359395	22,3	1,367705	27,3	1,376343
17,4	1,359558	22,4	1,367874	27,4	1,376519
17,5	1,359722	22,5	1,368044	27,5	1,376695
17,6	1,359885	22,6	1,368214	27,6	1,376872
17,7	1,360048	22,7	1,368384	27,7	1,377049
17,8	1,360212	22,8	1,368554	27,8	1,377225
17,9	1,360376	22,9	1,368724	27,9	1,377402
18,0	1,360539	23,0	1,368894	28,0	1,377579
18,1	1,360703	23,1	1,369064	28,1	1,377756
18,2	1,360867	23,2	1,369235	28,2	1,377934
18,3	1,361032	23,3	1,369406	28,3	1,378111
18,4	1,361196	23,4	1,369576	28,4	1,378289
18,5	1,361360	23,5	1,369747	28,5	1,378467
18,6	1,361525	23,6	1,369918	28,6	1,378644
18,7	1,361690	23,7	1,370090	28,7	1,378822
18,8	1,361854	23,8	1,370261	28,8	1,379001
18,9	1,362019	23,9	1,370433	28,9	1,379179
19,0	1,362185	24,0	1,370604	29,0	1,379357
19,1	1,362350	24,1	1,370776	29,1	1,379536
19,2	1,362515	24,2	1,370948	29,2	1,379715
19,3	1,362681	24,3	1,371120	29,3	1,379893
19,4	1,362846	24,4	1,371292	29,4	1,380072
19,5	1,363012	24,5	1,371464	29,5	1,380251
19,6	1,363178	24,6	1,371637	29,6	1,380431
19,7	1,363344	24,7	1,371809	29,7	1,380610
19,8	1,363510	24,8	1,371982	29,8	1,380790
19,9	1,363676	24,9	1,372155	29,9	1,380969

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

Indice de réfraction en fonction du titre massique de saccharose					
titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C
30,0	1,381149	35,0	1,390322	40,0	1,399860
30,1	1,381329	35,1	1,390509	40,1	1,400055
30,2	1,381509	35,2	1,390696	40,2	1,400249
30,3	1,381690	35,3	1,390884	40,3	1,400444
30,4	1,381870	35,4	1,391071	40,4	1,400639
30,5	1,382050	35,5	1,391259	40,5	1,400834
30,6	1,382231	35,6	1,391447	40,6	1,401030
30,7	1,382412	35,7	1,391635	40,7	1,401225
30,8	1,382593	35,8	1,391823	40,8	1,401421
30,9	1,382774	35,9	1,392011	40,9	1,401617
31,0	1,382955	36,0	1,392200	41,0	1,401813
31,1	1,383137	36,1	1,392388	41,1	1,402009
31,2	1,383318	36,2	1,392577	41,2	1,402205
31,3	1,383500	36,3	1,392766	41,3	1,402401
31,4	1,383682	36,4	1,392955	41,4	1,402598
31,5	1,383863	36,5	1,393144	41,5	1,402795
31,6	1,384046	36,6	1,393334	41,6	1,402992
31,7	1,384228	36,7	1,393523	41,7	1,403189
31,8	1,384410	36,8	1,393713	41,8	1,403386
31,9	1,384593	36,9	1,393903	41,9	1,403583
32,0	1,384775	37,0	1,394092	42,0	1,403781
32,1	1,384958	37,1	1,394283	42,1	1,403978
32,2	1,385141	37,2	1,394473	42,2	1,404176
32,3	1,385324	37,3	1,394663	42,3	1,404374
32,4	1,385507	37,4	1,394854	42,4	1,404572
32,5	1,385691	37,5	1,395044	42,5	1,404770
32,6	1,385874	37,6	1,395235	42,6	1,404969
32,7	1,386058	37,7	1,395426	42,7	1,405167
32,8	1,386242	37,8	1,395617	42,8	1,405366
32,9	1,386426	37,9	1,395809	42,9	1,405565
33,0	1,386610	38,0	1,396000	43,0	1,405764
33,1	1,386794	38,1	1,396192	43,1	1,405963
33,2	1,386978	38,2	1,396383	43,2	1,406163
33,3	1,387163	38,3	1,396575	43,3	1,406362
33,4	1,387348	38,4	1,396767	43,4	1,406562
33,5	1,387532	38,5	1,396959	43,5	1,406762
33,6	1,387717	38,6	1,397152	43,6	1,406961
33,7	1,387902	38,7	1,397344	43,7	1,407162
33,8	1,388088	38,8	1,397537	43,8	1,407362
33,9	1,388273	38,9	1,397730	43,9	1,407562
34,0	1,388459	39,0	1,397922	44,0	1,407763
34,1	1,388644	39,1	1,398116	44,1	1,407964
34,2	1,388830	39,2	1,398309	44,2	1,408165
34,3	1,389016	39,3	1,398502	44,3	1,408366
34,4	1,389202	39,4	1,398696	44,4	1,408567
34,5	1,389388	39,5	1,398889	44,5	1,408768
34,6	1,389575	39,6	1,399083	44,6	1,408970
34,7	1,389761	39,7	1,399277	44,7	1,409171
34,8	1,389948	39,8	1,399471	44,8	1,409373
34,9	1,390135	39,9	1,399666	44,9	1,409575

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

Indice de réfraction en fonction du titre massique de saccharose					
titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C
45,0	1,409777	50,0	1,420087	55,0	1,430800
45,1	1,409980	50,1	1,420297	55,1	1,431019
45,2	1,410182	50,2	1,420508	55,2	1,431238
45,3	1,410385	50,3	1,420718	55,3	1,431456
45,4	1,410588	50,4	1,420929	55,4	1,431675
45,5	1,410790	50,5	1,421140	55,5	1,431894
45,6	1,410994	50,6	1,421351	55,6	1,432114
45,7	1,411197	50,7	1,421562	55,7	1,432333
45,8	1,411400	50,8	1,421774	55,8	1,432553
45,9	1,411604	50,9	1,421985	55,9	1,432773
46,0	1,411807	51,0	1,422197	56,0	1,432993
46,1	1,412011	51,1	1,422409	56,1	1,433213
46,2	1,412215	51,2	1,422621	56,2	1,433433
46,3	1,412420	51,3	1,422833	56,3	1,433653
46,4	1,412624	51,4	1,423046	56,4	1,433874
46,5	1,412828	51,5	1,423258	56,5	1,434095
46,6	1,413033	51,6	1,423471	56,6	1,434316
46,7	1,413238	51,7	1,423684	56,7	1,434537
46,8	1,413443	51,8	1,423897	56,8	1,434758
46,9	1,413648	51,9	1,424110	56,9	1,434980
47,0	1,413853	52,0	1,424323	57,0	1,435201
47,1	1,414059	52,1	1,424537	57,1	1,435423
47,2	1,414265	52,2	1,424750	57,2	1,435645
47,3	1,414470	52,3	1,424964	57,3	1,435867
47,4	1,414676	52,4	1,425178	57,4	1,436089
47,5	1,414882	52,5	1,425393	57,5	1,436312
47,6	1,415089	52,6	1,425607	57,6	1,436534
47,7	1,415295	52,7	1,425821	57,7	1,436757
47,8	1,415502	52,8	1,426036	57,8	1,436980
47,9	1,415708	52,9	1,426251	57,9	1,437203
48,0	1,415915	53,0	1,426466	58,0	1,437427
48,1	1,416122	53,1	1,426681	58,1	1,437650
48,2	1,416330	53,2	1,426896	58,2	1,437874
48,3	1,416537	53,3	1,427112	58,3	1,438098
48,4	1,416744	53,4	1,427328	58,4	1,438322
48,5	1,416952	53,5	1,427543	58,5	1,438546
48,6	1,417160	53,6	1,427759	58,6	1,438770
48,7	1,417368	53,7	1,427975	58,7	1,438994
48,8	1,417576	53,8	1,428192	58,8	1,439219
48,9	1,417785	53,9	1,428408	58,9	1,439444
49,0	1,417993	54,0	1,428625	59,0	1,439669
49,1	1,418202	54,1	1,428842	59,1	1,439894
49,2	1,418411	54,2	1,429059	59,2	1,440119
49,3	1,418620	54,3	1,429276	59,3	1,440345
49,4	1,418829	54,4	1,429493	59,4	1,440571
49,5	1,419038	54,5	1,429711	59,5	1,440796
49,6	1,419247	54,6	1,429928	59,6	1,441022
49,7	1,419457	54,7	1,430146	59,7	1,441248
49,8	1,419667	54,8	1,430364	59,8	1,441475
49,9	1,419877	54,9	1,430582	59,9	1,441701

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

Indice de réfraction en fonction du titre massique de saccharose					
titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C
60,0	1,441928	65,0	1,453478	70,0	1,465456
60,1	1,442155	65,1	1,453713	70,1	1,465700
60,2	1,442382	65,2	1,453949	70,2	1,465944
60,3	1,442609	65,3	1,454184	70,3	1,466188
60,4	1,442836	65,4	1,454420	70,4	1,466433
60,5	1,443064	65,5	1,454656	70,5	1,466678
60,6	1,443292	65,6	1,454892	70,6	1,466922
60,7	1,443519	65,7	1,455129	70,7	1,467167
60,8	1,443747	65,8	1,455365	70,8	1,467413
60,9	1,443976	65,9	1,455602	70,9	1,467658
61,0	1,444204	66,0	1,455839	71,0	1,467903
61,1	1,444432	66,1	1,456076	71,1	1,468149
61,2	1,444661	66,2	1,456313	71,2	1,468395
61,3	1,444890	66,3	1,456551	71,3	1,468641
61,4	1,445119	66,4	1,456788	71,4	1,468887
61,5	1,445348	66,5	1,457026	71,5	1,469134
61,6	1,445578	66,6	1,457264	71,6	1,469380
61,7	1,445807	66,7	1,457502	71,7	1,469627
61,8	1,446037	66,8	1,457740	71,8	1,469874
61,9	1,446267	66,9	1,457979	71,9	1,470121
62,0	1,446497	67,0	1,458217	72,0	1,470368
62,1	1,446727	67,1	1,458456	72,1	1,470616
62,2	1,446957	67,2	1,458695	72,2	1,470863
62,3	1,447188	67,3	1,458934	72,3	1,471111
62,4	1,447419	67,4	1,459174	72,4	1,471359
62,5	1,447650	67,5	1,459413	72,5	1,471607
62,6	1,447881	67,6	1,459653	72,6	1,471855
62,7	1,448112	67,7	1,459893	72,7	1,472104
62,8	1,448343	67,8	1,460133	72,8	1,472352
62,9	1,448575	67,9	1,460373	72,9	1,472601
63,0	1,448807	68,0	1,460613	73,0	1,472850
63,1	1,449039	68,1	1,460854	73,1	1,473099
63,2	1,449271	68,2	1,461094	73,2	1,473349
63,3	1,449503	68,3	1,461335	73,3	1,473598
63,4	1,449736	68,4	1,461576	73,4	1,473848
63,5	1,449968	68,5	1,461817	73,5	1,474098
63,6	1,450201	68,6	1,462059	73,6	1,474348
63,7	1,450434	68,7	1,462300	73,7	1,474598
63,8	1,450667	68,8	1,462542	73,8	1,474848
63,9	1,450900	68,9	1,462784	73,9	1,475099
64,0	1,451134	69,0	1,463026	74,0	1,475349
64,1	1,451367	69,1	1,463268	74,1	1,475600
64,2	1,451601	69,2	1,463511	74,2	1,475851
64,3	1,451835	69,3	1,463753	74,3	1,476103
64,4	1,452069	69,4	1,463996	74,4	1,476354
64,5	1,452304	69,5	1,464239	74,5	1,476606
64,6	1,452538	69,6	1,464482	74,6	1,476857
64,7	1,452773	69,7	1,464725	74,7	1,477109
64,8	1,453008	69,8	1,464969	74,8	1,477361
64,9	1,453243	69,9	1,465212	74,9	1,477614

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Evaluation de la teneur en sucre - réfractométrie

Indice de réfraction en fonction du titre massique de saccharose			
titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C	titre massique %	indice de réfraction n à 20 °C
75,0	1,477866	80,0	1,490708
75,1	1,478119	80,1	1,490970
75,2	1,478371	80,2	1,491231
75,3	1,478624	80,3	1,491493
75,4	1,478877	80,4	1,491754
75,5	1,479131	80,5	1,492016
75,6	1,479384	80,6	1,492278
75,7	1,479638	80,7	1,492541
75,8	1,479892	80,8	1,492803
75,9	1,480146	80,9	1,493066
76,0	1,480400	81,0	1,493328
76,1	1,480654	81,1	1,493591
76,2	1,480909	81,2	1,493855
76,3	1,481163	81,3	1,494118
76,4	1,481418	81,4	1,494381
76,5	1,481673	81,5	1,494645
76,6	1,481929	81,6	1,494909
76,7	1,482184	81,7	1,495173
76,8	1,482439	81,8	1,495437
76,9	1,482695	81,9	1,495701
77,0	1,482951	82,0	1,495966
77,1	1,483207	82,1	1,496230
77,2	1,483463	82,2	1,496495
77,3	1,483720	82,3	1,496760
77,4	1,483976	82,4	1,497025
77,5	1,484233	82,5	1,497291
77,6	1,484490	82,6	1,497556
77,7	1,484747	82,7	1,497822
77,8	1,485005	82,8	1,498088
77,9	1,485262	82,9	1,498354
78,0	1,485520	83,0	1,498620
78,1	1,485777	83,1	1,498887
78,2	1,486035	83,2	1,499153
78,3	1,486293	83,3	1,499420
78,4	1,486552	83,4	1,499687
78,5	1,486810	83,5	1,499954
78,6	1,487069	83,6	1,500221
78,7	1,487328	83,7	1,500488
78,8	1,487587	83,8	1,500756
78,9	1,487846	83,9	1,501024
79,0	1,488105	84,0	1,501292
79,1	1,488365	84,1	1,501560
79,2	1,488625	84,2	1,501828
79,3	1,488884	84,3	1,502096
79,4	1,489144	84,4	1,502365
79,5	1,489405	84,5	1,502634
79,6	1,489665	84,6	1,502903
79,7	1,489926	84,7	1,503172
79,8	1,490186	84,8	1,503441
79,9	1,490447	84,9	1,503711
		85,0	1,503980

Extrait sec total

Matières sèches totales

1. 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. Ces conditions physiques doivent être fixées de telle manière que les substances composant cet extrait subissent le minimum d'altération.

L'extrait non réducteur est l'extrait sec total diminué des sucres totaux.

L'extrait réduit est l'extrait sec total diminué des sucres totaux excédant 1 g/l, du sulfate de potassium excédant 1 g/l, du mannitol s'il y en a, et de toutes les substances chimiques éventuellement ajoutées au vin.

Le reste d'extrait est l'extrait non réducteur diminué de l'acidité fixe, exprimée en acide tartrique.

2. Principe des Méthodes

2.1. Méthode de référence

Pesée du résidu laissé par l'évaporation du vin, préalablement réparti sur une spirale de papier buvard, dans un courant d'air sec sous la pression de 20 à 25 mm de mercure, à 70 °C, dans des conditions codifiées.

2.2. Méthode usuelle – Méthode densimétrique

L'extrait sec total est calculé indirectement d'après la valeur de la densité du moût et, dans le cas du vin, d'après la densité du vin désalcoolisé.

Cet extrait est exprimé par la quantité de saccharose qui, dissoute dans une quantité d'eau suffisante pour avoir un litre, donne une solution de même densité que le moût ou que le vin désalcoolisé.

3. Méthode de Référence

3.1. Appareillage

3.1.1. Étuve :

Cuve cylindrique en aluminium (diamètre intérieur : 27 cm, hauteur : 6 cm) munie d'un couvercle en aluminium ; la cuve et son couvercle sont chauffés par des résistances électriques à une température de 70°C réglée à 1°C près.

Une tubulure (diamètre intérieur : 25 mm) relie l'étuve à une pompe à vide assurant un débit d'au moins 50 l/h.

De l'air préalablement déshydraté par barbotage dans de l'acide sulfurique à 98 p. 100 pénètre dans l'étuve au moyen d'un dispositif de circulation dans le couvercle assurant son réchauffement et sa répartition homogène sur toute la surface interne de l'étuve. Le débit d'air, réglé par un robinet à pointeau, est de 30-40 l par heure et la pression résiduelle dans l'étuve de 25 mm de mercure.

Toute étuve est utilisable à condition qu'elle satisfasse aux essais de contrôle donnés en 3.1.3.

3.1.2. *Capsules :*

Capsules en acier inoxydable (60 mm de diamètre intérieur, 25 mm de hauteur), obturées par un couvercle d'aluminium exactement ajusté.

Chaque capsule est garnie de 4 à 4,5 g de papier buvard, découpé en bandes de 22 mm de hauteur, pliées en accordéon.

Ce papier buvard doit être lavé à l'acide chlorhydrique dilué à 2 g/l pendant 8 h, rincé cinq fois à l'eau et séché à l'air.

3.1.3. *Contrôle de l'appareillage et de la technique*

- a) Vérification de l'obturation des capsules. Une capsule contenant du papier buvard desséché, fermée par son couvercle, abandonnée à l'air du laboratoire après son refroidissement dans un dessiccateur à acide sulfurique, ne doit pas augmenter de poids de plus de 1 mg/h.
- b) Vérification du degré de dessiccation. Une solution de saccharose pur à 100g/l doit laisser un extrait de $100 \text{ g} \pm 1 \text{ g/l}$.
- c) Une solution d'acide lactique pur à 10 g/l doit laisser un extrait sec d'au moins 9,5 g/l.

Augmenter ou diminuer la durée du séjour dans l'étuve, le débit du courant d'air sec, ou la pression intérieure pour que ces deux conditions soient remplies.

NOTA – La solution d'acide lactique doit être préparée ainsi : 10 ml d'acide lactique sont dilués dans 100 ml d'eau environ. Cette solution, placée dans une capsule, est chauffée sur un bain-marie bouillant pendant 4 h en ajoutant de l'eau distillée si le volume diminue en dessous de 50 ml environ. Porter au litre le résidu et titrer l'acide lactique sur 10 ml de cette solution par une solution alcaline 0,1 M. Ajuster la liqueur à 10 g/l.

3.1. *Mode opératoire*

3.2.1. *Tarage de la capsule*

Placer la capsule garnie de papier dans l'étuve pendant 1 h. Arrêter la machine à vide et obturer la capsule avec son couvercle, immédiatement à l'ouverture de l'étuve. La tarer à 0,1 mg près, après refroidissement au dessiccateur : soit p_0 g. la masse de la capsule vide.

3.2.2. *Mesure proprement dite*

Introduire 10 ml de moût ou de vin dans la capsule tarée. Ils doivent être entièrement absorbés par le papier buvard. Placer la capsule à l'étuve pendant 2 h (ou le temps indiqué par l'essai de contrôle décrit en 3.1.3.). Procéder ensuite à la pesée de la capsule comme indiqué en 3.2.1, soit p g sa masse.

Remarque : Dans le cas des moûts et des vins très sucrés, il est recommandé de procéder par pesée de la prise d'essai.

3.3. *Calculs*

L'extrait sec total en gramme par litre est donné par :

$$(p - p_0) \times 100$$

Si, dans le cas des moûts et des vins très sucrés, la prise d'essai a été pesée, l'extrait sec total en grammes par litre est donné par :

$$(p - p_0) \times \frac{\rho_{20}}{\mathbf{P}} \times 1000$$

P = masse de la prise d'essai en grammes

ρ_{20} = masse volumique du moût ou du vin en g/ml.

3.4. *Expression des résultats*

L'extrait sec total est exprimé en grammes par litre avec 1 décimale.

4. **Méthode usuelle**

4.1. *Mode opératoire*

Déterminer la densité 20/20 du moût ou du vin.

Dans le cas du vin, calculer la densité, d_r , du "vin désalcoolisé" par la relation

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

où

d_v = densité 20/20 du vin (corrigé par l'acidité volatil*)

d_a = densité 20/20 du mélange hydroalcoolique de même titre que le vin ou encore par la relation :

$$d_r = 1,00180^{**} (\rho_v - \rho_a) + 1,000$$

où

ρ_v = masse volumique du vin à 20°C (corrigée de l'acidité volatile*)

ρ_a = masse volumique à 20°C du mélange hydroalcoolique de même titre alcoométrique que le vin, obtenu sur la Table I du chapitre *Titre alcoométrique* pour la température 20°C.

4.2. *Calculs*

Reporter la densité 20/20 du moût ou du vin désalcoolisé dans la Table I pour obtenir l'extrait sec total en grammes par litre.

4.3. *Expression des résultats*

L'extrait sec total est exprimé en grammes par litre avec 1 décimale.

* Avant de faire ce calcul, la densité (ou la masse volumique) du vin mesuré comme il est indiqué plus haut doit être corrigée de l'action de l'acidité volatile suivant la formule :

$$d_v = d_{20}^{20} - 0,0000086 a \quad \text{ou} \quad \rho_v = \rho_{20} - 0,0000086 a$$

a étant la quantité d'acidité volatile en milliéquivalents par litre.

** Le coefficient 1,00180 peut pratiquement être assimilé à 1 lorsque ρ_v est inférieure à 1,05, ce qui est le cas le plus fréquent.

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Extrait sec total

TABLE I

Pour le calcul de la teneur en extrait (g/l)

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

TABLE INTERCALAIRE

4 ^e décimale de la densité	Grammes d'extrait par litre	4 ^e décimale de la densité	Grammes d'extrait par litre	4 th decimal de la densité	Grammes d'extrait par litre
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

BIBLIOGRAPHIE

Méthode de référence

- PIEN J., MEINRATH H., *Ann. Fals. Fraudes*, 1938, **30**, 282.
DUPAIGNE P., *Bull. Inst. Jus Fruits*, 1947, No 4.
TAVERNIER J., JACQUIN P., *Ind. Agric. Alim.*, 1947, **64**, 379.
JAULMES P., HAMELLE Mlle G., *Bull. O.I.V.*, 1954, **27**, 276.
JAULMES P., HAMELLE Mlle G., *Mise au point de chimie analytique pure et appliquée, et d'analyse bromatologique*, 1956, par J.A. GAUTIER, Paris, 4e série.
JAULMES P., HAMELLE Mlle G., *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1963, 243.
HAMELLE Mlle G., *Extrait sec des vins et des moûts de raisin*, 1965, Thèse Doct. Pharm. Montpellier.

Méthode usuelle :

TABLE DE PLATO, d'après *Allgemeine Verwaltungsvorschrift für die Untersuchung von Wein und ähnlichen alkoholischen Erzeugnissen sowie von Fruchtsäften*, vom April 1960, Bundesanzeiger Nr. 86 vom 5. Mai 1960. - Une table très voisine se trouve dans *Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, Ed. A.O.A.C., Washington 1945, 815.

Cendres

1 Définition

On appelle cendres l'ensemble des produits de l'incinération du résidu d'évaporation du vin, conduite de façon à obtenir la totalité des cations (ammonium exclu) sous forme de carbonates et autres sels minéraux anhydres.

2. Principe de la méthode

Incinération de l'extrait du vin conduite entre 500 °C et 550 °C jusqu'à combustion complète du carbone.

3. Appareillage

- 3.1. Bain d'eau à 100 °C.
- 3.2. Balance sensible au 1/10e de milligramme.
- 3.3. Plaque chauffante ou évaporateur à infrarouge.
- 3.4. Four électrique à régulation de température.
- 3.5. Dessiccateur.
- 3.6. Capsule de platine de 70 mm de diamètre et de 25 mm de hauteur à fond plat.

4. Mode opératoire

Placer 20 ml de vin dans la capsule de platine préalablement tarée (p_0). Évaporer sur bain d'eau à 100 °C, chauffer le résidu sur la plaque chauffante à 200 °C ou sous l'évaporateur à infrarouge jusqu'à carbonisation. Lorsque le résidu n'émet plus de vapeur, placer la capsule dans le four électrique porté à 525 °C ± 25 °C. Après 15 min. de carbonisation, retirer la capsule du four, ajouter 5 ml d'eau distillée que l'on évapore ensuite sur le bain d'eau ou sous l'évaporateur à infrarouge et chauffer à nouveau à 525 °C pendant une dizaine de minutes.

Si la combustion des particules carbonées n'est pas totale, recommencer les opérations de lavage des particules carbonées, d'évaporation de l'eau et d'incinération.

Pour les vins riches en sucres, il est commode d'ajouter à l'extrait quelques gouttes d'huile végétale pure avant la première incinération, pour empêcher le débordement du contenu.

Après refroidissement dans le dessiccateur, la capsule est pesée, soit p_1 .

Le poids de cendres correspondant à la prise d'essai est : $p = (p_1 - p_0)$.

5. Expression des résultats

Le poids P des cendres exprimé en grammes par litre avec 2 décimales est :

$$P = 50 p$$

Alcalinité des cendres

1. Définition

On appelle alcalinité des cendres la somme des cations, autres que l'ammonium, combinés aux acides organiques du vin.

2. Principe de la méthode

Titrimétrie en présence de méthylorange sur les cendres solubilisées à chaud par un excès connu d'acide titré.

3. Appareillage et réactifs

- 3.1. *Solution 0,05 M d'acide sulfurique*
- 3.2. *Solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium*
- 3.3. *Solution de méthylorange à 0,1 g p. 100 ml dans l'eau distillée*
- 3.4. *Bain d'eau à 100 °C.*

4. Mode opératoire

Dans la capsule de platine contenant les cendres de 20 ml de vin ajouter 10 ml de solution 0,05 M d'acide sulfurique ; la placer sur un bain d'eau à 100 °C pendant 15 min. environ, en écrasant le résidu avec une baguette de verre pour activer la dissolution. Ajouter ensuite 2 gouttes de solution de méthylorange et titrer l'excès d'acide sulfurique par la solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium jusqu'à virage au jaune de l'indicateur.

5. Expression des résultats

5.1. *Mode de calcul*

L'alcalinité des cendres exprimée en milliéquivalents par litre, avec 1 décimale sera :

$$A = 5 (10 - n)$$

n = nombre de millilitres d'hydroxyde de sodium 0,1 M.

5.2. *Autre expression :*

L'alcalinité des cendres exprimée en grammes de carbonate de potassium par litre, avec deux décimales sera :

$$A = 0,345 (10 - n)$$

BIBLIOGRAPHIE

JAULMES P., *Analyse des vins*, Librairie Poulain, Montpellier, éd., 1951, 107.

Mesure du potentiel d'oxydoréduction dans les vins

(Résolution oeno 3/2000)

1. Objet, Domaine d'application

Le potentiel d'oxydoréduction (EH) est une mesure de l'état d'oxydation ou de réduction d'un milieu. En œnologie, l'oxygène et le potentiel d'oxydoréduction sont deux éléments importants pour conduire à la fois le traitement préfermentaire de la vendange, la vinification, l'élevage et la conservation des vins.

Il est proposé un matériel de mesure du Potentiel d'oxydoréduction dans les vins et un mode opératoire permettant de réaliser des mesures dans des conditions standards.

La méthode n'a pas fait l'objet d'une analyse collaborative en raison du caractère très variable de l'état d'oxydoréduction d'un vin, ce qui rend difficile cette étape de la validation. En conséquence il s'agit d'une méthode de type 4 destinée essentiellement à la production.

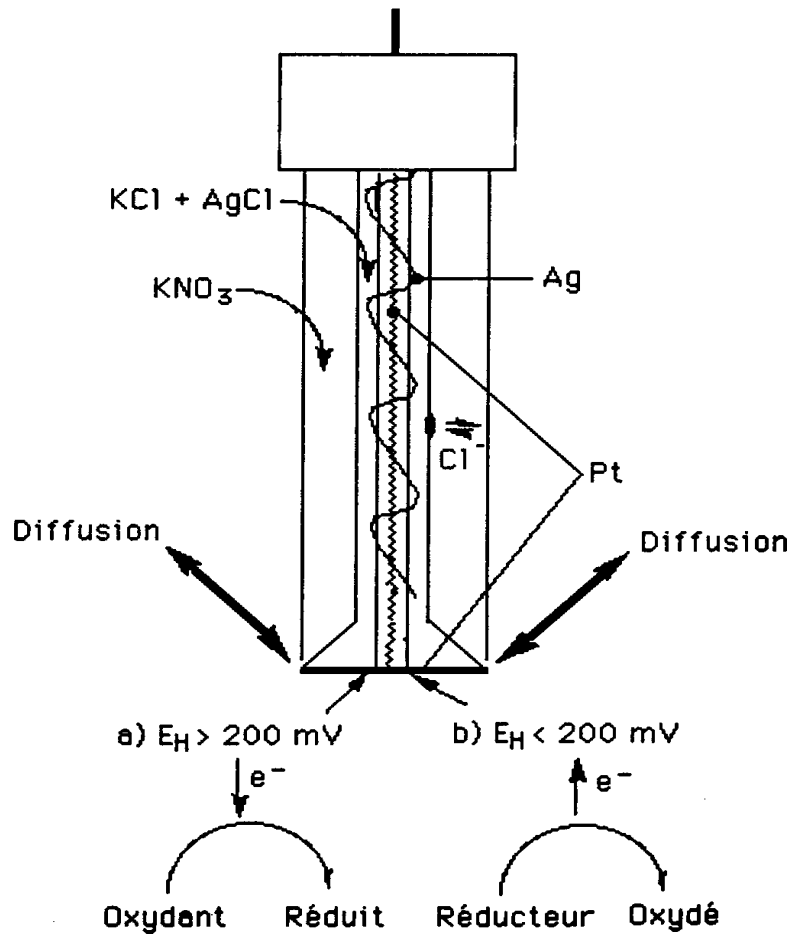
2. Principe

Le potentiel d'oxydoréduction d'un milieu est défini comme la différence de potentiel entre une électrode inattaquable plongeant dans ce milieu et l'électrode à hydrogène de référence, couplée avec le milieu. En fait, on ne peut connaître que la différence entre les potentiels d'oxydoréduction de deux systèmes couplés. Pour cette raison, le potentiel d'oxydoréduction de l'électrode à hydrogène est considéré comme égal à zéro ; tous les potentiels d'oxydoréduction sont évalués par rapport à celui-ci. Le potentiel d'oxydoréduction est une mesure relative à l'expression d'état physicochimique instantané d'une solution. Seul un titrage potentiométrique des couples oxydoréducteurs totaux ainsi que l'estimation du rapport [Oxydants /Réducteurs] pourrait conduire à une mesure réellement quantitative. La mesure du potentiel d'oxydoréduction, soit dans le vin, soit dans d'autres milieux, est réalisée avec des électrodes combinées. Habituellement le système comprend une électrode de platine (l'électrode de mesure) et une électrode de référence (électrode d'argent ou au calomel).

3. Matériel

Plusieurs types d'électrodes existent, il est cependant conseillé d'employer des électrodes adaptées à la mesure du EH dans les vins. Il est recommandé d'utiliser une électrode combinée, à double jaquette, couplée à une électrode de référence (Figure). Il s'agit d'une électrode de mesure et d'une électrode de référence à double jaquette ; elles sont couplées à un ionomètre. Pour la jaquette interne de l'électrode de référence, la Composition de la solution de remplissage est la suivante : KNO₃, 17,1% ; AgCl, traces ; Triton X-100, traces ; KCl, 5% ; eau désionisée, 77,9% et pour l'électrode de mesure la Composition est la suivante : AgCl, <1% ; KCl, 29,8% ; eau désionisée, 70%.

Electrode combinée modifiée



4. Nettoyage et étalonnage des électrodes

4.1. Etalonnage

L'étalonnage est réalisé à partir de solutions présentant un potentiel d'oxydoréduction connu et constant. Le mélange équimolaire (10 mM/l) de ferrocyanure et de hexacyanoferrate (II) de potassium a été retenu. Il a pour composition : 0,329g de $K_3Fe(CN)_6$; 0,422g de $K_4Fe(CN)_6$; 0,149g de KCl et H_2O qsp 1000 ml. A 20 °C le potentiel de cette solution est de 406 mV ($\pm 5\text{mV}$), mais il évolue dans le temps et la durée de conservation de la solution ne doit pas excéder 15 jours à l'obscurité.

4.2. Nettoyage du platine de l'électrode

Le nettoyage du platine de l'électrode est assuré par trempage dans du peroxyde d'hydrogène à 30% vol. pendant 1 heure, suivi d'un rinçage à l'eau. Le système nécessite un nettoyage complet à l'eau après chaque série de mesure, le système est en général nettoyé après une semaine d'utilisation.

5. Mode opératoire

5.1. Remplissage de la jaquette interne.

En fonction du milieu de mesure du EH, la composition de la double jaquette est variable (Tableau ci-dessous).

Tableau

Composition de la solution de remplissage de la double jaquette de l'électrode en fonction du milieu de mesure.

Milieu de mesure	Composition de la solution de la jaquette
Solution 1 pour Vins secs	Ethanol 12% vol., 5 g ac. tartrique, NaOH N qsp pH 3,5, Eau distillée qsp 1000 ml.
Solution 2 pour Vins doux	Solution 1 à laquelle on ajoute 20 g/l de saccharose.
Solution 3 pour Vins doux spéciaux	solution 2 à laquelle on ajoute 100 mg/l de SO ₂ (KHSO ₃).
Solution 4 pour Eaux-de-vie	Ethanol 50 % vol., ac. acétique qsp pH 5, eau distillée qsp 1000 ml.

5.2- Equilibrage de l'électrode avec le milieu de mesure.

Avant les mesures, les électrodes doivent être étalonnées dans la solution de Michaelis, puis stabilisées 15 min. dans un vin, si les mesures sont à faire dans des vins. Ensuite, la lecture peut être réalisée, pour des mesures sur le terrain, 5 min. après que les électrodes aient été plongées dans le milieu. On utilise comme indice de stabilité, pour des mesures au laboratoire, le rapport ΔEH (mV) / T (min.), lorsque ce dernier est $\leq 0,2$ la lecture du potentiel peut alors se pratiquer.

5.3. Mesures dans les conditions de la pratique.

Les mesures sont systématiquement réalisées in situ sans manipulation pouvant entraîner de modification des valeurs du potentiel d'oxydoréduction. Lors des mesures dans les chais, en barriques ou en cuves, on prendra soin de noter la température, le pH et l'oxygène dissous (méthode en préparation) en même temps que le EH ; ces valeurs pouvant servir ultérieurement à l'interprétation des résultats. Pour des bouteilles de vins, la mesure est pratiquée sur le vin après 2 heures d'attente dans une pièce à 20 °C, immédiatement après l'ouverture, sous un flux constant d'azote et en plongeant l'ensemble de l'électrode dans la bouteille.

5.4. Expression des résultats.

Les résultats sont donnés en mV par rapport à l'électrode à hydrogène.

Turbidité des vins

(Résolution oeno 4/2000)

Méthode de détermination par néphélogétrie.

1. Avertissement

La mesure de la turbidité est très largement dépendante de la conception de l'appareillage utilisé. Ainsi, les mesures comparatives d'instrument à instrument ne sont possibles que si le même principe de mesurage est appliqué.

Les principales sources d'erreur connues, liées au type de turbidimètre sont les suivantes :

- l'influence de la lumière parasite,
- l'influence de la coloration du produit, notamment dans le cas de faibles valeurs de turbidité,
- la dérive électronique intervenant avec le vieillissement des composants électroniques,
- le type de source lumineuse, de photodétecteur, les dimensions et le type de la cellule de mesure.

La présente méthode est basée sur l'utilisation d'un néphélogétre dont la conception technologique est du type : **double faisceau à compensation optique**.

Cette classe d'instrument permet de compenser : la dérive électronique, les variations de tension de l'alimentation électrique et partiellement la coloration du vin. Elle présente, en outre, une grande stabilité d'étalonnage.

Il convient de noter le caractère non contradictoire de la méthode, en raison de l'impossibilité de réaliser une analyse collaborative.

2. Objet

Le présent document a pour objet de décrire une méthode optique permettant de déterminer l'indice de turbidité (ou indice de diffusion) des vins.

3. Domaine d'application

La méthode est applicable en l'absence d'une instrumentation permettant une parfaite reproductibilité des mesures d'un appareil à l'autre ainsi que la compensation totale de la coloration des vins. En conséquence les résultats sont donnés à titre indicatif, ils sont à prendre avec réserve.

La méthode est surtout destinée à la production pour laquelle elle est le critère le plus objectif de la mesure de la limpidité.

Cette méthode, non susceptible d'être validée selon les critères internationalement reconnus est de **type 4**.

4. Principe général

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 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.

5. Définitions

5.1. Turbidité :

Réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes.

5.2. 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, préparée comme indiqué au point 6.2.2., sous un angle de 90 ° par rapport à la direction du faisceau incident.

6. Préparation de la suspension étalon de formazine*¹

6.1. Réactifs :

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue.
Ils doivent être conservés dans des flacons en verre.

6.1.1. 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.

*¹ Attention aux précautions d'usage car la Formazine présente une certaine toxicité.

6.1.2. *Formazine (C₂H₄N₂), solutions.*

La combinaison appelée formazine, de formule C₂H₄N₂ 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 (CH₂)₆N₄ dans de l'eau distillée préparée selon 6.1.1. Puis compléter la solution à 100 ml à l'aide d'eau distillée préparée selon 6.1.1.

Solution B : Dissoudre 1,0 g de sulfate d'hydrazinium N₂H₆SO₄ dans de l'eau distillée préparée selon 6.1.1. Puis compléter la solution à 100 ml à l'aide d'eau distillée préparée selon 6.1.1.

AVERTISSEMENT : **Le sulfate d'hydrazinium est un poison et peut être cancérigène.**

6.2. *Mode opératoire*

Mélanger 5 ml de solution A et 5 ml de solution B. Après 24 h à 25 °C ± 3 °C, diluer la solution à 100 ml avec de l'eau. (6.1.1.).

La turbidité de cette solution standard est de : 400 NTU

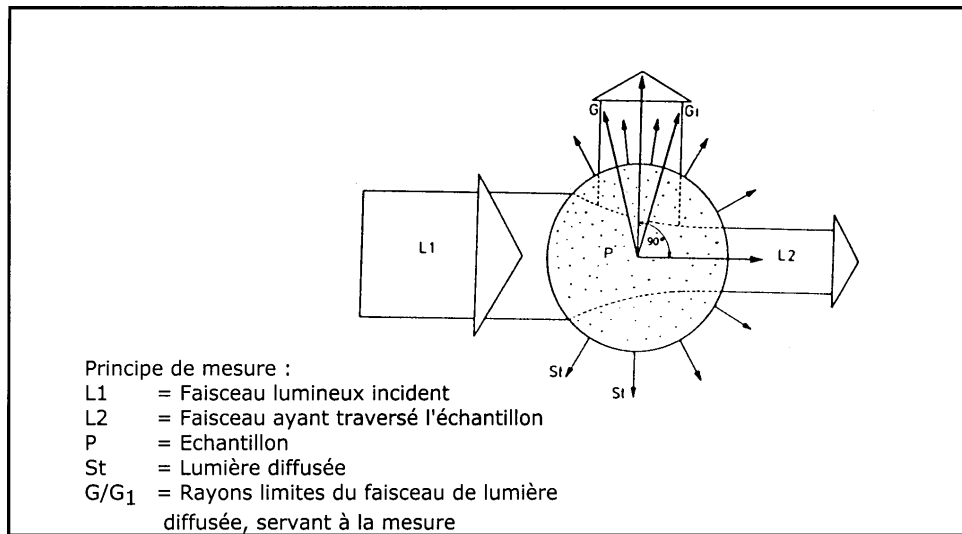
Dans l'obscurité, cette suspension standard se conserve à la température ambiante pendant 4 semaines environ.

Par dilution à 1/400 avec de l'eau distillée de préparation récente, on obtient une turbidité de : 1 NTU.

Cette solution n'est stable 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.

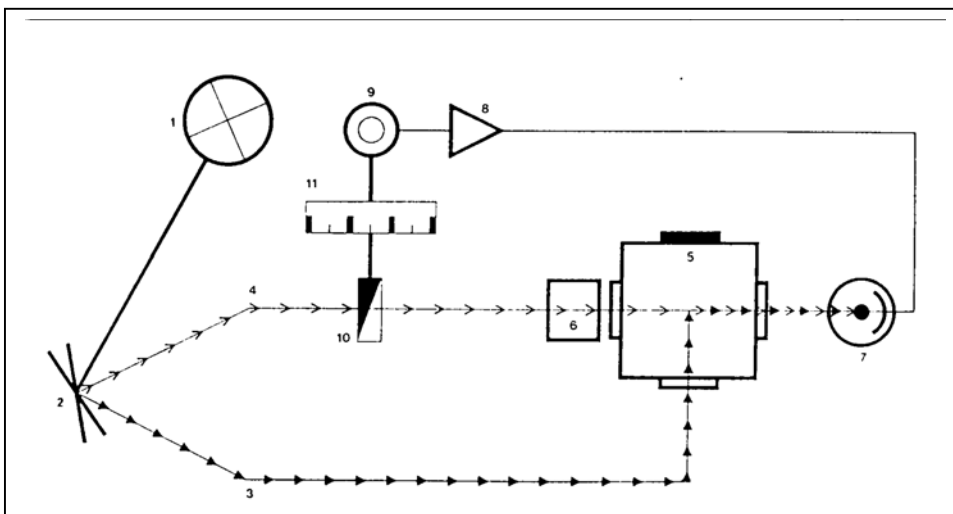
7. Principe optique de mesure



L'observation de la lumière diffusée doit se faire à 90 ° par rapport à la direction du faisceau incident.

8. Appareillage

8.1. Principe optique du turbidimètre à double faisceau et compensation 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 photo-électrique (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 photoélectriques 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 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.

8.2. *Caractéristiques :*

NOTE : Afin de pouvoir réaliser les mesures, quelle que soit la couleur du vin, le turbidimètre doit être équipé d'un filtre interférentiel supplémentaire permettant le mesurage à la longueur d'onde de : 620 nm. Toutefois, ce filtre interférentiel n'est pas nécessaire si la source lumineuse est infrarouge.

8.2.1. La largeur de bande spectrale de la radiation incidente doit être inférieure ou égale à 60 nm,

8.2.2. il ne doit pas y avoir de divergence au niveau du parallélisme de la radiation incidente et la convergence ne doit pas dépasser 1,5 °,

8.2.3. l'angle de mesure entre l'axe optique de la radiation incidente et celui de la radiation diffusée doit être $90^\circ \pm 2,5^\circ$,

8.2.4. l'appareil ne doit pas induire d'erreur due à la lumière parasite supérieure à :

0,01 NTU
sur une plage de mesure de :
0 à 0,1 NTU

9. Mode opératoire de la mesure

9.1. Vérification de l'appareil

Avant toute mesure ou série de mesures, vérifier le fonctionnement électrique et mécanique de l'appareil conformément aux préconisations de son constructeur.

9.2. 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.

9.3 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.

9.4 Réalisation de la mesure

- opérer à une température comprise entre : 15 et 25 °C (La température du vin à mesurer doit être prise en considération pour obtenir une comparaison correcte). Préalablement à la mesure, homogénéiser avec soin, et sans mouvement brusque pour ne pas créer d'émulsion, 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.

10. Expression des résultats

L'indice de turbidité du vin examiné est relevé et exprimé en :

* NTU

- si la turbidité est inférieure à 1 NTU arrondir à 0,01 NTU
- si la turbidité est entre 1 NTU et 10 NTU arrondir à 0,1 NTU
- si la turbidité est entre 10 NTU et 100 NTU arrondir à 1 NTU

11. Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes :

- a) la référence à la présente méthode,
- b) le résultat exprimé comme indiqué en 10,
- c) tout détail ou événement susceptible d'avoir agi sur les résultats.

BIBLIOGRAPHIE

- AFNOR

Norme NF EN 27027 (ISO 7027) - Avril 1994
"Qualité de l'eau = Détermination de la turbidité"

- OIV

Recueil des méthodes internationales des boissons spiritueuses, des alcools, de la fraction aromatique des boissons - 1994
"Turbidité - Méthode de détermination par néphélométrie"

- SIGRIST PHOTOMETER S.A. CH. 6373 ENNETBURGEN

"Extraits de notices techniques de turbidimètres"

Mouillage

(Résolution oeno 2/96)

Détermination du rapport isotopique $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ de l'eau des vins

Méthode de détection

Description de la méthode :

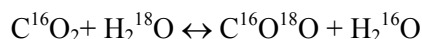
1. *Objet de la méthode :*

La présente méthode a pour but de mesurer le rapport isotopique $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ d'eaux de différentes origines. Le rapport isotopique $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ peut s'exprimer en déviation $\delta\%$ par rapport à la valeur du rapport isotopique de la référence internationale V.SMOW :

$$\delta_i [\text{‰}] = \left[\frac{R_i}{R_{\text{V.SMOW}}} \right] \times 1000$$

2. *Principe :*

Le rapport isotopique $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ est déterminé par spectrométrie de masse des rapports isotopiques (SMRI) à partir des courants ioniques m/z 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$) et m/z 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$) produits par le dioxyde de carbone obtenu après échange avec l'eau du vin selon la réaction :



Le dioxyde de carbone de la phase gazeuse est utilisé pour l'analyse.

3. *Réactifs :*

- Dioxyde de carbone pour analyse.
- V.SMOW (*Vienna Standard Mean Ocean Water*).
- GISP (*Greenland Ice Sheet Precipitation*).
- SLAP (*Standard Light Arctic Precipitation*).
- Eau de référence propre au laboratoire soigneusement étalonnée par rapport aux échantillons de référence de l'Agence Internationale de l'Energie Atomique à Vienne (IAEA).

4. *Equipement de laboratoire :*

- Spectromètre de masse de rapports isotopiques avec une répétabilité interne de 0,05 ‰.
- Triple collecteur pour enregistrement simultané des ions m/z 44, 45 et 46 ou, à défaut, double collecteur pour la mesure des ions m/z 44 et 46.
- Système thermostaté ($\pm 0,5$ °C) pour réaliser l'équilibration entre CO_2 et l'eau du vin.

- Pompe à vide pouvant atteindre une pression interne de 0,13 Pa.
- Fioles pour échantillons ayant un volume de 15 ml et un tube capillaire annexe d'un diamètre intérieur de l'ordre de 0,015 mm.
- Pipette Eppendorf avec cône en plastique jetable.

5. Déterminations expérimentales :

5.1. Méthode manuelle :

Mode opératoire de la méthode d'équilibrage

- Introduction de l'échantillon :

Prendre la pipette Eppendorf à volume fixe de 1.5 ml, adapter un cône et pipetter le liquide à analyser pour l'introduire dans un ballon. Ensuite, disposer de la graisse de silicones autour du col du ballon et adapter le ballon à la vanne en vérifiant que celle-ci est bien fermée.

Répéter l'opération pour chaque ballon de la rampe de travail en introduisant l'eau de référence du laboratoire dans un des ballons.

Dégazage de la rampe

Les deux rampes sont refroidies à l'azote liquide puis on purge tout le système jusqu'à 0.1 mm Hg en ouvrant les vannes.

On referme ensuite les vannes et on laisse l'ensemble se réchauffer. Le cycle de dégazage est répété jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de variation de pression.

Equilibrage de l'eau et du CO₂

On refroidit la rampe de travail à -70 °C (mélange d'azote liquide et d'alcool) pour geler l'eau et on met l'ensemble sous vide. Après stabilisation du vide, on isole la rampe au moyen de la vanne et on purge le système d'introduction du CO₂. On introduit le CO₂ gazeux dans la rampe de travail et après l'avoir isolée du reste du système, on introduit la rampe dans le bain thermostaté à 25 °C (±0,5 °C) pendant 12h (une nuit). Pour optimiser le temps nécessaire à l'équilibration, il est conseillé de préparer les échantillons en fin de journée et de laisser l'équilibre s'établir pendant la nuit.

Transfert du CO₂ échangé dans les cellules de mesure

Un porte-échantillon, supportant autant de cellules de mesure que de ballons contenant du CO₂ échangé, est adapté sur la ligne à vide à côté de la rampe de travail. Les cellules vides sont soigneusement purgées et les gaz échangés contenus dans les ballons sont successivement transférés dans les cellules de mesures refroidies à l'azote liquide. On laisse ensuite les cellules de mesure se réchauffer à température ambiante.

5.2. Utilisation d'un appareillage d'échange automatique :

Afin de réaliser l'équilibration, les fioles à échantillons sont remplies, soit avec 2 ml de vin ou 2 ml d'eau (référence de travail du laboratoire) et refroidies à -18 °C. Les porte-échantillons contenant les produits gelés sont adaptés au système d'équilibration et après avoir réalisé le vide dans le système, le dioxyde de carbone est introduit sous une pression de 800 hPa.

L'équilibre est atteint à une température de $22 \pm 0,5$ °C après une période minimum de 5h et sous agitation modérée. Puisque la durée d'équilibration dépend de la géométrie de la fiole, la durée optimum doit être déterminée au préalable pour le système utilisé.

Le dioxyde de carbone contenu dans les fioles est ensuite transféré dans la chambre d'introduction du spectromètre de masse par un tube capillaire et la mesure est effectuée selon un protocole propre à chaque type d'appareillage.

6. Calcul et expression des résultats :

La différence relative δ' du rapport des intensités des ions m/z 46 et 44 (I_{46}/I_{44}) entre l'échantillon et la référence est exprimée en ‰ au moyen de la relation suivante :

$$\delta' \text{ échantillon} = \left[\frac{(I_{46} / I_{44}) \text{ échantillon}}{(I_{46} / I_{44}) \text{ référence}} - 1 \right] \times 1000$$

La teneur en ^{18}O de l'échantillon par rapport à la référence V.SMOW sur l'échelle V. SMOW-SLAP, est donnée par la relation :

$$\delta'^{18} \text{ O} = \left[\frac{\delta' \text{ échantillon} - \delta' \text{ V.SMOW}}{\delta' \text{ V.SMOW} - \delta' \text{ SLAP}} \right] \times 55,5$$

La valeur acceptée pour l'eau du SLAP est égale à -55,5 ‰ par rapport au V.SMOW.

Le rapport isotopique de la référence doit être déterminé après chaque série de 10 mesures sur des échantillons inconnus.

7. Fidélité :

- la répétabilité (r) est égale à 0,24 ‰.
- la reproductibilité (R) est égale à 0,50 ‰.

ETUDE COLLABORATIVE INTER-LABORATOIRES

Bulletin de l'O.I.V. janvier-février 1997, 791-792, p.53 à 65.

BIBLIOGRAPHIE

- MOUSSA (I.) - OIV, FV n°915, (1992), 1937/130592 ; Recherche du mouillage dans les vins par spectrométrie de masse des rapports isotopiques (SMRI).
- MARTIN (G.J.), ZHANG (B.L.), DAY (M.) and LEES (M.) - OIV, F.V., n°917, (1993), 1953/220792 ; Authentification des vins et des produits de la vigne par utilisation conjointe des analyses élémentaire et isotopique.
- ZHANG (B.L.), FOUREL (F.), NAULET (N.) et MARTIN (G.J.) - OIV, F.V. n° 918, (1992), 1954/220792 ; Influence de l'expérimentation et du traitement de l'échantillon sur la précision et la justesse des mesures des rapports isotopiques (D/H) et ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$).
- FÖRSTEL (H.) - OIV, FV n° 919, (1992), 1955/220792 ; Projet de description d'une méthode : variation naturelle du rapport des isotopes ^{16}O et ^{18}O dans l'eau comme méthode d'analyse physique du vin en vue du contrôle de l'origine et de l'addition d'eau.
- MARTIN (G.J.), FÖRSTEL (H.), MOUSSA (I.) - OIV, FV n° 1006, (1995), 2268/240595 ; La recherche du mouillage des vins par analyse isotopique ^2H et ^{18}O .
- MARTIN (G.J.) - OIV, FV n° 1018, (1996), 2325/300196 ; Recherche du mouillage des vins par la mesure de la teneur en ^{18}O de l'eau des vins.
- MARTIN (G.J.) ET LEES (M.) - OIV, FV n° 1019, 2326/300196 ; Détection de l'enrichissement des vins par concentration des moûts au moyen de l'analyse isotopique ^2H et ^{18}O de l'eau des vins.
- CRAIG (H.), 1957 - Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 12, 133-149.
- CRAIG (H.), 1965 - Isotopic variations in meteoric waters. *Science*, 133, 1702-1703.
- GONFIANTINI (R.), 1978 - Standards for stable isotope measurements in natural compounds. *Nature*, 271, 534-536.
- Guidelines for Collaborative Study Procedures - 1989, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72, 694-704.
- PEARSON (E.S.) and HARTLEY (H.O.), 1976 - *Biometrika Tables for Statisticians*, 3d ed. Cambridge University Press, vol. 1, Ch.16.
- SLAP : *Standard Light Antartic Precipitation*. Disponible à l'Agence Internationale de l'Energie Atomique, Vienne, Autriche.
- V.SMOW : *Vienna Standard Mean Ocean Water*. Disponible à l'Agence Internationale de l'Energie Atomique, Vienne, Autriche

Indice de Folin-Ciocalteu

1. Définition

L'indice de Folin-Ciocalteu est le résultat obtenu par l'application de la méthode décrite ci-après.

2. Principe

L'ensemble des composés phénoliques du vin est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques.

3. Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

- 3.1. Fioles jaugées de 100 ml.
- 3.2. Spectrophotomètre permettant de travailler à 750 nm.

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 suivante : 100 g de tungstate de sodium et 25 g de molybdate de sodium sont dissous dans 700 ml d'eau distillée ; ajouter 50 ml d'acide phosphorique à 85% ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml), 100 ml d'acide chlorhydrique concentré ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Porter à l'ébullition sous reflux durant 10 heures, ajouter ensuite 150 g de sulfate de lithium, quelques gouttes de brome et porter à nouveau à l'ébullition durant 15 min. Refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

4.2. Carbonate de sodium (Na_2CO_3) anhydre en solution à 20 % (m/v).

5. Mode opératoire

5.1. Cas des vins rouges

Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire en respectant l'ordre suivant :

- 1 ml de vin dilué au $\frac{1}{5}$,
- 50 ml d'eau distillée,
- 5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu,
- 20 ml de solution de carbonate de sodium.

Porter à 100 ml avec de l'eau distillée.

Agiter pour homogénéiser. Attendre 30 minutes pour avoir une stabilisation de la réaction. Déterminer l'absorbance à 750 nm sous 1 cm par rapport à un témoin préparé avec de l'eau distillée à la place du vin.

Si l'absorbance lue n'est pas voisine de 0,3, il convient de reprendre le mode opératoire en modifiant la dilution du vin pour obtenir une telle absorbance.

5.2. *Cas des vins blancs*

Opérer dans les mêmes conditions, sur 1 ml de vin non dilué.

6. Expression des résultats

6.1. *Mode de calcul*

Le résultat est exprimé sous forme d'un indice obtenu en multipliant l'absorbance par 100 dans le cas des vins rouges dilués au 1/5e (ou par le facteur correspondant à la dilution employée) et par 20 dans le cas des vins blancs.

6.2. *Précision*

La différence entre les résultats de 2 déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste, ne doit pas être supérieure à 1.

Une bonne répétabilité des résultats est liée à l'utilisation d'un appareillage (fioles jaugées et cuves du spectrophotomètre) rigoureusement propre.

Titre	DÉTERMINATION DES CARACTÉRISTIQUES CHROMATIQUES SELON CIELab	
Type de méthode	I	
Résolution	Oeno 1/2006	

1. Introduction

La couleur du vin est l'un des éléments visuels les plus importants dont nous disposons, en ce qu'elle nous apporte une multitude d'informations de grande pertinence.

La couleur est une sensation que nous percevons visuellement par l'effet de la réfraction ou de la réflexion de la lumière sur la surface d'un objet. La couleur est lumière, elle est liée étroitement à la lumière et c'est du type de lumière (illumination ou stimulus lumineux) que dépend la perception de couleurs différentes. La lumière est très variable, tout comme la couleur lorsqu'elle est mesurée.

Le vin absorbe une partie seulement des radiations lumineuses qu'il reçoit et en réfléchit une autre partie, laquelle parvient jusqu'à l'œil de l'*observateur*, lui procurant une sensation de couleur. Par exemple, la sensation induite par un vin de teinte rouge à luminosité très foncée est due à l'absorption quasi complète par ce vin de la radiation incidente.

1.1. Objet et champ d'application

Cette méthode spectrophotométrique a pour objet de déterminer le mode de mesure et de calcul des *caractéristiques chromatiques* des vins et autres boissons dérivées, avec reproduction des sensations de couleur ressenties par un observateur réel à partir des *composants trichromatiques* X, Y, Z définis par la Commission internationale de l'Éclairage (CIE, 1976).

1.2. Principe et définitions

La couleur d'un vin peut être définie par trois attributs ou qualités spécifiques de la sensation visuelle : sa teinte, sa luminosité (ou luminance) et son chromatisme.

La *teinte*, la plus caractéristique, désigne la couleur en soi: rouge, jaune, vert ou bleu. La *luminosité* est l'attribut de la sensation visuelle selon laquelle un vin paraît plus ou moins lumineux. Le *chromatisme* ou *niveau de coloration*, pour sa part, est lié à l'intensité plus ou moins forte de sa couleur. La conjugaison de ces trois concepts permet d'identifier les multiples nuances de couleur des vins.

Les *caractéristiques chromatiques* d'un vin sont définies par les *coordonnées colorimétriques* ou de *chromacité* (Fig. 1) correspondant à la *clarté* (L^*), *composante de couleur rouge/vert* (a^*), *composante de couleur jaune/bleu* (b^*), et par les *grandeurs dérivées*, à savoir la *chroma* (C^*), le *ton* (H^*) et la *chromacité* [(a^*, b^*) ou (C^*, H^*)]. En d'autres termes, ce système de couleur ou espace CIELab se fonde sur une représentation cartésienne séquentielle ou continue sur 3 axes orthogonaux L^* , a^* et b^* (Fig. 2 et 3). La coordonnée L^* désigne la clarté ($L^* = 0$ noir et $L^* = 100$ incolore), a^* désigne la composante de couleur rouge/vert ($a^* > 0$ rouge, $a^* < 0$ vert) et b^* la composante de couleur jaune/bleu ($b^* > 0$ jaune, $b^* < 0$ bleu).

1.2.1. Clarté

Son symbole est L^* et elle se définit par la fonction mathématique suivante :

$$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16 \quad \text{(I)}$$

Elle est directement liée à la sensation visuelle de luminosité.

1.2.2. Composante de couleur rouge/vert

Son symbole est a^* et elle se définit par la fonction mathématique suivante :

$$a^* = 500[(X/X_n) - (Y/Y_n)] \quad \text{(I)}$$

1.2.3. Composante de couleur jaune/bleu

Son symbole est b^* et elle se définit par la fonction mathématique suivante :

$$b^* = 200-[(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}] \quad \text{(I)}$$

1.2.4. Chroma

Le symbole de la Chroma est C^* , défini par la fonction mathématique suivante :

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

1.2.5. Ton

Le symbole du ton est H^* , son unité est le degré sexagésimal ($^\circ$) et il est défini par la fonction mathématique suivante :

$$H^* = \text{tg}^{-1} (b^*/a^*)$$

1.2.6 Différence de ton entre deux vins

Le symbole est $?H^*$, défini par la fonction mathématique suivante :

$$?H^* = \sqrt{(?E^*)^2 - (?L^*)^2 - (?C^*)^2}$$

(I) Voir explication annexe I.

1.2.7. Différence colorimétrique globale entre deux vins

Le symbole est ΔE^* , défini par les formules mathématiques suivantes :

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} = \sqrt{(\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2}$$

1.3. Réactifs et produits

Eau distillée.

1.4. Appareillage et matériel

Équipement et appareillage courants de laboratoire, notamment :

1.4.1. Spectrophotomètre permettant d'effectuer des mesures avec une longueur d'onde de transmittance comprise entre 300 et 800 nm, avec illuminant D65 et observateur à 10°. Utiliser des appareils à résolution égale ou supérieure à 5 nm et, si possible, à balayage.

1.4.2. Matériel informatique et programme approprié permettant, en conjonction avec le spectrophotomètre, de calculer les coordonnées colorimétriques (L^* , a^* et b^*) et leurs grandeurs dérivées (C^* et H^*).

1.4.3. Récipients de verre, disponibles par paires, de trajet optique de 1, 2 et 10 mm.

1.4.4. Micropipettes permettant de prélever des volumes compris entre 0,020 et 2 ml.

1.5. Échantillonnage et préparation de l'échantillon

La prise d'essai doit respecter particulièrement tous les concepts d'homogénéité et de représentativité.

Si le vin est trouble, il doit être clarifié par centrifugation. Concernant les vins jeunes ou mousseux, la plus grande quantité possible de dioxyde de carbone doit être éliminée par agitation sous vide ou par le biais d'un bain à ultrasons.

1.6. Mode opératoire

- Sélectionner une paire de récipients pour réaliser la lecture spectrophotométrique en veillant à ne pas dépasser le plafond de mesure dans les limites de linéarité du spectrophotomètre. À titre indicatif, il est conseillé d'utiliser pour les vins blancs et rosés des récipients de 10 mm de trajet optique et d'1 mm pour les vins rouges.
- Une fois l'échantillon prélevé et préparé, mesurer sa transmittance entre 380 et 780 nm tous les 5 nm, en utilisant comme liquide de référence de l'eau distillée placée dans un récipient de même trajet optique de manière à régler la ligne de base ou le blanc. Sélectionner l'illuminant D65 et un observateur à 10°.
- Si le trajet optique du récipient de lecture est inférieur à 10 mm, il convient alors de transformer la transmittance à 10 mm avant de procéder au calcul de : L^* , a^* , b^* , C^* et H^* .

Résumé :

Mesures spectrales à des transmittances entre 780 et 380 nm
Intervalle : 5 nm
Récipients : en fonction de l'intensité du vin. 1 cm (vins blancs et rosés), 0,1 cm (vins rouges)
Illuminant D65
Observateur standard à 10°

1.7. Calculs

Le spectrophotomètre doit être utilisé en conjonction avec un programme informatique permettant de calculer facilement, au moyen des algorithmes mathématiques appropriés, les coordonnées colorimétriques (L^* , a^* et b^*) et leurs grandeurs dérivées (C^* et H^*).

En l'absence de programme informatique, les calculs seront effectués conformément à l'Annexe 1.

1.8. Expression des résultats

Les coordonnées colorimétriques du vin seront exprimées selon les recommandations énoncées au tableau suivant.

Coordonnées colorimétriques	Symbole	Unité	Intervalle	Décimales
Clarté	L*		0-100 0 noir 100 incolore	1
Composante rouge/vert	a*		>0 rouge <0 verte	2
Composante jaune/bleu	b*		>0 jaune <0 bleu	2
Chroma	C*			2
Ton	H*	°	0-360°	2

1.9. Exemple numérique

La figure 4 recense les valeurs des coordonnées colorimétriques et présente le diagramme de chromaticité d'un vin rouge jeune pour les valeurs suivantes :

X = 12,31 ; Y = 60,03 et Z = 10,24

L* = 29,2

a* = 55,08

b* = 36,10

C* = 66,00

H* = 33,26°

2. Fidélité

Les données ci-dessus ont été obtenues dans le cadre de deux essais interlaboratoires exécutés en double aveugle sur 8 échantillons de vin ayant des caractéristiques chromatiques progressives. Ces essais ont été conduits conformément aux recommandations du Protocole harmonisé pour les études collectives en vue de la validation de la méthode d'analyse.

2.1. Coordonnée colorimétrique L* (clarté, 0-100)

Identification de l'échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H
Année de l'essai interlaboratoires	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
Nombre de laboratoires participants	18	21	18	18	17	18	23	18
Nombre de laboratoires admis après élimination des valeurs aberrantes	14	16	16	16	14	17	21	16
Valeur moyenne (\bar{x})	96,8	98,0	91,6	86,0	77,4	67,0	34,6	17,6
Écart-type de répétabilité (s_r)	0,2	0,1	0,2	0,8	0,2	0,9	0,1	0,2
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	0,2	0,1	0,3	1,0	0,3	1,3	0,2	1,2
Limite de répétabilité (r) ($2,8 \times s_r$)	0,5	0,2	0,7	2,2	0,7	2,5	0,2	0,6
Écart-type de reproductibilité (s_R)	0,6	0,1	1,2	2,0	0,8	4,1	1,0	1,0
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	0,6	0,1	1,3	2,3	1,0	6,1	2,9	5,6
Limite de reproductibilité (R) ($2,8 \times s_R$)	1,7	0,4	3,3	5,5	2,2	11,5	2,8	2,8

2.2. Coordonnée colorimétrique a* (vert/rouge)

Identification de l'échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H
Année de l'essai interlaboratoires	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
Nombre de laboratoires participants	18	21	18	18	17	18	23	18
Nombre de laboratoires admis après élimination des valeurs aberrantes	15	15	14	15	13	16	23	17
Valeur moyenne (\bar{X})	-0,26	-0,86	2,99	11,11	20,51	29,29	52,13	47,55
Écart-type de répétabilité (s_r)	0,17	0,01	0,04	0,22	0,25	0,26	0,10	0,53
Écart-type relatif de répétabilité (RSD _r) (%)	66,3	1,4	1,3	2,0	1,2	0,9	0,2	1,1
Limite de répétabilité (r) (2,8 x s_r)	0,49	0,03	0,11	0,61	0,71	0,72	0,29	1,49
Écart-type de reproductibilité (s_R)	0,30	0,06	0,28	0,52	0,45	0,98	0,88	1,20
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD _R) (%)	116,0	7,5	9,4	4,7	2,2	3,4	1,7	2,5
Limite de reproductibilité (R) (2,8 x s_R)	0,85	0,18	0,79	1,45	1,27	2,75	2,47	3,37

2.3. Coordonnée colorimétrique b* (bleu/jaune)

Identification de l'échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H
Année de l'essai interlaboratoires	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
Nombre de laboratoires participants	17	21	17	17	17	18	23	18
Nombre de laboratoires admis après élimination des valeurs aberrantes	15	16	13	14	16	18	23	15
Valeur moyenne (\bar{x})	10,95	9,04	17,75	17,10	19,68	26,51	45,82	30,07
Écart-type de répétabilité (s_r)	0,25	0,03	0,08	1,08	0,76	0,65	0,15	0,36
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	2,3	0,4	0,4	6,3	3,8	2,5	0,3	1,2
Limite de répétabilité (r) ($2,8 \times s_r$)	0,71	0,09	0,21	3,02	2,12	1,83	0,42	1,01
Écart-type de reproductibilité (s_R)	0,79	0,19	0,53	1,18	3,34	2,40	1,44	1,56
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	7,2	2,1	3,0	6,9	16,9	9,1	3,1	5,2
Limite de reproductibilité (R) ($2,8 \times s_R$)	2,22	0,53	1,47	3,31	9,34	6,72	4,03	4,38

BIBLIOGRAPHIE

- Vocabulaire International de l'Éclairage. Publication CIE 17.4.- Publication I.E.C. 50(845). CEI(1987). Genève. Suisse.
- Colorimetry, 2nd. Ed.- Publication CIE 15.2 (1986) Vienna.
- Colorimetry, 2nd. Ed.- Publication CIE 15.2 (1986) Vienna.
- Kowaliski P. – Vision et mesure de la couleur. Masson ed. Paris 1990
- Wiszecki G. And W.S.Stiles, Color Science, Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae, 2nd Ed. Wiley, New York 1982
- Sève R. .- Physique de la couleur. Masson. Paris (1996)
- Echávarri J.F., Ayala F. et Negueruela A.I. -Influence du pas de mesure dans le calcul des coordonnées de couleur du vin. Bulletin de l'OIV 831-832, 370-378 (2000)
- I.R.A.N.O.R . Magnitudes Colorimétricas. Norma UNE 72-031-83
- Bertrand A.- Mesure de la couleur. F.V. 1014 2311/190196
- Fernández, J.I.; Carcelén, J.C.; Martínez, A. III Congreso Nacional De Enólogos, 1.997. Características cromáticas de vinos rosados y tintos de la cosecha de 1996 en la region de murcia
- Cagnaso E..- Metodi Oggettivi per la definizione del colore del vino. Quaderni della Scuola di Specializzazione in Scienze Viticole ed Enologiche. Universidad di Torino. 1997
- Ortega A.P., Garcia M.E., Hidalgo J., Tienda P., Serrano J. – 1995- Identificación y Normalización de los colores del vino. Carta de colores. Acti XXI Congreso Mundial de la Viña y el Vino, Punta del Este. ROU 378-391
- Iñiguez M., Rosales A., Ayala R., Puras P., Ortega A.P.- 1995-La cata de color y los parametros CIELab, caso de los vinos tintos de Rioja. Acti XXI Congreso Mundial de la Viña y el Vino, Punta del Este. ROU 392-411
- Billmeyer, F.W. jr. And M. Saltzman: Principles of Color. Technology, 2. Auflage, New York; J. Wiley and Sons, 1981.

ANNEXE 1

Formellement, les composantes trichromatiques X, Y, Z d'un stimulus de couleur résultent de l'intégration, sur tout le spectre, des fonctions obtenues en multipliant la courbe spectrale relative du stimulus de couleur par les fonctions colorimétriques de l'observateur de référence. Il s'agit toujours des fonctions obtenues expérimentalement. Il n'est donc pas possible de calculer les composantes trichromatiques directement par intégration. En conséquence, on doit déterminer les valeurs approchées en remplaçant ces intégrales par des sommations des intervalles des longueurs d'onde.

$$X = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{X}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$T_{(\lambda)}$ est la mesure de la transmittance du vin mesurée à la longueur d'onde λ exprimée à 1 cm de trajet optique.

$$Y = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$\Delta_{(\lambda)}$ est l'intervalle entre la valeur de λ auxquelles on mesure $T_{(\lambda)}$

$$Z = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Z}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$S_{(\lambda)}$: coefficients fonction de λ et de l'illuminant. (Tableau 1).

$$K = 100 / \sum_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$\bar{X}_{10(\lambda)}$; $\bar{Y}_{10(\lambda)}$; $\bar{Z}_{10(\lambda)}$: coefficients fonction de λ et de l'observateur. (Tableau 1)

Les formules pour les calculs font référence aux valeurs X_n , Y_n , Z_n , qui correspondent au diffuseur parfait pour les conditions d'illumination et de l'observateur de référence donnés. Ici, l'illuminant est D65 et l'observateur 10°.

$$X_n = 94,825; \quad Y_n = 100; \quad Z_n = 107,381$$

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES– OIV
Caractéristiques Chromatiques

Cet espace approximativement uniforme est dérivé de l'espace CIEYxy, où sont définies les composantes trichromatiques X, Y, Z.

Les calculs des coordonnées L^* , a^* y b^* son effectués a partir des valeurs des composants Trichromatiques X, Y, Z, en utilisant les formules suivantes.

$$\begin{aligned} L^* &= 116 (Y / Y_n)^{1/3} - 16 && \text{para } Y / Y_n > 0,008856 \\ L^* &= 903,3 (Y / Y_n) && \text{para } Y / Y_n < 0,008856 \\ a^* &= 500 [f(X / X_n) - f(Y / Y_n)] \\ b^* &= 200 [f(Y / Y_n) - f(Z / Z_n)] \\ f(X / X_n) &= (X / X_n)^{1/3} && \text{para } (X / X_n) > 0,008856 \\ f(X / X_n) &= 7,787 (X / X_n) + 16 / 166 && \text{para } (X / X_n) < 0,008856 \\ f(Y / Y_n) &= (Y / Y_n)^{1/3} && \text{para } (Y / Y_n) > 0,008856 \\ f(Y / Y_n) &= 7,787 (Y / Y_n) + 16 / 116 && \text{para } (Y / Y_n) < 0,008856 \\ f(Z / Z_n) &= (Z / Z_n)^{1/3} && \text{para } (Z / Z_n) > 0,008856 \\ f(Z / Z_n) &= 7,787 (Z / Z_n) + 16 / 116 && \text{para } (Z / Z_n) < 0,008856 \end{aligned}$$

L'écart colorimétrique global entre deux couleurs est donné par la différence de couleur CIELAB

$$D E^* = [(D L^*)^2 + (D a^*)^2 + (D b^*)^2]^{1/2}$$

Dans l'espace CIELAB il est possible d'exprimer des écarts de couleur non seulement globaux, mais aussi suivant un ou plusieurs des paramètres L^* , a^* et b^* . Cela permet de définir de nouveaux paramètres et les relier avec les attributs de la sensation visuelle.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES– OIV
Caractéristiques Chromatiques

La clarté, reliée à la luminosité, est directement représenté par la valeur de L^* .

La chroma: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ définit la chromie.

L'angle de teinte: $H^* = \text{tg}^{-1} (b^*/a^*)$ (exprimée en degrés). Est relié à la teinte.

La différence de teinte : $\Delta H^* = [(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2]^{1/2}$

Pour deux couleurs quelconques, ΔC^* représente leur différence de chromaticité; ΔL^* , leur différence de clarté, et ΔE^* , leur écart de couleur global. Nous avons donc:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2]^{1/2}$$

Tableau 1. Coefficients à appliquer dans les formules

Long. d' (l) nm.	$S_{(l)}$	$\bar{X}_{10(l)}$	$\bar{Y}_{10(l)}$	$\bar{Z}_{10(l)}$
380	50,0	0,0002	0,0000	0,0007
385	52,3	0,0007	0,0001	0,0029
390	54,6	0,0024	0,0003	0,0105
395	68,7	0,0072	0,0008	0,0323
400	82,8	0,0191	0,0020	0,0860
405	87,1	0,0434	0,0045	0,1971
410	91,5	0,0847	0,0088	0,3894
415	92,5	0,1406	0,0145	0,6568
420	93,4	0,2045	0,0214	0,9725
425	90,1	0,2647	0,0295	1,2825
430	86,7	0,3147	0,0387	1,5535
435	95,8	0,3577	0,0496	1,7985
440	104,9	0,3837	0,0621	1,9673
445	110,9	0,3867	0,0747	2,0273
450	117,0	0,3707	0,0895	1,9948
455	117,4	0,3430	0,1063	1,9007
460	117,8	0,3023	0,1282	1,7454
465	116,3	0,2541	0,1528	1,5549

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES– OIV
Caractéristiques Chromatiques

470	114,9	0,1956	0,1852	1,3176
475	115,4	0,1323	0,2199	1,0302
480	115,9	0,0805	0,2536	0,7721
485	112,4	0,0411	0,2977	0,5701
490	108,8	0,0162	0,3391	0,4153
495	109,1	0,0051	0,3954	0,3024
500	109,4	0,0038	0,4608	0,2185
505	108,6	0,0154	0,5314	0,1592
510	107,8	0,0375	0,6067	0,1120
515	106,3	0,0714	0,6857	0,0822
520	104,8	0,1177	0,7618	0,0607
525	106,2	0,1730	0,8233	0,0431
530	107,7	0,2365	0,8752	0,0305
535	106,0	0,3042	0,9238	0,0206
540	104,4	0,3768	0,9620	0,0137
545	104,2	0,4516	0,9822	0,0079
550	104,0	0,5298	0,9918	0,0040
555	102,0	0,6161	0,9991	0,0011
560	100,0	0,7052	0,9973	0,0000
565	98,2	0,7938	0,9824	0,0000
570	96,3	0,8787	0,9556	0,0000
575	96,1	0,9512	0,9152	0,0000
580	95,8	1,0142	0,8689	0,0000
585	92,2	1,0743	0,8256	0,0000
590	88,7	1,1185	0,7774	0,0000
595	89,3	1,1343	0,7204	0,0000
600	90,0	1,1240	0,6583	0,0000
605	89,8	1,0891	0,5939	0,0000
610	89,6	1,0305	0,5280	0,0000
615	88,6	0,9507	0,4618	0,0000
620	87,7	0,8563	0,3981	0,0000
625	85,5	0,7549	0,3396	0,0000
630	83,3	0,6475	0,2835	0,0000
635	83,5	0,5351	0,2283	0,0000
640	83,7	0,4316	0,1798	0,0000
645	81,9	0,3437	0,1402	0,0000
650	80,0	0,2683	0,1076	0,0000
655	80,1	0,2043	0,0812	0,0000
660	80,2	0,1526	0,0603	0,0000
665	81,2	0,1122	0,0441	0,0000
670	82,3	0,0813	0,0318	0,0000
675	80,3	0,0579	0,0226	0,0000

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES– OIV
Caractéristiques Chromatiques

680	78,3	0,0409	0,0159	0,0000
685	74,0	0,0286	0,0111	0,0000
690	69,7	0,0199	0,0077	0,0000
695	70,7	0,0138	0,0054	0,0000
700	71,6	0,0096	0,0037	0,0000
705	73,0	0,0066	0,0026	0,0000
710	74,3	0,0046	0,0018	0,0000
715	68,0	0,0031	0,0012	0,0000
720	61,6	0,0022	0,0008	0,0000
725	65,7	0,0015	0,0006	0,0000
730	69,9	0,0010	0,0004	0,0000
735	72,5	0,0007	0,0003	0,0000
740	75,1	0,0005	0,0002	0,0000
745	69,3	0,0004	0,0001	0,0000
750	63,6	0,0003	0,0001	0,0000
755	55,0	0,0002	0,0001	0,0000
760	46,4	0,0001	0,0000	0,0000
765	56,6	0,0001	0,0000	0,0000
770	66,8	0,0001	0,0000	0,0000
775	65,1	0,0000	0,0000	0,0000
780	63,4	0,0000	0,0000	0,0000

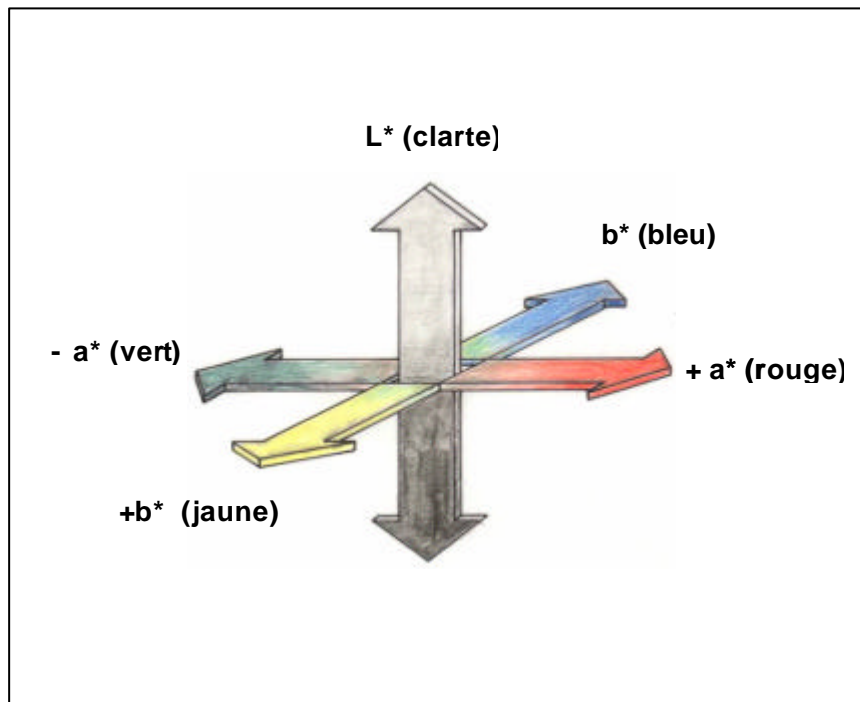


Figure 1 : Diagramme des coordonnées colorimétriques selon la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE, 1976)

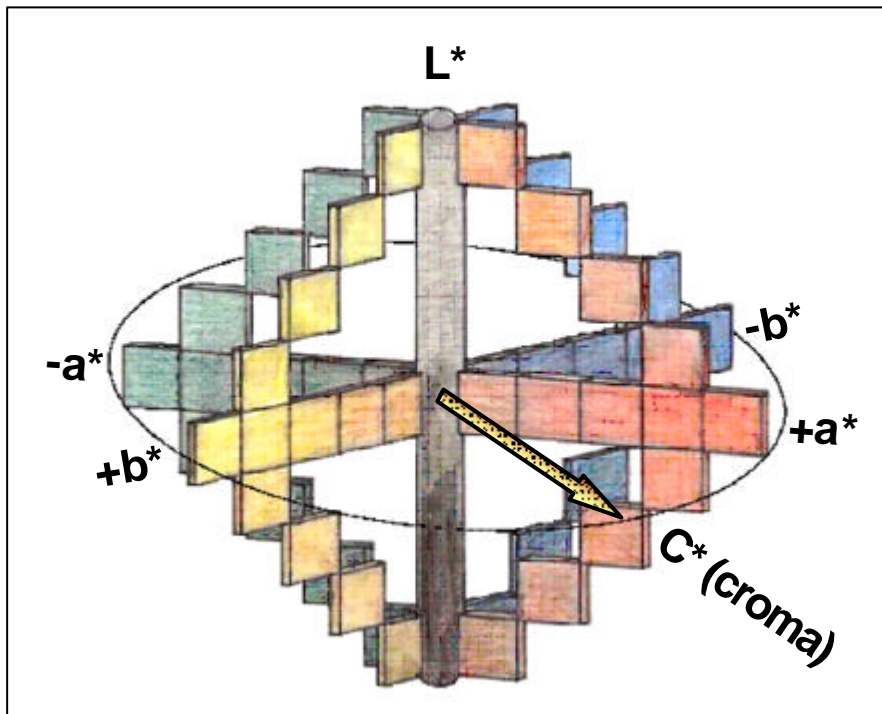


Figure 2. Espace CIELab de couleur à partir d'une représentation cartésienne séquentielle ou continue des 3 axes orthogonaux L , a et b .

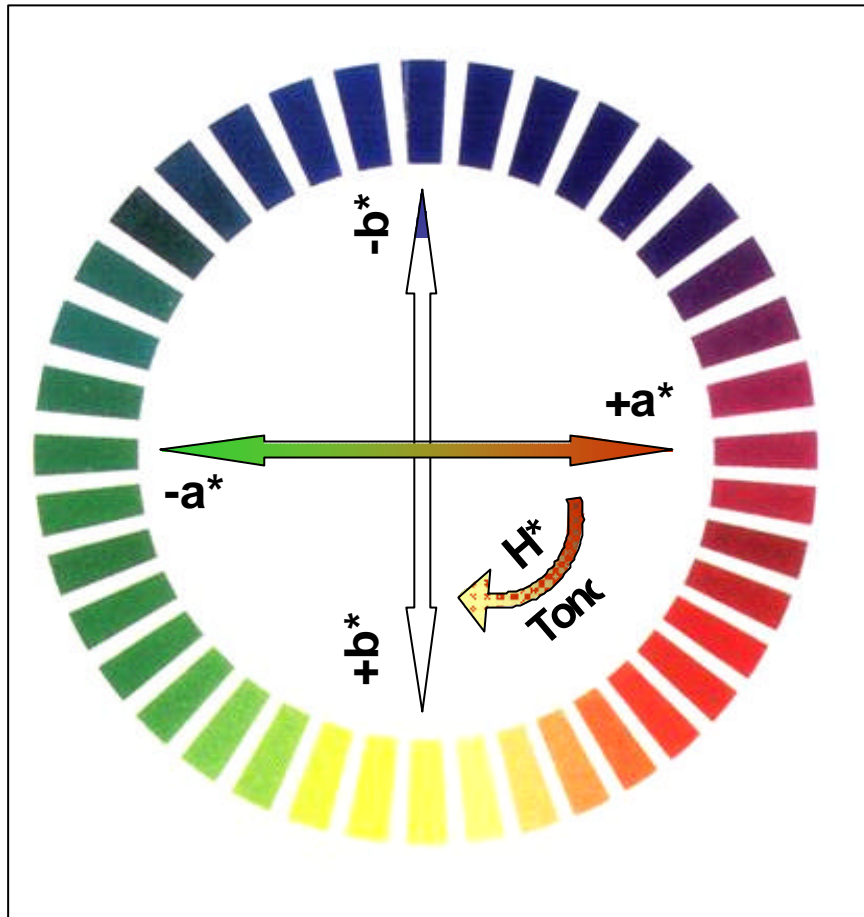


Figure 3. Diagramme séquentiel et/ou continu des coordonnées colorimétriques a et b et de magnitude dérivée comme le ton (H).

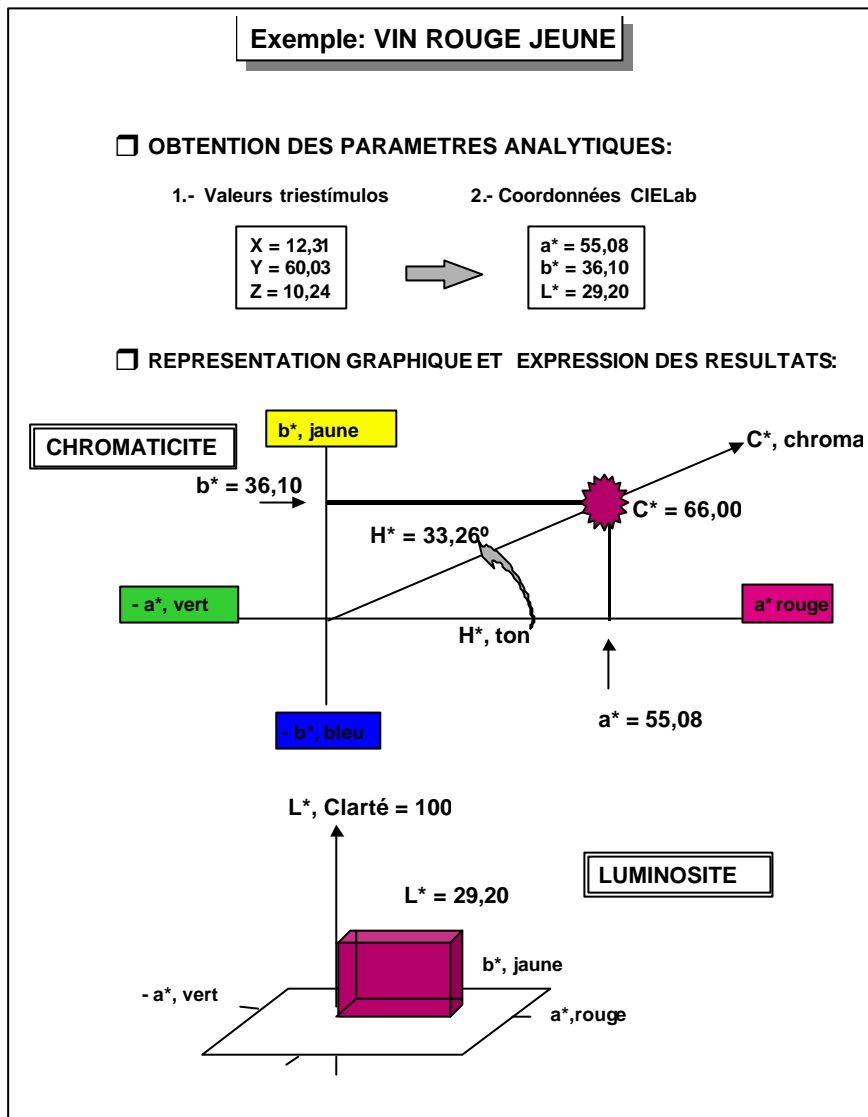


Figure 4. Représentation de la couleur d'un vin rouge jeune, utilisé comme exemple dans le chapitre 1.8, par un diagramme tridimensionnel de l'espace CIELab.

Sucres réducteurs

1. Définition

Les sucres réducteurs sont constitués par l'ensemble des sucres à fonction cétonique ou aldéhydique dosés par leur action réductrice sur la solution cupro-alcaline.

2. Principe des méthodes

2.1. Dégélation

Méthode de référence : passage du vin neutralisé et désalcoolisé sur une colonne échangeuse d'anions sous forme acétate où ses anions sont échangés par les ions acétiques, suivi de la dégélation par l'acétate neutre de plomb.

Méthodes usuelles : le vin est traité par l'un des réactifs suivants :

- Acétate neutre de plomb
- Hexacyanoferrate (II) de zinc

2.2. Dosage

Méthode unique : après avoir fait réagir le vin ou le moût dégégué sur une quantité déterminée de solution cupro-alcaline, l'excès d'ions cuivriques est dosé par iodométrie.

3. Dégélation

Le liquide dans lequel les sucres seront dosés doit présenter une teneur en sucres comprise entre 0,5 et 5 g/l.

Si le vin est sec, il faut éviter de le diluer pendant la dégélation; s'il est doux, il faut le diluer tout en le dégéguant, de manière à amener la teneur en sucres entre ces limites, suivant le tableau ci-dessous.

Dénomination	Teneur en sucres comprise entre (g/l)	Masse volumique comprise entre	Dilution à prévoir (%)
Moûts et mistelles	> 125	> 1,038	1
Vins doux spiritueux ou non	25 à 125	1,005 à 1,038	4
Vins moelleux	5 à 25	0,997 à 1,005	20
Vins secs	< 5	< 0,997	pas de dilution

3.1. Méthode de référence

3.1.1. Appareillage et réactifs

- Résine échangeuse d'anions [type Dowex 3 (20-50 mesh) ou résine équivalente]
- Burette de 50 ml
- Préparation de la colonne de résine échangeuse d'anions.

Au fond de la burette, placer un petit tampon de laine de verre et 15 ml de résine échangeuse d'anions.

Lors de la mise en service de la résine, faire subir à la résine deux cycles complets de régénération avec passages alternés de solution M d'acide chlorhydrique et d'hydroxyde de sodium. Après rinçage avec 50 ml d'eau distillée, transvaser la résine dans un vase cylindrique, ajouter 50 ml d'une solution M d'acide acétique et agiter pendant 5 minutes. Remplir à nouveau la burette et faire passer à travers la colonne 100 ml de solution M d'acide acétique. (Il est préférable d'avoir un stock de la résine conservée dans un flacon rempli avec cette solution 4 M d'acide acétique). Laver la colonne avec de l'eau distillée jusqu'à ce que l'effluent soit neutre.

- Régénération de la résine.

Faire passer 150 ml d'une solution 2 M d'hydroxyde de sodium pour éliminer les acides et une grande partie de la matière colorante fixée sur la résine. Rincer par 100 ml d'eau, faire passer 100 ml de solution 4 M d'acide acétique. Laver la colonne jusqu'à ce que l'effluent soit neutre.

- Solution d'acétate neutre de plomb (approximativement saturée) :

Acétate neutre de plomb, $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$	250 g
Eau très chaude q.s.p.	500 mL

Agiter jusqu'à dissolution.

- Carbonate de calcium, $CaCO_3$

3.1.2. *Mode opératoire*

- Vins secs

50 ml de vin placés dans un vase cylindrique de 10 à 12 cm de diamètre environ et additionné de 0,5 ($n - 0,5$) ml d'une solution M d'hydroxyde de sodium (n étant le volume d'une solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium utilisé pour le dosage de l'acidité totale sur 10 ml de vin) sont évaporés sur un bain d'eau bouillante en envoyant un jet d'air chaud jusqu'à ce que le liquide soit réduit à 20 ml environ.

Faire écouler ce liquide à travers une colonne de résine échangeuse d'anions sous forme acétate à raison de 3 ml toutes les 2 min. Recueillir l'effluent dans une fiole jaugée de 100 ml. Laver 6 fois le vase et la colonne avec 10 ml d'eau distillée.

Ajouter en agitant 2,5 ml de solution saturée d'acétate de plomb et 0,5 g de carbonate de calcium ; agiter à plusieurs reprises et abandonner au moins 15 minutes; porter au trait de jauge avec de l'eau. Filtrer.

1 ml de ce filtrat correspond à 0,5 ml de vin.

- Moûts, mistelles, vins doux et vins moelleux

Les dilutions ci-dessous sont données à titre indicatif.

1^{er} cas - Moûts et mistelles. Diluer à 10 pour 100 le liquide à analyser, prélever 10 ml de cette dilution.

2^{ème} cas - Vins doux, vinés ou non, dont la masse volumique est comprise entre 1,005 et 1,038. Diluer à 20 p. 100 le liquide à analyser prélever 20 ml de cette dilution.

3^{ème} cas - Vins moelleux, dont la masse volumique est comprise entre 0,997 et 1,005. Prélever 20 ml de vin non dilué.

Faire écouler le volume de vin ou de moût indiqué ci-dessus à travers une colonne de résine d'échangeuse d'anions sous forme acétate à raison de 3 ml toutes les 2 minutes.

Recueillir l'effluent dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer la colonne 6 fois avec 10 ml d'eau distillée. Ajouter 1 ml d'acétate de plomb en solution saturée et 0,5 g de carbonate de calcium ; agiter et laisser au repos pendant 15 min au moins en agitant de temps en temps; porter au trait de jauge avec de l'eau. Filtrer.

1^{er} cas : 1 ml de filtrat correspond à 0,01 ml de moût ou de mistelle;

2^{ème} cas : 1 ml de filtrat correspond à 0,04 ml de vin doux;

3^{ème} cas : 1 ml de filtrat correspond à 0,20 ml de vin moelleux.

3.2. Méthodes usuelles

3.2.1. Défécation à l'acétate neutre de plomb

3.2.1.1. Réactifs

- Solution d'acétate neutre de plomb (approximativement saturée) (voir 3.1.1.6).
- Carbonate de calcium.

3.2.1.2. Mode opératoire

- Vins secs

50 ml de vin sont placés dans une fiole jaugée de 100 ml ; ajouter 0,5 ($n-0,5$) ml de solution M d'hydroxyde de sodium, n étant le volume de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M utilisé pour doser l'acidité totale de 10 ml de vin. Ajouter en agitant 2,5 ml de solution saturée d'acétate de plomb et 0,5 g de carbonate de calcium, agiter à plusieurs reprises et abandonner au moins 15 min ; porter au trait de jauge avec de l'eau. Filtrer.

1 ml de filtrat correspond à 0,5 ml de vin.

- Moûts, mistelles, vins doux et vins moelleux

Dans une fiole jaugée de 100 ml, placer un volume de vin (ou de moûts ou de mistelles) ainsi défini, les dilutions ci-dessous étant données à titre indicatif :

1^{er} cas - Moûts et mistelles : diluer à 10 p. 100 le liquide à analyser, prélever 10 ml de cette dilution.

2^{ème} cas - Vins doux, vinés ou non, dont la masse volumique est comprise entre 1,005 et 1,038. Diluer à 20 p. 1000 de liquide à analyser, prélever 20 ml de cette solution.

3^{ème} cas - Vins moelleux, dont la masse volumique est comprise entre 0,997 et 1,005. Prélever 20 ml de vin non dilué.

Ajouter 60 ml d'eau environ, 0,5, 1 ou 2 ml d'acétate de plomb en solution saturée et 0,5 g de carbonate de calcium ; agiter et laisser au repos pendant 15 min . au moins en agitant de temps en temps. Porter au trait de jauge avec de l'eau. Filtrer.

1^{er} cas - 1 ml de filtrat correspond à 0,01 ml de moût ou de mistelle;

2^{ème} cas - 1 ml de filtrat correspond à 0,04 ml de vin doux;

3^{ème} cas - 1 ml de filtrat correspond à 0,20 ml de vin moelleux.

3.2.2. *Défécation par l'hexacyanoferrate (II) de zinc*

Ce procédé de défécation ne devra être utilisé que pour les vins blancs, les vins doux peu colorés et les moûts

3.2.2.1. *Réactifs*

Solution I d'hexacyanoferrate (II) de potassium

Hexacyanoferrate (II) de potassium (II), $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ 150 g
Eau q.s.p. 1000 ml

Solution II de sulfate de zinc :

Sulfate de zinc $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 300 g
Eau q.s.p. 1000 ml

3.2.2.2. *Mode opératoire*

Dans une fiole jaugée de 100 ml, placer un volume de vin (ou de moût ou de mistelle) ainsi défini, les dilutions ci-dessous étant données à titre indicatif :

1^{er} cas - Moûts et mistelles : diluer à 10 p. 100 le liquide à analyser, prélever 10 ml de cette dilution.

2^e cas - Vins doux, vinés ou non, dont la masse volumique est comprise entre 1,005 et 1,038. Diluer à 20 p. 1000 de liquide à analyser, prélever 20 ml de cette solution.

3^{ème} cas - Vins moelleux, dont la masse volumique est comprise entre 0,997 et 1,005. Prélever 20 ml de vin non dilué.

4^{ème} cas : Vins secs, prélever 50 ml de vin non dilué.

Ajouter 5 ml de solution I d'hexacyanoferrate (II) de potassium et 5 ml de solution II de sulfate de zinc. Mélanger. Porter au trait de jauge avec de l'eau. Attendre 10 min. filtrer.

1^{er} cas - 1 ml de filtrat correspond à 0,01 ml de moût ou de mistelle;

2^{ème} cas - 1 ml de filtrat correspond à 0,04 ml de vin doux;

3^{ème} cas - 1 ml de filtrat correspond à 0,20 ml de vin moelleux.

4^{ème} cas - 1 ml de filtrat correspond à 0,50 ml de vin sec.

4. Dosage

4.1. Réactifs

- Solution cupro-alcaline :

Sulfate de cuivre pur ($\text{CuSO}_4, 5 \text{ H}_2\text{O}$)	25 g
Acide citrique ($\text{C}_6 \text{ H}_8 \text{ O}_7, \text{ H}_2\text{O}$)	50 g
Carbonate de sodium cristallisé ($\text{Na}_2 \text{ CO}_3, 10 \text{ H}_2\text{O}$)	388 g
Eau q.s.p.	1000 ml

Dissoudre le sulfate de cuivre dans 100 ml d'eau, l'acide citrique dans 300 ml d'eau et le carbonate de sodium dans 300 à 400 ml d'eau chaude. Mélanger la solution d'acide citrique et la solution de carbonate de sodium. Ajouter ensuite la solution de sulfate de cuivre et porter au litre.

- Solution d'iodure de potassium à 30 p. 100

Iodure de potassium (KI)	30 g
Eau q.s.p.	100 ml

Conserver en flacon de verre teinté.

- Acide sulfurique à 25 p. 100

Acide sulfurique pur $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$	25 g
Eau q.s.p.	100 ml

Verser l'acide dans l'eau, laisser refroidir et porter à 100 ml.

- Empois d'amidon à 5 g/l

Délayer 5 g d'amidon dans 500 ml d'eau environ. Porter à ébullition en agitant et maintenir l'ébullition pendant 10 min. Ajouter 200 g de chlorure de sodium. Porter au litre après refroidissement.

- Thiosulfate de sodium solution 0,1 M

- Solution de sucre interverti à 5 g/l, solution à utiliser pour vérifier la technique du dosage.

Dans une fiole jaugée de 200 ml, placer :

Saccharose pur et sec	4,75 g
Eau environ	100 mL
Acide chlorhydrique pur ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19 \text{ g/mL}$)	5 mL

Plonger la fiole dans un bain d'eau à 60 °C pendant un temps suffisant pour que la température de la solution atteigne 50 °C, température que l'on maintient durant 15 min. Abandonner ensuite la fiole au refroidissement spontané durant 30 min. puis refroidir par immersion dans un bain d'eau froide. Transvaser dans une fiole jaugée de 1 l, porter au litre. Cette solution se conserve bien durant un mois. Au moment de l'emploi neutraliser la prise d'essai (cette solution est approximativement 0,06 M acide), avec une solution d'hydroxyde de sodium.

4.2. *Mode opératoire*

Dans une fiole conique de 300 ml, placer 25 ml de solution cupro-alcaline, 15 ml d'eau et 10 ml de solution de défécation. Ce volume de solution sucrée ne doit pas contenir plus de 60 mg de sucre inverti.

Ajouter quelques grains de pierre ponce. Adapter à la fiole un réfrigérant à reflux et porter à l'ébullition qui doit être atteinte en 2 minutes. Maintenir l'ébullition pendant 10 min. exactement.

Refroidir immédiatement sous un courant d'eau froide. Après refroidissement complet, ajouter 10 ml de solution d'iodure de potassium à 30 p. 100, 25 ml d'acide sulfurique à 25 p. 100 et 2 ml d'empois d'amidon.

Titrer par la solution 0,1 M de thiosulfate de sodium. Soit n le nombre de millilitres utilisés.

Par ailleurs, effectuer un dosage témoin dans lequel 25 ml d'eau distillée remplacent les 25 ml de solution sucrée. Soit n' le volume de thiosulfate employé.

4.3. *Expression des résultats*

4.3.1. *Calculs*

La quantité de sucre, exprimée en sucre inverti, contenue dans la prise d'essai, est donnée dans le tableau ci-après en fonction du nombre $n' - n$ de millilitres de thiosulfate utilisés.

Exprimer la teneur du vin en grammes de sucre inverti par litre avec une décimale en tenant compte des dilutions effectuées au cours de la défécation et du volume de la prise d'essai.

4.3.2. *Répétabilité*

$$r = 0,015 x_i$$

x_i = concentration du sucre inverti en g/l de l'échantillon

4.3.3 *Reproductibilité*

$$R = 0,058 x_i$$

x_i = concentration du sucre inverti en g/l de l'échantillon

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Sucres réducteurs

Tableau de correspondance entre le volume de solution 0,1 M de thiosulfate de sodium : (n'-n) ml, et la quantité de sucres réducteurs en mg,					
Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Sucres réducteurs (mg)	Diff,	Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Sucres réducteurs (mg)	Diff,
1	2,4	2,4	13	33,0	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	38,5	2,8
4	9,7	2,5	16	41,3	2,9
5	12,2	2,5	17	44,2	2,9
6	14,7	2,6	18	47,2	2,9
7	17,2	2,6	19	50,0	3,0
8	19,8	2,6	20	53,0	3,0
9	22,4	2,6	21	56,0	3,1
10	25,0	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	
12	30,3	2,7			

BIBLIOGRAPHIE

DEFECATION :

Méthode de références :

KOURAKOU Mme V., SOTIROPOULOS S., *Chronique chimique*, 1964, **29**, 245.

Méthodes usuelles :

JAULMES P., *Analyses des vins*, 1951, 170, Montpellier.

JAULMES P., BRUN Mme S., ROQUES Mme J., *Trav. Soc. Pharm.*, 1963, **23**, 19.

SCHNEYDER J., VLECK G., *Mitt. Klosterneuburg, Rebe und Wein*, 1961, sér. A, 135.

DOSAGE DES SUCRES :

LUFF, Z. *Ges. Braun.*, 1898, **21**, 319; *Chemiker Zentralblatt*, 1898, **II**, 393.

SCHOORL N., *Z. Lebensmit. Unters. Forsch.*, 1929, No. 566, 57.

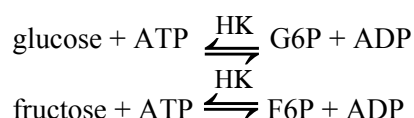
Glucose et fructose

1. Définition

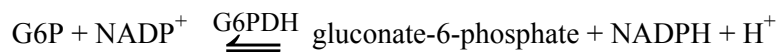
Le glucose et le fructose peuvent être dosés individuellement par une méthode enzymatique, en vue seulement du calcul du rapport glucose/fructose.

2. Principe

Le glucose et le fructose sont phosphorylés par l'adénosine triphosphate (ATP) au cours d'une réaction enzymatique catalysée par l'hexokinase (HK), et donnent du glucose-6-phosphate (G6P) et du fructose-6-phosphate (F6P) :



dans un premier temps le glucose-6-phosphate est oxydé en gluconate-6-phosphate par le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) en présence de l'enzyme glucose-6-phosphate-déhydrogénase (G6PDH). La quantité de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduite (NADPH) qui prend naissance correspond à la quantité de glucose-6-phosphate et donc à celle de glucose.



C'est la nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit qui est dosé d'après son absorption à 340 nm.

Lorsque cette réaction est terminée, le fructose-6-phosphate est transformé sous l'action de la phosphoglucose-isomérase (PGI) en glucose-6-phosphate :



Le glucose-6-phosphate réagit à nouveau avec le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate pour donner du gluconate-6-phosphate et du nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit ; celui-ci sera dosé.

3. Appareillage

– Spectrophotomètre permettant d'effectuer la mesure à 340 nm, maximum d'absorption du NADPH. S'agissant de mesures absolues (pas de gamme d'étalonnage, mais référence au coefficient d'extinction du NADPH), les échelles des longueurs d'onde et des absorbances de l'appareil doivent être contrôlées.

A défaut, utiliser un photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm ou à 365 nm.

- Cuves de verre de 1 cm de trajet optique ou cuves à usage unique.
- Pipettes pour test enzymatique de 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 ml

4. Réactifs

Solution 1 : tampon (triéthanolamine 0,3 M, pH 7,6, Mg^{2+} $4 \cdot 10^{-3} M$) : 11,2 g de chlorhydrate de triéthanolamine (C_2H_5HCl) et 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ sont dissous dans 150 ml d'eau bidistillée; ajouter environ 4 ml de solution 5M d'hydroxyde de sodium pour obtenir un pH égal à 7,6 et porter à 200 ml.

Cette solution tampon se conserve 4 semaines à + 4 °C.

Solution 2 : solution de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (environ $11,5 \cdot 10^{-3} M$) : 50 mg de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate disodique sont dissous dans 5 ml d'eau bidistillée.

Cette solution se conserve 4 semaines à +4 °C.

Solution 3 : solution d'adénosine-5'-triphosphate disodique et 250 mg d'hydrogénocarbonate de sodium sont dissous dans 5 ml d'eau bidistillée.

Cette solution se conserve 4 semaines à +4 °C.

Solution 4 : hexokinase/glucose-6-phosphate-déshydrogénase : mélanger 0,5 ml d'hexokinase (2 mg de protéine/ml soit 280 U/ml) et 0,5 ml de glucose-6-phosphate-déshydrogénase (1 mg de protéine/ml).

Le mélange se conserve un an à +4 °C.

Solution 5 : phosphoglucose-isomérase (2 mg de protéine/ml, soit 700 U/ml). La suspension est utilisée sans dilution.

Cette solution se conserve un an à +4 °C.

Remarque : L'ensemble des réactifs nécessaires pour ce dosage est commercialisé.

5. Mode opératoire

5.1. Préparation de l'échantillon

En fonction de la quantité estimée de glucose + fructose par litre (g/l) effectuer les dilutions suivantes :

Mesure à 340 et 344 nm (g/l)	Mesure à 365 nm (g/l)	Dilution avec l'eau	Facteur F de dilution
Jusqu'à 0,4	0,8	-	-
4,0	8,0	1 + 9	10
10,0	20,0	1 + 24	25
20,0	40,0	1 + 49	50
40,0	80,0	1 + 99	100
au-dessus de 40,0	80,0	1 + 999	1000

5.2. Dosage

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, effectuer les mesures par rapport à l'air (pas de cuve dans le trajet optique) ou par rapport à l'eau.

Température 20 à 25 °C.

Dans 2 cuves de 1 cm de trajet optique, introduire :

	<u>Témoin</u>	<u>Dosage</u>
Solution 1 (ramenée à 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Solution 2	0,10 ml	0,10 ml
Solution 3	0,10 ml	0,10 ml
Echantillon à doser		0,20 ml
Eau bidistillée	0,20 ml	

Mélanger et après environ 3 minutes, lire l'absorbance des solutions (A₁). déclencher la réaction en ajoutant :

Solution 4	0,02 ml	0,02 ml
------------------	---------	---------

Mélanger; attendre 1(minutes; effectuer la mesure de l'absorbance et vérifier l'arrêt de la réaction après 2 min. (A₂).

Ajouter immédiatement :

Solution 5	0,02 ml	0,02 ml
------------------	---------	---------

Mélanger; effectuer la lecture au bout de 10 min ; vérifier l'arrête de la réaction après 2 min. (A₃).

Déterminer les différences d'absorbance :

A₂ – A₁ correspondant au glucose,

A₃ – A₂ correspondant au fructose,

Pour le témoin et pour le dosage.

Déduire la différence d'absorbance du témoin (ΔA_T) de celle du dosage (ΔA_D) et établir :

pour le glucose : ΔA_G = ΔA_D - ΔA_T

pour le fructose : ΔA_F = ΔA_D - ΔA_T

Remarque : Le temps nécessaire à l'action des enzymes peut varier d'un lot à l'autre. Il n'est donné ci-dessus qu'à titre indicatif. Il est recommandé de le déterminer pour chaque lot.

5.3. Expression des résultats

5.3.1 Calcul

La formule générale pour le calcul des concentrations est la suivante :

$$C = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times \nu \times 1000} \Delta A \text{ (g/l)}$$

V = volume du test (ml)

v = volume de l'échantillon (ml)
PM = masse moléculaire de la substance à doser
 d = trajet optique de la cuve (cm)
 ε = coefficient d'absorption du NADPH à 340 nm = 6,3
(mmole⁻¹ x l x cm⁻¹)
 V = 2,92 ml pour le dosage du glucose
 V = 2,94 ml pour le dosage du fructose
 v = 0,20 ml
PM = 180
 d = 1

On obtient :

Pour le glucose : $C(\text{g/l}) = 0,417 \times \Delta A_G$

Pour le fructose : $C(\text{g/l}) = 0,420 \times \Delta A_F$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur F.

Remarque : si les mesures ont été faites aux longueurs d'onde 334 ou 365 nm, on obtient :

- mesure à 334 nm : $\varepsilon = 6,2$ (mmole⁻¹ x l x cm⁻¹)
pour le glucose : $C(\text{g/l}) = 0,425 \times \Delta A_G$
pour le fructose : $C(\text{g/l}) = 0,428 \times \Delta A_F$
- mesure à 365 nm : $\varepsilon = 3,4$ (mmole⁻¹ x l x cm⁻¹)
pour le glucose : $C(\text{g/l}) = 0,773 \times \Delta A_G$
pour le fructose : $C(\text{g/l}) = 0,778 \times \Delta A_F$

5.3.2 Répétabilité (r) :

$$r = 0,056 x_i$$

x_i = concentration en g/l de l'échantillon.

5.3.3 Reproductibilité (R) :

$$R = 0,12 + 0,076 x_i$$

x_i = concentration en g/l de l'échantillon.

BIBLIOGRAPHIE

BERGMEYER H.U., BERNT E., SCHMIDT F. and STORK H., *Méthodes d'analyse enzymatique* by BERGMEYER H.U., 2e éd., p. 1163, Verlag-Chemie Weinheim/Bergstraße, 1970.

BOEHRINGER Mannheim, *Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire*, documentation technique.

JUNGE Ch., *F.V., O.I.V.*, 1973, No 438.

**Dosage des sucres par CLHP dans les vins
(Méthode de Type II)
(Oeno 23/2003)**

1. DOMAINE D'APPLICATION

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

2. PRINCIPE

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

**3. REACTIFS ET PREPARATION DES SOLUTIONS
REACTIVES**

3.1 Eau déminéralisée ;

**3.2 Acétonitrile - Minimum de transmission à 200 nm
pureté >99 % ;**

3.3 Méthanol - pureté >99 % ;

3.4 Ethanol - 95-96 % ;

3.5 Fructose - Pureté > 99 % ;

3.6 Glucose - Pureté > 99 % ;

3.7 Saccharose D(+) - Pureté > 99 % ;

3.8 Glycérol - Pureté > 99 % ;

3.9 Azote pureté > 99% ;

3.10 Hélium pureté > 99%.

Préparation des solutions réactives

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

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

4. APPAREILLAGE

- 4.1. Fioles coniques de 100 ml ;
- 4.2. Vases cylindriques de 100 ml ;
- 4.3. Vases cylindriques de 50 ml ;
- 4.4. Pipette automatique de 10 ml ;
- 4.5. Cônes pour pipette de 10 ml ;
- 4.6. Fiole jaugée de 100 ml ;
- 4.7. Eprouvette de 1 litre ;
- 4.8. Flacon de 1 litre ;
- 4.9. Seringue de 20 ml et aiguille;
- 4.10. Seringue de 10 ml et aiguille;
- 4.11. Système de filtration ;
- 4.12. Porte-filtres ;
- 4.13. Membrane 0,45 µm en cellulose ;
- 4.14. Membrane 0,8 µm en cellulose ;
- 4.15. Membrane 1,2 µm en cellulose ;
- 4.16. Membrane 5,0 µm en cellulose ;
- 4.17. Préfiltres en cellulose ;
- 4.18. Cartouche de filtration de silice greffée par des groupes octadécyles, (par exemple :Sep pack C18 ;) ;
- 4.19. Film étirable par exemple Parafilm ;
- 4.20. Fioles coniques de 10 ml ;
- 4.21. Appareillage courant de chromatographie liquide à haute performance
- 4.22. Colonne alkylamine de 5 µm et 250 × 4 mm -
Conditionnement des colonnes : les colonnes sont généralement remplies et testées à l'hexane. Il faut les laver avec 50 ml d'éthanol (3.4), puis 50 ml de méthanol (3.3) avant de passer au mélange acétonitrile/eau 80/20 (3.12). Démarrer à petit débit, c'est-à-dire 0,1 ml/mn, puis augmenter progressivement jusqu'à 1 ml/mn pour éviter le tassement de la phase;
- 4.23. Détecteur réfractométrique - Rincer la cellule de référence une à deux fois par jour (entre deux analyses) avec de l'éluant acétonitrile/eau (3.12). Attendre environ ¼ d'heure pour que la ligne de base se stabilise. Régler le zéro du réfractomètre.
- 4.24. Bain à ultrasons

5. ECHANTILLONNAGE

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

6. MODE OPERATOIRE

6.1 Préparation de l'échantillon

6.1.1 Filtration

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

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

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

6.1.2 Elimination des composés phénoliques

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

6.1.2.1 Préparation de la cartouche de filtration C18

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

6.1.2.2 Passage sur la cartouche de filtration C18

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

6.1.3 Nettoyage courant

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

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

6.2 Analyse

6.2.1 Conditions analytiques

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

Débit : 1 ml/mn ;

Volume injecté 20 µl.

Détecteur (4.23) à paramétrer selon l'appareil.

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

6.2.2 Etalonnage externe

Mélange étalon synthétique composé de :

fructose (3.5) 10 g/l ± 0,01 g/l ;

glucose (3.6) 10 g/l ± 0,01 g/l ;

saccharose (3.7) 10 g/l ± 0,01 g/l ;

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

Calcul des facteurs de réponse

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

où

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

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

7. EXPRESSION DES RESULTATS

Calcul des concentrations

$C_e = \text{surface } e / R_{Fi}$

où

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

Les résultats sont exprimés en g/l ;

Tenir compte des dilutions éventuelles.

8. CONTROLE DES RESULTATS

Méthode comparative ;

Raccordement indirect par masse, volume et température ;

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

9. PERFORMANCES DE LA METHODE

Durée d'une analyse environ 50 mn ;

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

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

9.1 Limites de détection et de quantification

$LD_{\text{fructose}} = 0,12 \text{ g/l}$

$LD_{\text{glucose}} = 0,18 \text{ g/l}$

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

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

voir annexe B.2

9.2 Fidélité

9.2.1 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur un vin identique soumis à essais, par un opérateur utilisant le même appareillage dans l'intervalle de temps le plus court ne

dépassera pas la valeur de répétabilité dans plus de 5 % des cas (voir annexe B.3).

Les valeurs sont :

Pour $G+F > 5$ g/l

RSDr = 1 %

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

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

RSDr = 3%

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

9.2.2 Reproductibilité

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

Pour $G + F > 5$ g/l

RSDR = 4 %

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

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

RSDR = 10%

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

Annexe A

Bibliographie

TUSSEAU D. et BOUNIOL Cl. (1986), Sc. Alim., 6, 559-577 ;

TUSSEAU D., 1996. Limite de détection - limite de quantification.
Feuillet Vert OIV 1000.

Protocole de validation des méthodes d'analyse. Résolution OIV
OENO 6/2000

Exactitude des résultats et méthodes de mesure. Norme NF ISO
5725

Annexe B

RESULTATS STATISTIQUES DE L'ESSAI INTERLABORATOIRE

B.1 ECHANTILLONS DE L'ESSAI INTERLABORATOIRE

Cette étude a été conduite par le Laboratoire Interrégional de la Répression de Fraudes de Bordeaux. L'essai a porté sur 12 échantillons identifiés de A à J (4 vins blancs et 4 vins rouges ; 2 vins de Porto blancs et 2 vins de Porto rouges) contenant du glucose et du fructose et dont les teneurs en chaque sucre étaient comprises entre 2 et 65 g/l. Les vins provenant de la région de Bordeaux ont été supplémentés en glucose et fructose et stabilisés par 100 mg/l de SO₂.

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

B.2 CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

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

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

$$LD_{\text{fructose}} = 0,12 \text{ g/l}$$

$$LD_{\text{glucose}} = 0,18 \text{ g/l}$$

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

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

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

B.3 FIDELITE

Neuf laboratoires ont participé à cette étude.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Un résultat non valide a été identifié.

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

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

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Sucres

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

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

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

* résultat non valide

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

Sucre : F fructose, G glucose

Résultats globaux en glucose + fructose

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

Les échantillons répliqués à l'aveugle sont mentionnés dans la première colonne et les résultats respectifs dans les colonnes suivantes.

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

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

* résultat non valide (mauvaise intégration de pics)

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

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

Les mesures de répétabilité ont été effectuées selon 2 méthodes:

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

$$S_r \text{ ED} = \sqrt{(\sum d_i^2) / 2n}.$$

Où d_i est la différence obtenue à partir des 2 premières répétitions des analyses du même échantillon par chaque laboratoire et n le nombre de laboratoires dont les résultats sont pris en compte.
RSDr **ED** (%); c'est le coefficient de variation de l'écart-type par rapport à la valeur moyenne, en %

$$\text{Limite de répétabilité } r = 2,8 S_r \text{ ED}$$

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

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

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

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

Tableau III – RESULTATS DES VALEURS DE REPETABILITE

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

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

B.3.2 Reproductibilité des dosages de glucose et fructose

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

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

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

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

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

Tableau IV – RESULTATS DE REPRODUCTIBILITE ET EFFET LABORATOIRE

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

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

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

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

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

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

Pour G+F >5 g/l

$$RSDr = 1 \%$$

$$RSDR = 4 \%$$

$$\text{Limite de répétabilité } r = 3\% \quad (2,8 \text{ RSDr})$$

$$\text{Limite de reproductibilité } R = 10\% \quad (2,8 \text{ RSDr})$$

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

$$RSDr = 3\%$$

$$RSDR = 10\%$$

$$\text{Limite de répétabilité } r = 8\% \quad (2,8 \text{ RSDr})$$

$$\text{Limite de reproductibilité } R = 30\% \quad (2,8 \text{ RSDr})$$

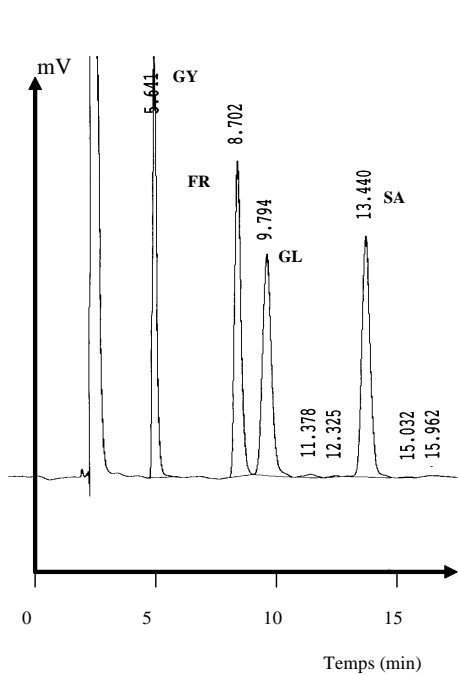


Figure 1 - Chromatogramme
d'une solution étalon
(sucres et glycérol à 10 g/l.)

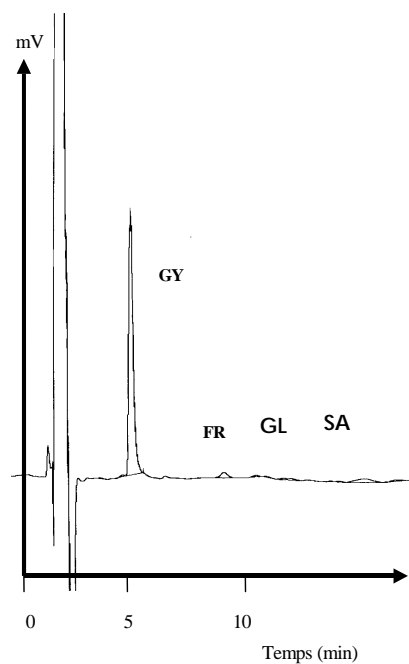
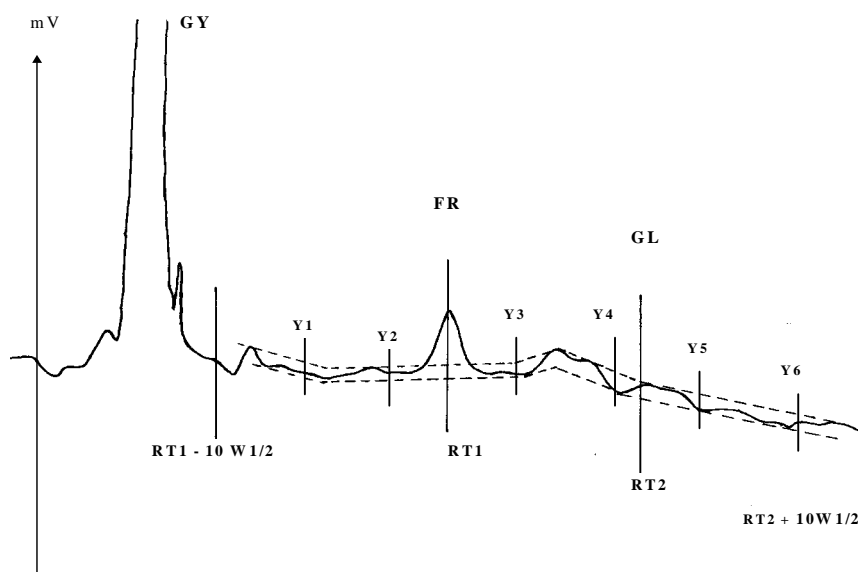


Figure 2 Chromatogramme
d'un vin rosé

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

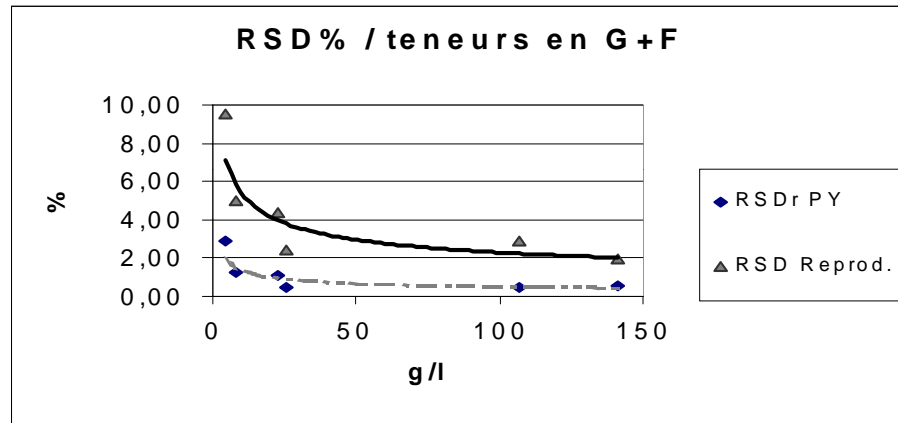


fructose (FR), glucose (GL), saccharose (SA) Glycérol (GY),

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

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

Figure 4 – Représentation des coefficients de variation des écarts-type en fonction des teneurs en glucose + fructose.



Stabilisation des moûts en vue de la recherche de l'addition de saccharose

1. Principe de la méthode

L'échantillon prélevé est amené à pH 7, par une solution d'hydroxyde de sodium et additionné d'un volume égal de propanone.

La propanone est éliminée par distillation préalablement à la recherche du saccharose par chromatographie sur couche mince (CCM) et par chromatographie liquide haute performance (HPLC) (voir fiche *Saccharose*).

2. Appareillage

Appareil à distiller avec un ballon à distiller de 100 ml.

3. Réactifs

3.1. *Hydroxyde de sodium en solution à 20 p. 100 (m/v).*

3.2. *Propanone (acétone).*

4. Mode opératoire

4.1. Stabilisation des échantillons

20 ml de moût sont placés dans un flacon de 100 ml aux parois résistantes et amenés à pH 7 avec la solution d'hydroxyde de sodium à 20 p. 100 (6 à 12 gouttes). Ajouter 20 ml de propanone. Boucher et conserver à basse température.

Remarque : Prendre garde à la tension de vapeur élevée de la propanone et à l'inflammabilité de ses vapeurs.

4.2. Préparation de l'échantillon pour la recherche du saccharose par CCM ou par HPLC.

Placer le contenu du flacon dans le ballon de 100 ml de l'appareil à distiller.

Distiller et recueillir 20 ml environ de distillat que l'on rejette. Ajouter au contenu du ballon à distiller 20 ml d'eau et distiller à nouveau en recueillant 25 ml environ de distillat que l'on rejette.

Transvaser le contenu du ballon à distiller dans une fiole jaugée de 20 ml et compléter au trait de jauge avec les eaux de rinçage du ballon. Filtrer. Utiliser le filtrat pour la recherche et éventuellement pour le dosage du saccharose par CCM ou par HPLC.

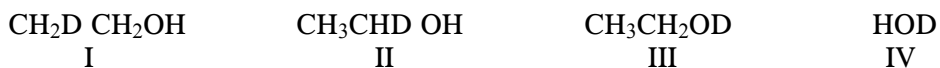
BIBLIOGRAPHIE

TERCERO C., *F.V. O.I.V.*, 1972, N^{os} 420 et 421

**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/SNIF-NMR¹)**

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 :

Paramètres	(D/H) _I	(D/H) _{II}	(D/H) _W ⁰	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)_W⁰ : 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)_W⁰ représente la climatologie du lieu de production et la richesse en sucre du moût initial

¹ Fractionnement Isotopique Naturel Spécifique étudié par Résonance Magnétique Nucléaire (Site-Specific Natural Isotope Fractionation studied by Nuclear Magnetic Resonance). - Brevet: France, 81-22710; Europe, 82-402-209-9; Etats-Unis, 85-4-550-082; Japon 57-123-249.

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 du vin ou des produits de fermentation du moût, du moût concentré, du sucre de raisin obtenus dans des conditions données ; elle est éventuellement complétée par la détermination du rapport isotopique de l'eau extraite du vin, $(D/H)_W^Q$ et par la détermination du rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$ de l'éthanol.

Dans l'attente de la constitution d'une banque de données;

- dans le cas des vins, les prélèvements de contrôle effectués dans les zones de production doivent être accompagnés de prélèvements d'échantillons témoins naturels (au moins trois) de même origine (lieu géographique et millésime) ; ces divers prélèvements sont effectués en trois exemplaires;
- dans le cas des moûts, des moûts concentrés et des sucres de raisin, les échantillons témoins (au moins 3) sont constitués par des moûts naturels de même origine.

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 et de l'eau du vin

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 & 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. Déterminer le titre alcoométrique du vin à mieux que 0,05 % vol. près. Soit t^V .

3.1.2.2. Extraction de l'éthanol

Introduire une prise d'essai homogène de 500 ml de vin de titre alcoométrique t^V 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.

La distillation complète dure environ 5 heures. Cette façon de procéder permet de récupérer entre 98 et 98,5 % de l'alcool total du vin 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.

Une prise d'essai homogène de 60 ml des queues de distillation est conservée dans un flacon de 60 ml et représente l'eau du vin. Son rapport isotopique sera éventuellement déterminé.

Si on dispose d'un spectromètre équipé d'une sonde de 10 mm (cf. paragr. 4), une prise d'essai homogène de 300 ml de vin est suffisante.

3.1.2.3. 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 $\rho'g$.

Le titre massique de l'éthanol est donné par :

$$t_m^D = \frac{\rho - \rho'}{\rho} \times 100$$

3.2. Fermentation des moûts, des moûts concentrés et du sucre de raisin.

3.2.1. appareillage et réactifs

- Acide tartrique.
- Bacto Yeast Nitrogen, (Base without amino acids) DIFCO.
- Levures sèches actives (*Saccharomyces cerevisiae*).

Si l'on connaît le rapport isotopique de l'eau du moût, on peut réactiver les levures préalablement à l'ensemencement pendant 15 min., dans le minimum d'eau tiède (1 g dans 50 ml) non distillée, de rapport isotopique voisin de celui de l'eau du moût.

Lorsqu'on ne connaît pas le rapport isotopique de l'eau du moût, il est préférable de l'ensemencer directement.

La quantité de levures sèches à mettre en oeuvre est de l'ordre de 1 g soit environ 10^{10} cellules pour 1 litre de moût.

- Récipient pour la fermentation d'une capacité de 1,5 litre muni d'un dispositif permettant d'opérer à l'abri de l'air et de condenser les vapeurs d'alcool car aucune perte d'éthanol pendant la fermentation ne doit être tolérée. Le taux de conversion des sucres fermentescibles en éthanol doit être supérieur à 98%.

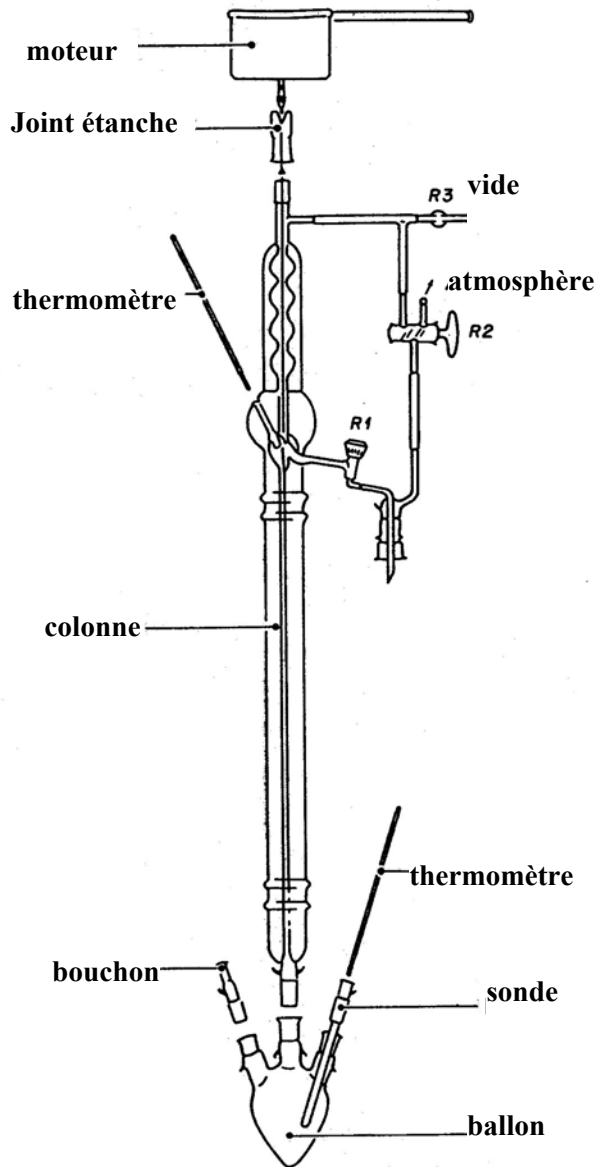


Figure 1 – Dispositif pour extraction de l'éthanol

3.2.2. Mode opératoire

3.2.2.1. Cas des moûts

– Moûts frais

Placer 1 litre de moût, dont la concentration en sucres fermentescibles a été préalablement déterminée, dans le récipient prévu pour la fermentation. Ajouter 1 g de levures sèches préalablement réactivées, mettre en place le dispositif permettant d'opérer à l'abri de l'air. Conduire la fermentation à une température voisine de 20 °C jusqu'à épuisement des sucres. Après détermination du titre alcoométrique du produit de la fermentation et calcul du taux de conversion des sucres en alcool, le liquide fermenté est centrifugé et soumis à la distillation pour extraire l'éthanol.

– Moûts mutés au dioxyde de soufre

Désulfiter un volume de moût un peu supérieur à 1 litre (1,2 l) par barbotage d'un courant d'azote dans le moût porté au bain-marie à 70-80 °C sous reflux jusqu'à ce que la teneur en dioxyde de soufre total soit inférieure à 200 mg/l. Veiller à ne provoquer aucune concentration du moût par évaporation de l'eau en utilisant un réfrigérant efficace.

Placer 1 litre de moût désulfité dans le récipient pour fermentation et continuer comme il est indiqué pour les moûts frais.

Remarque : Si l'on a utilisé du métabisulfite de potassium pour sulfiter le moût, il est nécessaire d'ajouter ce dernier d'acide sulfurique préalablement au désulfitage à raison de 0,25 ml d'acide sulfurique concentré ($\rho_{20} = 1.84$ g/ml) par gramme de métabisulfite utilisé par litre de moût.

3.2.2.2. *Cas des moûts concentrés*

Dans le récipient pour fermentation, placer un volume V ml de moût concentré contenant une quantité connue de sucres, voisine de 170 g. Compléter le volume à 1 litre avec (1 000 - V) ml d'eau de même rapport isotopique que l'eau du moût naturel témoin.ensemencer ainsi qu'il est indiqué en 3.2.1. Ajouter 3 g de Bacto Yeast Nitrogen Base without amino acids DIFCO. Homogénéiser et poursuivre comme précédemment.

3.2.2.3. *Cas du sucre de raisins*

Procéder comme il est décrit en 3.2.2.2 en complétant au volume de 1 litre avec (1 000 - V) ml d'eau de même rapport isotopique que l'eau du moût naturel témoin dans lequel 3 g d'acide tartrique auront été dissous.

Remarque : Réserver un volume de 50 ml d'échantillon de moût ou de moût désulfité ou de moût concentré ou du sucre de raisin redilués, en vue de l'extraction éventuelle de l'eau et de la détermination de son rapport isotopique $(D/H)_W^O$. L'extraction de l'eau des moûts pourra se faire très simplement par distillation azéotropique au toluène.

3.3. *Préparation de l'échantillon d'alcool pour la mesure RMN*

3.3.1. *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.

3.3.2. *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 μ l	200 μ l
9,4 T	35 μ l	50 μ l

3.4. *Préparation de l'échantillon d'eau pour la mesure RMN*, en vue de la détermination éventuelle de son rapport isotopique

3.4.1. *Réactifs*

N, N-Tétraméthylurée (TMU) : voir 3.3.1.

3.4.2. *Mode opératoire*

Dans un flacon taré, prélever 3 ml d'eau obtenue en 3.1.2 ou en 3.2 (Remarque); les peser à 0,1 mg près, soit m'_E ; prélever ensuite 4 ml du standard interne (TMU) et les peser à 0,1 mg près, soit m'_{st} . Homogénéiser par agitation.

Remarque : Si le laboratoire dispose d'un spectromètre de masse de rapports isotopiques cette mesure pourra être effectuée sur cet instrument pour alléger la charge du spectromètre RMN, car il est nécessaire d'étalonner le rapport T_{IV} (5.2) pour chaque série de vins étudiée.

4. Enregistrement des spectres RMN ^2H de l'alcool et de l'eau.
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 $B_0 = 7,05 \text{ T}$, $\nu_0 = 46,05 \text{ MHz}$ et pour $B_0 = 9,4 \text{ T}$, $\nu_0 = 61,4 \text{ MHz}$), 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. 2*b*) 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. 2*a*) 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 éthanol de référence, désignés par les lettres C (éthanol de canne à sucre), V (éthanol de vin) et B (éthanol de betterave), présentant une teneur 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_{st} , B_{st} , 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 $(D/H)_{II}$.

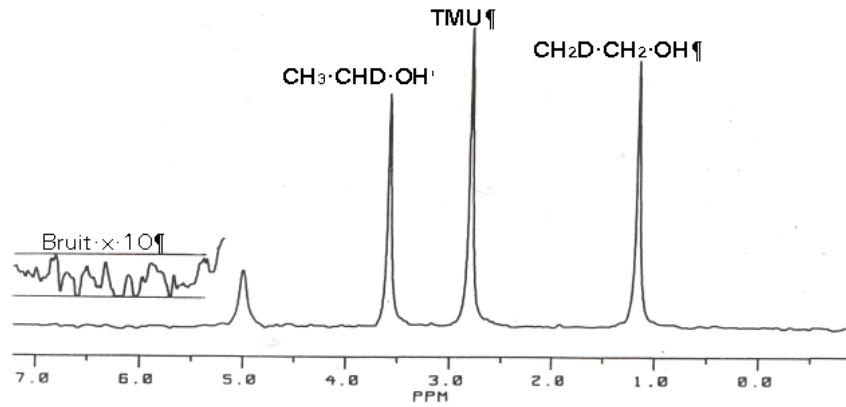


Figure 2a
Spectre RMN ^2H d'un éthanol de vin avec une référence interne
(TMU : N,N-tétraméthylurée)

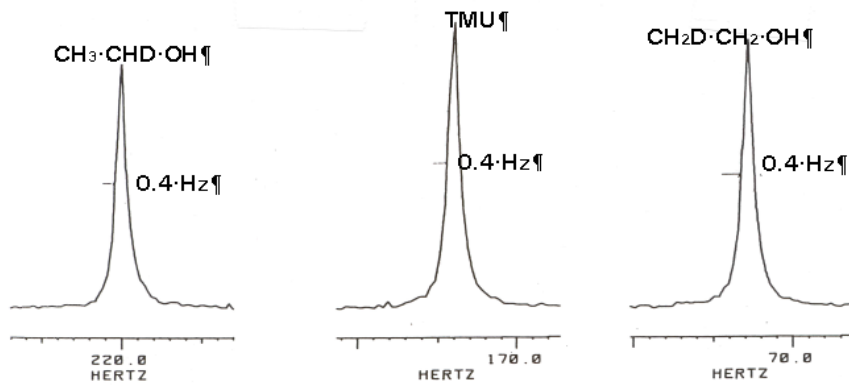


Figure 2b
Spectre ^2H de l'éthanol réalisé dans les mêmes conditions que celles de la figure 2a,
mais sans multiplication exponentielle ($\text{LB} = 0$)

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 3.3 (ou l'échantillon d'eau, préparé en 3.4) 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 (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 CH_3- et CH_2- .

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

5. Expression des résultats

5.1. Cas de l'éthanol

Pour chacun des 10 spectres (voir spectre RMN de l'éthanol, figure 2a), déterminer :

$$R = 3 \frac{h_{II}}{h_I} = 3 \cdot \frac{\text{hauteur du signal II (CH}_3\text{CHD OH)}}{\text{hauteur du signal I (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}$$

$$(D/H)_I = 1,5866 \cdot T_I \cdot \frac{m_{st}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$$

$$(D/H)_{II} = 2,3799 \cdot T_{II} \cdot \frac{m_{st}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$$

avec

- $T_I = \frac{\text{hauteur du signal I (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}{\text{hauteur du signal du standard interne (TMU)}}$
- $T_{II} = \frac{\text{hauteur du signal II (CH}_3\text{CHD OH)}}{\text{hauteur du signal du standard interne (TMU)}}$
- m_{st} et m_A , voir 3.3.2.
- t_m^D , voir 3.1.2.3.
- $(D/H)_{st}$ = 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. Cas de l'eau

Quand le rapport isotopique de l'eau est déterminé par RMN, à partir du mélange eau-TMU, on utilise la relation suivante :

$$(D/H)_W^Q = 0,9306 T_{IV} \cdot \frac{m'_{st}}{m'_E} \cdot (D/H)_{st}$$

avec

- $T_{IV} = \frac{\text{Surface du signal (HOD) de l'eau extraite du vin}}{\text{Surface du signal du standard interne (TMU)}}$
- m'_{st} et m'_E , voir 3.4.2.
- $(D/H)_{st}$ = rapport isotopique du standard interne (TMU) indiqué sur le flacon fourni par le Bureau Communautaire de Référence.

5.3. 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 $(D/H)_I^{X_{mes}}$ la valeur mesurée et $(D/H)_I^{X_{corr}}$ la valeur corrigée, on a :

$$(D/H)_I^{X_{corr}} = (D/H)_I^{Bst} + \alpha [(D/H)_I^{X_{mes}} - (D/H)_I^{Bmes}]$$

$$\text{avec } \alpha = \frac{(D/H)_I^{Y_{st}} - (D/H)_I^{Bst}}{(D/H)_I^{Y_{mes}} - (D/H)_I^{Bmes}}$$

Exemple :

Échantillons de référence fournis et étalonnés par le Bureau Communautaire de Référence :

$$(D/H)_I^{Y_{st}} = 102,0 \text{ ppm} \quad (D/H)_I^{Bst} = 91,95 \text{ ppm}$$

Échantillons de référence mesurés par le laboratoire :

$$(D/H)_I^{Y_{mes}} = 102,8 \text{ ppm} \quad (D/H)_I^{Bmes} = 93,0 \text{ ppm}$$

Échantillon suspect non corrigé :

$$(D/H)_I^{X_{mes}} = 100,2 \text{ ppm}$$

On calcule : $\alpha = 1,0255$ et $(D/H)_I^{X_{corr}} = 99,3 \text{ ppm}$

6. Interprétation des résultats

Comparer la valeur R^X obtenue pour le rapport R de l'échantillon suspect aux rapports obtenus pour les vins témoins. Si R^X s'écarte de plus de 2 écarts-type de la valeur moyenne R^T obtenue pour les vins témoins, il y a présomption d'adultération.

6.1. *Enrichissement par du sucre de betterave ou du sucre de canne ou du glucose de maïs.*

6.1.1. Cas de vins

R^X supérieur à R^T : présomption d'addition de sucre de betterave.

R^X inférieur à R^T : présomption d'addition de sucre de canne ou de sucre de maïs.

Noter que $(D/H)_{II}^X$ et $(D/H)_W^{OX}$ sont augmentés.

Examiner $(D/H)_I^X$. Il y a présomption de :

– enrichissement au sucre de betterave : $(D/H)_I^X$ de l'échantillon suspect est inférieure à $(D/H)_I^T$, valeur moyenne obtenue pour les échantillons témoins, de plus de 1 écart-type.

– enrichissement au sucre de canne ou au sucre de maïs : $(D/H)_I^X$ est supérieure à $(D/H)_I^T$ de plus de 1 écart-type.

– Calcul de l'enrichissement, E, exprimé en % vol d'éthanol :

- Cas d'un enrichissement au sucre de betterave :

$$E \% \text{ vol.} = t^V \frac{(D/H)_I^T - (D/H)_I^X}{(D/H)_I^T - (D/H)_I^B}$$

où :

$(D/H)_I^B$ = rapport isotopique pour le site I de l'alcool de betterave;

$(D/H)_I^B = 92,5^*$

t^V = titre alcoométrique du vin analysé (X).

- Cas d'enrichissement au sucre de canne ou de maïs :

$$E \% \text{ vol.} = t^V \frac{(D/H)_I^X - (D/H)_I^T}{(D/H)_I^C - (D/H)_I^T}$$

où :

$(D/H)_I^C$ = rapport isotopique pour le site I de l'alcool de sucre de canne ou de maïs; $(D/H)_I^C = 110,5^*$

t^V = titre alcoométrique du vin analysé (X)

* Ces valeurs sont données dans l'attente de la constitution d'une banque de données

6.1.2. *Cas des moûts, des moûts concentrés et des sucres de raisin*

Les valeurs des paramètres isotopiques de l'alcool extrait (comme indiqué en 3.1) du produit fermenté obtenu (3.2) à partir du moût, du moût concentré et du sucre de raisin sont examinés selon les prescriptions données en 6 «*Interprétation des résultats*», point 6.1.1, comparativement à l'alcool extrait du produit de fermentation des moûts naturels témoins.

L'enrichissement, E % vol., exprime le volume d'alcool provenant de la fermentation du sucre ajouté. Connaissant la dilution éventuelle effectuée avant la fermentation (moûts concentrés et sucres de raisin), en admettant que 16,83 g de sucre donnent 1 % vol. d'alcool, calculer la quantité en masse de sucre ajouté par litre de moût, de moût concentré ou de sucre de raisin.

6.2. *Enrichissement par un mélange de sucre de betterave et de sucre de canne ou de glucose de maïs.*

Les rapports isotopiques $(D/H)_I$ et R sont moins modifiés que dans le cas de l'enrichissement avec un seul type de sucre. $(D/H)_{II}$ est augmenté ainsi que $(D/H)_W^Q$.

La confirmation de ces additions peut être faite par la détermination du rapport $^{13}C/^{12}C$ de l'éthanol par spectrométrie de masse; ce rapport est augmenté dans ce cas.

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.

Titre	DOSAGE DES POLYOLS DERIVANT DES SUCRES ET DES SUCRES RESIDUELS DANS LES VINS SECS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE	
Type de méthode	IV	
Résolution	Oeno 9/2006	

1. Domaine d'application

Dosage simultané de l'érythrytol, l'arabitol, le mannitol, le sorbitol et le mésoinositol dans les vins.

Le dosage des sucres par Chromatographie en phase gazeuse (CPG) étant long et compliqué, il est réservé à la détermination de traces de sucres et en particulier de sucres pour lesquels il n'existe pas de méthode enzymatique utilisée en routine : Arabinose, Rhamnose, Mannose, Galactose mais il est applicable aussi au glucose et fructose. L'avantage étant de pouvoir doser simultanément tous les monomères, dimères ou même trimères des sucres.

Remarque1. Il n'est pas possible de doser les sucres après leur réduction sous forme d'alditol en raison de la présence des polyols correspondants.

Remarque 2. Les sucres donnent sous forme de dérivés TMS 2 formes α et β et parfois 3 ou 4 (Gamma...) correspondant aux différents anomères présents dans le vins.

Remarque 3. Sans dilution préalable la méthode permet difficilement de doser le glucose et le fructose présents à plus de 5 g/l.

2. Principe

Les sucres résiduels des vins secs peuvent être dosés par chromatographie en phase gazeuse après formation de leurs dérivés triméthylsilylés.

L'étalon interne est le pentaérythritol.

3. Réactifs

Mélange silanisant donné à titre d'exemple :

- 3.1 Hexaméthylsilazane (HMDS) pur
- 3.2 Anhydride trifluoroacétique (TFA) pur
- 3.3 Pyridine pure
- 3.4 Pentaérythritol pur
- 3.5 Eau distillée
- 3.6 Pentaérythritol à 10 g/l (solution d'étalon interne), dissoudre 0,15 g de pentaérythritol (3.4) dans 100 ml d'eau (3.5)
- 3.7 Produits purs pouvant être utilisés pour préparer les solutions d'étalonnage notamment glucose, fructose, arabinose, mannitol, sorbitol (liste non exhaustive)
- 3.8 Solutions de référence de produits purs à 200 mg/l dissoudre 20 mg de chacun des produits à doser (3.6) dans 100 ml d'eau.

Remarque Les solutions de sucre doivent être préparées juste avant l'emploi.

4. Matériel et appareillage

- 4.1 Pipettes de laboratoire de 1 ml graduées au 1/10e de ml
- 4.2 Poires propipettes
- 4.3 Seringue de 100 µl
- 4.4 Tubes à vis de 5 ml de capacité pouvant être fermés par un bouchon à vis muni d'une capsule d'étanchéité à face téflonée.
- 4.5 Evaporateur rotatif sous vide pouvant recevoir les tubes à vis (4.4) afin d'évaporer les échantillons à sec
- 4.6 Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation x g, de flamme et d'un injecteur fonctionnant en mode "split" : division de 1/30e à 1/50e de volume injecté (1 µl)
- 4.7 Colonne capillaire apolaire pow ex (Se 30, Cpsil 5, HP1 ...) 50 m x 0,25 mm épaisseur du film de phase stationnaire 15 µm (à titre d'exemple).
- 4.8 Seringue d'injection de 10 µl.
- 4.9 Système d'acquisition des données
- 4.10 Bain à ultra-sons
- 4.11 Sorbonne de laboratoire

5. Préparation des échantillons

5.1 Ajout de l'étalon interne : 1 ml de vin (pipette, 4.1) ou de solution de référence à 200 mg/l (3.6) est placé dans le tube à vis (4.4).

Remarque : Il est également possible d'opérer avec des volumes de vin très inférieurs en particulier si le milieu est riche en sucre.

Il est ajouté 50 µl de la solution de pentaérythritol à 10 g/l (3.5) à l'aide de la seringue (4.3)

5.2 Obtention d'un résidu sec :

Le tube à vis est placé sur l'évaporateur rotatif dont le bain d'eau est maintenu à une température inférieure à 40 °C, poursuivre l'évaporation jusqu'à la disparition de toute trace de liquide.

5.3 Ajout des réactifs

5.3.1 Placer les tubes contenant l'extrait sec de même que les réactifs 3.1, 3.2 et 3.3 dans la sorbonne (4.11), brancher la ventilation

5.3.2 A l'aide des pipettes (4.1) et de poires propipettes (4.2) ajouter dans le tube successivement 0,20 ml de pyridine (3.3), 0,7 ml de HMDS (3.1), 0,1 ml de TFA (3.2)

5.3.3 Fermer hermétiquement le tube à l'aide de son bouchon

5.3.4 Placer le tube dans le bain à ultra-sons (4.10) durant 5 minutes afin d'obtenir une dispersion complète du résidu sec

5.3.5 Placer le tube dans un four à 60 °C durant 2 heures afin d'opérer la substitution totale des hydrogènes des hydroxyles ou des acides par des groupes triméthylsilyle (TMS).

Remarque : il ne doit subsister qu'une seule phase après chauffage sinon cela signifie qu'il restait de l'eau dans le tube ; de même il ne doit pas y avoir de dépôt brunâtre ce qui indiquerait un excès de sucre non dérivé.

6. Analyse chromatographique

6.1 Placer le tube refroidi dans la sorbonne (4.11) ventilée, prélever 1 µl à l'aide de la seringue (4.8). Injecter dans le chromatographe en mode "split" (division permanente)

Traiter de la même manière l'échantillon dérivé de vin et de référence

6.2 Programmer la température du four, par exemple de 60 °C à 240 °C à raison de 3 °C par minute de telle sorte que l'analyse complète dure par exemple 1 heure pour une séparation complète du mannitol et du sorbitol (résolution supérieure à 1,5)

7. Calculs

Exemple : calcul de la concentration en sorbitol

Soit

s la surface du pic du sorbitol dans le vin

S la surface du pic du sorbitol dans la solution de référence

i la surface du pic de l'étalon interne dans le vin

I la surface du pic de l'étalon interne dans la solution à référence

la teneur t_s en sorbitol dans le vin sera

$$t_s = 200 \times \frac{s}{S} \times \frac{I}{i} \quad \text{en mg par litre}$$

un même raisonnement permet de calculer la teneur t_g en glucose

$$t_g = 200 \times \frac{g}{G} \times \frac{I}{i} \quad \text{en mg par litre}$$

où g est la somme des surfaces des deux pics de glucose dans le vin et G est la somme des surfaces des deux pics de glucose dans la solution de référence.

8. Caractéristiques de la méthode

Seuil de détection environ 5 mg/l pour un polyol (un seul pic chromatographique). Répétabilité moyenne de l'ordre de 10 % pour une concentration en sucre ou polyol de l'ordre de 100 mg/l.

Tableau 1
Répétabilité du dosage de quelques substances de l'extrait sec du vin
après dérivation TMS.

	Ac. Tartrique	Fructose	Glucose	Mannitol	Sorbitol	Dulcitol	Mésoinositol
moyenne (mg/l)	2013	1238	255	164	58	31	456
écart-type (mg/l)	184	118	27	8	2	2	28
CV (%)	9	10	11	5	3	8	6

REFERENCES

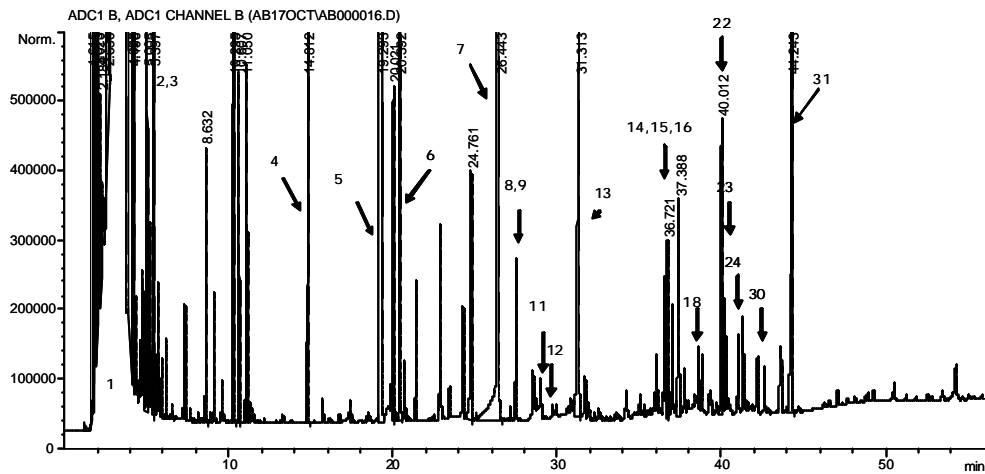
RIBEREAU-GAYON P. et BERTRAND A. 1972, Nouvelles applications de la chromatographie en phase gazeuse à l'analyse des vins et au contrôle de leur qualité, *Vitis*, 10, 318-322.

BERTRAND A. (1974), Dosage des principaux acides du vin par chromatographie en phase gazeuse. FV OIV 717—718, 253—274.

DUBERNET M.O. (1974), Application de la chromatographie en phase gazeuse à l'étude des sucres et polyols du vin: thèse 3° Cycle, Bordeaux.

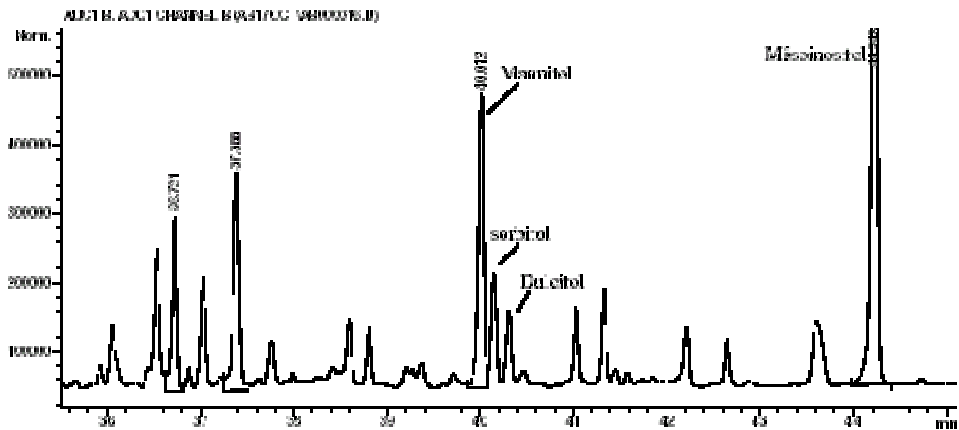
Figure 1

Chromatogramme d'un vin blanc après silylation. Colonne Cpsil5CB 50 m x 0.25 mm x 0,15 µm. Injection split, 60 °C, 3 °C/min, 240 °C. Ci-dessous grossissement.



Identification des pics : 1 : mélange réactionnel ; 2 et 3 : acides inconnus ; 4 : pentaérythritol ; 5 et 6 inconnus ; 7 : acide tartrique + arabinose ; 8, 10 et 11 : rhamnose ; 9 : Arabinose ; 12 : xylitol ; 13 : arabitol ; 14, 15 et 16 : fructose ; 17 : galactose + inconnu ; 18 : glucose ? ; 19 : galactose + acide galacturonique ; 20 et 21 : inconnus ; 22 : mannitol ; 23 sorbitol ; 24 : glucose ? ; 25 et 27 : inconnus ; 26 : acide galacturonique ; 28 et 30 : galactonolactone ; 29 : acide mucique ; 31 : méso-inositol.

Chromatogramme d'un vin blanc après silylation. Colonne Cpsil5CB 50 m x 0.25 mm x 0.15 µm. Injection split, 60 °C 3 °C/min, 240 °C. Ci-dessous grossissement.



Titre	DETERMINATION CONJOINTE DU GLUCOSE ET DU FRUCTOSE DES VINS PAR pH-METRIE DIFFERENTIELLE	
Type de méthode	III	
Résolution	Oeno 10/2006	

1. PORTEE ET CHAMP D'APPLICATION

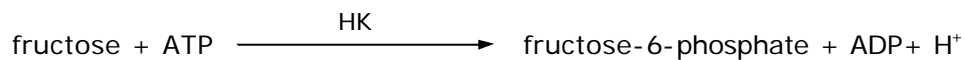
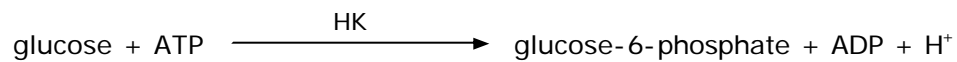
Cette méthode est applicable à l'analyse du glucose et du fructose des vins entre 0 et 60 g/L (niveau moyen) ou 50 et 270 g/L (niveau haut).

2. PRINCIPE

La détermination conjointe du glucose et du fructose par pH-métrie différentielle consiste en une phosphorylation du glucose et du fructose par de l'hexokinase. Les ions H⁺ générés de manière stœchiométrique par rapport aux quantités de glucose et de fructose sont ensuite quantifiés.

3. REACTIONS

Le glucose et le fructose présents sont phosphorylés par l'adénosine triphosphate (ATP) cours d'une réaction enzymatique catalysée par l'hexokinase (HK) (EC 2.7.1.1)



4. REACTIFS

- 4.1 Eau déminéralisée (18 MΩ) ou bidistillée
- 4.2 2-Amino-2-(hydroxyméthyl)propane-1,3-diol (TRIS) pureté ≥ 99%
- 4.3 Adénosine triphosphate disodique (ATP, 2Na) pureté ≥ 99%
- 4.4 Phosphate trisodique à douze molécules d'eau (Na₃PO₄.12H₂O) pureté ≥ 99%

- 4.5** Hydroxyde de sodium (NaOH) pureté $\geq 98\%$
- 4.6** Chlorure de magnésium à six molécules d'eau ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) pureté $\geq 99\%$
- 4.7** Triton X 100
- 4.8** Chlorure de potassium (KCl) pureté $\geq 99\%$
- 4.9** 2-Bromo-2-nitropropane-1,3-diol (Bronopol) ($C_3H_6BrNO_4$)
- 4.10** Hexokinase (EC 2.7.1.1) 1 mg \cong 145 U (ex Hofmann La Roche, Mannheim, Allemagne ref. HEXO-70-1351)
- 4.11** Glycérol pureté $\geq 98\%$
- 4.12** Glucose pureté $\geq 99\%$

4.13 Tampon de réaction pH 8,0 commercial ou préparé selon la méthode suivante : dans une fiole jaugée de 100 mL (5.2) verser approximativement 70 mL (5.3) d'eau (4.1), mettre en agitation continue (5.5). Ajouter 0,242 g \pm 0,001 g (5.4) de TRIS (4.2), 0,787 g \pm 0,001 g (5.4) d'ATP (4.3), 0,494 g \pm 0,001 g (5.4) de phosphate de sodium (4.4), 0,009 mg \pm 0,001 g (5.4) d'hydroxyde de sodium (4.5), 0,203 g \pm 0,001 g (5.4) de chlorure de magnésium (4.6), 2,000 \pm 0,001 g (5.4) de Triton X 100 (4.7), 0,820 g \pm 0,001 g (5.4) de chlorure de potassium (4.8) et 0,010 \pm 0,001 g (4.9) de bronopol. Ajuster au trait de jauge avec de l'eau (4.1). Le pH final doit être de 8,0 \pm 0,1 (5.6), sinon l'ajuster avec de l'hydroxyde de sodium ou de l'acide chlorhydrique. Le tampon ainsi préparé est stable pendant deux mois à 4°C.

4.14 Solution enzymatique commerciale ou préparée selon la méthode suivante : à l'aide d'une pipette jaugée (5.7) disposer 5 mL de glycérol (4.11) dans une fiole jaugée de 10 mL, ajuster au trait de jauge avec de l'eau (4.1) et homogénéiser. Dissoudre 20 mg \pm 1 mg (5.4) d'hexokinase (4.10) et 5 mg de Bronopol (4.9) dans 10 mL de la solution de glycérol. L'activité de la solution enzymatique doit être de 300 U \pm 50 U par mL pour l'hexokinase. La solution enzymatique est stable pendant 6 mois à 4°C.

4.15 Préparation de la solution d'étalonnage (niveau moyen) si la teneur supposée est inférieure à 50 g/L de glucose + fructose)
Placer 3,60 g \pm 0,01 g (5.4) de glucose (4.12) (préalablement desséché 12 heures à 40 °C jusqu'à poids constant), 0,745 g \pm 0,001 g (5.4) de chlorure de potassium (4.8) et 0,010 g \pm 0,001 g de bronopol (4.9) dans une fiole jaugée de 100 mL (5.2). Ajouter de l'eau (4.1). Bien homogénéiser (5.5). Ajuster au trait de jauge avec de l'eau (4.1) après avoir enlevé le barreau magnétique. La concentration finale est de 36 g/L de glucose La solution est stable 6 mois à 4°C.

4.16 Préparation de la solution d'étalonnage (niveau haut) si la teneur supposée est supérieure à 50 g/L de glucose + fructose)

Placer 18,0 g \pm 0,01 g (5.4) de glucose (4.12) (préalablement desséché 12 heures à 40 °C jusqu'à poids constant), 0,745 g \pm 0,001 g (5.4) de chlorure de potassium (4.8) et 0,010 g \pm 0,001 g de bronopol (4.9) dans une fiole jaugée de 100 mL (5.2). Ajouter de l'eau (4.1). Bien homogénéiser (5.5). Ajuster au trait de jauge avec de l'eau (4.1) après avoir enlevé le barreau magnétique. La concentration finale est de 180 g/L de glucose. La solution est stable 6 mois à 4°C.

5. APPAREILLAGE

- 5.1 Appareil de pH-métrie différentielle (EUROCHEM CL 10 plus, Microlab EFA ou équivalent) voir annexe A
- 5.2 Fiole jaugée de 100 mL classe A
- 5.3 Epruvette graduée à pied de 100 mL
- 5.4 Balance de précision permettant de peser au mg près
- 5.5 Agitateur magnétique et barreau magnétique en téflon
- 5.6 pH-mètre
- 5.7 Pipettes jaugées de 3mL, 5 mL classe A
- 5.8 Fiole jaugée de 10 mL classe A
- 5.9 Pipettes automatiques à piston de 25 et 50 μ L

6. PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons ne doivent pas être trop chargés de matières en suspension, dans le cas contraire, les centrifuger ou les filtrer. Les vins mousseux doivent être dégazés.

7. MODE OPERATOIRE

L'opérateur doit respecter les instructions d'utilisation de l'appareillage (5.1). Avant toute utilisation, l'instrument doit être stabilisé en température. Les circuits doivent être rincés avec la solution de tampon (4.13) après nettoyage éventuel.

7.1 Détermination du blanc

(détermination du signal de l'enzyme) ;
remplir les compartiments électrodes (EL₁ et EL₂) du pH-mètre différentiel (5.1) avec le tampon (4.13), la différence de potentiel entre les deux électrodes (D₁) doit être comprise entre ± 150 mV ;
ajouter 24 µL de solution enzymatique (4.14) dans la chambre de réaction (à la micropipette 5.9 ou par le préparateur) et remplir l'électrode EL₂ ;
mesurer la différence de potentiel (D₂) entre les deux électrodes ;
calculer la différence de pH, ΔpH₀ pour le blanc selon le calcul suivant :

$$\Delta\text{pH}_0 = D_2 - D_1$$

où

ΔpH₀ = la différence de pH entre les deux mesures pour le blanc ;
D₁ = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes remplies avec le tampon ;
D₂ = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes dont l'une est remplie de tampon et l'autre de tampon et d'enzyme.

La valeur de ΔpH₀ permet de vérifier l'état des électrodes en cours de dosage ainsi que leur dérive éventuelle avec le temps; elle doit être comprise entre -30 et 0 mV et ≤ 1,5 mV entre deux mesures consécutives. Dans le cas contraire, vérifier la qualité du tampon pH et la propreté du circuit hydraulique et des électrodes, nettoyer si nécessaire puis refaire le blanc.

7.2 Etalonnage

7.2.1 Niveau moyen

remplir les compartiments électrodes (EL₁ et EL₂) avec le tampon (4.13);
ajouter 25 µL (à la micropipette 5.9 ou par le préparateur) de solution étalon de glucose (4.15) dans la chambre de réaction ;
remplir les électrodes EL₁ et EL₂ avec le mélange tampon + solution étalon ;
mesurer la différence (D₃) de potentiel entre les deux électrodes ;
ajouter 24 µL de solution enzymatique (4.14) et remplir l'électrode EL₂ avec le mélange tampon + solution étalon + enzyme ;
après le temps nécessaire à la réaction enzymatique, mesurer la différence de potentiel (D₄) entre les deux électrodes ;
calculer la différence de pH, ΔpH_c pour l'échantillon de calibration selon le calcul suivant :

$$\Delta\text{pH}_c = (D_4 - D_3) - \Delta\text{pH}_0$$

où

ΔpH_c = la différence entre les deux mesures D_3 et D_4 pour l'échantillon de calibration moins la différence obtenue pour le blanc ;

D_3 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes remplies avec le mélange tampon/solution de référence ;

D_4 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes dont l'une est remplie de tampon/solution de référence et l'autre de tampon/solution de référence/enzyme.

calculer la pente de la droite d'étalonnage :

$$s = C_u / \Delta pH_c$$

où

C_u est la concentration de glucose dans la solution étalon exprimée en g/L.

Vérifier la validité de l'étalonnage en analysant 25 μ L de solution étalon (ML) de glucose (4.15) en suivant la procédure (7.3). Le résultat doit être compris entre $\pm 2\%$ de la valeur de référence. Dans le cas contraire recommencer la procédure de calibration.

7.2.2 Niveau haut

remplir les compartiments électrodes (EL_1 et EL_2) avec le tampon (4.13) ;
ajouter 10 μ L (à la micropipette 5.9 ou par le préparateur) de solution étalon (HL) de glucose (4.16) dans la chambre de réaction ;

remplir les électrodes EL_1 et EL_2 avec le mélange tampon + solution étalon ;

mesurer la différence (D_3) de potentiel entre les deux électrodes ;

ajouter 24 μ L de solution enzymatique (4.14) et remplir l'électrode EL_2 avec le mélange tampon + solution étalon + enzyme ;

après le temps nécessaire à la réaction enzymatique, mesurer la différence de potentiel (D_4) entre les deux électrodes ;

calculer la différence de pH, ΔpH_c pour l'échantillon de calibration selon le calcul suivant :

$$\Delta pH_c = (D_4 - D_3) - \Delta pH_0$$

où

ΔpH_c = la différence de pH entre les deux mesures D_3 et D_4 pour l'échantillon de calibration moins la différence obtenue pour le blanc ;

D_3 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes remplies avec le mélange tampon/solution de référence ;

D_4 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes dont l'une est remplie de tampon/solution de référence et l'autre de tampon/solution de référence/enzyme.

calculer la pente de la droite d'étalonnage :

$$s = C_u / \Delta pH_c$$

où

C_u est la concentration de glucose dans la solution étalon exprimée en g/L.

Vérifier la validité de l'étalonnage en analysant 10 μ L de solution étalon de glucose (4.16) en suivant la procédure (7.3). Le résultat doit être compris entre $\pm 2\%$ de la valeur de référence. Dans le cas contraire recommencer la procédure de calibration.

7.3 Quantification

remplir les compartiments électrodes (EL_1 et EL_2) avec le tampon (4.13)
ajouter 10 μ L (niveau haut) ou 25 μ L (niveau moyen) (à la micropipette 5.9 ou par le préparateur) d'échantillon dans la chambre de réaction ;
remplir les électrodes EL_1 et EL_2 avec le mélange tampon + échantillon ;
mesurer la différence (D_5) de potentiel entre les deux électrodes ;

ajouter 24 μ L de solution enzymatique (4.14) et remplir l'électrode EL_2 avec le mélange tampon + échantillon + enzyme ;
mesurer la différence de potentiel (D_6) entre les deux électrodes ;
calculer la quantité de soluté dans l'échantillon selon le calcul suivant :

$$w = s \times [(D_6 - D_5) - \Delta pH_0]$$

où

w = la quantité de soluté dans l'échantillon (en g/L) ;

S est la pente déterminée par la droite de calibration ;

ΔpH_0 = la différence de pH entre les deux mesures pour le blanc ;

D_5 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes remplies avec l'échantillon/solution de référence ;

D_6 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes dont l'une est remplie de tampon/échantillon et l'autre de tampon/échantillon/enzyme.

8 EXPRESSION DES RESULTATS

Les résultats sont exprimés en g/L de glucose + fructose avec un chiffre significatif après la virgule.

9 FIDELITE

Les détails de l'essai interlaboratoire portant sur la fidélité de la méthode sont résumés dans l'annexe B.

9.1 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur une matière identique soumise à essai par un opérateur utilisant le même appareillage, dans l'intervalle de temps le plus court possible, ne dépassera pas la valeur de répétabilité r dans 95% des cas.

La valeur est : $r = 0,021x + 0,289$ où x est la teneur en g/L de glucose + fructose

9.2 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur une matière identique soumise à essai dans deux laboratoires, ne dépassera pas la valeur de reproductibilité R dans 95% des cas.

La valeur est : $R = 0,033x + 0,507$ où x est la teneur en g/L de glucose + fructose

10 AUTRES CARACTERISTIQUES DE L'ANALYSE

10.1 Limites de détection et de quantification

10.1.1 limite de détection

Elle est déterminée à partir de 10 séries de trois répétitions d'un blanc analytique et de la régression linéaire réalisée avec les vins de l'essai de fidélité, elle est égale à trois écarts types. Dans ce cas la méthode a donné comme résultat une limite de détection de 0,03 g/L. Des essais par dilutions successives ont confirmé cette valeur.

10.1.2 limite de quantification

Elle est déterminée à partir de 10 séries de trois répétitions d'un blanc analytique et de la régression linéaire réalisée avec les vins de l'essai de fidélité, elle est égale à dix écarts types. Dans ce cas la méthode a

donné comme résultat une limite de détection de 0,10 g/L. Des essais par dilutions successives ont confirmé cette valeur. Les quantifications de vins blancs et rouges réalisées par les laboratoires qui ont participé à l'analyse interlaboratoire confirment également ces chiffres.

10.2 Justesse

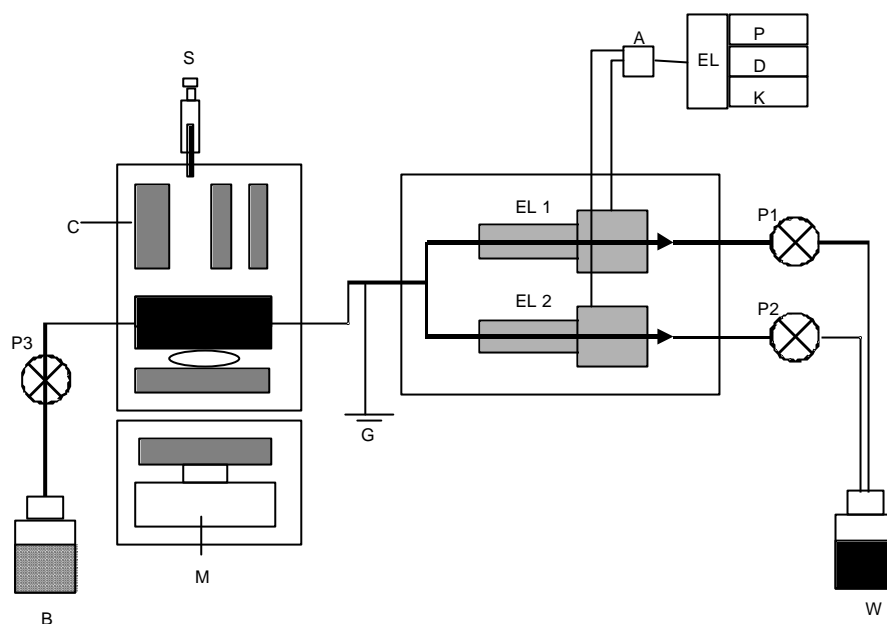
La justesse est évaluée à partir du taux de recouvrement moyen calculé des vins surchargés analysés en double aveugle lors de l'essai interlaboratoire (vins A, B, C, D, F et J). Elle est de 98.9% avec un intervalle de confiance de 0.22%.

11 CONTROLE QUALITE

Des contrôles qualité peuvent être réalisés avec des matériaux de référence certifiés, des vins dont les caractéristiques sont issues d'un consensus ou de vins surchargés insérés régulièrement dans les séries analytiques et en suivant les cartes de contrôle afférentes.

Annexe A

Schéma de l'appareillage de pH-métrie différentielle



A : amplificateur différentiel ; B : solution de tampon ; C : chambre de mélange ;
D : indicateur ; EL1 et EL 2 électrodes capillaires ; EL : partie électronique ; G : mise à la terre ; K : clavier ; M : agitateur magnétique ; P : imprimante ; P1 à P3 : pompes péristaltiques ; S : seringue d'injection de l'échantillon et de l'enzyme ; W : mise à l'égout.

Annexe B

**Données statistiques obtenues à partir des résultats
des essais interlaboratoire**

Conformément à l'ISO 5725-2:1994, les paramètres suivants ont été définis au cours d'un essai interlaboratoire. Cet essai a été conduit par le laboratoire du Comité Interprofessionnel du Vin de Champagne à Epernay (France).

Année de l'essai interlaboratoire : 2005

Nombre de laboratoires : 13 en double aveugle

Nombre d'échantillons : 10

	Vin A	Vin B	Vin C	Vin D	Vin E	Vin F	Vin G	Vin H	Vin I	Vin J
Moyenne en g/L	8,44	13,33	18,43	23,41	28,03	44,88	86,40	93,34	133,38	226,63
Nombre de laboratoire	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
nombre de laboratoire après élimination des plus grandes dispersions	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
écart type de répétabilité	0,09	0,13	0,21	0,21	0,29	0,39	0,81	0,85	1,19	1,51
limite de répétabilité	0,27	0,38	0,61	0,62	0,86	1,14	2,38	2,51	3,52	4,45
RSDr, 100%	1,08	0,97	1,13	0,91	1,04	0,86	0,94	0,91	0,89	0,67
HORRAT r	0,26	0,25	0,31	0,26	0,30	0,27	0,32	0,32	0,33	0,47
écart type de reproductibilité	0,17	0,27	0,37	0,59	0,55	0,45	1,27	1,43	1,74	2,69
limite de reproductibilité	0,50	0,79	1,06	1,71	1,60	1,29	3,67	4,13	5,04	7,78
RSDR, 100%	2,05	2,05	1,99	2,54	1,97	1,00	1,47	1,53	1,31	1,19
HORRAT R	0,50	0,54	0,55	0,72	0,58	0,31	0,51	0,53	0,48	0,47

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Glucose et fructose par pH-métrie différentielle

Types d'échantillons :

Vin A : vin blanc contenant naturellement du sucre, surchargé de 2,50 g/L glucose et de 2,50 g/L de fructose ;

Vin B : vin blanc contenant naturellement du sucre (vin A), surchargé de 5,00 g/L glucose et de 50 g/L de fructose ;

Vin C : vin blanc contenant naturellement du sucre (vin A), surchargé de 7,50 g/L glucose et de 7,50 g/L de fructose ;

Vin D : vin blanc contenant naturellement du sucre (vin A), surchargé de 10,0 g/L glucose et de 10,0 g/L de fructose ;

Vin E : vin aromatisé;

Vin F : vin blanc contenant naturellement moins de 0,4 g/L de sucre, surchargé de 22,50 g/L glucose et de 22,50 g/L de fructose ;

Vin G : vin rouge naturellement doux;

Vin H : vin blanc doux ;

Vin I : mistelle ;

Vin J : vin blanc contenant naturellement moins de 0,4 g/L de sucre, surchargé de 115,00 g/L glucose et de 115,00 g/L de fructose ;

BIBLIOGRAPHIE

LUZZANA M., PERELLA M. et ROSSI-BERNARDI L (1971) : Anal. Biochem, 43, 556-563.

LUZZANA M., AGNELLINI D., CREMONESI P. et CARAMENTI G. (2001) : Enzymatic reactions for the determination of sugars in food samples using the differential pH technique. Analyst, 126, 2149 –2152.

LUZZANA M., LARCHER R., MARCHITTI C. V. et BERTOLDI D. (2003) : Quantificazione mediante pH-metria differenziale dell'urea negli spumanti metodo classico.in "Spumante tradizionale e classico nel terzo millennio" 27-28 giugno 2003, Istituti Agrario di San Mechele.

MOSCA A., DOSSI G., LUZZANA M., ROSSI-BERNARDI L., FRIAUF W. S., BERGER R.L., HOPKINS H. P. et CAREY V (1981) : Improved apparatus for the differential measurement of pH : application to the measurement of glucose. Anal. Biochem., 112, 287 – 294.

MOIO L., GAMBUTI A., Di MARZIO L. et PIOMBINO P. (2001) : Differential pHmeter determination of residual sugars in wine. Am. J. Enol. Vitic, 52(3), 271 – 274.

TUSSEAU D., FENEUIL A., ROUCHAUSSE J.-M. et VAN LAER S. (2004) : Mesure de différents paramètres d'intérêt oenologique par pHmétrie différentielle. F.V. O.I.V. n° 1199, 5 pages.

Titre	DETERMINATION GLOBALE DU GLUCOSE, DU FRUCTOSE ET DU SACCHAROSE DES MOÛTS ET DES VINS PAR pH-METRIE DIFFERENTIELLE	
Type de méthode	IV	
Résolution	Oeno 11/2006	

1. PORTEE ET CHAMP D'APPLICATION

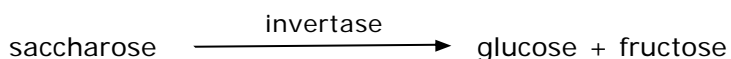
Cette méthode est applicable à l'analyse globale du glucose, du fructose et du saccharose dans les moûts et les vins entre 0 et 270 g/L. Cette quantification se différencie de celle du glucose et du fructose par pH-métrie différentielle et ne peut pas lui être substituée.

2. PRINCIPE

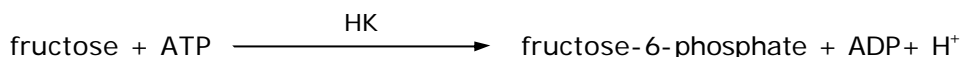
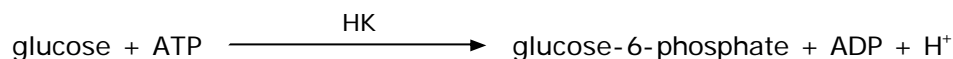
La détermination par pH-métrie différentielle du glucose, du fructose et du saccharose consiste en une hydrolyse préalable du saccharose par de l'invertase, suivie d'une phosphorylation du glucose et du fructose par de l'hexokinase. Les ions H⁺ générés de manière stœchiométrique par rapport aux quantités de glucose et de fructose sont ensuite quantifiés.

3. REACTIONS

Le saccharose éventuellement présent est hydrolysé par de l'invertase (EC 3.2.1.26)



Le glucose et le fructose initialement présents ou consécutifs à l'action de l'invertase sont phosphorylés par l'adénosine triphosphate (ATP) cours d'une réaction enzymatique catalysée par l'hexokinase (HK) (EC 2.7.1.1)



4. REACTIFS

- 4.1 Eau déminéralisée (18 M Ω) ou bidistillée
- 4.2 2-Amino-2-(hydroxyméthyl)propane-1,3-diol (TRIS) pureté $\geq 99\%$
- 4.3 Adénosine triphosphate disodique (ATP, 2Na) pureté $\geq 99\%$
- 4.4 Phosphate trisodique à douze molécules d'eau (Na₃PO₄.12H₂O) pureté $\geq 99\%$
- 4.5 Hydroxyde de sodium (NaOH) pureté $\geq 98\%$
- 4.6 Chlorure de magnésium à six molécules d'eau (MgCl₂.6H₂O) pureté $\geq 99\%$
- 4.7 Triton X 100
- 4.8 Chlorure de potassium (KCl) pureté $\geq 99\%$
- 4.9 2-Bromo-2-nitropropane-1,3-diol (Bronopol) (C₃H₆BrNO₄)
- 4.10 Invertase (EC 3.2.1.26) 1 mg \cong 500 U (ex Sigma ref I-4504)
- 4.11 Hexokinase (EC 2.7.1.1) 1 mg \cong 145 U (ex Hofmann La Roche, Mannheim, Allemagne ref HEXO-70-1351)
- 4.12 Glycérol pureté $\geq 98\%$
- 4.13 Saccharose pureté $\geq 99\%$

4.14 Tampon de réaction pH 8,0 commercial (ex : DIFFCHAMB GEN 644) ou préparé selon la méthode suivante :

dans une fiole jaugée de 100 mL (5.2) verser approximativement 70 mL (5.3) d'eau (4.1), mettre en agitation continue (5.5). Ajouter 0,242 g \pm 0,001 g (5.4) de TRIS (4.2), 0,787 g \pm 0,001 g (5.4) d'ATP (4.3), 0,494 g \pm 0,001 g (5.4) de phosphate de sodium (4.4), 0,009 mg \pm 0,001 g (5.4) d'hydroxyde de sodium (4.5), 0,203 g \pm 0,001 g (5.4) de chlorure de magnésium (4.6), 2,000 \pm 0,001 g (5.4) de Triton X 100 (4.7), 0,820 g \pm 0,001 g (5.4) de chlorure de potassium (4.8) et 0,010 \pm 0,001 g (5.4) de bronopol. Ajuster au trait de jauge avec de l'eau (4.1). Le pH final doit être de 8,0 \pm 0,1 (5.6), sinon l'ajuster avec de l'hydroxyde de sodium ou de l'acide chlorhydrique. Le tampon ainsi préparé est stable pendant deux mois à 4°C.

4.15 Solution enzymatique commerciale ou préparée selon la méthode suivante :

à l'aide d'une pipette jaugée (5.7) disposer 5 mL de glycérol (4.12) dans une fiole jaugée de 10 mL, ajuster au trait de jauge avec de l'eau (4.1) et homogénéiser. Dissoudre 300 mg \pm 1 mg (5.4) d'invertase (4.10) 10 mg \pm 1 mg (5.4) d'hexokinase (4.11) dans 3 mL de

la solution de glycérol. L'activité de la solution enzymatique doit être de 50 000 U \pm 100 U par mL pour l'invertase et de 480 U \pm 50 U par mL pour l'hexokinase. La solution enzymatique est stable pendant 6 mois à 4°C.

4.16. PREPARATION DE LA SOLUTION D'ETALONNAGE

Placer 17,100 g \pm 0,01 g (5.4) de saccharose (4.13) (préalablement desséché 12 heures à 40 °C jusqu'à poids constant), 0,745 g \pm 0,001 g (5.4) de chlorure de potassium (4.8) et 0,010 g \pm 0,001 g (5.4) de Bronopol dans une fiole jaugée de 100 mL (5.2). Ajouter de l'eau (4.1). Bien homogénéiser (5.5). Ajuster au trait de jauge avec de l'eau (4.1) après avoir enlever le barreau magnétique. La concentration finale est de 171 g/L de saccharose. La solution est stable 6 mois à 4°C.

5. APPAREILLAGE

- 5.1** Appareil de pH-métrie différentielle (EUROCHEM CL 10 plus, Microlab EFA ou équivalent) voir annexe A
- 5.2** Fiole jaugée de 100 mL classe A
- 5.3** Eprouvette graduée à pied de 100 mL
- 5.4** Balance de précision permettant de peser au mg près
- 5.5** Agitateur magnétique et barreau magnétique en téflon
- 5.6** pH-mètre
- 5.7** Pipettes jaugées de 3mL, 5 mL classe A
- 5.8** Fiole jaugée de 10 mL classe A
- 5.9** Pipettes automatiques à piston de 25 et 50 μ L

6. PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons ne doivent pas être trop chargés de matières en suspension, Dans le cas contraire, les centrifuger ou les filtrer. Les vins mousseux doivent être dégazés.

7. MODE OPERATOIRE

L'opérateur doit respecter les instructions d'utilisation de l'appareillage (5.1). Avant toute utilisation, l'instrument doit être stabilisé en température. Les circuits doivent être rincés avec la solution de tampon (4.14) après nettoyage éventuel.

7.1 - Détermination du blanc (détermination du signal de l'enzyme)

remplir les compartiments électrodes (EL₁ et EL₂) du pH-mètre différentiel (5.1) avec le tampon (4.14), la différence de potentiel entre les deux électrodes (D₁) doit être comprise entre ± 150 mpH
ajouter 32 µL de solution enzymatique (4.15) dans la chambre de réaction (à la micropipette 5.9 ou par le préparateur) et remplir l'électrode EL₂ ;
mesurer la différence de potentiel (D₂) entre les deux électrodes ;
calculer la différence de pH, ΔpH₀ pour le blanc selon le calcul suivant :

$$\Delta\text{pH}_0 = D_2 - D_1$$

où

ΔpH₀ = la différence de pH entre les deux mesures pour le blanc ;

D₁ = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes remplies avec le tampon ;

D₂ = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes dont l'une est remplie de tampon et l'autre de tampon et d'enzyme.

La valeur de ΔpH₀ permet de vérifier l'état des électrodes en cours de dosage ainsi que leur dérive éventuelle avec le temps; elle doit être comprise entre -30 et 0 mpH et ≤ 1,5 mpH entre deux mesures consécutives. Dans le cas contraire, vérifier la qualité du tampon pH et la propreté du circuit hydraulique et des électrodes, nettoyer si nécessaire puis refaire le blanc.

7.2 – Etalonnage

remplir les compartiments électrodes (EL₁ et EL₂) avec le tampon (4.14);
ajouter 10 µL (à la micropipette 5.9 ou par le préparateur) de solution étalon de saccharose (5) dans la chambre de réaction ;
remplir les électrodes EL₁ et EL₂ avec le mélange tampon + solution étalon ;
mesurer la différence (D₃) de potentiel entre les deux électrodes ;
ajouter 32 µL de solution enzymatique (4.15) et remplir l'électrode EL₂ avec le mélange tampon + solution étalon + enzyme ;
après le temps nécessaire à la réaction enzymatique, mesurer la différence de potentiel (D₄) entre les deux électrodes ;
calculer la différence de pH, ΔpH_c pour l'échantillon de calibration selon le calcul suivant :

$$\Delta\text{pH}_c = (D_4 - D_3) - \Delta\text{pH}_0$$

où

ΔpH_c = la différence de pH entre les deux mesures D₃ et D₄ pour l'échantillon de calibration moins la différence obtenue pour le blanc ;

D_3 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes remplies avec le mélange tampon/solution de référence ;

D_4 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes dont l'une est remplie de tampon/solution de référence et l'autre de tampon/solution de référence/enzyme.

calculer la pente de la droite d'étalonnage :

$$s = C_u / \Delta pH_c$$

où

C_u est la concentration de saccharose dans la solution étalon exprimée en g/L.

Vérifier la validité de l'étalonnage en analysant 10 μ L de solution étalon de saccharose (5) en suivant la procédure (7.3). Le résultat doit être compris entre $\pm 2\%$ de la valeur de référence. Dans le cas contraire recommencer la procédure de calibration.

7.3 – Quantification

remplir les compartiments électrodes (EL_1 et EL_2) avec le tampon (4.14) ajouter 10 μ L (à la micropipette 5.9 ou par le préparateur) d'échantillon dans la chambre de réaction ;

remplir les électrodes EL_1 et EL_2 avec le mélange tampon + échantillon ;

mesurer la différence (D_5) de potentiel entre les deux électrodes ;

ajouter 32 μ L de solution enzymatique (4.15) et remplir l'électrode EL_2 avec le mélange tampon + échantillon + enzyme ;

mesurer la différence de potentiel (D_6) entre les deux électrodes ;

calculer la quantité de soluté dans l'échantillon selon le calcul suivant :

$$w = s \times [(D_6 - D_5) - \Delta pH_0]$$

où

w = la quantité de soluté dans l'échantillon (en g/L) ;

S est la pente déterminée par la droite de calibration ;

ΔpH_0 = la différence de pH entre les deux mesures pour le blanc ;

D_5 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes remplies avec l'échantillon/solution de référence ;

D_6 = valeur de la différence de pH entre les deux électrodes dont l'une est remplie de tampon/échantillon et l'autre de tampon/échantillon/enzyme.

8 EXPRESSION DES RESULTATS

Les résultats sont exprimés en g/L de glucose inverti avec un chiffre significatif après la virgule.

9. CARACTERISTIQUES DE L'ANALYSE

A cause de l'hydrolyse du saccharose dans les moûts et les vins il n'a pas été possible d'organiser une analyse interlaboratoire selon le protocole de l'OIV.

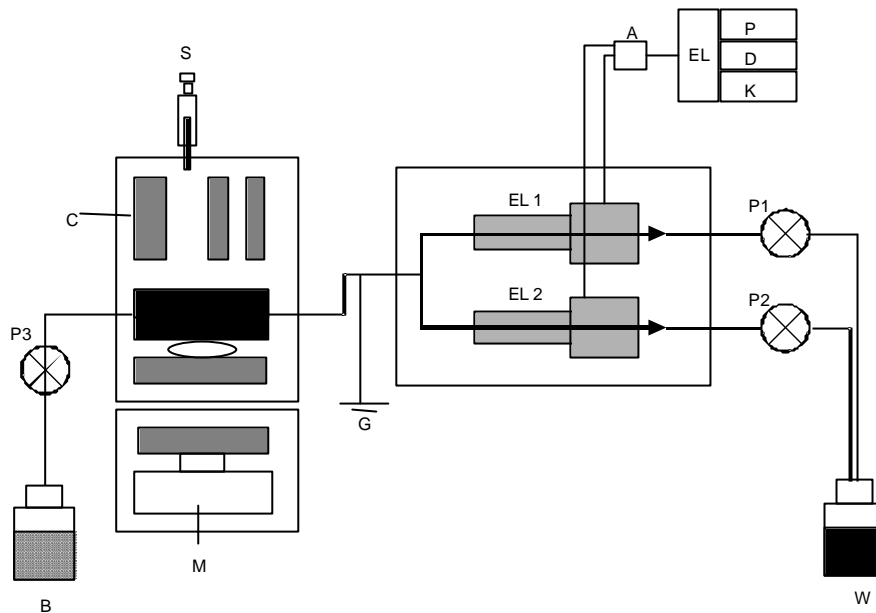
L'étude intra-laboratoire de cette méthode montre pour le saccharose une linéarité entre 0 et 250 g/L, une limite de détection de 0,2 g/L, une limite de quantification de 0,6 g/L, une répétabilité de $0,0837x - 0,0249$ g/L et une reproductibilité de $0,0935x - 0,073$ g/L (où x est la teneur en saccharose).

10 CONTROLE QUALITE

Des contrôles qualité peuvent être réalisés avec des matériaux de référence certifiés, des vins dont les caractéristiques sont issues d'un consensus ou de vins surchargés insérés régulièrement dans les séries analytiques et en suivant les cartes de contrôle afférentes.

Annexe A

Schéma de l'appareillage de pH-métrie différentielle



A : amplificateur différentiel ; B : solution de tampon ; C : chambre de mélange; D : indicateur ; EL1 et EL 2 électrodes capillaires ; EL : partie électronique ; G : mise à la terre ; K : clavier ; M : agitateur magnétique ; P : imprimante ; P1 à P3 : pompes péristaltiques ; S : seringue d'injection de l'échantillon et de l'enzyme ; W : mise à l'égout.

Annexe B

BIBLIOGRAPHIE

LUZZANA M., PERELLA M. et ROSSI-BERNARDI L (1971) : Electrometric method for measurement of small pH changes in biological systems. *Anal. Biochem*, 43, 556-563.

LUZZANA M., AGNELLINI D., CREMONESI P. et CARAMENTI G. (2001) : Enzymatic reactions for the determination of sugars in food samples using the differential pH technique. *Analyst*, 126, 2149 –2152.

LUZZANA M., LARCHER R., MARCHITTI C. V. et BERTOLDI D. (2003) : Quantificazione mediante pH-metria differenziale dell'urea negli spumanti metodo classico.in "Spumante tradizionale e classico nel terzo millennio" 27-28 giugno 2003, Istituti Agrario di San Mechele.

MOIO L., GAMBUTI A., Di MARZIO L. et PIOMBINO P. (2001) : Differential pHmeter determination of residual sugars in wine. *Am. J. Enol. Vitic*, 52(3), 271 – 274.

MOSCA A., DOSSI G., LUZZANA M., ROSSI-BERNARDI L., FRIAUF W. S., BERGER R.L., HOPKINS H. P. et CAREY V (1981) : Improved apparatus for the differential measurement of pH : application to the measurement of glucose. *Anal. Biochem.*, 112, 287 – 294.

TUSSEAU D., FENEUIL A., ROUCHAUSSE J.-M. et VAN LAER S. (2004) : Mesure de différents paramètres d'intérêt oenologique par pHmétrie différentielle. *F.V. O.I.V. n° 1199*, 5 pages.

TITRE ALCOOMETRIQUE VOLUMIQUE

1. DEFINITION

Le titre alcoométrique volumique est égal au nombre de litres d'éthanol contenu dans 100 litres de vin, ces volumes étant tous deux mesurés à la température de 20°C. Son symbole est «% vol».

Remarque: Les homologues de l'éthanol, ainsi que l'éthanol et les homologues de l'éthanol engagés dans des esters, sont compris dans le titre alcoométrique, car ils se retrouvent dans le distillat.

2. PRINCIPE DES METHODES

2.1. *Distillation du vin* alcalinisé par une suspension d'hydroxyde de calcium. Détermination du titre alcoométrique sur le distillat.

2.2. *Méthode de Type II:*

- Méthode A : Détermination de la masse volumique du distillat par pycnométrie.
- Méthode B : Mesure du titre alcoométrique volumique des vins par densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion.
- Méthode C : Mesure du titre alcoométrique volumique des vins par densimétrie utilisant la balance hydrostatique

2.3. *Méthode de Type IV:*

- Détermination du titre alcoométrique du distillat par aréométrie
- Détermination du titre alcoométrique du distillat par réfractométrie

3. OBTENTION DU DISTILLAT

3.1. Réactifs et appareillage

3.1.1. Appareil de distillation comportant:

- un ballon d'un litre de capacité, à rodage normalisé,
- une colonne rectificatrice de 20 cm de hauteur environ ou tout dispositif destiné à empêcher le primage,
- une source de chaleur (toute pyrogénéation des matières extractives doit être évitée par un dispositif approprié),
- un réfrigérant terminé par un tube effilé conduisant le distillat dans le fond de la fiole jaugée réceptrice contenant quelques millilitres d'eau.

3.1.2. Appareil à entraînement par la vapeur d'eau comportant:

- un générateur de vapeur d'eau;
- un barboteur;
- une colonne rectificatrice;
- un réfrigérant.

Tout modèle d'appareil à distillation ou tout appareil à entraînement à la vapeur d'eau peut être utilisé à condition de répondre au test suivant:

Distiller 5 fois successives un mélange hydroalcoolique titrant 10 % vol. Le distillat doit présenter un titre alcoométrique d'au moins 9,9 % vol. après la cinquième distillation, c'est-à-dire qu'il ne doit pas se produire de perte d'alcool supérieure à 0,02 % vol. au cours d'une distillation.

- Suspension d'hydroxyde de calcium 2 M

Obtenue en versant avec précaution 1 l d'eau chaude (60-70°C) sur 120 g de chaux vive CaO.

3.2. Préparation de l'échantillon

Les vins jeunes ou mousseux sont préalablement débarrassés de la plus grande quantité de leur dioxyde de carbone par agitation de 250 à 300 ml de vin dans un flacon de 500 ml.

3.3. Mode opératoire

Prélever à l'aide d'une fiole jaugée un volume de vin de 200 ml. Noter la température du vin.

Le verser dans le ballon de l'appareil à distiller ou dans le barboteur de l'appareil à entraînement à la vapeur d'eau. Rincer la fiole jaugée à quatre reprises avec 5 ml d'eau que l'on ajoute dans le ballon ou dans le barboteur.

Ajouter 10 ml d'hydroxyde de calcium 2 M et quelques fragments d'une matière poreuse inerte (pierre ponce, etc./) dans le cas de la distillation.

Recueillir le distillat dans la fiole jaugée de 200 ml qui a servi à mesurer le vin.

Recueillir un volume égal aux trois quarts environ du volume initial dans le cas de la distillation et recueillir 198-199 ml de distillat dans le cas de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Compléter à 200 ml avec de l'eau distillée, le distillat étant à une température identique à la température initiale à ± 2 °C près.

Mélanger avec précaution, par un mouvement circulaire.

Remarque : Dans le cas de vins particulièrement chargés en ions ammoniacaux, redistiller éventuellement le distillat dans les conditions décrites ci-dessus en remplaçant la suspension d'hydroxyde de calcium par 1 ml d'acide sulfurique à 10 pour 100 (v/v).

**4.A. DETERMINATION DU TITRE ALCOOMETRIQUE
DU DISTILLAT PAR PYCNOMETRIE.**

1. *Appareillage*

Utiliser le pycnomètre étalonné comme il est indiqué au chapitre «*Masse volumique*».

2. *Mode opératoire*

Procéder à la détermination de la masse volumique apparente à t °C du distillat comme il est indiqué au chapitre 1 «*Masse volumique*» en 4.3.1 et 4.3.2; soit ρ_t , cette masse volumique.

3. *Expression des résultats*

3.1. *Mode de calcul*

Exprimer le titre alcoométrique à 20 °C au moyen de la table I. Sur la table, chercher sur la ligne horizontale correspondant à la température T (exprimée en nombre entier), immédiatement inférieure à t °C, la plus petite masse volumique supérieure à ρ_t . Utiliser la différence tabulaire lue au-dessous de cette masse volumique pour calculer la masse volumique ρ à cette température T .

Sur la ligne de cette température T chercher la masse volumique ρ' immédiatement supérieure à ρ et calculer la différence entre ces deux masses volumiques ρ et ρ' . Cette différence est divisée par la différence tabulaire lue à la droite de la masse volumique ρ' . Le quotient donne la partie décimale du titre alcoométrique, tandis que la partie entière de ce titre est indiquée au sommet de la colonne dans laquelle se trouve la masse volumique ρ' .

Un exemple de calcul du titre alcoométrique est donné dans l'annexe I à ce chapitre.

Remarque : Cette correction de température a été mise sur programme et peut être éventuellement effectuée automatiquement.

3.2. *Répétabilité r*

$$r = 0,10 \text{ \% vol.}$$

3.3. *Reproductibilité (R)*

$$R = 0,19 \text{ \% vol.}$$

ANNEXE I

Exemple de calcul du titre alcoométrique d'un vin

I Pycnométrie sur balance à deux plateaux

Les constantes du pycnomètre ont été déterminées et calculées comme il est indiqué au chapitre «*Masse volumique et densité relative*» à l'Annexe I.

Calculs

Exemple numérique

1° *Pesée du pycnomètre plein de distillat :*

$$\text{Tare} = \text{pycnomètre} + \text{distillat à } t^{\circ}\text{C} + p'' \quad \left\{ \begin{array}{l} t^{\circ}\text{C} = 18,90^{\circ}\text{C} \\ t^{\circ}\text{C corrigé} = 18,70^{\circ}\text{C} \\ p'' = 2,8074 \text{ g} \end{array} \right.$$

$$p + m - p'' = \text{masse du distillat à } t^{\circ}\text{C} \quad \{ 105,0698 - 2,8074 = 102,2624 \text{ g}$$

Masse volumique apparente à $t^{\circ}\text{C}$:

$$\rho_t = \frac{p + m - p''}{\text{volume du pycnomètre à } 20^{\circ}\text{C}} \quad \left\{ \rho_{18,7^{\circ}} = \frac{102,2624}{104,0299} = 0,983076 \right.$$

2. *Calcul du titre alcoométrique:*

Se reporter à la table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques à différentes températures, comme il est Indiqué plus haut

Sur la ligne 18°C de la table des masses volumiques apparente, la plus petite masse supérieure à la masse observée 0,983076 est 0,98398 dans la colonne 11%.

La masse volumique à 18°C est :
 $(98307,6 + 0,7 \times 22) 10^{-5} = 0,98323$
 $0,98398 - 0,98323 = 0,00075$

La partie décimale du degré alcoolique est $75/114 = 0,65$

Le titre alcoométrique est : 11,65% vol

II Pycnométrie sur balance monoplateau

Les constantes du pycnomètre ont été déterminées et calculées comme il est indiqué au chapitre *Masse volumique et densité relative*, à l'Annexe I.

Calculs

1. *Pesée du pycnomètre plein de distillat :*

Pesée du flacon tare au moment de la détermination	: $T_1 = 171,9178$
Pycnomètre plein de distillat à 20,50°C	: $P_2 = 167,8438$
Variation de la poussée de l'air	: $dT = 171,9178 - 171,9160$ = + 0,0018
Masse du distillat à 20,50°C:	: $L_t = 167,8438 - (67,6695 + 0,0018)$ = 100,1725
Masse volumique apparente du distillat	: $\rho_{20,50^\circ} = \frac{100,1725}{101,8194} = 0,983825$

2 *Calcul du titre alcoométrique :*

Se reporter à la table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques à différentes températures, comme il est indiqué plus haut :

petite masse supérieure à la masse observée 0,983825 est 0,98471 dans la colonne 10%.

La masse volumique à 20°C est :
 $(98382,5 + 0,5 \times 24) 10^{-5} = 0,983945$
 $0,98471 - 0,983945 = 0,000765$

La partie décimale du titre alcoométrique est: $76,5 / 119 = 0,64$

Le titre alcoométrique est : 10,64% vol.

Sur la ligne 20°C de la table des masses volumiques apparentes, la plus

ANNEXE II

**Formule permettant de calculer les tables alcoométrique
des mélanges d'alcool éthylique et d'eau**

La masse volumique " ρ ", exprimée en kilogrammes par mètre cube (kg/m^3) d'un mélange d'alcool éthylique et d'eau à la température t , exprimée en degrés Celsius, est donnée par la formule suivante en fonction:

- du titre massique p exprimé par un nombre décimal ; ¹
- de la température t exprimée en degrés Celsius (E. I. P. T. 68);
- des coefficients numériques ci-après:

La formule est valable pour les températures comprises entre -20 °C et $+40\text{ °C}$.

$$\rho = A_1 + \sum_{k=2}^{12} A_k p^{k-1} + \sum_{k=1}^6 B_k (t - 20\text{°C})^k$$
$$+ \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^m C_{i,k} p^k (t - 20\text{°C})^i$$

$$n = 5$$

$$m_1 = 11$$

$$m_2 = 10$$

$$m_3 = 9$$

$$m_4 = 4$$

$$m_5 = 2$$

¹ Exemple : pour un titre massique de 12%, $p = 0,12$

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

Coefficients numériques de la formule

k	A_k kg/m ³	B_k
1	9,982 012 300 · 10 ²	-2,061 851 3 · 10 ⁻¹ kg/(m ³ · °C)
2	-1,929 769 495 · 10 ²	-5,268 254 2 · 10 ⁻³ kg/(m ³ · °C ²)
3	3,891 238 958 · 10 ²	3,613 001 3 · 10 ⁻⁵ kg/(m ³ · °C ³)
4	-1,668 103 923 · 10 ³	-3,895 770 2 · 10 ⁻⁷ kg/(m ³ · °C ⁴)
5	1,352 215 441 · 10 ⁴	7,169 354 0 · 10 ⁻⁹ kg/(m ³ · °C ⁵)
6	-8,829 278 388 · 10 ⁴	-9,973 923 1 · 10 ⁻¹¹ kg/(m ³ · °C ⁶)
7	3,062 874 042 · 10 ⁵	
8	-6,138 381 234 · 10 ⁵	
9	7,470 172 998 · 10 ⁵	
10	-5,478 461 354 · 10 ⁵	
11	2,234 460 334 · 10 ⁵	
12	-3,903 285 426 · 10 ⁴	

k	$C_{1,k}$ kg/(m ³ · °C)	$C_{2,k}$ k g/(m ³ · °C ²)
1	1,693 443 461530 087 · 10 ⁻¹	-1, 193 013 005 057 010 · 10 ⁻²
2	-1,046 914 743 455 169 · 10 ¹	2,517 399 633 803 46 1 · 10 ⁻¹
3	7,196 353 469 546 523 · 10 ¹	-2,170 575 700 536 993
4	-7,047 478 054 272 792 · 10 ²	1,353 034 988 843 029 · 10 ¹
5	3,924 090 430 035 045 · 10 ³	-5,029 988 758 547 014 · 10 ¹
6	-1,210 164 659 068 747 · 10 ⁴	1,096 355 666 577 570 · 10 ²
7	2,248 646 550 400 788 · 10 ⁴	-1,422 753 946 421 155 · 10 ²
8	-2,605 562 982 188 164 · 10 ⁴	1,080 435 942 856 230 · 10 ²
9	1,852 373 922 069 467 · 10 ⁴	-4,414 153 236 817 392 · 10 ¹
10	-7,420 201433 430 137 · 10 ³	7,442 971 530 188 783
11	1,285 617 841 998 974 · 10 ³	

k	$C_{3,k}$ kg/(m ³ · °C ³)	$C_{4,k}$ kg/(m ³ · °C ⁴)	$C_{5,k}$ kg/(m ³ · °C ⁵)
1	-6,802 995 733 503 803 · 10 ⁻⁴	-4,075 376 675 622 027 · 10 ⁻⁷	-2,788 074 354 782 409 · 10 ⁻⁸
2	-1,876 837 790 289 664 · 10 ⁻²	-8,763 058 573 471 110 · 10 ⁻⁶	1,345 612 883493 354 · 10 ⁻⁶
3	-2,002 561 813734 156 · 10 ⁻¹	6,515 031 360 099 368 · 10 ⁻⁶	
4	-1,022 992 966 719 220	-1,515 784 836 987 210 · 10 ⁻⁶	
5	-2,895 696 483 903 638		
6	-4,810 060 584 300 675		
7	-4,672 147 440 794 683		
8	-2,458 043 105 903 461		
9	-5,411 227 621 436 812 · 10 ⁻¹		

4. B. MESURE DU TITRE ALCOOMÉTRIQUE VOLUMIQUE DES VINS
PAR DENSIMÉTRIE ÉLECTRONIQUE UTILISANT
UN RÉSONATEUR DE FLEXION
(OENO 8/2000)

1. Méthode de mesure

1.1. Titre et introduction

Le Titre Alcoométrique Volumique (TAV) des vins doit être mesuré avant leur commercialisation notamment pour se conformer aux règles d'étiquetage.

Le Titre Alcoométrique Volumique est égal au nombre de litres d'éthanol contenus dans 100 litres de vin, ces volumes étant tous deux mesurés à la température de 20 °C. Son symbole est “ % vol. ”.

1.2. Précautions de sécurité

Respecter les consignes de sécurité relatives à l'utilisation des appareils de distillation, à la manipulation des solutions hydroalcooliques et des produits de nettoyage.

1.3. Objet et domaine d'application

La méthode de mesure décrite est la densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion.

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

1.4. Principe et définitions

Le principe de la méthode consiste premièrement à distiller le vin de volume à volume. La méthode de distillation est décrite dans le présent Recueil. Cette distillation permet d'éliminer les substances non volatiles. Les homologues de l'éthanol, ainsi que l'éthanol et les homologues de l'éthanol engagés dans les esters, sont compris dans le titre alcoométrique, car ils se retrouvent dans le distillat.

Dans un deuxième temps on mesure la masse volumique du distillat obtenu. La masse volumique d'un liquide à une température donnée est égale au quotient de sa masse sur son volume :

$$p = m / V, \text{ pour un vin, elle s'exprime g/ml}$$

Pour une solution hydroalcoolique telle qu'un distillat, connaissant la température, des tables permettent de faire correspondre à une masse volumique un titre alcoométrique (OIV, 1990). Ce titre alcoométrique correspond à celui du vin (distillation de volume à volume).

Dans la présente méthode la masse volumique du distillat est mesurée par densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion. Le principe consiste à mesurer la période d'oscillation d'un tube contenant l'échantillon soumis à une excitation électromagnétique. La masse volumique est alors calculée, elle est liée à la période d'oscillation par la formule suivante :

$$p = T^2 \times \left(\frac{C}{4\pi^2 V} \right) - \left(\frac{M}{V} \right) \quad (1)$$

p = masse volumique de l'échantillon
T = période de vibration induite
M = masse du tube vide
C = constante de rappel
V = volume de l'échantillon en vibration

Cette relation est de la forme, $p = A T^2 - B$ (2), il existe donc une relation linéaire entre la masse volumique et la période élevée au carré. Les constantes A et B sont spécifiques de chaque oscillateur et sont estimées en mesurant la période de fluides de masse volumique connue.

1.5. Réactifs et produits

1.5.1 Fluides de référence

Deux fluides de référence servent à ajuster le densimètre. Les masses volumiques des fluides de référence doivent encadrer celles des distillats à mesurer. Un écart de masse volumique entre les fluides de référence supérieur à 0,01000 g/ml est recommandé. Leur masse volumique doit être connue avec une incertitude inférieure à +/- 0,00005 g/ml, pour une température de 20,00 +/- 0,05 °C.

Pour la mesure du TAV des vins par densimètre électronique les fluides de référence sont :

- l'air sec (non pollué),
- l'eau bi-distillée ou de pureté analytique équivalente,
- des solutions hydroalcooliques de masse volumique déterminée par pycnométrie (méthode de référence),
- des solutions raccordées aux étalons nationaux de viscosité inférieure à 2 mm²/s.

1.5.2 Produits de nettoyage et de séchage

- détergents, acides ...,
- solvants organiques : éthanol 96% Vol., acétone pure ...

1.6. Appareillage

1.6.1 Densimètre électronique à résonateur de flexion

Le densimètre électronique comporte les éléments suivants :

- **une cellule de mesure comportant le tube de mesure et une enceinte thermostatée,**
- un système de mise en oscillation du tube et de mesure de la période d'oscillation,
- une horloge,
 - un afficheur numérique et éventuellement un calculateur.
 -

Le densimètre est placé sur un support parfaitement stable et est isolé de toutes vibrations.

1.6.2 Contrôle de la température de la cellule de mesure

Le tube de mesure est situé dans une enceinte thermostatée. La stabilité de la température doit être meilleure que +/- 0,02 °C.

Lorsque le densimètre le permet, il est nécessaire de contrôler la température de la cellule de mesure car celle-ci influence fortement les résultats des déterminations. La masse volumique d'une solution hydroalcoolique de TAV 10 % Vol., est de 0,98471 g/ml à 20°C et de 0,98447 g/ml à 21°C soit un écart de 0,00024 g/ml.

La température d'essai est arrêtée à 20°C. La mesure de température au niveau de la cellule est réalisée avec un thermomètre de résolution de moins de 0,01°C et raccordé aux étalons nationaux. Il doit garantir une mesure de température d'incertitude inférieure à +/- 0,07°C.

1.6.3 Calibration de l'appareil

L'appareil doit être calibré avant sa première utilisation, puis tous les six mois ou si la vérification ne donne pas satisfaction. L'objectif est d'utiliser deux fluides de référence pour calculer les constantes A et B (cf. (2)). Pour la réalisation pratique de la calibration se référer au mode d'emploi de l'appareil. En principe cette calibration est effectuée avec de l'air sec (tenir compte de la pression atmosphérique) et de l'eau très pure (bi-distillée et/ou microfiltrée de résistivité très élevée, par exemple > 18 M Ω

1.6.4 Vérification de la calibration

Pour vérifier la calibration on mesure la masse volumique de fluides de référence.

- Chaque jour, une vérification de la masse volumique de l'air est réalisée. Un écart entre la masse volumique théorique et celle observée supérieur à 0,00008 g/ml peut indiquer que le tube est encrassé. Il faut alors le nettoyer. Après nettoyage on vérifie à nouveau la masse volumique de l'air, si cette vérification n'est pas concluante il faut ajuster l'appareil.
- On vérifie également la masse volumique de l'eau, si l'écart entre la masse volumique théorique et celle observée est supérieur à 0,00008 g/ml, on ajuste l'appareil.
 - Si la vérification de la température de la cellule est difficile il est possible de vérifier directement la masse volumique d'une solution hydroalcoolique de TAV comparable à ceux des distillats analysés.
 -

1.6.5 Contrôle

Lorsque la différence entre la masse volumique théorique d'une solution de référence (connue avec une incertitude de +/- 0,00005 g/ml) et la mesure est supérieure à 0,00008 g/ml il faut vérifier la température de la cellule.

1.7. Echantillonnage et préparation des échantillons

(cf. Recueil des méthodes internationales des vins et des moûts, AS312-01-TAVPYC, Obtention du distillat)

1.8. Mode opératoire

Après obtention du distillat, (OIV, 1990) on mesure sa masse volumique ou son TAV par densimétrie.

L'opérateur s'assure de la stabilité de la température de la cellule de mesure. Le distillat dans la cellule du densimètre ne doit pas contenir de bulles d'air et doit être homogène. Si l'on dispose d'un système d'éclairage qui permet de vérifier l'absence de bulles, l'éteindre rapidement après la vérification car la chaleur générée par la lampe influe sur la température de mesure.

Si l'appareil ne donne que la période on calcule la masse volumique grâce aux constantes A et B (cf. A.4 c). Si l'appareil ne donne pas directement le TAV, connaissant la masse volumique on obtient ce TAV à l'aide des tables (OIV, 1990).

1.9. Expression des résultats

Le titre alcoométrique volumique du vin est celui obtenu pour le distillat. Il est exprimé en “ % vol. ”.

Si les conditions de température ne sont pas respectées, il est nécessaire de réaliser une correction pour l'exprimer à 20°C. Le résultat est donné avec deux décimales.

1.10. Remarques

Le volume introduit dans la cellule doit être suffisamment important afin d'éviter une éventuelle contamination provoquée par l'échantillon précédent. Il est donc nécessaire de réaliser au moins deux déterminations. Si celles-ci ne donnent pas des résultats inclus dans la limite de répétabilité, une troisième détermination est nécessaire. Généralement les résultats des deux dernières déterminations sont homogènes et on élimine la première valeur.

1.11 Fidélité

Pour des échantillons de TAV compris entre 4 et 18 % Vol.

Répétabilité (r) = 0,067 (% vol.),

Reproductibilité (R) = 0,0454 + 0,0105 x TAV.

2 Essai interlaboratoires. Fidélité et exactitude sur ajout

2.1. Echantillons

Les échantillons utilisés lors de l'étude collaborative sont décrits dans le tableau 1.

Tableau 1 : Echantillons de l'étude collaborative

Num	Nature	TAV approximatif (% vol.)
C0	Cidre (filtré sur membrane pour enlever le CO2)	5
V0	Vin filtré	10
V1	Vin filtré puis dopé	11
V2	Vin filtré puis dopé	12
V3	Vin filtré puis dopé	13
P0	Vin de liqueur	16

Tous les échantillons sont homogénéisés avant de remplir les bouteilles envoyées aux participants. Pour le vin, 40 litres sont homogénéisés avant envoi et réalisation des ajouts.

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

Pour les ajouts, dans une fiole jaugée de 5 litres on verse l'éthanol absolu puis on complète au trait de jauge avec le vin filtré. Cette opération est répétée deux fois. Les volumes d'éthanol sont respectivement de 50, 100 et 150 ml pour les échantillons V1, V2 et V3.

2.2. Laboratoires participants

Les laboratoires participants à l'étude collaborative sont décrits dans le tableau 2.

Laboratoire	C.P.	Ville	Personne à contacter
ALKO Group LTD	FIN-00101	Helsinki	Monsieur Lehtonen
Bénédictine	76400	Fécamp	Madame Pillon
Casanis	18881	Gemenos	Madame Cozon
CIVC	51200	Epernay	Monsieur Tusseau
Cointreau	49181	St Barthélémy d'Anjou	Madame Guerin
Courvoisier	16200	Jarnac	Monsieur Lavergne
Hennessy	16100	Cognac	Monsieur Calvo
IDAC	44120	Vertou	Madame Mars
Laboratoire Gendrot	33000	Bordeaux	Madame Gubbiotti
Martell	16100	Cognac	Monsieur Barboteau
Ricard	94320	Thiais	Monsieur Boulanger
SOEC Martin Vialatte	51319	Epernay	Madame Bertemes

Afin de ne pas introduire de biais méthodologique, les résultats de la Station Viticole du Bureau National Interprofessionnel du Cognac (organisatrice de l'étude collaborative) ne sont pas pris en compte.

2.3. Analyses

Les produits C0 et P0 sont distillés deux fois, les produits V0, V1, V2 et V3 trois fois. Pour chaque distillat trois déterminations du TAV, reportées dans le tableau de résultats, sont réalisées.

2.4. Résultats

La deuxième détermination des trois réalisées est retenue pour l'étude de la fidélité (tableau 3).

Tableau 3 : Résultats (deuxième détermination par distillat) (% vol.)

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

Laboratoire	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	6,020	9,500	10,390	11,290	12,100	17,080
	5,970	9,470	10,380	11,260	12,150	17,080
		9,450	10,340	11,260	12,150	
2	6,040	9,500	10,990	11,270	12,210	17,050
	6,040	9,500	10,390	11,280	12,210	17,050
		9,510	10,400	11,290	12,200	
3	5,960	9,460	10,350	11,280	12,170	17,190
	5,910	9,460	10,360	11,280	12,150	17,200
		9,450	10,340	11,260	12,170	
4	6,020	9,470	10,310	11,250	12,160	16,940
	6,020	9,450	10,350	11,250	12,120	17,070
		9,450	10,330	11,210	12,130	
5	5,950	9,350	10,250	11,300	12,050	17,000
	5,950	9,430	10,250	11,300	12,050	17,000
		9,430	10,250	11,300	12,050	
6	6,016	9,513	10,370	11,275	12,222	17,120
	6,031	9,513	10,336	11,266	12,222	17,194
		9,505	10,386	11,275	12,220	
7	5,730	9,350	10,230	11,440	12,080	17,010
	5,730	9,430	10,220	11,090	12,030	16,920
		9,460	10,220	11,080	11,930	
8	5,990	9,400	10,340	11,160	12,110	17,080
	6,000	9,440	10,320	11,150	12,090	17,110
		9,440	10,360	11,210	12,090	
9	6,031	9,508	10,428	11,289	12,180	17,089
	6,019	9,478	10,406	11,293	12,215	17,084
		9,509	10,411	11,297	12,215	
10	6,030	9,500	10,380	11,250	12,150	17,130
	6,020	9,510	10,380	11,250	12,150	17,100
		9,510	10,380	11,250	12,160	
11	6,020	9,480	10,400	11,260	12,150	17,040
	6,000	9,470	10,390	11,260	12,140	17,000
		9,490	10,370	11,240	12,160	

2.5. Calcul de répétabilité et de reproductibilité

Les calculs de répétabilité et de reproductibilité sont réalisés conformément à la norme NF X 06-041, septembre 1983, ISO 5725. Le tableau 4 présente les écarts-types par cellule (laboratoire x échantillon).

Tableau 4 : Table des dispersions (écart-types en % vol.)

Laboratoire	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	0.0354	0.0252	0.0265	0.0173	0.0289	0.0000
2	0.0000	0.0058	0.3436	0.0100	0.0058	0.0000
3	0.0354	0.0058	0.0100	0.0115	0.0115	0.0071
4	0.0000	0.0115	0.0200	0.0231	0.0208	0.0919
5	0.0000	0.0462	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
6	0.0106	0.0046	0.0255	0.0052	0.0012	0.0523
7	0.0000	0.0569	0.0058	0.2050	0.0764	0.0636
8	0.0071	0.0231	0.0200	0.0321	0.0115	0.0212
9	0.0085	0.0176	0.0115	0.0040	0.0202	0.0035
10	0.0071	0.0058	0.0000	0.0000	0.0058	0.0212
11	0.0141	0.0100	0.0153	0.0115	0.0100	0.0283

Trois cellules présentent des dispersions fortes (Probabilité associée au test de Cochran inférieure à 1 %). Ces cellules sont représentées en grisé (tableau 4).

Pour le laboratoire 7 et le produit V3, l'écart-type de 0,0764 est conservé malgré le résultat du test de Cochran car il est du même ordre de grandeur que celui observé pour le même laboratoire sur le produit V0.

L'examen des valeurs par distillat (tableau 3) conduit à éliminer :

- laboratoire 2, produit V1, la valeur 10,990,
- laboratoire 7, produit V2, la valeur 11,440.

Après avoir éliminé ces deux valeurs les moyennes par cellule (laboratoire x échantillon) sont calculées (tableau 5).

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

Tableau 5 : Table des moyennes (moyennes en % vol.)

Laboratoire	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	5,9950	9,4733	10,3700	11,2700	12,1333	17,0800
2	6,0400	9,5033	10,3950	11,2800	12,2067	17,0500
3	5,9350	9,4567	10,3500	11,2733	12,1633	17,1950
4	6,0200	9,4567	10,3300	11,2367	12,1367	17,0050
5	5,9500	9,4033	10,2500	11,3000	12,0500	17,0000
6	6,0235	9,5103	10,3640	11,2720	12,2213	17,1570
7	5,7300	9,4133	10,2233	11,0850	12,0133	16,9650
8	5,9950	9,4267	10,3400	11,1733	12,0967	17,0950
9	6,0250	9,4983	10,4150	11,2930	12,2033	17,0865
10	6,0250	9,5067	10,3800	11,2500	12,1533	17,1150
11	6,0100	9,4800	10,3867	11,2533	12,1500	17,0200

Les valeurs données par le laboratoire 7 sont généralement basses (tableau 5). Dans le cas du cidre, la moyenne pour ce laboratoire est fortement éloignée de celles des autres laboratoires (Probabilité associée au test de Dixon inférieure à 1 %). Les résultats de ce laboratoire pour ce produit sont éliminés.

Le tableau 6 présente les répétabilités et reproductibilités calculées.

Tableau 6 : Calcul des répétabilités et des reproductibilités

Echantil	P	n	TAV	S2r	S2L	r	R
C0	10	20	6,002	0,000298	0,001033	0,049	0,103
V0	11	33	9,466	0,000654	0,001255	0,072	0,124
V1	11	32	10,344	0,000255	0,003485	0,045	0,173
V2	11	32	11,249	0,000219	0,003113	0,042	0,163
V3	11	33	12,139	0,000722	0,003955	0,076	0,194
P0	11	22	17,070	0,001545	0,004154	0,111	0,214

Légende :

- p* : nombre de laboratoires retenus
- n* : nombre de valeurs retenues
- TAV* : TAV moyen (% vol.)
- S2r* : variance de répétabilité (% vol.)²
- S2L* : variance interlaboratoire (% vol.)²
- r* : répétabilité (% vol.)
- R* : reproductibilité (% vol.)

La reproductibilité augmente avec le TAV des échantillons (figure 1). L'augmentation de la répétabilité en fonction du TAV est moins marquée, ainsi une répétabilité globale est calculée en fonction de la variance de répétabilité moyenne. Ainsi, pour des échantillons de TAV compris entre 4 et 18 % vol.,

Répétabilité (r) = 0,067 (% vol.),

Reproductibilité (R) = $0,0454 + 0,0105 \times \text{TAV}$.

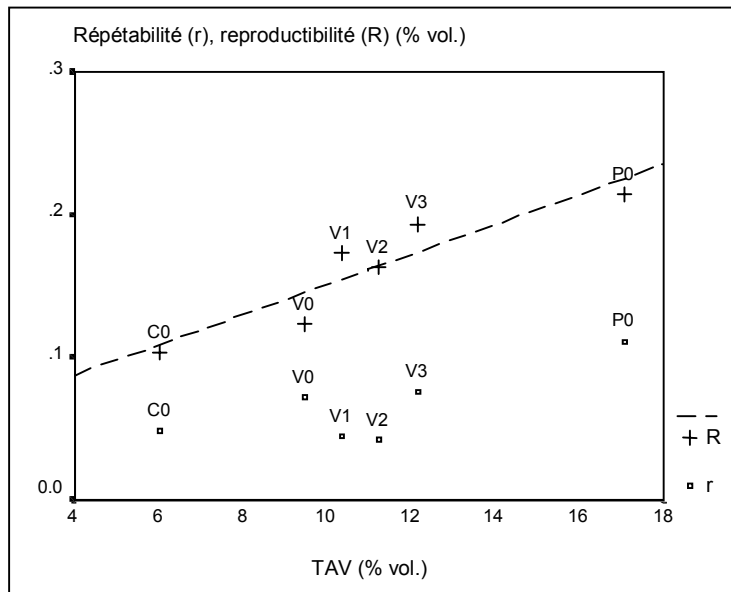


Figure 1 : Répétabilité et reproductibilité en fonction du titre alcoométrique volumique

2.6. Exactitude sur les ajouts réalisés sur le vin

La droite de régression du titre alcoométrique après ajout en fonction du volume d'éthanol ajouté fournit, pour un volume de 0 ml, une estimation du titre alcoométrique initial du produit (figure 2). Cette régression est réalisée avec les valeurs moyennes par laboratoire (tableau 5).

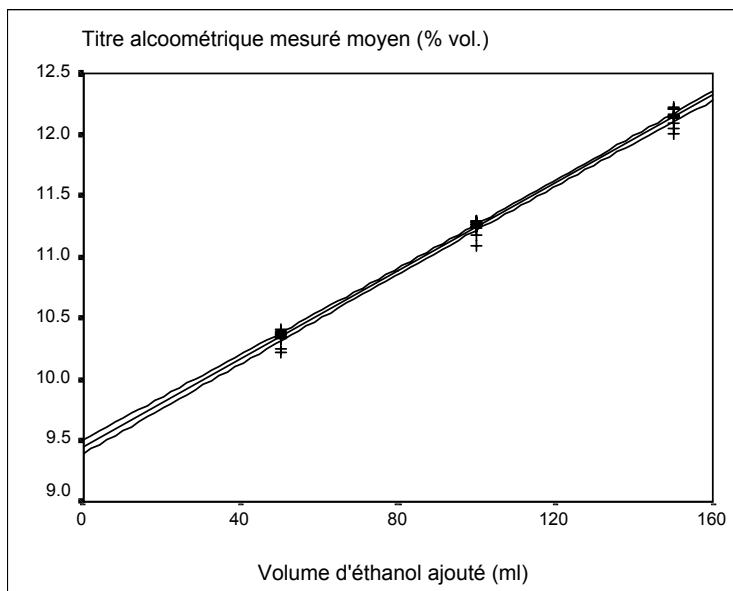


Figure 2 : Régression du TAV mesuré sur le volume d'éthanol ajouté

La mesure réalisée sur le produit initial n'intervient pas dans cette estimation. Cette estimation est comparée à la moyenne des mesures réalisées sur ce produit avant ajout, les intervalles de confiance relatifs à ces deux estimations sont calculés (tableau 7).

Tableau 7 : Ajouts sur produits

BI	moyenne des mesures	BS	BI	estimation avec mesures sur produits + ajouts	BS
9,440	9,466	9,492	9,392	9,450	9,508

Légende : BI : borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%

BS : borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%

Les deux intervalles de confiance possèdent une zone de recouvrement importante. Grâce aux mesures sur les échantillons « dopés » on retrouve donc le titre alcoométrique volumique du produit initial.

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

2.7. Conclusion de l'essai interlaboratoires

Les déterminations de la répétabilité et de la reproductibilité par les essais interlaboratoires donnent les équations suivantes, pour des produits de TAV situé entre 4 et 18 % vol. :

Répétabilité (r) = 0,067 (% vol.),

Reproductibilité (R) = $0,0454 + 0,0105 \times \text{TAV}$ (% vol.).

Les indicateurs de Horwitz, Hor et HoR sont faibles (tableau 8). Ils indiquent donc une bonne précision de la méthode par rapport au niveau d'analyte mesuré.

Tableau 8 : Tableau résumé sur la fidélité de la méthode

Echantillon	C0	V0	V1	V2	V3	P0
n	20	33	32	32	33	22
p	10	11	11	11	11	11
TAV	6,0019	9,4662	10,3443	11,2492	12,1389	17,0699
r	0,0489	0,0724	0,0452	0,0419	0,0760	0,1113
sr	0,0173	0,0256	0,0160	0,0148	0,0269	0,0393
RSDr	0,2878	0,2702	0,1543	0,1316	0,2214	0,2303
RSDrH	2,0159	1,8822	1,8573	1,8340	1,8131	1,7224
Hor	0,1428	0,1436	0,0831	0,0718	0,1221	0,1337
R	0,1033	0,1237	0,1731	0,1634	0,1935	0,2136
sR	0,0365	0,0437	0,0612	0,0577	0,0684	0,0755
RSDR	0,6080	0,4616	0,5912	0,5131	0,5634	0,4423
RSDRH	3,0543	2,8519	2,8141	2,7788	2,7471	2,6097
HoR	0,1991	0,1619	0,2101	0,1847	0,2051	0,1695

Légende :

- n : nombre de valeurs retenues
- p : nombre de laboratoires retenus
- TAV : TAV moyen (% vol.)
- r : répétabilité (% vol.)
- sr : Ecart-type de répétabilité (% vol.)
- RSDr : Coefficient de variation de répétabilité ($sr \times 100 / \text{TAV}$) (%)
- RSDrH : Coefficient de variation de répétabilité d'Horwitz ($0,66 \times \text{RSDRH}$) (%)
- Hor : Valeur de répétabilité d'Horrat (RSDr/RSDrH)
- R : reproductibilité (% vol.)
- sR : Ecart-type de reproductibilité (% vol.)
- RSDR : Coefficient de variation de reproductibilité ($sR \times 100 / \text{TAV}$) (%)
- RSDRH : Coefficient de variation de reproductibilité d'Horwitz ($2^{(1-0,5\log(\text{TAV}))}$) (%)
- HoR : Valeur de reproductibilité d'Horrat (RSDR/RSDRH)

Lors des essais interlaboratoires, les mesures réalisées sur un vin avec ajouts permettent de retrouver la valeur obtenue avant ajout, on obtient respectivement les valeurs 9,45 et 9,47 % vol..

Bibliographie

OIV, 1990. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, Office International de la Vigne et du Vin ; Paris.

4. C. MESURE DU TITRE ALCOOMETRIQUE VOLUMIQUE
DES VINS PAR DENSIMETRIE UTILISANT
LA BALANCE HYDROSTATIQUE
(OENO 24/2003)

1. MÉTHODE DE MESURE

1.1 Titre et introduction

Le titre alcoométrique volumique (TAV) des vins doit être mesuré avant leur commercialisation notamment pour la conformité aux règles d'étiquetage.

Le titre alcoométrique volumique est égal au nombre de litres d'éthanol contenus dans 100 litres de vin, ces volumes étant tous deux mesurés à la température de 20 °C. Son symbole est “% vol.”.

1.2 Précaution de sécurité

Respecter les consignes de sécurité relatives à l'utilisation des appareils de distillation, à la manipulation des solutions hydroalcooliques et des produits de nettoyage.

1.3 Objet et domaine d'application

La méthode de mesure décrite est la densimétrie utilisant une balance hydrostatique.

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

1.4 Principe et définitions

Le principe de la méthode consiste premièrement à distiller le vin de volume à volume. La méthode de distillation est décrite dans le présent Recueil. Cette distillation permet d'éliminer les substances non volatiles. Les homologues de l'éthanol, ainsi que l'éthanol engagés dans des liaisons esters, sont compris dans le titre alcoométrique, car ils se retrouvent dans le distillat.

Dans un deuxième temps on mesure la masse volumique du distillat obtenu. La masse volumique d'un liquide à une température donnée est égale au quotient de sa masse sur son volume: $\rho = m/V$, pour un vin, elle s'exprime en g/ml .

Le titre alcoométrique des vins 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.

1.5 Réactifs

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.

1.5.1 Solution de lavage du flotteur (hydroxyde de sodium, 30 % m/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 % vol.

1.6 Appareillage et matériel

appareillage courant de laboratoire et notamment :

- 1.6.1 Balance hydrostatique monoplateau d'une sensibilité de 1 mg.
- 1.6.2 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.
- 1.6.3 Éprouvette cylindrique comportant un repère de niveau. Le flotteur doit pouvoir rentrer entièrement dans le volume de l'éprouvette situé au-dessous du repère; la surface du liquide n'étant 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.
- 1.6.4 Thermomètre (ou sonde de mesure de la température) gradué en degrés et dixièmes de degré, de 10 à 40 °C, étalonné à $\pm 0,05$ °C près.
- 1.6.5 Poids étalonnés par un organisme de certification reconnu.

1.7 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.

1.7.1 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.

1.7.2 Étalonnage du flotteur

1.7.2.1 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 M Ω /cm), dont la température sera comprise entre 15 et 25 °C, mais se situera de préférence à 20 °C.

1.7.2.2 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.

1.7.3 Contrôle à l'aide d'une solution hydroalcoolique

1.7.3.1 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.

1.7.3.2 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.

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

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

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

1.7.4.2 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).

1.7.4.3 Corriger ρ_t à l'aide de la table des masses ρ_t des mélanges hydroalcooliques [table II de l'annexe II du recueil des méthodes d'analyse de l'OIV].

1.7.5 Nettoyage du flotteur et de l'éprouvette cylindrique.

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

1.7.5.2 Laisser tremper une heure en tournant le flotteur régulièrement.

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

1.7.5.4 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.

1.7.6 Résultat

À l'aide de la masse volumique ρ_{20} , calculer le titre alcoométrique volumique réel en utilisant 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. Il s'agit de la table internationale adoptée par

l'Organisation internationale de métrologie légale dans sa recommandation no 22.

- 2. Comparaison des mesures effectuées** à l'aide de la balance hydrostatique avec celles obtenues par densimétrie électronique (Méthode de référence OIV, Annexe A du Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse)
A partir d'échantillons dont le titre alcoométrique est compris entre 4 % vol. et 18 % vol., il a été procédé à la mesure de la répétabilité et de la reproductibilité après un essai inter-laboratoire. Il s'agit d'une comparaison des mesures du titre alcoométrique de différents échantillons par la balance hydrostatique et par le densimètre électronique, incluant les valeurs de répétabilité et de reproductibilité dérivées des essais d'intercomparaison pluri-annuels effectués sur une grande échelle.
- 2.1 *Echantillons:*** Il s'agit de vins de différentes densités et titres alcoométriques préparés mensuellement à une échelle industrielle, tirés d'un stock de bouteilles conservées dans des conditions normales, et fournis de manière anonyme aux laboratoires.
- 2.2 *Laboratoires:*** laboratoires participant aux essais mensuels organisés par Unione Italiana Vini Verona, Italy) d'après la réglementation ISO 5725 (UNI 9225) et le 'International Protocol of Proficiency test for chemical analysis laboratories' établi par l'AOAC, l'ISO et l'IUPAC (J. AOAC Intern., 1993, 74/4) et d'après les lignes directrices ISO 43 and ILAC G13. Un rapport annuel est fourni par la société citée à tous les participants.
- 2.3 *Appareils:***
- 2.3.1 Une balance hydrostatique électronique (dont la précision permet de donner la 5ème décimale de la densité) et éventuellement équipée d'un appareil de traitement de données.
- 2.3.2 Un densimètre électronique éventuellement équipé d'un passeur automatique d'échantillon.
- 2.4 *Analyses***
D'après les règles de validation des méthodes (résolution OENO 6/99), chaque échantillon est analysés deux fois consécutives pour la détermination du titre alcoométrique.
- 2.5 *Résultats***

Le Tableau 1 montre les résultats de mesure obtenus par les laboratoires utilisant une balance hydrostatique.

Le Tableau 2 montre les résultats obtenus par les laboratoires utilisant un densimètre électronique.

2.6 *Evaluations des résultats*

2.6.1 Les résultats des essais ont été examinés pour mettre en évidence l'erreur systématique individuelle ($p < 0,025$) en utilisant successivement les tests de Cochran et de Grubbs, selon les procédures décrites dans le « Protocol international for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies » *Ed W Horwitz, Pure and Applied Chemistry, 1995, 67, (2), 331-343.*].

2.6.2 Répétabilité (r) et reproductibilité (R)

Les calculs de répétabilité (r) et reproductibilité (R) définies par le protocole ont été effectués sur les résultats restant après élimination des valeurs aberrantes. Lors de l'évaluation d'une nouvelle méthode, il est fréquent qu'il n'existe pas de méthode de référence validée ou de méthode statutaire pour comparer les critères de précision, donc pour comparer les données de précision obtenues lors des essais collaboratifs on se réfère à des niveaux de précision « estimés ». Ces niveaux « estimés » sont calculés d'après la formule d'Horwitz. La comparaison des résultats d'essais et les niveaux prévus indique si la méthode est suffisamment précise pour le niveau d'analyte mesuré.

La valeur prédite d'Horwitz est calculée par la formule d'Horwitz

$$RSD_R = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

ou C = concentration mesurée d'analyte exprimée en décimales (e.g. 1 g/100 g = 0,01) [*Horwitz, W., Analytical Chemistry, 1982, 54, 67A-76A.*].

La valeur Horrat donne une comparaison de la précision actuelle déterminée avec la précision prédite par la formule d'Horwitz pour la méthode et au niveau particulier de concentration de l'analyte ; elle est calculée comme suit:

$$Ho_R = RSD_R(\text{mesuré})/RSD_R(\text{Horwitz})$$

2.6.3 Précision interlaboratoire

Une valeur Horrat de 1 indique normalement une précision interlaboratoire satisfaisante, alors qu'une valeur supérieure à 2 indique normalement une précision non satisfaisante, i.e. une précision trop variable pour des raisons analytiques ou quand la variation obtenue est plus élevée que celle estimée pour la méthode employée. H_o_r est aussi calculé et utilisé pour déterminer la précision intra-laboratoire en utilisant l'approximation suivante:

$RSD_r(\text{Horwitz}) = 0,66 RSD_R(\text{Horwitz})$ (ce qui suppose l'approximation suivante : $r = 0,66 R$).

Le Tableau 3 montre les différences entre les mesures obtenues par les laboratoires utilisant le densimètre électronique et ceux utilisant la balance hydrostatique. En dehors de l'échantillon 2000/3 qui a un titre alcoométrique très faible et pour lequel les deux techniques montrent une faible reproductibilité, une bonne concordance est observée pour les autres échantillons.

2.6.4 Paramètres de fidélité

Le Tableau 4 montre la moyenne générale des paramètres de fidélité calculée à partir de tous les essais mensuels qui se sont déroulés entre janvier 1999 et mai 2001.

En particulier:

Répétabilité (r)= 0,074 (% vol.) pour la balance hydrostatique et 0,061 (% vol.) pour la densimétrie électronique;

Reproductibilité (R)= 0,229 (% vol.) pour la balance hydrostatique et 0,174 (% vol.) pour la densimétrie électronique, cette dernière valeur est concordante avec la valeur estimée pour la densimétrie électronique figurant au Recueil des Méthodes Internationales d'Analyse de l'OIV.

2.7 Conclusion

Les résultats concernant la détermination du titre alcoométrique d'une large gamme de vins montrent que les mesures effectuées avec la balance hydrostatique sont concordantes avec celles effectuées par densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion et que les valeurs des paramètres de validation sont proches pour les deux méthodes.

Bibliographie

- F.V. n. 1096; Cabanis Marie-Thérèse., Cassanas Geneviève, Raffy Joëlle, Cabanis J.C., 1999: Validation de la mesure du titre alcoométrique volumique;
- Cabanis Marie-Thérèse., Cassanas Geneviève, Raffy Joëlle, Cabanis J.C., 1999: Intérêt de la balance hydrostatique “nouvelle génération” pour la détermination du titre alcoométrique des vins et des boissons spiritueuses. Rev. Franç. Œnol., 177/juillet-août, 28-31;
- Versini G., Larcher R., 2002: Comparison of wine density and alcoholic strength measurement by hydrostatic balance and electronic density-meter. Communication at the OIV Sub-commission of analytical methods, Paris, 13-15 March 2002
- OIV, Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, Office International de la Vigne et du Vin; Paris;
- 'International Protocol of Proficiency test for chemical analysis laboratories'. J. AOAC Intern., 1993, 74/4
- normes ISO 5725 et guides ISO 43;
- OIV Resolution OENO 6/1999;
- Horwitz W., 1995. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, Pure and Applied Chemistry, 67/2, 331-343.

Tableau 1: Balance Hydrostatique (HB)

	moyenne	n	aberrants	n1	r	sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	no. de	différence
1999/1	11,043	17	1	16	0,0571	0,0204	0,1846	0,1004	0,1579	0,0564	0,5107	0,18	2	0,1080
1999/2	11,247	14	1	13	0,0584	0,0208	0,1854	0,1011	0,1803	0,0644	0,5727	0,21	2	0,1241
1999/3	11,946	16	0	16	0,0405	0,0145	0,1211	0,0666	0,1593	0,0569	0,4764	0,17	2	0,1108
1999/4	7,653	17	1	16	0,0502	0,0179	0,2344	0,1206	0,1537	0,0549	0,7172	0,24	2	0,1057
1999/5	11,188	17	0	17	0,0871	0,0311	0,2780	0,1515	0,2701	0,0965	0,8622	0,31	2	0,1860
1999/6	11,276	19	0	19	0,0846	0,0302	0,2680	0,1462	0,2957	0,1056	0,9365	0,34	2	0,2047
1999/7	8,018	17	0	17	0,0890	0,0318	0,3964	0,2054	0,2573	0,0919	1,1462	0,39	2	0,1764
1999/9	11,226	17	0	17	0,0580	0,0207	0,1846	0,1423	0,2796	0,0999	0,8896	0,45	2	0,1956
1999/10	11,026	17	0	17	0,0606	0,0216	0,1961	0,1066	0,2651	0,0947	0,8588	0,31	2	0,1850
1999/11	7,701	16	1	15	0,0643	0,0229	0,2980	0,1535	0,2330	0,0832	1,0805	0,37	2	0,1616
1999/12	10,987	17	2	15	0,0655	0,0234	0,2128	0,1156	0,1258	0,0449	0,4089	0,15	2	0,0827
2000/1	11,313	16	0	16	0,0986	0,0352	0,3113	0,1699	0,2577	0,0920	0,8135	0,29	2	0,1754
2000/2	11,232	17	0	17	0,0859	0,0307	0,2731	0,1489	0,2535	0,0905	0,8060	0,29	2	0,1740
2000/3	0,679	10	0	10	0,0680	0,0243	3,5773	1,2783	0,6529	0,2332	34,3395	8,10	2	0,4604
2000/4	11,223	18	0	18	0,0709	0,0253	0,2257	0,1230	0,2184	0,0780	0,6951	0,25	2	0,1503
2000/5	7,439	19	1	18	0,0630	0,0225	0,3023	0,1549	0,1522	0,0544	0,7307	0,25	2	0,1029
2000/6	11,181	19	0	19	0,0536	0,0191	0,1710	0,0932	0,2783	0,0994	0,8890	0,32	2	0,1950
2000/7	10,858	16	0	16	0,0526	0,0188	0,1731	0,0939	0,1827	0,0653	0,6011	0,22	2	0,1265
2000/9	12,031	17	1	16	0,0602	0,0215	0,1787	0,0985	0,2447	0,0874	0,7263	0,26	2	0,1704
2000/10	11,374	18	0	18	0,0814	0,0291	0,2555	0,1395	0,2701	0,0965	0,8482	0,31	2	0,1866
2000/11	7,644	18	0	18	0,0827	0,0295	0,3863	0,1988	0,2289	0,0817	1,0694	0,36	2	0,1565
2000/12	11,314	19	1	18	0,0775	0,0277	0,2447	0,1336	0,2421	0,0864	0,7641	0,28	2	0,1667
2001/1	11,415	19	0	19	0,0950	0,0339	0,2971	0,1623	0,2410	0,0861	0,7539	0,27	2	0,1636
2001/2	11,347	19	0	19	0,0792	0,0283	0,2493	0,1361	0,1944	0,0694	0,6119	0,22	2	0,1316
2001/3	11,818	16	0	16	0,0659	0,0235	0,1990	0,1093	0,2636	0,0941	0,7965	0,29	2	0,1834
2001/4	11,331	17	0	17	0,1067	0,0381	0,3364	0,1836	0,1895	0,0677	0,5971	0,22	2	0,1229
2001/5	8,063	19	1	18	0,0782	0,0279	0,3465	0,1797	0,1906	0,0681	0,8442	0,29	2	0,1290

Tableau 2: Densimétrie électronique (ED)

	AVG n1	n	aberrants	n1	r	sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	no. de	différence
D1999/1	11,019	18	1	17	0,0677	0,0242	0,2196	0,1193	0,1996	0,0713	0,6470	0,23	2	0,1370
D1999/2	11,245	19	2	17	0,0448	0,0160	0,1423	0,0776	0,1311	0,0468	0,4165	0,15	2	0,0900
D1999/3	11,967	21	0	21	0,0701	0,0250	0,2091	0,1151	0,1552	0,0554	0,4631	0,17	2	0,1040
D1999/4	7,643	19	1	18	0,0610	0,0218	0,2852	0,1467	0,1340	0,0479	0,6262	0,21	2	0,0897
D1999/5	11,188	21	3	18	0,0260	0,0093	0,0829	0,0452	0,2047	0,0731	0,6536	0,24	2	0,1442
D1999/6	11,303	21	0	21	0,0652	0,0233	0,2061	0,1125	0,1466	0,0523	0,4631	0,17	2	0,0984
D1999/7	8,026	21	0	21	0,0884	0,0316	0,3935	0,2039	0,1708	0,0610	0,7600	0,26	2	0,1124
D1999/9	11,225	17	0	17	0,0372	0,0133	0,1183	0,0645	0,1686	0,0602	0,5366	0,19	2	0,1178
D1999/10	11,011	19	0	19	0,0915	0,0327	0,2969	0,1613	0,1723	0,0615	0,5588	0,20	2	0,1129
D1999/11	7,648	21	1	20	0,0615	0,0220	0,2872	0,1478	0,1538	0,0549	0,7183	0,24	2	0,1043
D1999/12	10,999	16	1	15	0,0428	0,0153	0,1389	0,0755	0,2015	0,0720	0,6541	0,23	2	0,1408
D2000/1	11,248	22	1	21	0,0697	0,0249	0,2212	0,1206	0,1422	0,0508	0,4516	0,16	2	0,0944
D2000/2	11,240	19	3	16	0,0448	0,0160	0,1424	0,0776	0,1619	0,0578	0,5145	0,19	2	0,1123
D2000/3	0,526	12	1	11	0,0327	0,0117	2,2185	0,7630	0,9344	0,3337	63,4009	14,39	2	0,6605
D2000/4	11,225	19	1	18	0,0476	0,0170	0,1514	0,0825	0,1350	0,0482	0,4295	0,15	2	0,0924
D2000/5	7,423	21	0	21	0,0628	0,0224	0,3019	0,1547	0,2635	0,0941	1,2677	0,43	2	0,1836
D2000/6	11,175	23	2	21	0,0606	0,0217	0,1938	0,1056	0,1697	0,0606	0,5424	0,20	2	0,1161
D2000/7	10,845	21	5	16	0,0440	0,0157	0,1449	0,0786	0,1447	0,0517	0,4766	0,17	2	0,0999
D2000/9	11,983	22	1	21	0,0841	0,0300	0,2507	0,1380	0,2410	0,0861	0,7183	0,26	2	0,1651
D2000/10	11,356	22	1	21	0,0635	0,0227	0,1997	0,1090	0,1865	0,0666	0,5866	0,21	2	0,1280
D2000/11	7,601	27	0	27	0,0521	0,0186	0,2448	0,1258	0,1685	0,0602	0,7916	0,27	2	0,1162
D2000/12	11,322	25	1	24	0,0476	0,0170	0,1503	0,0820	0,1594	0,0569	0,5028	0,18	2	0,1102
D2001/1	11,427	29	0	29	0,0706	0,0252	0,2207	0,1206	0,1526	0,0545	0,4771	0,17	2	0,1020
D2001/2	11,320	29	1	28	0,0675	0,0241	0,2128	0,1161	0,1570	0,0561	0,4952	0,18	2	0,1057
D2001/3	11,826	34	1	33	0,0489	0,0175	0,1476	0,0811	0,1762	0,0629	0,5322	0,19	2	0,1222
D2001/4	11,339	31	2	29	0,0639	0,0228	0,2012	0,1099	0,1520	0,0543	0,4788	0,17	2	0,1026
D2001/5	8,058	28	0	28	0,0473	0,0169	0,2098	0,1088	0,2025	0,0723	0,8976	0,31	2	0,1412

MA-F-AS312-01-TALVOL

Tableau 3 : Comparaison des résultats entre la balance hydrostatique (BH) et la densimétrie électronique (DE)

	Moyenne (BH)	n	Valeurs	n1		Moyenne (DE)	n	Valeurs	n1	Δ TAV(BH-DE)	
1999/1	11,043	17	1	16	D1999/1	11,019	18	1	17	0,024	
1999/2	11,247	14	1	13	D1999/2	11,245	19	2	17	0,002	
1999/3	11,946	16	0	16	D1999/3	11,967	21	0	21	-0,021	
1999/4	7,653	17	1	16	D1999/4	7,643	19	1	18	0,010	
1999/5	11,188	17	0	17	D1999/5	11,188	21	3	18	0,000	
1999/6	11,276	19	0	19	D1999/6	11,303	21	0	21	-0,028	
1999/7	8,018	17	0	17	D1999/7	8,026	21	0	21	-0,008	
1999/9	11,226	17	0	17	D1999/9	11,225	17	0	17	0,002	
1999/10	11,026	17	0	17	D1999/10	11,011	19	0	19	0,015	
1999/11	7,701	16	1	15	D1999/11	7,648	21	1	20	0,052	
1999/12	10,987	17	2	15	D1999/12	10,999	16	1	15	-0,013	
2000/1	11,313	16	0	16	D2000/1	11,248	22	1	21	0,065	
2000/2	11,232	17	0	17	D2000/2	11,240	19	3	16	-0,008	
2000/3	0,679	10	0	10	D2000/3	0,526	12	1	11	0,153	
2000/4	11,223	18	0	18	D2000/4	11,225	19	1	18	-0,002	
2000/5	7,439	19	1	18	D2000/5	7,423	21	0	21	0,016	
2000/6	11,181	19	0	19	D2000/6	11,175	23	2	21	0,006	
2000/7	10,858	16	0	16	D2000/7	10,845	21	5	16	0,013	
2000/9	12,031	17	1	16	D2000/9	11,983	22	1	21	0,049	
2000/10	11,374	18	0	18	D2000/10	11,356	22	1	21	0,018	
2000/11	7,644	18	0	18	D2000/11	7,601	27	0	27	0,043	
2000/12	11,314	19	1	18	D2000/12	11,322	25	1	24	-0,008	
2001/1	11,415	19	0	19	D2001/1	11,427	29	0	29	-0,012	
2001/2	11,347	19	0	19	D2001/2	11,320	29	1	28	0,027	
2001/3	11,818	16	0	16	D2001/3	11,826	34	1	33	-0,008	
2001/4	11,331	17	0	17	D2001/4	11,339	31	2	29	-0,008	
2001/5	8,063	19	1	18	D2001/5	8,058	28	0	28	0,004	
										Différence générale / Δ TAV (BH-DE)	0,014
										Ecart type/différence	0,036
										* Essai 2000/3 n'est pas pris en compte	

Tableau 4: Paramètres de fidélité

MOYENNE	Balance hydrostatique	Densimétrie électronique
n1	441	557
variance relative de répétabilité	0,309	0,267
r	0,074	0,061
sr	0,026	0,022
variance relative de reproductibilité	2,948	2,150
R	0,229	0,174
sR	0,082	0,062

**5. DETERMINATION DU TITRE ALCOOMETRIQUE DU DISTILLAT
PAR AREOMETRIE OU REFRACTOMETRIE
(Méthode de type IV)**

4.1. Aréométrie

5.1.1. *Appareillage*

- Alcoomètre

L'alcoomètre doit répondre aux spécifications pour les appareils de la classe I ou de la classe II définies dans la Recommandation Internationale no 44 «*Alcoomètres et aréomètres pour l'alcool*» de l'O.I.M.L. (Organisation Internationale de Métrologie Légale).

- Thermomètre gradué en degrés et $1/10^{\circ}$ de degré de 0 à 40 °C, vérifié au vingtième de degré près.
- Éprouvette cylindrique de 36 mm de diamètre et 320 mm de hauteur tenue verticalement grâce à un support à vis calantes.

5.1.2. *Mode opératoire*

Verser le distillat dans l'éprouvette cylindrique. Tenir cette éprouvette bien verticalement. Introduire le thermomètre et l'alcoomètre. La lecture du thermomètre est faite 1 min. après avoir agité pour réaliser l'égalité de température de l'éprouvette, du thermomètre, de l'alcoomètre et du distillat. Retirer le thermomètre et lire le titre alcoométrique apparent après 1 min. de repos. Faire au moins trois lectures en s'aidant d'une loupe. Le titre apparent mesuré à t °C sera corrigé de l'action de la température à l'aide de la table II.

Il faut que la température du liquide soit peu différente de la température ambiante (5 °C de différence au plus).

4.2. Réfractométrie

5.2.1. *Appareillage*

– Réfractomètre permettant la mesure des indices de réfraction compris entre 1,330 et 1,346.

Selon le type d'appareil, les mesures seront faites:

- soit à 20 °C, grâce à un dispositif approprié,
- soit à la température ambiante t °C, mesurée au moyen d'un thermomètre permettant de la déterminer à 0,05 °C près au moins. Une table de correction de température sera fournie avec l'appareil..

5.2.2. Mode opératoire

La mesure de l'indice de réfraction est effectuée sur le distillat de vin (3.3) en suivant le mode opératoire prescrit pour le type d'appareil utilisé.

5.2.3. Expression des résultats

L'indice de réfraction à 20 °C est reporté dans la table IV pour obtenir le titre alcoométrique.

Remarque: La table IV donne la correspondance entre les indices de réfraction des mélanges hydroalcooliques purs et des distillats de vin. Dans le cas des distillats de vin, elle tient compte des impuretés du distillat (alcools supérieurs principalement). La présence de méthanol se traduit par une diminution de l'indice de réfraction et donc du titre alcoométrique.

Nota : Pour exprimer le titre alcoométrique à partir de la masse volumique du distillat, utiliser les tables pratiques I, II, III données dans l'annexe II à ce chapitre. Elles ont été calculées à partir de la table alcoométrique internationale publiée en 1972 par l'Organisation internationale de métrologie légale dans sa Recommandation n° 22 et adoptée par l'OIV (Assemblée générale de 1974). Dans l'Annexe II est donnée l'équation générale reliant le titre alcoométrique volumique et la masse volumique des mélanges hydroalcooliques en fonction de la température.

BIBLIOGRAPHIE

– *Distillation:*

- HANAK A.. *Chem. Zgt.*. 1932. **56**. 984.
COLOMBIER L., CLAIR E.. *Ann. Fals. Fraudes.* 1936. **29**. 411.
POZZI-ESCOT E.. *Ind. Agr. Aliment.*. 1949. **66**. 119.
JAULMES P.. *Analyse des vins.* 1951. 49.
SCHNEYDER J.. *Mitt. Klosterneuburg, Rebe und Wein.* 1960. **10**. 228.
SCHNEYDER J., KASCHNITZ L.. *Mitt. Klosterneuburg, Rebe und Wein.* 1965. **15**. 132.

– *Pycnométrie:*

- JAULMES P.. *Analyse des vins.* 1951. 67.
JAULMES P.. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier.* 1952. **12**. 154.
JAULMES P.. *Ann. Fals. Fraudes.* 1953. **46**. 84; 1954. **47**. 191.
JAULMES P., CORDIER Mlle S.. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier.* 1956. **16**. 115; 1960. **20**. 137.
JAULMES P., BRUN Mme S.. *Ann. Fals. Exp. Chim.*. 1963. **56**. 129.

– *Réfractométrie:*

- NEWTON W., MURNO F.L.. *Can. Chem. Met.*. 1933. **17**. 119.
SAMPIETRO C., INVERNIZZI I.. *Ann. Chem. Appl.*. 1940. **30**. 381.
FISCHL P.F.. *Food Manufacture.* 1942. **17**. 198.
JAULMES P., LAVAL J.P.. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier.* 1961. **21**. 21.
JAULMES P., BRUN Mme S., LAVAL J.P.. *Ann. Fals. Exp. Chim.*. 1965. **58**. 304;
Bull. Union National. OEnologues. 1964. **13**. 17.

– *Tables alcoométriques:*

- TABLES ALCOOMETRIQUES FRANCAISES. *J.O. Républ. française*. 30 déc. 1884. 6895.
WINDISCH K., d'après LUNGE G., BERL E.. *Chem. techn. Untersuchungs Methoden.*
Berlin 1924. 7e éd.. 1893. **4**. 274.
OSBORNE N.S., MCKELVY E.C., BEARCE H.W.. *Bull. Bur. of Standards.* Washington.
1913. **9**. 328.
FROST A.V.. *Recherches dans le domaine du poids spécifique des mélanges d'alcool
éthylque et d'eau.* Institut des réactifs chimiques purs. U.R.S.S.. 1930. No. 9. d'après
J. SPAEPEN.
HEIDE C. von der. MANDLEN H.. *Z. Untersuch. Lebensm.*. 1933. **66**. 338.
KOYALOVICS B.. 8e Conférence générale des Poids et Mesures. Moscou 1933.
FERTMANN G.I.. *Tables de renseignements pour le contrôle de la fabrication de l'alcool.*
Pischerpoomizdat. Moscou 1940.
REICHARD O.. *Neue Alkohol u. Extract. Tafel 20°/20°.* Verlag Hans Carl. Nürnberg 1951.
JAULMES P., MARIGNAN R.. *Ann. Fals. Fraudes.* 1953. **46**. 208 et 336.
SPAEPEN J.. *Rev. de Métrologie.* 1955. 411; *Bull. belge de Métrologie.* 1955. numéro d'avril.
JAULMES P., BRUN Mme S.. *Ann. Fals. Exp. Chim.*. 1963. **46**. 143; 1965. **48**. 58;
1966. **49**. 35; 1967. **50**. 101-147; *Trav. Soc. Pharm. Montpellier.* 1966. **26**. 37 et 111.
JAULMES P., MARIGNAN R.. *Bull. O.I.V.*. 1953. **274**. 28. 32.
JAULMES P., BRUN Mme S., TEP Y.. *Trav. Soc. Pharm.*. 1968. **28**. 111.
KAWASAKI T., MINOVA Z., INAMATSU T.. *A new alcohometric specific gravity table.*
National Research of Metrology. Tokio 1967.
TEP Y.. *Etude d'une table alcoométrique internationale.* Thèse Doc. Pharm. Montpellier.
1968.

TABLE I

Titre alcoométrique international à 20°C

Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Pycnomètre en pyrex

Masses volumiques à t°C, corrigés de la poussée de l'air

t°	Titre alcoométrique volumique en %																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11												
0°	999 64	1 50	998 14	1 44	996 7	1 40	995 30	1 35	993 95	1 30	992 65	1 24	991 41	1 19	990 22	1 14	989 08	1 10	987 98	1 05	986 93	1 00	985 93	0 95
1°	-0.07	1 51	-0.06	1 44	-0.06	1 40	-0.06	1 35	-0.06	1 30	-0.06	1 24	-0.06	1 20	-0.05	1 15	-0.04	1 11	-0.03	1 06	-0.02	1 01	-0.01	0 97
2°	-0.05	1 51	-0.05	1 45	-0.04	1 40	-0.04	1 35	-0.04	1 30	-0.04	1 25	-0.03	1 20	-0.03	1 16	-0.02	1 11	-0.02	1 07	-0.01	1 02	0 00	0 98
3°	-0.03	1 51	-0.03	1 45	4 03	1 41	-0.02	1 35	-0.02	1 30	-0.02	1 25	-0.02	1 21	-0.01	1 16	0 00	1 12	0 00	1 07	0 01	1 03	0 02	1 00
4°	-0.02	1 51	-0.02	1 46	-0.01	1 40	-0.02	1 36	-0.01	1 30	-0.02	1 26	0 00	1 21	0 00	1 17	0 00	1 13	0 02	1 09	0 04	1 04	0 05	1 00
5°	0 00	1 51	0 00	1 46	0 00	1 40	0 00	1 37	0 01	1 31	0 02	1 26	0 02	1 21	0 02	1 17	0 02	1 14	0 03	1 10	0 04	1 05	0 05	1 01
6°	0.01	1 51	0.01	1 46	0.01	1 41	0.02	1 36	0.01	1 32	0.02	1 27	0.03	1 22	0.04	1 18	0.05	1 14	0.05	1 10	0.05	1 06	0.06	1 03
7°	0.03	1 51	0.03	1 46	0.03	1 41	0.03	1 37	0.04	1 32	0.04	1 27	0.04	1 23	0.05	1 19	0.06	1 15	0.07	1 11	0.08	1 07	0.09	1 03
8°	0.05	1 50	0.04	1 46	0.04	1 42	0.05	1 37	0.05	1 32	0.05	1 27	0.05	1 24	0.06	1 19	0.06	1 16	0.07	1 12	0.08	1 08	0.09	1 05
9°	0.05	1 51	0.06	1 46	0.06	1 42	0.06	1 37	0.06	1 32	0.06	1 28	0.07	1 24	0.07	1 20	0.08	1 17	0.09	1 13	0.10	1 09	0.11	1 06
10°	0.07	1 51	0.07	1 46	0.07	1 42	0.07	1 37	0.07	1 32	0.08	1 28	0.08	1 24	0.09	1 20	0.09	1 17	0.10	1 13	0.11	1 09	0.12	1 06
11°	0.09	1 51	0.09	1 46	0.09	1 41	0.08	1 38	0.09	1 33	0.09	1 29	0.10	1 25	0.10	1 21	0.11	1 18	0.11	1 15	0.12	1 11	0.13	1 07
12°	0.10	1 50	0.09	1 46	0.09	1 42	0.10	1 38	0.10	1 34	0.11	1 29	0.11	1 25	0.11	1 22	0.12	1 19	0.13	1 15	0.13	1 12	0.14	1 09
13°	0.11	1 50	0.11	1 46	0.11	1 42	0.11	1 38	0.11	1 34	0.11	1 30	0.12	1 25	0.12	1 23	0.13	1 20	0.14	1 16	0.15	1 13	0.16	1 09
14°	0.12	1 50	0.12	1 46	0.13	1 43	0.13	1 38	0.13	1 34	0.13	1 30	0.14	1 26	0.14	1 23	0.15	1 21	0.16	1 17	0.16	1 13	0.17	1 11
15°	0.14	1 51	0.14	1 46	0.15	1 42	0.15	1 38	0.15	1 35	0.16	1 30	0.16	1 27	0.17	1 24	0.17	1 21	0.18	1 18	0.19	1 14	0.20	1 12
16°	0.16	1 50	0.16	1 46	0.16	1 43	0.16	1 38	0.17	1 35	0.17	1 31	0.18	1 27	0.18	1 25	0.19	1 21	0.19	1 19	0.20	1 15	0.20	1 13
17°	0.17	1 50	0.17	1 46	0.17	1 43	0.17	1 38	0.17	1 36	0.18	1 31	0.18	1 28	0.19	1 25	0.20	1 22	0.21	1 19	0.22	1 16	0.22	1 14
18°	0.18	1 50	0.18	1 46	0.19	1 42	0.19	1 39	0.19	1 36	0.19	1 32	0.20	1 28	0.20	1 26	0.21	1 23	0.21	1 20	0.21	1 17	0.22	1 14
19°	0.19	1 50	0.19	1 46	0.19	1 43	0.19	1 39	0.19	1 36	0.20	1 32	0.20	1 29	0.21	1 26	0.22	1 23	0.22	1 21	0.23	1 18	0.24	1 16
20°	0.20	1 50	0.20	1 46	0.20	1 43	0.20	1 39	0.20	1 36	0.20	1 33	0.20	1 29	0.21	1 27	0.22	1 24	0.23	1 22	0.24	1 19	0.24	1 16

MA-F-AS312-02-TALVOL

36

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

TABLE I (suite)

Titre alcoométrique international à 20°C

Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Pycnomètre en pyrex

Masses volumiques à t°C, corrigés de la poussée de l'air

MA-F-AS312-02-TALVOL

t°	Titre alcoométrique volumique en %																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11												
20°	998,2	1,5	996,7	1,4	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16
21°	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24
22°	997,7	1,5	996,2	1,4	994,83	1,43	993,40	1,40	992,00	1,37	990,63	1,33	989,30	1,31	987,99	1,28	986,71	1,25	985,46	1,23	984,23	1,21	983,02	1,18
23°	997,5	1,5	996,0	1,4	994,60	1,43	993,17	1,40	991,77	1,37	990,40	1,34	989,06	1,31	987,75	1,28	986,47	1,26	985,21	1,24	983,97	1,20	982,77	1,20
24°	997,3	1,4	995,9	1,4	994,37	1,43	992,94	1,41	991,53	1,37	990,16	1,34	988,82	1,32	987,50	1,29	986,21	1,26	984,95	1,25	983,70	1,22	982,48	1,20
25°	997,0	1,5	995,5	1,4	994,13	1,44	992,69	1,40	991,29	1,38	989,91	1,35	988,56	1,32	987,24	1,29	985,95	1,27		1,26	983,42	1,22	982,20	1,21
26°	0,25	0,25	0,25	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
27°	996,8	1,5	995,3	1,4	993,87	1,43	992,44	1,41	991,03	1,38	989,65	1,35	988,30	1,32	986,98	1,31	985,67	1,27	984,40	1,26	983,14	1,24	981,90	1,22
28°	996,5	1,5	995,0	1,4	993,54	1,44	992,11	1,41	990,70	1,38	989,31	1,35	987,96	1,33	986,64	1,31	985,35	1,28	984,09	1,27	982,84	1,24	981,60	1,23
29°	996,3	1,5	994,8	1,4	993,34	1,44	991,90	1,42	990,48	1,38	989,10	1,36	987,74	1,33	986,41	1,31	985,10	1,29	983,81	1,28	982,53	1,25	981,28	1,23
30°	996,0	1,5	994,5	1,4	993,06	1,45	991,61	1,41	990,20	1,39	988,81	1,36	987,45	1,34	986,11	1,32	984,79	1,29	983,50	1,28	982,22	1,26	980,96	1,24
31°	995,7	1,5	994,2	1,4	992,77	1,45	991,32	1,42	989,90	1,39	988,51	1,37	987,14	1,34	985,80	1,32	984,48	1,30	983,18	1,28	981,90	1,27	980,63	1,25
32°	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
33°	995,4	1,5	993,9	1,4	992,47	1,45	991,02	1,43	989,59	1,39	988,20	1,37	986,83	1,34	985,49	1,33	984,16	1,31	982,85	1,29	981,56	1,27	980,29	1,26
34°	995,1	1,5	993,6	1,4	992,16	1,46	990,70	1,42	989,28	1,40	987,88	1,37	986,51	1,35	985,16	1,33	983,83	1,32	982,51	1,30	981,21	1,28	979,93	1,26
35°	994,9	1,5	993,3	1,4	991,84	1,46	990,38	1,42	988,96	1,41	987,55	1,37	986,18	1,36	984,82	1,34	983,48	1,32	982,16	1,30	980,86	1,28	979,58	1,28
36°	994,5	1,5	992,9	1,4	991,51	1,46	990,05	1,44	988,61	1,40	987,21	1,38	985,83	1,36	984,47	1,33	983,14	1,33	981,81	1,31	980,50	1,29	979,21	1,28
37°	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
38°	994,1	1,5	992,6	1,4	991,17	1,47	989,70	1,43	988,27	1,41	986,86	1,38	985,48	1,36	984,12	1,34	982,78	1,33	981,45	1,31	980,14	1,30	978,84	1,29
39°	0,34	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
40°	993,8	1,5	992,3	1,4	990,82	1,47	989,35	1,43	987,92	1,41	986,51	1,38	985,13	1,37	983,76	1,34	982,42	1,34	981,08	1,31	979,77	1,31	978,46	1,29
41°	993,4	1,5	991,9	1,5	990,46	1,46	989,00	1,44	987,56	1,41	986,15	1,39	984,76	1,37	983,39	1,35	982,04	1,33	980,71	1,33	979,38	1,31	978,07	1,30
42°	993,1	1,5	991,6	1,5	990,10	1,47	988,63	1,44	987,19	1,41	985,78	1,39	984,39	1,37	983,02	1,36	981,66	1,34	980,32	1,32	978,99	1,32	977,68	1,31
43°	0,36	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
44°	992,7	1,5	991,2	1,5	989,73	1,47	988,26	1,45	986,81	1,41	985,40	1,39	994,01	1,38	982,63	1,35	981,28	1,34	979,93	1,33	978,60	1,32	977,28	1,32
45°	992,4	1,5	990,8	1,5	989,35	1,48	987,87	1,44	986,43	1,42	985,01	1,39	983,62	1,38	982,24	1,36	980,88	1,34	979,54	1,34	978,20	1,33	976,87	1,32

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

TABLE I (suite)
Titre alcoométrique international à 20°C
Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Pycnomètre en pyrex
Masses volumiques à t°C, corrigés de la poussée de l'air

t°	Titre alcoométrique volumique en %																							
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
0	986 93	1 00	985 93	0 95	984 98	0 92	984 0	0 88	983 1	0 84	982 34	0 80	981 54	0 78	980 76	0 75	980 01	0 73	979 28	0 72	978 56	0 70	977 86	0 70
1	-0.02		-0.01		0.01		0.01		0.03		0.04		0.07		0.08		0.10		0.12		0.14		0.17	
2	986 95	1 01	995 94	0 97	984 97	0 92	984 0	0 90	983 1	0 85	982 30	0 83	981 47	0 79	980 68	0 77	979 91	0 75	979 16	0 74	978 42	0 73	977 69	0 72
3	-0.01		0.00		0.01		0.03		0.04		0.07		0.08		0.10		0.12		0.14		0.16		0.18	
4	986 96	1 02	985 94	0 98	984 96	0 94	984 0	0 91	983 1	0 88	982 23	0 84	981 39	0 81	980 58	0 79	979 79	0 77	979 02	0 76	978 26	0 75	977 51	0 74
5	0.01		0.02		0.04		0.05		0.06		0.07		0.09		0.11		0.13		0.15		0.17		0.19	
6	986 95	1 03	985 92	1 00	984 92	0 95	983 9	0 92	983 0	0 89	982 16	0 86	981 30	0 83	980 47	0 81	979 66	0 79	978 87	0 78	978 09	0 77	977 32	0 77
7	0.03		0.04		0.04		0.06		0.07		0.09		0.10		0.12		0.14		0.16		0.18		0.20	
8	986 92	1 04	985 88	1 0	984 88	0 97	983 9	0 93	982 9	0 91	982 07	0 87	981 20	0 85	980 35	0 83	979 52	0 81	978 71	0 80	977 91	0 79	977 12	0 79
9	0.04		0.05		0.06		0.07		0.09		0.10		0.12		0.14		0.15		0.17		0.19		0.22	
10	986 88	1 05	985 83	1 01	984 82	0 98	983 8	0 95	982 8	0 92	981 97	0 89	981 08	0 87	980 21	0 84	979 37	0 83	978 54	0 82	977 72	0 82	976 90	0 80
11	0.05		0.06		0.08		0.09		0.10		0.12		0.13		0.14		0.17		0.19		0.21		0.22	
12	986 93	1 06	985 77	1 03	984 74	0 99	983 7	0 96	982 7	0 94	981 85	0 90	980 95	0 88	980 07	0 87	979 20	0 85	978 35	0 84	977 51	0 83	976 68	0 83
13	0.08		0.09		0.09		0.10		0.12		0.13		0.15		0.16		0.18		0.19		0.21		0.23	
14	986 75	1 07	995 68	1 03	984 65	1 00	983 6	0 98	982 6	0 95	981 72	0 92	980 80	0 89	979 91	0 89	979 02	0 86	978 16	0 86	977 30	0 85	976 45	0 85
15	0.08		0.09		0.11		0.13		0.13		0.14		0.15		0.18		0.19		0.21		0.23		0.25	
16	986 67	1 08	985 59	1 05	984 54	1 02	983 5	0 98	982 5	0 96	981 58	0 93	980 65	0 92	979 73	0 90	978 83	0 88	977 95	0 88	977 07	0 87	976 20	0 87
17	0.10		0.11		0.12		0.12		0.14		0.16		0.18		0.19		0.21		0.22		0.24		0.26	
18	986 57	1 09	985 48	1 06	984 47	1 02	983 4	1 00	982 4	0 98	981 42	0 95	980 47	0 93	979 54	0 92	978 62	0 89	977 73	0 90	976 83	0 89	975 94	0 89
19	0.11		0.12		0.12		0.14		0.16		0.17		0.18		0.20		0.23		0.24		0.26		0.28	
20	986 46	1 10	985 36	1 06	984 30	1 04	983 2	1 02	982 2	0 99	981 25	0 96	980 29	0 95	979 34	0 92	978 42	0 92	977 50	0 91	976 59	0 91	975 68	0 91
21	0.12		0.13		0.14		0.16		0.16		0.17		0.19		0.20		0.23		0.25		0.27		0.29	
22	986 34	1 11	985 23	1 07	984 16	1 06	983 1	1 02	982 0	1 00	981 08	0 98	980 10	0 96	979 14	0 95	978 19	0 94	977 25	0 93	976 32	0 93	975 39	0 92
23	0.13		0.14		0.16		0.16		0.18		0.19		0.21		0.22		0.24		0.25		0.27		0.28	
24	986 21	1 12	985 09	1 09	984 00	1 06	982 9	1 04	981 9	1 01	980 89	1 00	979 89	0 97	978 92	0 97	977 95	0 95	977 00	0 95	976 05	0 94	975 11	0 95
25	0.15		0.16		0.16		0.18		0.19		0.20		0.21		0.23		0.24		0.26		0.28		0.30	
26	986 06	1 13	984 93	1 09	983 84	1 08	982 7	1 05	981 7	1 02	980 69	1 01	979 68	0 99	978 69	0 98	977 71	0 97	976 74	0 97	975 77	0 96	974 81	0 96
27	0.16		0.16		0.18		0.18		0.20		0.22		0.23		0.24		0.26		0.27		0.28		0.30	
28	985 90	1 13	994 77	1 11	983 66	1 08	982 5	1 07	981 5	1 04	980 47	1 02	979 45	1 00	978 45	1 00	977 45	0 98	976 47	0 98	975 49	0 98	974 51	0 98
29	0.17		0.18		0.19		0.20		0.21		0.22		0.24		0.25		0.26		0.28		0.30		0.32	
30	985 73	1 14	994 59	1 12	983 47	1 09	982 3	1 08	981 3	1 05	980 25	1 04	979 21	1 01	978 20	1 01	977 19	1 00	976 19	1 00	975 19	1 00	974 19	1 00
31	0.18		0.19		0.20		0.22		0.22		0.24		0.24		0.27		0.28		0.30		0.31		0.32	
32	985 55	1 15	984 40	1 13	983 27	1 11	982 1	1 08	981 0	1 07	980 01	1 04	978 97	1 04	977 93	1 02	976 91	1 02	975 89	1 01	974 88	1 01	973 87	1 02
33	0.19		0.20		0.21		0.22		0.23		0.24		0.26		0.27		0.29		0.30		0.32		0.33	
34	985 36	1 16	984 20	1 14	983 06	1 12	981 9	1 09	980 8	1 08	979 77	1 06	978 71	1 05	977 66	1 04	976 62	1 03	975 59	1 03	974 56	1 02	973 54	1 04
35	0.21		0.22		0.22		0.23		0.25		0.26		0.27		0.28		0.29		0.31		0.32		0.35	
36	985 15	1 17	983 76	1 14	982 84	1 13	981 7	1 11	980 6	1 09	979 51	1 07	978 44	1 06	977 38	1 05	976 33	1 05	975 28	1 04	974 24	1 05	973 19	1 05
37	0.21		0.22		0.24		0.24		0.25		0.26		0.28		0.29		0.31		0.32		0.34		0.35	
38	984 94	1 18	983 76	1 16	982 60	1 13	981 4	1 12	980 3	1 10	979 25	1 09	978 16	1 07	977 09	1 07	976 02	1 06	974 96	1 06	973 90	1 06	972 84	1 06
39	0.23		0.24		0.24		0.26		0.27		0.28		0.29		0.30		0.31		0.33		0.34		0.36	
40	984 71	1 19	983 52	1 16	982 36	1 15	981 2	1 13	980 0	1 11	978 97	1 10	977 87	1 08	976 79	1 08	975 71	1 08	974 63	1 07	973 56	1 08	972 48	1 08

MAF-AS312-02-TALVOL

38

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

TABLE I (suite)

Titre alcoométrique international à 20°C

Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Pycnomètre en pyrex

Masses volumiques à t°C, corrigés de la poussée de l'air

MA-F-AS312-02-TALVOL

		Titre alcoométrique volumique en %																																
t°	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40			
20°	984.7	983.5	982.3	981.2	980.0	978.8	977.7	976.7	975.7	974.6	973.5	972.4	971.3	970.2	969.1	968.0	966.9	965.8	964.7	963.6	962.5	961.4	960.3	959.2	958.1	957.0	955.9	954.8	953.7	952.6	951.5	950.4		
21°	994.4	983.2	982.0	980.8	979.6	978.4	977.2	976.0	974.8	973.6	972.4	971.2	970.0	968.8	967.6	966.4	965.2	964.0	962.8	961.6	960.4	959.2	958.0	956.8	955.6	954.4	953.2	952.0	950.8	949.6	948.4	947.2	946.0	
22°	984.2	983.0	981.8	980.6	979.4	978.2	977.0	975.8	974.6	973.4	972.2	971.0	969.8	968.6	967.4	966.2	965.0	963.8	962.6	961.4	960.2	959.0	957.8	956.6	955.4	954.2	953.0	951.8	950.6	949.4	948.2	947.0	945.8	
23°	983.9	982.7	981.5	980.3	979.1	977.9	976.7	975.5	974.3	973.1	971.9	970.7	969.5	968.3	967.1	965.9	964.7	963.5	962.3	961.1	959.9	958.7	957.5	956.3	955.1	953.9	952.7	951.5	950.3	949.1	947.9	946.7	945.5	
24°	983.7	982.4	981.2	980.0	978.8	977.6	976.4	975.2	974.0	972.8	971.6	970.4	969.2	968.0	966.8	965.6	964.4	963.2	962.0	960.8	959.6	958.4	957.2	956.0	954.8	953.6	952.4	951.2	950.0	948.8	947.6	946.4	945.2	
25°	983.4	982.2	981.0	979.8	978.6	977.4	976.2	975.0	973.8	972.6	971.4	970.2	969.0	967.8	966.6	965.4	964.2	963.0	961.8	960.6	959.4	958.2	957.0	955.8	954.6	953.4	952.2	951.0	949.8	948.6	947.4	946.2	945.0	
26°	983.1	981.9	980.7	979.5	978.3	977.1	975.9	974.7	973.5	972.3	971.1	969.9	968.7	967.5	966.3	965.1	963.9	962.7	961.5	960.3	959.1	957.9	956.7	955.5	954.3	953.1	951.9	950.7	949.5	948.3	947.1	945.9	944.7	
27°	982.8	981.6	980.4	979.2	978.0	976.8	975.6	974.4	973.2	972.0	970.8	969.6	968.4	967.2	966.0	964.8	963.6	962.4	961.2	960.0	958.8	957.6	956.4	955.2	954.0	952.8	951.6	950.4	949.2	948.0	946.8	945.6	944.4	
28°	982.5	981.3	980.1	978.9	977.7	976.5	975.3	974.1	972.9	971.7	970.5	969.3	968.1	966.9	965.7	964.5	963.3	962.1	960.9	959.7	958.5	957.3	956.1	954.9	953.7	952.5	951.3	950.1	948.9	947.7	946.5	945.3	944.1	
29°	982.2	981.0	979.8	978.6	977.4	976.2	975.0	973.8	972.6	971.4	970.2	969.0	967.8	966.6	965.4	964.2	963.0	961.8	960.6	959.4	958.2	957.0	955.8	954.6	953.4	952.2	951.0	949.8	948.6	947.4	946.2	945.0	943.8	
30°	981.9	980.7	979.5	978.3	977.1	975.9	974.7	973.5	972.3	971.1	969.9	968.7	967.5	966.3	965.1	963.9	962.7	961.5	960.3	959.1	957.9	956.7	955.5	954.3	953.1	951.9	950.7	949.5	948.3	947.1	945.9	944.7	943.5	
31°	981.5	980.3	979.1	977.9	976.7	975.5	974.3	973.1	971.9	970.7	969.5	968.3	967.1	965.9	964.7	963.5	962.3	961.1	959.9	958.7	957.5	956.3	955.1	953.9	952.7	951.5	950.3	949.1	947.9	946.7	945.5	944.3	943.1	941.9
32°	981.2	979.9	978.7	977.5	976.3	975.1	973.9	972.7	971.5	970.3	969.1	967.9	966.7	965.5	964.3	963.1	961.9	960.7	959.5	958.3	957.1	955.9	954.7	953.5	952.3	951.1	949.9	948.7	947.5	946.3	945.1	943.9	942.7	941.5
33°	980.8	979.5	978.3	977.1	975.9	974.7	973.5	972.3	971.1	969.9	968.7	967.5	966.3	965.1	963.9	962.7	961.5	960.3	959.1	957.9	956.7	955.5	954.3	953.1	951.9	950.7	949.5	948.3	947.1	945.9	944.7	943.5	942.3	941.1
34°	980.5	979.2	978.0	976.8	975.6	974.4	973.2	972.0	970.8	969.6	968.4	967.2	966.0	964.8	963.6	962.4	961.2	960.0	958.8	957.6	956.4	955.2	954.0	952.8	951.6	950.4	949.2	948.0	946.8	945.6	944.4	943.2	942.0	940.8
35°	980.1	978.9	977.7	976.5	975.3	974.1	972.9	971.7	970.5	969.3	968.1	966.9	965.7	964.5	963.3	962.1	960.9	959.7	958.5	957.3	956.1	954.9	953.7	952.5	951.3	950.1	948.9	947.7	946.5	945.3	944.1	942.9	941.7	940.5
36°	979.7	978.4	977.2	976.0	974.8	973.6	972.4	971.2	970.0	968.8	967.6	966.4	965.2	964.0	962.8	961.6	960.4	959.2	958.0	956.8	955.6	954.4	953.2	952.0	950.8	949.6	948.4	947.2	946.0	944.8	943.6	942.4	941.2	940.0
37°	978.3	978.0	976.7	975.4	974.1	972.8	971.5	970.2	968.9	967.6	966.3	965.0	963.7	962.4	961.1	959.8	958.5	957.2	955.9	954.6	953.3	952.0	950.7	949.4	948.1	946.8	945.5	944.2	942.9	941.6	940.3	939.0	937.7	936.4
38°	979.0	977.6	976.3	975.0	973.7	972.4	971.1	969.8	968.5	967.2	965.9	964.6	963.3	962.0	960.7	959.4	958.1	956.8	955.5	954.2	952.9	951.6	950.3	949.0	947.7	946.4	945.1	943.8	942.5	941.2	939.9	938.6	937.3	936.0
39°	978.6	977.2	975.9	974.6	973.3	972.0	970.7	969.4	968.1	966.8	965.5	964.2	962.9	961.6	960.3	959.0	957.7	956.4	955.1	953.8	952.5	951.2	949.9	948.6	947.3	946.0	944.7	943.4	942.1	940.8	939.5	938.2	936.9	935.6
40°	978.2	976.8	975.5	974.2	972.9	971.6	970.3	969.0	967.7	966.4	965.1	963.8	962.5	961.2	959.9	958.6	957.3	956.0	954.7	953.4	952.1	950.8	949.5	948.2	946.9	945.6	944.3	943.0	941.7	940.4	939.1	937.8	936.5	935.2

TABLE I (suite)

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

Titre alcoométrique international à 20°C
Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Pycnomètre en pyrex
 Masses volumiques à t°C, corrigés de la poussée de l'air

MA-F-AS312-02-TALVOL

t°	Titre alcoométrique volumique en %											
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
0	0.14	0.17	0.19	0.22	0.24	0.26	0.29	0.31	0.34	0.36	0.39	0.41
1	0.16	0.18	0.20	0.23	0.25	0.28	0.30	0.32	0.34	0.37	0.39	0.41
2	0.17	0.19	0.22	0.23	0.26	0.28	0.31	0.33	0.36	0.38	0.40	0.42
3	0.18	0.20	0.22	0.25	0.27	0.29	0.31	0.34	0.36	0.38	0.40	0.43
4	0.19	0.22	0.23	0.26	0.27	0.30	0.33	0.35	0.37	0.39	0.42	0.44
5	0.21	0.22	0.25	0.26	0.29	0.31	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44
6	0.21	0.23	0.25	0.28	0.30	0.32	0.34	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44
7	0.23	0.25	0.27	0.28	0.31	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.43	0.46
8	0.24	0.26	0.28	0.30	0.31	0.34	0.35	0.38	0.39	0.41	0.44	0.46
9	0.24	0.26	0.28	0.30	0.33	0.34	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.46
10	0.27	0.29	0.30	0.33	0.34	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.46	0.47
11	0.27	0.28	0.31	0.32	0.34	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.45	0.48
12	0.28	0.30	0.31	0.33	0.35	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.47	0.49
13	0.28	0.30	0.32	0.34	0.36	0.38	0.40	0.41	0.43	0.45	0.47	0.49
14	0.30	0.32	0.34	0.35	0.37	0.39	0.40	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49
15	0.31	0.32	0.34	0.36	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.46	0.48	0.51
16	0.32	0.33	0.35	0.37	0.39	0.40	0.42	0.44	0.45	0.48	0.50	0.50
17	0.32	0.35	0.36	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.47	0.48	0.49	0.52
18	0.34	0.35	0.36	0.39	0.40	0.42	0.43	0.45	0.47	0.48	0.50	0.52
19	0.34	0.36	0.38	0.39	0.41	0.42	0.45	0.46	0.47	0.49	0.51	0.52
20	0.34	0.36	0.38	0.39	0.41	0.42	0.45	0.46	0.47	0.49	0.51	0.52

40

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
 Titre alcoométrique volumique

TABLE I (suite)

Titre alcoométrique international à 20°C

Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Pycnomètre en pyrex

Masses volumiques à t°C, corrigés de la poussée de l'air

		Titre alcoométrique volumique en %																						
t°	20	21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31		
20	973.5	1.0	972.4	1.0	971.4	1.0	970.3	1.1	969.2	1.1	968.1	1.1	966.9	1.1	965.8	1.1	964.64	1.2	963.4	1.2	962.2	1.2	960.9	1.29
	0.36		0.37		0.38		0.40		0.42		0.44		0.45		0.46		0.49		0.50		0.52		0.53	
21	973.2	1.0	972.1	1.0	971.0	1.1	969.9	1.1	968.7	1.1	967.6	1.1	966.5	1.1	965.3	1.2	964.15	1.2	962.9	1.2	961.6	1.2	960.4	1.31
	0.36		0.37		0.40		0.41		0.42		0.44		0.45		0.48		0.49		0.51		0.52		0.54	
22	972.8	1.1	971.7	1.1	970.6	1.1	969.5	1.1	968.3	1.1	967.2	1.1	966.0	1.1	964.8	1.2	963.66	1.2	962.4	1.2	961.1	1.2	959.8	1.32
	0.37		0.39		0.40		0.42		0.43		0.45		0.47		0.48		0.49		0.51		0.53		0.55	
23	972.4	1.1	971.3	1.1	970.2	1.1	969.0	1.1	967.9	1.1	966.7	1.1	965.5	1.2	964.3	1.2	963.17	1.2	961.9	1.2	960.6	1.3	959.3	1.33
	0.38		0.40		0.41		0.42		0.44		0.45		0.47		0.49		0.51		0.52		0.54		0.55	
24	972.0	1.1	970.9	1.1	969.8	1.1	968.6	1.1	967.5	1.1	966.3	1.2	965.1	1.2	963.9	1.2	962.66	1.2	961.4	1.3	960.1	1.3	958.7	1.35
	0.39		0.40		0.42		0.43		0.45		0.47		0.48		0.49		0.51		0.53		0.54		0.55	
25	971.7	1.1	970.5	1.1	969.3	1.1	968.2	1.1	967.0	1.2	965.8	1.2	964.6	1.2	963.4	1.2	962.15	1.2	960.8	1.3	959.5	1.3	958.2	1.37
	0.40		0.41		0.42		0.44		0.46		0.47		0.49		0.50		0.51		0.53		0.54		0.57	
26	971.3	1.1	970.1	1.1	968.9	1.1	967.7	1.2	966.5	1.2	965.3	1.2	964.1	1.2	962.9	1.2	961.64	1.3	960.3	1.3	959.0	1.3	957.6	1.38
	0.40		0.42		0.43		0.45		0.46		0.48		0.49		0.51		0.53		0.54		0.56		0.56	
27	970.9	1.1	969.7	1.1	968.5	1.2	967.3	1.2	966.1	1.2	964.9	1.2	963.6	1.2	962.4	1.2	961.11	1.3	959.8	1.3	958.4	1.3	957.1	1.40
	0.41		0.43		0.45		0.46		0.47		0.48		0.50		0.52		0.54		0.56		0.57		0.59	
28	970.4	1.2	969.2	1.2	968.0	1.2	966.8	1.2	965.6	1.2	964.4	1.2	963.1	1.2	961.8	1.3	960.57	1.3	959.2	1.3	957.8	1.3	956.5	1.41
	0.42		0.43		0.45		0.47		0.49		0.50		0.52		0.53		0.53		0.55		0.56		0.58	
29	970.0	1.2	968.8	1.2	967.6	1.2	966.4	1.2	965.1	1.2	963.9	1.2	962.6	1.2	961.3	1.3	960.04	1.3	958.6	1.3	957.3	1.4	955.9	1.42
	0.44		0.45		0.46		0.47		0.49		0.50		0.51		0.53		0.55		0.55		0.58		0.58	
30	969.6	1.2	968.4	1.2	967.1	1.2	965.9	1.2	964.6	1.2	963.4	1.2	962.1	1.3	960.8	1.3	959.49	1.3	958.1	1.3	956.7	1.4	955.3	1.44
	0.44		0.45		0.46		0.48		0.49		0.51		0.52		0.53		0.55		0.57		0.58		0.60	
31	969.1	1.2	967.9	1.2	966.7	1.2	965.4	1.2	964.1	1.2	962.9	1.3	961.6	1.3	960.2	1.3	958.94	1.3	957.5	1.4	956.1	1.4	954.7	1.44
	0.44		0.46		0.47		0.48		0.50		0.51		0.53		0.54		0.55		0.57		0.58		0.59	
32	968.7	1.2	967.5	1.2	966.2	1.2	964.9	1.2	963.6	1.2	962.4	1.3	961.0	1.3	959.7	1.3	958.39	1.3	957.0	1.4	955.5	1.4	954.1	1.46
	0.45		0.46		0.48		0.49		0.50		0.52		0.53		0.55		0.57		0.57		0.59		0.61	
33	968.3	1.2	967.0	1.2	965.7	1.2	964.4	1.3	963.1	1.3	961.8	1.3	960.5	1.3	959.2	1.3	957.82	1.3	956.4	1.4	955.0	1.4	953.5	1.47
	0.46		0.47		0.49		0.50		0.51		0.53		0.54		0.56		0.56		0.59		0.59		0.60	
34	967.8	1.2	966.5	1.2	965.2	1.2	963.9	1.3	962.6	1.3	961.3	1.3	960.0	1.3	958.6	1.3	957.26	1.4	955.84	1.4	954.4	1.4	952.9	1.49
	0.46		0.48		0.49		0.51		0.52		0.53		0.55		0.56		0.58		0.58		0.60		0.62	
35	967.3	1.2	966.0	1.3	964.7	1.3	963.4	1.3	962.1	1.3	960.8	1.3	959.4	1.3	958.0	1.4	956.68	1.4	955.2	1.4	953.8	1.4	952.3	1.50
	0.47		0.48		0.50		0.51		0.53		0.54		0.55		0.57		0.58		0.60		0.61		0.62	
36	966.9	1.3	965.6	1.3	964.2	1.3	962.9	1.3	961.6	1.3	960.2	1.3	958.9	1.4	957.5	1.4	956.10	1.4	954.6	1.4	953.2	1.4	951.7	1.51
	0.48		0.49		0.50		0.52		0.53		0.55		0.56		0.57		0.59		0.60		0.61		0.62	
37	966.4	1.3	965.1	1.3	963.7	1.3	962.4	1.3	961.1	1.3	959.7	1.3	958.3	1.4	956.9	1.4	955.51	1.4	954.0	1.4	952.5	1.5	951.0	1.53
	0.49		0.50		0.51		0.52		0.54		0.55		0.57		0.58		0.59		0.60		0.62		0.63	
38	965.9	1.3	964.6	1.3	963.2	1.3	961.9	1.3	960.5	1.3	959.1	1.4	957.7	1.4	956.3	1.4	954.92	1.4	953.4	1.4	951.9	1.5	950.4	1.54
	0.49		0.50		0.52		0.53		0.54		0.56		0.57		0.58		0.60		0.61		0.62		0.64	
39	965.4	1.3	964.1	1.3	962.7	1.3	961.4	1.3	960.0	1.4	958.6	1.4	957.2	1.4	955.7	1.4	954.32	1.4	952.8	1.5	951.3	1.5	949.8	1.55
	0.49		0.51		0.52		0.54		0.55		0.56		0.58		0.59		0.60		0.62		0.63		0.64	
40	964.9	1.3	963.6	1.3	962.2	1.3	960.8	1.3	959.4	1.4	958.0	1.4	956.6	1.4	955.1	1.4	953.72	1.4	952.2	1.5	950.7	1.5	949.1	1.57

TABLE II

MA-F-AS312-02-TALVOL

41

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

Titre alcoométrique international à 20°C
Table de corrections à effectuer sur le titre alcoométrique apparent pour corriger l'action de la température
Ajouter ou retrancher au titre alcoométrique apparent à t°C (**alcoomètre en verre ordinaire**) la correction indiquée ci-dessous

		Titres alcoométriques apparents à t°C																	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Températures	ajouter	0	0,76	0,77	0,82	0,87	0,95	1,04	1,16	1,31	1,49	1,70	1,95	2,26	2,62	3,03	3,49	4,02	4,56
		1°	0,81	0,83	0,87	0,92	1,00	1,09	1,20	1,35	1,52	1,73	1,97	2,26	2,59	2,97	3,40	3,87	4,36
		2°	0,85	0,87	0,92	0,97	1,04	1,13	1,24	1,38	1,54	1,74	1,97	2,24	2,54	2,89	3,29	3,72	4,17
		3°	0,88	0,91	0,95	1,00	1,07	1,15	1,26	1,39	1,55	1,73	1,95	2,20	2,48	2,80	3,16	3,55	3,95
		4°	0,90	0,92	0,97	1,02	1,09	1,17	1,27	1,40	1,55	1,72	1,92	2,15	2,41	2,71	3,03	3,38	3,75
		5°	0,91	0,93	0,98	1,03	1,10	1,17	1,27	1,39	1,53	1,69	1,87	2,08	2,33	2,60	2,89	3,21	3,54
		6°	0,92	0,94	0,98	1,02	1,09	1,16	1,25	1,37	1,50	1,65	1,82	2,01	2,23	2,47	2,74	3,02	3,32
		7°	0,91	0,93	0,97	1,01	1,07	1,14	1,23	1,33	1,45	1,59	1,75	1,92	2,12	2,34	2,58	2,83	3,10
		8°	0,89	0,91	0,94	0,98	1,04	1,11	1,19	1,28	1,39	1,52	1,66	1,82	2,00	2,20	2,42	2,65	2,88
		9°	0,86	0,88	0,91	0,95	1,01	1,07	1,14	1,23	1,33	1,44	1,57	1,71	1,97	2,05	2,24	2,44	2,65
		10°	0,82	0,84	0,87	0,91	0,96	1,01	1,08	1,16	1,25	1,35	1,47	1,60	1,74	1,89	2,06	2,24	2,43
		11°	0,78	0,79	0,82	0,86	0,90	0,95	1,01	1,08	1,16	1,25	1,36	1,47	1,60	1,73	1,88	2,03	2,20
		12°	0,72	0,74	0,76	0,79	0,83	0,88	0,93	0,99	1,07	1,15	1,24	1,34	1,44	1,56	1,69	1,82	1,96
		13°	0,66	0,67	0,69	0,72	0,76	0,80	0,84	0,90	0,96	1,03	1,11	1,19	1,28	1,38	1,49	1,61	1,73
		14°	0,59	0,60	0,62	0,64	0,67	0,71	0,74	0,79	0,85	0,91	0,97	1,04	1,12	1,20	1,29	1,39	1,49
		15°	0,51	0,52	0,53	0,55	0,58	0,61	0,64	0,68	0,73	0,77	0,83	0,89	0,95	1,02	1,09	1,16	1,24
		16°	0,42	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,60	0,63	0,67	0,72	0,77	0,82	0,88	0,94	1,00
		17°	0,33	0,33	0,34	0,35	0,37	0,39	0,41	0,43	0,46	0,48	0,51	0,55	0,59	0,62	0,67	0,71	0,75
		18°	0,23	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,29	0,31	0,33	0,35	0,37	0,40	0,42	0,45	0,48	0,51
19°	0,12	0,12	0,12	0,12	0,13	0,13	0,14	0,15	0,16	0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,23	0,24	0,25		

TABLE II (suite)
 Titre alcoométrique international à 20°C
Table de corrections à effectuer sur le titre alcoométrique apparent pour corriger l'action de la température
 Ajouter ou retrancher au titre alcoométrique apparent à t°C (**alcoomètre en verre ordinaire**) la correction indiquée ci-dessous

		Titres alcoométriques apparents à t°C																		
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
Températures	retrancher	21°		0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,15	0,16	0,17	0,18	0,19	0,19	0,20	0,22	0,23	0,25	0,26	
		22°		0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,44	0,47	0,49	0,52	
		23°		0,40	0,41	0,42	0,44	0,45	0,47	0,49	0,51	0,54	0,57	0,60	0,63	0,66	0,70	0,74	0,78	
		24°		0,55	0,56	0,58	0,60	0,62	0,64	0,67	0,70	0,73	0,77	0,81	0,85	0,89	0,94	0,99	1,04	
		25°		0,69	0,71	0,73	0,76	0,79	0,82	0,85	0,89	0,93	0,97	1,02	1,07	1,13	1,19	1,25	1,31	
		26°		0,85	0,87	0,90	0,93	0,96	1,00	1,04	1,08	1,13	1,18	1,24	1,30	1,36	1,43	1,50	1,57	
		27°			1,03	1,07	1,11	1,15	1,19	1,23	1,28	1,34	1,40	1,46	1,53	1,60	1,68	1,76	1,84	
		28°			1,21	1,25	1,29	1,33	1,38	1,43	1,49	1,55	1,62	1,69	1,77	1,85	1,93	2,02	2,11	
		29°			1,39	1,43	1,47	1,52	1,58	1,63	1,70	1,76	1,84	1,92	2,01	2,10	2,19	2,29	2,39	
		30°				1,57	1,61	1,66	1,72	1,78	1,84	1,91	1,98	2,07	2,15	2,25	2,35	2,45	2,56	2,67
		31°				1,75	1,80	1,86	1,92	1,98	2,05	2,13	2,21	2,30	2,39	2,49	2,60	2,71	2,83	2,94
		32°				1,94	2,00	2,06	2,13	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22
		33°					2,20	2,27	2,34	2,42	2,50	2,58	2,67	2,77	2,88	2,99	3,12	3,24	3,37	3,51
		34°					2,41	2,48	2,56	2,64	2,72	2,81	2,91	3,02	3,13	3,25	3,38	3,51	3,65	3,79
		35°					2,62	2,70	2,78	2,86	2,95	3,05	3,16	3,27	3,39	3,51	3,64	3,78	3,93	4,08
		36°					2,83	2,91	3,00	3,09	3,19	3,29	3,41	3,53	3,65	3,78	3,91	4,05	4,21	4,37
37°						3,13	3,23	3,33	3,43	3,54	3,65	3,78	3,91	4,04	4,18	4,33	4,49	4,65		
38°						3,36	3,47	3,57	3,68	3,79	3,91	4,03	4,17	4,31	4,46	4,61	4,77	4,94		
39°						3,59	3,70	3,81	3,93	4,05	4,17	4,44	4,58	4,74	4,90	5,06	5,06	5,23		
40°						3,82	3,94	4,06	4,18	4,31	4,44	4,57	4,71	4,86	5,02	5,19	5,36	5,53		

TABLE II (suite)
Titre alcoométrique international à 20°C
Table de corrections à effectuer sur le titre alcoométrique apparent pour corriger l'action de la température
Ajouter ou retrancher au titre alcoométrique apparent à t°C (**alcoomètre en verre ordinaire**) la correction indiquée ci-dessous

		Titres alcoométriques apparents à t°C																	
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Températures	ajouter	0°	3,49	4,02	4,56	5,11	5,65	6,16	6,63	7,05	7,39	7,67	7,91	8,07	8,20	8,30	8,36	8,39	8,40
	1°	3,40	3,87	4,36	4,86	5,35	5,82	6,26	6,64	6,96	7,23	7,45	7,62	7,75	7,85	7,91	7,95	7,96	7,96
	2°	3,29	3,72	4,17	4,61	5,05	5,49	5,89	6,25	6,55	6,81	7,02	7,18	7,31	7,40	7,47	7,51	7,53	7,53
	3°	3,16	3,55	3,95	4,36	4,77	5,17	5,53	5,85	6,14	6,39	6,59	6,74	6,86	6,97	7,03	7,07	7,09	7,09
	4°	3,03	3,38	3,75	4,11	4,48	4,84	5,17	5,48	5,74	5,97	6,16	6,31	6,43	6,53	6,59	6,63	6,66	6,66
	5°	2,89	3,21	3,54	3,86	4,20	4,52	4,83	5,11	5,35	5,56	5,74	5,89	6,00	6,10	6,16	6,20	6,23	6,23
	6°	2,74	3,02	3,32	3,61	3,91	4,21	4,49	4,74	4,96	5,16	5,33	5,47	5,58	5,67	5,73	5,77	5,80	5,80
	7°	2,58	2,83	3,10	3,36	3,63	3,90	4,15	4,38	4,58	4,77	4,92	5,05	5,15	5,24	5,30	5,34	5,37	5,37
	8°	2,42	2,65	2,88	3,11	3,35	3,59	3,81	4,02	4,21	4,38	4,52	4,64	4,74	4,81	4,87	4,92	4,95	4,95
	9°	2,24	2,44	2,65	2,86	3,07	3,28	3,48	3,67	3,84	3,99	4,12	4,23	4,32	4,39	4,45	4,50	4,53	4,53
	10°	2,06	2,24	2,43	2,61	2,80	2,98	3,16	3,33	3,48	3,61	3,73	3,83	3,91	3,98	4,03	4,08	4,11	4,11
	11°	1,88	2,03	2,20	2,36	2,52	2,68	2,83	2,98	3,12	3,24	3,34	3,43	3,50	3,57	3,62	3,66	3,69	3,69
	12°	1,69	1,82	1,96	2,10	2,24	2,38	2,51	2,64	2,76	2,87	2,96	3,04	3,10	3,16	3,21	3,25	3,27	3,27
	13°	1,49	1,61	1,73	1,84	1,96	2,08	2,20	2,31	2,41	2,50	2,58	2,65	2,71	2,76	2,80	2,83	2,85	2,85
	14°	1,29	1,39	1,49	1,58	1,68	1,78	1,88	1,97	2,06	2,13	2,20	2,26	2,31	2,36	2,39	2,42	2,44	2,44
	15°	1,09	1,16	1,24	1,32	1,40	1,48	1,56	1,64	1,71	1,77	1,83	1,88	1,92	1,96	1,98	2,01	2,03	2,03
	16°	0,88	0,94	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,36	1,41	1,46	1,50	1,53	1,56	1,58	1,60	1,62	1,62
	17°	0,67	0,71	0,75	0,80	0,84	0,89	0,94	0,98	1,02	1,05	1,09	1,12	1,14	1,17	1,18	1,20	1,21	1,21
	18°	0,45	0,48	0,51	0,53	0,56	0,59	0,62	0,65	0,68	0,70	0,72	0,74	0,76	0,78	0,79	0,80	0,81	0,81
19°	0,23	0,24	0,25	0,27	0,28	0,30	0,31	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,40	0,41	0,41	0,41	

TABLE II (suite)
 Titre alcoométrique international à 20°C
Table de corrections à effectuer sur le titre alcoométrique apparent pour corriger l'action de la température
 Ajouter ou retrancher au titre alcoométrique apparent à t°C (alcoomètre en verre ordinaire) la correction indiquée ci-dessous

		Titres alcoométriques apparents à t°C																	
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Températures	retrancher	21°	0,23	0,25	0,26	0,28	0,29	0,30	0,31	0,33	0,34	0,35	0,35	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40
		22°	0,47	0,49	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,72	0,74	0,75	0,76	0,78	0,79	0,80
		23°	0,70	0,74	0,78	0,82	0,86	0,90	0,93	0,97	1,01	1,04	1,07	1,10	1,12	1,15	1,17	1,18	1,19
		24°	0,94	0,99	1,04	1,10	1,15	1,20	1,25	1,29	1,34	1,39	1,43	1,46	1,50	1,53	1,55	1,57	1,59
		25°	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,56	1,62	1,68	1,73	1,78	1,83	1,87	1,90	1,94	1,97	1,99
		26°	1,43	1,50	1,57	1,65	1,73	1,80	1,87	1,94	2,01	2,07	2,13	2,19	2,24	2,28	2,32	2,35	2,38
		27°	1,68	1,76	1,84	1,93	2,01	2,10	2,18	2,26	2,34	2,41	2,48	2,55	2,61	2,66	2,70	2,74	2,77
		28°	1,93	2,02	2,11	2,21	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,76	2,83	2,90	2,98	3,03	3,08	3,13	3,17
		29°	2,19	2,29	2,39	2,50	2,60	2,70	2,81	2,91	3,00	3,09	3,18	3,26	3,34	3,40	3,46	3,51	3,55
		30°	2,45	2,56	2,67	2,78	2,90	3,01	3,12	3,23	3,34	3,44	3,53	3,62	3,70	3,77	3,84	3,90	3,95
		31°	2,71	2,83	2,94	3,07	3,19	3,31	3,43	3,55	3,67	3,78	3,88	3,98	4,07	4,15	4,22	4,28	4,33
		32°	2,97	3,09	3,22	3,36	3,49	3,62	3,74	3,87	4,00	4,11	4,22	4,33	4,43	4,51	4,59	4,66	4,72
		33°	3,24	3,37	3,51	3,65	3,79	3,92	4,06	4,20	4,33	4,45	4,57	4,68	4,79	4,88	4,97	5,04	5,10
		34°	3,51	3,65	3,79	3,94	4,09	4,23	4,37	4,52	4,66	4,79	4,91	5,03	5,15	5,25	5,34	5,42	5,49
		35°	3,78	3,93	4,08	4,23	4,38	4,53	4,69	4,84	4,98	5,12	5,26	5,38	5,50	5,61	5,71	5,80	5,87
		36°	4,05	4,21	4,37	4,52	4,68	4,84	5,00	5,16	5,31	5,46	5,60	5,73	5,86	5,97	6,08	6,17	6,25
37°	4,33	4,49	4,65	4,82	4,98	5,15	5,31	5,48	5,64	5,80	5,95	6,09	6,22	6,33	6,44	6,54	6,63		
38°	4,61	4,77	4,94	5,12	5,29	5,46	5,63	5,80	5,97	6,13	6,29	6,43	6,57	6,69	6,81	6,92	7,01		
39°	4,90	5,06	5,23	5,41	5,59	5,77	5,94	6,12	6,30	6,47	6,63	6,78	6,93	7,06	7,18	7,29	7,39		
40°	5,19	5,36	5,53	5,71	5,90	6,08	6,26	6,44	6,62	6,80	6,97	7,13	7,28	7,41	7,54	7,66	7,76		

TABLE III
Titre alcoométrique international à 20°C
Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Appareils en verre ordinaire
Masses volumiques à t°C corrigés de la poussée de l'air

t°	Titre alcoométrique volumique en %																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	999.34	1.52	997.82	1.45	996.37	1.39	994.98	1.35	993.63	1.29	992.34	1.24	991.10	1.18	989.92	1.15	988.77	1.09	987.68	1.05	986.63	1.00	985.63	0.96
1	--0.09		-0.09		-0.09		-0.08		-0.08		-0.08		-0.07		-0.05		-0.05		-0.04		-0.03		-0.02	
1	999.43	1.52	997.91	1.45	996.46	1.40	995.06	1.35	993.71	1.29	992.42	1.25	991.17	1.20	989.97	1.15	988.82	1.10	987.72	1.06	986.66	1.01	985.65	0.97
2	999.49	1.52	997.97	1.40	996.52	1.40	995.12	1.35	993.77	1.30	992.47	1.25	991.22	1.21	990.01	1.16	988.85	1.11	987.74	1.06	986.68	1.02	985.66	0.98
3	999.54	1.52	998.02	1.46	996.56	1.40	995.16	1.35	993.81	1.30	992.51	1.26	991.25	1.21	990.04	1.16	988.88	1.12	987.76	1.08	986.68	1.03	985.65	0.99
4	999.57	1.52	998.05	1.46	996.59	1.40	995.19	1.36	993.83	1.30	992.53	1.26	991.27	1.22	990.05	1.17	988.88	1.13	987.75	1.08	986.67	1.04	985.63	1.00
5	999.59	1.52	998.07	1.46	996.61	1.40	995.21	1.36	993.85	1.31	992.54	1.27	991.27	1.22	990.05	1.17	988.88	1.14	987.74	1.09	986.65	1.05	985.60	1.02
6	999.59	1.52	998.07	1.46	996.61	1.41	995.20	1.36	993.84	1.31	992.53	1.27	991.26	1.23	990.03	1.18	988.85	1.14	987.71	1.10	986.61	1.07	985.54	1.02
7	999.58	1.52	998.06	1.46	996.60	1.41	995.19	1.36	993.83	1.32	992.51	1.27	991.24	1.23	990.01	1.19	988.82	1.15	987.67	1.11	986.56	1.08	985.48	1.04
8	999.55	1.52	998.03	1.46	996.57	1.41	995.16	1.37	993.79	1.32	992.47	1.28	991.19	1.23	989.96	1.20	988.76	1.16	987.60	1.11	986.49	1.09	985.40	1.05
9	999.51	1.52	997.99	1.46	996.53	1.41	995.12	1.37	993.75	1.32	992.43	1.29	991.14	1.24	989.90	1.20	988.70	1.16	987.54	1.13	986.41	1.09	985.32	1.06
10	999.45	1.52	997.93	1.46	996.47	1.41	995.06	1.37	993.69	1.33	992.36	1.29	991.07	1.24	989.83	1.21	988.62	1.17	987.45	1.14	986.31	1.10	985.21	1.07
11	999.38	1.51	997.87	1.46	996.41	1.42	994.99	1.37	993.62	1.33	992.29	1.29	991.00	1.25	989.75	1.22	988.53	1.18	987.35	1.14	986.21	1.11	985.10	1.08
12	999.29	1.51	997.78	1.46	996.32	1.42	994.90	1.37	993.53	1.33	992.20	1.30	990.90	1.26	989.64	1.22	988.42	1.18	987.24	1.15	986.10	1.12	984.97	1.09
13	999.20	1.51	997.69	1.46	996.23	1.42	994.81	1.38	993.43	1.33	992.10	1.30	990.80	1.26	989.54	1.23	988.31	1.19	987.12	1.16	985.96	1.13	984.83	1.10
14	999.09	1.51	997.58	1.46	996.12	1.42	994.70	1.38	993.32	1.34	991.98	1.30	990.68	1.27	989.41	1.23	988.18	1.20	986.98	1.17	985.81	1.14	984.67	1.11
15	998.97	1.51	997.46	1.46	996.00	1.42	994.58	1.38	993.20	1.34	991.86	1.31	990.55	1.27	989.28	1.24	988.04	1.20	986.94	1.18	985.66	1.15	984.51	1.12
16	998.84	1.51	997.33	1.46	995.87	1.42	994.45	1.39	993.06	1.34	991.72	1.31	990.41	1.28	989.13	1.24	987.89	1.22	986.67	1.18	985.49	1.16	984.33	1.13
17	998.70	1.51	997.19	1.46	995.73	1.42	994.31	1.39	992.92	1.35	991.57	1.31	990.26	1.28	988.98	1.25	987.73	1.22	986.50	1.19	985.32	1.17	984.15	1.14
18	998.55	1.51	997.04	1.47	995.57	1.42	994.15	1.39	992.76	1.35	991.41	1.32	990.09	1.28	988.81	1.26	987.55	1.23	986.32	1.19	985.13	1.17	983.96	1.15
19	998.38	1.50	996.88	1.47	995.41	1.42	993.99	1.39	992.60	1.35	991.25	1.33	989.92	1.29	988.63	1.26	987.37	1.24	986.13	1.20	984.93	1.18	983.75	1.16
20	998.20	1.50	996.70	1.47	995.23	1.42	993.81	1.40	992.41	1.35	991.06	1.33	989.73	1.30	988.43	1.27	987.16	1.24	985.92	1.21	984.71	1.19	983.52	1.17

MA-F-AS312-02-TALVOL

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

TABLE III (suite)
Titre alcoométrique international à 20°C

Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Appareils en verre ordinaire
Masses volumiques à t°C corrigés de la poussée de l'air

t°	Titre alcoométrique volumique en %												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
20	998,20	1,5 996,70	1,4 995,2	1,4 993,81	1,40 992,41	1,35 991,06	1,33 989,73	1,30 988,43	1,27 987,16	1,24 985,92	1,21 984,71	1,19 983,52	1,17
21	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,23	0,23	0,23
22	998,01	1,5 996,51	1,4 995,0	1,4 993,62	1,40 992,22	1,36 990,86	1,33 989,53	1,31 988,22	1,27 986,95	1,25 985,70	1,22 984,48	1,19 983,29	1,17
23	0,20	0,20	0,19	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,24	0,24
24	987,81	1,5 996,31	1,4 994,8	1,4 993,42	1,40 992,02	1,36 990,66	1,34 989,32	1,31 988,01	1,28 986,73	1,25 985,48	1,23 984,25	1,20 983,05	1,18
25	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,24	0,25	0,25
26	997,60	1,5 996,10	1,4 994,6	1,4 993,21	1,40 991,81	1,37 990,44	1,34 989,10	1,31 987,79	1,29 986,50	1,26 985,24	1,23 984,01	1,21 982,80	1,19
27	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,24	0,25	0,26	0,26
28	997,39	1,5 995,89	1,4 994,4	1,4 992,99	1,40 991,59	1,37 990,22	1,35 988,87	1,31 987,56	1,29 986,27	1,27 985,00	1,24 983,76	1,22 982,54	1,20
29	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,25	0,26	0,27	0,27
30	997,16	1,5 995,66	1,4 994,1	1,4 992,76	1,41 991,35	1,37 989,98	1,35 988,63	1,32 987,31	1,29 986,02	1,27 984,75	1,25 983,50	1,23 982,27	1,21
31	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,25	0,26	0,27	0,27	0,28	0,28
32	996,93	1,5 995,43	1,4 993,9	1,4 992,52	1,41 991,11	1,37 989,74	1,35 988,39	1,33 987,06	1,30 985,76	1,28 984,48	1,25 983,23	1,24 981,99	1,22
33	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,26	0,26	0,26	0,27	0,28	0,29	0,29	0,29
34	996,68	1,5 995,18	1,4 993,7	1,4 992,27	1,41 990,86	1,38 989,48	1,35 988,13	1,33 986,80	1,31 985,49	1,29 994,20	1,26 982,94	1,24 981,70	1,23
35	0,25	0,25	0,26	0,26	0,26	0,26	0,27	0,28	0,28	0,28	0,29	0,30	0,30
36	996,43	1,5 994,93	1,4 993,4	1,4 992,01	1,41 990,60	1,38 989,22	1,36 987,86	1,34 986,52	1,31 985,21	1,29 983,92	1,27 982,65	1,25 981,40	1,23
37	0,26	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29	0,29	0,30	0,31	0,31
38	996,17	1,5 994,66	1,4 993	1,4 991,74	1,41 990,33	1,39 988,94	1,36 987,58	1,34 986,24	1,32 984,92	1,29 983,63	1,28 982,35	1,26 981,09	1,24
39	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29	0,30	0,31	0,32	0,32
40	995,90	1,5 994,39	1,4 992,9	1,4 991,46	1,41 990,05	1,39 988,66	1,37 987,29	1,34 985,95	1,32 984,63	1,30 983,33	1,29 982,04	1,27 980,77	1,25
41	0,29	0,29	0,29	0,29	0,30	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32
42	995,61	1,5 994,10	1,4 992,6	1,4 991,17	1,42 989,75	1,39 988,36	1,37 986,99	1,35 985,64	1,33 984,31	1,30 983,01	1,29 981,72	1,27 980,45	1,26
43	0,29	0,29	0,29	0,29	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,33	0,34	0,34
44	995,32	1,5 993,81	1,4 992,3	1,4 990,88	1,42 989,45	1,40 988,05	1,37 986,68	1,35 985,33	1,33 984,00	1,31 982,69	1,30 981,39	1,28 980,11	1,26
45	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,33	0,33	0,34	0,34	0,34
46	995,02	1,5 993,50	1,4 992,0	1,4 990,57	1,43 989,14	1,40 987,74	1,37 986,37	1,36 985,01	1,34 983,67	1,31 982,36	1,31 981,05	1,28 979,77	1,27
47	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,33	0,33	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35
48	994,72	1,5 993,19	1,4 991,7	1,4 990,26	1,43 988,83	1,41 987,42	1,38 986,04	1,36 984,68	1,34 983,34	1,32 982,02	1,31 980,71	1,29 979,42	1,28
49	0,32	0,32	0,32	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35
50	994,40	1,5 992,87	1,4 991,3	1,4 989,93	1,43 988,50	1,41 987,09	1,38 985,71	1,36 984,35	1,34 983,01	1,33 981,68	1,31 980,37	1,30 979,07	1,29
51	0,32	0,32	0,33	0,33	0,33	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35	0,36	0,37	0,37
52	994,08	1,5 992,55	1,4 991,0	1,4 989,60	1,43 988,17	1,41 986,76	1,39 985,37	1,36 984,01	1,35 982,66	1,33 981,33	1,32 980,01	1,31 978,70	1,29
53	0,33	0,34	0,34	0,34	0,35	0,35	0,35	0,35	0,36	0,36	0,36	0,37	0,37
54	993,75	1,5 992,21	1,4 990,7	1,4 989,26	1,44 987,82	1,41 986,41	1,39 985,02	1,37 983,65	1,35 982,30	1,33 980,97	1,32 979,65	1,32 978,33	1,30
55	0,34	0,34	0,35	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37	0,38	0,38	0,38	0,38
56	993,41	1,5 991,87	1,5 990,3	1,4 988,90	1,44 87,46	1,41 986,05	1,39 984,66	1,37 983,29	1,36 981,93	1,34 980,59	1,32 979,27	1,32 977,95	1,31
57	0,35	0,35	0,36	0,36	0,36	0,37	0,37	0,37	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39
58	993,06	1,5 991,52	1,5 990,0	1,4 988,54	1,44 987,10	1,41 985,68	1,39 984,29	1,37 982,92	1,36 981,56	1,34 980,22	1,33 978,89	1,33 977,56	1,31
59	0,35	0,36	0,36	0,37	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,39	0,39	0,39	0,39
60	992,71	1,5 991,16	1,5 989,6	1,4 988,17	1,45 986,72	1,42 985,30	1,39 983,91	1,37 982,54	1,36 981,18	1,35 979,83	1,33 978,50	1,33 977,17	1,32

MA-F-AS312-02-TALVOL

47

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

TABLE III (suite)
Titre alcoométrique international à 20°C
Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Appareils en verre ordinaire
Masses volumiques à t°C corrigés de la poussée de l'air

		Titre alcoométrique volumique en %																						
t°		10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21											
0	986 63	1 00	985 63	0 96	984 67	0 92	983 75	0 88	982 88	0 84	982 04	0 81	981 23	0 77	980 46	0 75	979 71	0 73	978 98	0 72	978 26	0 70	977 56	0 7
1	-0.03		-0.02		-0.01		0.00		0.02		0.04		0.05		0.07		0.09		0.11		0.13		0.15	
	986 66	1 01	985 65	0 97	984 68	0 93	983 75	0 89	982 86	0 85	982 00	0 82	981 18	0 79	980 39	0 77	979 62	0 75	978 87	0 74	978 13	0 72	977 41	0 7
	-0 02		-0 01		0 00		0 01		0 03		0 04		0 06		0 08		0 10		0 12		0 14		0 17	
2	986 68	1 02	985 66	0 98	984 68	0 94	983 74	0 9	982 83	0 8	981 96	0 84	981 12	0 81	980 31	0 79	979 52	0 77	978 75	0 76	977 99	0 75	977 24	0 7
	0 00		0 01		0 02		0 04		0 05		0 06		0 08		0 10		0 12		0 14		0 16		0 18	
3	986 68	1 03	985 65	0 99	984 66	0 96	983 70	0 9	982 78	0 8	981 90	0 86	981 04	0 83	980 21	0 81	979 40	0 79	978 61	0 78	977 83	0 77	977 06	0 7
	0 01		0 02		0 03		0 04		0 05		0 07		0 08		0 10		0 12		0 14		0 16		0 18	
4	986 67	1 04	985 63	1 00	984 63	0 97	983 66	0 9	982 73	0 9	981 83	0 87	980 96	0 85	980 11	0 83	979 28	0 81	978 47	0 80	977 67	0 79	976 88	0 7
	0 02		0 03		0 05		0 06		0 08		0 09		0 11		0 13		0 14		0 16		0 18		0 20	
5	986 65	1 05	985 60	1 02	984 58	0 98	983 60	0 9	982 65	0 9	981 74	0 89	980 85	0 87	979 98	0 84	979 11	0 83	978 31	0 82	977 49	0 81	976 68	0 8
	0 04		0 06		0 06		0 07		0 08		0 10		0 11		0 13		0 15		0 17		0 19		0 21	
6	986 61	1 07	985 54	1 02	984 52	0 99	983 53	0 9	982 57	0 9	981 64	0 90	980 74	0 89	979 85	0 86	978 99	0 85	978 14	0 84	977 30	0 83	976 47	0 8
	0 05		0 06		0 08		0 09		0 10		0 12		0 14		0 15		0 17		0 19		0 20		0 22	
7	986 56	1 08	985 48	1 04	984 44	1 00	983 44	0 9	982 47	0 9	981 52	0 92	980 60	0 90	979 70	0 88	978 82	0 87	977 95	0 85	977 10	0 85	976 25	0 8
	0 07		0 08		0 09		0 10		0 11		0 12		0 14		0 16		0 18		0 19		0 21		0 23	
8	986 49	1 09	985 40	1 05	984 35	1 01	983 34	0 9	982 36	0 9	981 40	0 94	980 46	0 92	979 54	0 90	978 64	0 88	977 76	0 87	976 89	0 87	976 02	0 9
	0 08		0 08		0 09		0 11		0 13		0 14		0 15		0 18		0 18		0 20		0 22		0 24	
9	986 41	1 09	985 32	1 06	984 26	1 03	983 23	1 0	982 23	0 9	981 26	0 95	980 31	0 93	979 38	0 92	978 48	0 90	977 56	0 89	976 67	0 89	975 78	0 8
	0 10		0 11		0 12		0 13		0 14		0 16		0 17		0 18		0 19		0 21		0 23		0 25	
10	986 31	1 10	985 21	1 07	984 14	1 04	983 10	1 0	982 09	0 9	981 10	0 96	980 14	0 94	979 20	0 93	978 27	0 92	977 35	0 91	976 44	0 91	975 53	0 9
	0 10		0 11		0 12		0 13		0 15		0 16		0 17		0 19		0 21		0 23		0 25		0 27	
11	986 21	1 11	985 10	1 08	984 02	1 05	982 97	1 0	981 94	1 0	980 94	0 97	979 97	0 96	979 01	0 95	978 06	0 94	977 12	0 93	976 19	0 93	975 26	0 9
	0 12		0 13		0 14		0 15		0 16		0 17		0 19		0 21		0 22		0 24		0 26		0 27	
12	986 09	1 12	984 97	1 09	983 88	1 06	982 82	1 0	981 78	1 0	980 77	0 99	979 78	0 98	978 80	0 96	977 84	0 96	976 88	0 95	975 93	0 94	974 99	0 9
	0 13		0 14		0 15		0 16		0 17		0 19		0 20		0 21		0 23		0 24		0 26		0 28	
13	985 96	1 13	984 83	1 10	983 73	1 07	982 66	1 0	981 61	1 0	980 58	1 00	979 58	0 99	978 59	0 98	977 61	0 97	976 64	0 97	975 67	0 96	974 71	0 9
	0 15		0 16		0 17		0 18		0 19		0 20		0 22		0 23		0 24		0 26		0 27		0 29	
14	985 81	1 14	984 67	1 11	983 56	1 08	982 48	1 0	981 42	1 0	980 38	1 02	979 36	1 00	978 36	0 99	977 37	0 99	976 38	0 98	975 40	0 98	974 42	0 9
	0 15		0 16		0 17		0 18		0 19		0 20		0 22		0 24		0 26		0 27		0 28		0 30	
15	985 66	1 15	984 51	1 12	983 39	1 09	982 30	1 0	981 23	1 0	980 18	1 04	979 14	1 02	978 12	1 01	977 11	1 00	976 11	0 99	975 12	1 00	974 12	1 0
	0 17		0 18		0 19		0 20		0 21		0 22		0 23		0 25		0 26		0 28		0 30		0 31	
16	985 49	1 16	984 33	1 13	983 20	1 10	982 10	1 0	981 02	1 0	979 96	1 05	978 91	1 04	977 87	1 02	976 85	1 02	975 83	1 01	974 82	1 01	973 81	1 0
	0 17		0 18		0 19		0 20		0 21		0 23		0 24		0 25		0 27		0 29		0 30		0 31	
17	985 32	1 17	984 15	1 14	983 01	1 11	981 90	1 0	980 81	1 0	979 73	1 06	978 67	1 05	977 62	1 04	976 58	1 04	975 54	1 02	974 52	1 02	973 95	1 0
	0 19		0 19		0 20		0 22		0 24		0 25		0 26		0 27		0 28		0 29		0 31		0 33	
18	985 13	1 17	983 96	1 15	982 81	1 13	981 68	1 1	980 57	1 0	979 48	1 07	978 41	1 06	977 35	1 05	976 30	1 05	975 25	1 04	974 21	1 04	973 17	1 0
	0 20		0 21		0 22		0 23		0 24		0 25		0 26		0 27		0 29		0 30		0 32		0 34	
19	984 93	1 18	983 75	1 16	982 59	1 14	981 45	1 1	980 33	1 1	979 23	1 08	978 15	1 07	977 08	1 07	976 01	1 06	974 94	1 05	973 89	1 06	972 83	1 0
	0 22		0 23		0 24		0 24		0 25		0 26		0 28		0 29		0 30		0 31		0 33		0 35	
20	984 71	1 19	983 52	1 17	982 35	1 14	981 21	1 1	980 08	1 1	978 97	1 10	977 87	1 08	976 79	1 08	975 71	1 08	974 63	1 07	973 56	1 08	972 48	1 0

MA-F-AS312-02-TALVOL

48

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

TABLE III (suite)
Titre alcoométrique international à 20°C

Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Appareils en verre ordinaire
Masses volumiques à t°C corrigés de la poussée de l'air

t°	Titre alcoométrique volumique en %											
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
20	984.7	983.5	982.1	981.2	980.0	978.9	977.8	976.7	975.7	974.6	973.5	972.4
21	984.4	983.2	982.1	980.9	979.8	978.6	977.5	976.4	975.3	974.3	973.2	972.1
22	984.2	983.0	981.1	980.7	979.5	978.4	977.2	976.1	975.0	973.9	972.8	971.7
23	984.0	982.8	981.1	980.4	979.2	978.1	976.9	975.8	974.7	973.6	972.5	971.3
24	983.7	982.5	981.1	980.1	978.9	977.8	976.6	975.5	974.4	973.2	972.1	971.0
25	983.5	982.2	981.1	979.8	978.6	977.5	976.3	975.2	974.0	972.9	971.7	970.6
26	983.2	981.9	980.1	979.5	978.3	977.2	976.0	974.8	973.7	972.5	971.3	970.2
27	982.9	981.7	980.1	979.2	978.0	976.8	975.6	974.5	973.3	972.1	971.0	969.8
28	982.6	981.4	980.1	978.9	977.7	976.5	975.3	974.1	972.9	971.7	970.6	969.4
29	982.3	981.0	979.1	978.6	977.4	976.1	974.9	973.7	972.5	971.3	970.2	968.9
30	982.0	980.7	979.1	978.2	977.0	975.8	974.6	973.4	972.2	970.9	969.7	968.5
31	981.7	980.4	979.1	977.9	976.7	975.4	974.2	973.0	971.8	970.5	969.3	968.1
32	981.3	980.1	978.1	977.5	976.3	975.1	973.8	972.6	971.4	970.1	968.9	967.6
33	981.0	979.7	978.1	977.2	975.7	974.4	973.4	972.2	971.0	969.7	968.5	967.2
34	980.7	979.4	978.1	976.9	975.1	974.3	973.0	971.8	970.5	969.3	968.0	966.7
35	980.3	979.0	977.1	976.5	975.2	973.9	972.6	971.4	970.1	968.8	967.6	966.3
36	980.0	978.7	977.1	976.1	974.8	973.5	972.2	971.0	969.7	968.4	967.1	965.8
37	979.6	978.3	977.1	975.7	974.4	973.1	971.8	970.5	969.2	967.9	966.6	965.3
38	979.2	977.9	976.1	975.3	974.0	972.7	971.4	970.1	968.8	967.5	966.2	964.9
39	978.8	977.5	976.1	974.9	973.6	972.3	971.0	969.7	968.3	967.0	965.7	964.4
40	978.5	977.1	975.1	974.5	973.2	971.9	970.5	969.2	967.9	966.5	965.2	963.9

TABLE III (suite)

MA-F-AS312-02-TALVOL

49

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

Titre alcoométrique international à 20°C
Table des masses volumiques apparentes des mélanges hydroalcooliques – Appareils en verre ordinaire
 Masses volumiques à t°C corrigés de la poussée de l'air

t°	Titre alcoométrique volumique en %											
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
0	0 70	0 70	0 69	0 70	0 72	0 72	0 71	0 71	0 70	0 70	0 69	0 69
1	0 13	0 15	0 17	0 20	0 22	0 24	0 27	0 30	0 32	0 35	0 37	0 39
2	0 14	0 17	0 19	0 21	0 24	0 26	0 29	0 31	0 34	0 36	0 38	0 41
3	0 16	0 18	0 20	0 23	0 25	0 27	0 29	0 32	0 34	0 36	0 38	0 40
4	0 16	0 18	0 21	0 23	0 25	0 28	0 30	0 32	0 34	0 36	0 39	0 42
5	0 18	0 20	0 22	0 24	0 26	0 28	0 30	0 33	0 35	0 38	0 40	0 41
6	0 19	0 21	0 23	0 25	0 27	0 30	0 33	0 34	0 37	0 39	0 41	0 43
7	0 20	0 22	0 24	0 26	0 28	0 30	0 32	0 35	0 37	0 39	0 41	0 43
8	0 21	0 23	0 25	0 27	0 29	0 31	0 33	0 35	0 37	0 39	0 41	0 43
9	0 22	0 24	0 26	0 28	0 30	0 32	0 34	0 36	0 39	0 41	0 43	0 45
10	0 23	0 25	0 27	0 29	0 31	0 33	0 35	0 37	0 39	0 41	0 43	0 45
11	0 25	0 27	0 28	0 30	0 32	0 34	0 36	0 38	0 40	0 42	0 44	0 45
12	0 26	0 27	0 29	0 31	0 33	0 35	0 37	0 39	0 40	0 42	0 44	0 46
13	0 26	0 28	0 30	0 32	0 34	0 36	0 38	0 39	0 41	0 43	0 45	0 47
14	0 27	0 29	0 31	0 33	0 35	0 37	0 38	0 40	0 42	0 44	0 45	0 47
15	0 28	0 30	0 32	0 33	0 35	0 37	0 39	0 41	0 43	0 45	0 47	0 49
16	0 30	0 31	0 33	0 35	0 37	0 38	0 40	0 42	0 44	0 45	0 47	0 49
17	0 31	0 33	0 34	0 36	0 38	0 40	0 42	0 43	0 45	0 47	0 48	0 50
18	0 32	0 34	0 35	0 36	0 38	0 40	0 42	0 44	0 46	0 47	0 49	0 50
19	0 33	0 35	0 37	0 39	0 40	0 41	0 42	0 45	0 46	0 48	0 51	0 52
20	0 33	0 35	0 37	0 39	0 40	0 41	0 42	0 45	0 46	0 48	0 51	0 52

MA-F-AS312-02-TALVOL

RECEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Titre alcoométrique volumique

TABLE IV

Table de correspondance entre les indices de refraction à 20 °C et les titres alcoométriques à 20 °C des mélanges hydroalcooliques purs et des distillats

Indice de réfraction À 20 °C	Titres alcoométriques à 20 °C				Indice de réfraction À 20 °C	Titres alcoométriques à 20 °C			
	Mélanges hydroalcooliques		Distillats			Mélanges hydroalcooliques		Distillats	
1.33628	6.54	0.25	6.48	0.26	1.34222	16.76	0.23	16.65	0.23
1.33642	6.79	0.26	6.74	0.26	1.34236	16.99	0.23	16.88	0.24
1.33656	7.05	0.25	7.00	0.27	1.34250	17.22	0.22	17.12	0.22
1.33670	7.30	0.28	7.27	0.27	1.34264	17.44	0.24	17.34	0.22
1.33685	7.58	0.25	7.54	0.25	1.34278	17.68	0.21	17.56	0.22
1.33699	7.83	0.26	7.79	0.26	1.34291	17.89	0.23	17.78	0.23
1.33713	8.09	0.25	8.05	0.25	1.34305	18.12	0.24	18.01	0.22
1.33727	8.34	0.28	8.30	0.26	1.34319	18.36	0.23	18.23	0.23
1.33742	8.62	0.25	8.56	0.25	1.34333	18.59	0.23	18.46	0.24
1.33756	8.87	0.25	8.81	0.25	1.34347	18.82	0.23	18.70	0.22
1.33770	9.12	0.24	9.06	0.24	1.34361	19.05	0.23	18.92	0.25
1.33784	9.36	0.27	9.30	0.25	1.34375	19.28	0.23	19.17	0.23
1.33799	9.63	0.24	9.55	0.26	1.34389	19.51	0.24	19.40	0.22
1.33813	9.87	0.25	9.81	0.24	1.34403	19.75	0.23	19.62	0.24
1.33827	10.12	0.23	10.05	0.24	1.34417	19.98	0.24	19.86	0.23
1.33841	10.35	0.26	10.29	0.25	1.34431	20.22	0.22	20.09	0.24
1.33856	10.61	0.25	10.54	0.24	1.34445	20.44	0.21	20.33	0.21
1.33870	10.86	0.24	10.78	0.24	1.34458	20.65	0.24	20.54	0.22
1.33884	11.10	0.23	11.02	0.24	1.34472	20.89	0.22	20.76	0.23
1.33898	11.33	0.24	11.26	0.24	1.34486	21.11	0.23	20.99	0.22
1.33912	11.47	0.24	11.50	0.24	1.34500	21.34	0.21	21.21	0.23
1.33926	11.81	0.24	11.74	0.24	1.34513	21.55	0.23	21.44	0.21
1.33940	12.05	0.25	11.98	0.24	1.34527	21.78	0.22	21.65	0.22
1.33955	12.30	0.23	12.22	0.24	1.34541	22.00	0.23	21.87	0.23
1.33969	12.53	0.23	12.46	0.23	1.34555	22.23	0.21	22.10	0.21
1.33983	12.76	0.24	12.69	0.23	1.34568	22.44	0.23	22.31	0.23
1.33997	13.00	0.23	12.92	0.23	1.34582	22.67	0.23	22.54	0.21
1.34011	13.23	0.24	13.15	0.25	1.34596	22.90	0.23	22.75	0.21
1.34025	13.47	0.23	13.40	0.22	1.34610	23.13	0.20	22.96	0.21
1.34039	13.70	0.23	13.62	0.24	1.34623	23.33	0.24	23.17	0.23
1.34053	13.93	0.23	13.86	0.23	1.34637	23.57	0.24	23.40	0.21
1.34067	14.16	0.25	14.09	0.23	1.34651	23.81	0.23	23.61	0.24
1.34081	14.41	0.25	14.32	0.25	1.34665	24.04	0.22	23.85	0.24
1.34096	14.66	0.23	14.57	0.24	1.34678	24.26	0.22	24.09	0.22
1.34110	14.89	0.24	14.81	0.25	1.34692	24.48	0.24	24.31	0.25
1.34124	15.13	0.23	15.06	0.22	1.34706	24.72	0.23	24.56	0.22
1.34138	15.36	0.23	15.28	0.22	1.34720	24.95	0.21	24.78	0.22
1.34152	15.59	0.24	15.50	0.24	1.34733	25.16	0.24	25.00	0.23
1.34166	15.83	0.23	15.74	0.22	1.34747	25.40	0.22	25.23	0.22
1.34180	16.06	0.23	15.96	0.23	1.34760	25.62	0.24	25.45	0.25
1.34194	16.29	0.23	16.19	0.22	1.34774	25.86	0.24	25.70	0.23
1.34208	16.52	0.24	16.41	0.24	1.34788	26.10	0.22	25.93	0.22

MA-F-AS312-02-TALVOL

Méthanol

1. Principe des méthodes

Méthode de référence : Le méthanol est déterminé par chromatographie en phase gazeuse sur le distillat du vin, additionné d'un étalon interne.

Méthode usuelle : Le méthanol est oxydé en méthanal par le permanganate de potassium acidulé par l'acide phosphorique sur le distillat du vin amené par dilution à contenir 5% vol. Le méthanal est ensuite dosé grâce à la coloration violette qu'il donne en milieu sulfurique avec l'acide chromotrope, l'intensité de la coloration étant déterminée au spectrophotomètre à 575 nm.

2. Méthode de référence

2.1 Appareillage

Chromatographe en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme.

Colonnes :

- Carbowax 1540, enrobé à 10 p. 100 en poids sur du Chromosorb W, 60-80 mesh, dans une colonne en acier inoxydable de 7,5 m de long et 1/8 de pouce de diamètre.
- Carbowax 400 à 5 p. 100 et Hallcomid M. 18 OL à 1 p. 100 enrobés sur Chromosorb W, 60-80 mesh, dans une colonne en acier inoxydable de 7,5 m de long et 1/8 de pouce de diamètre.

Dans les deux cas, le Chromosorb W est préalablement activé par chauffage à l'étuve à 750-800 °C pendant 4 heures.

Remarque : D'autres types de colonnes peuvent également permettre une bonne séparation. Le mode opératoire décrit ci-dessous est donné à titre d'exemple.

2.2 Mode opératoire

Préparer une solution hydroalcoolique à 1 g/l de l'étalon interne 4-méthylpentan-2-ol) dans l'alcool à 10% vol.

Préparer la solution à doser en ajoutant 5 ml de cette solution à 50 ml de distillat de vin obtenu comme il est indiqué au chapitre *Titre alcoométrique*.

Préparer une solution de référence de méthanol à 100 mg/l dans l'éthanol à 10% vol. Ajouter 5 ml de solution d'étalon interne à 50 ml de cette solution.

Injecter dans le chromatographe 2 µl de la solution de référence, additionnée de l'étalon interne.

La température du four est de 90 °C et le débit du gaz vecteur de 25 ml/min.

2.3 Calculs

Soit :

S = la surface du pic du méthanol dans la solution de référence,

S_x = la surface du pic du méthanol dans la solution à doser,

i = la surface du pic d'étalon interne dans la solution à doser,

I = la surface du pic de l'étalon interne dans la solution de référence.

La teneur en méthanol, exprimée en milligrammes par litre, est donnée par la relation :

$$100 \times \frac{I}{i} \times \frac{S_x}{S}$$

3. Méthode usuelle

3.1 Réactifs

3.1.1 Acide chromotropique

Acide 4,5–dihydroxynaphthalène–2,7–di-sulfonic 2,7 ($C_{10}H_8O_8S_2, 2H_2O$) de poids moléculaire 356,34 g.

Poudre blanche ou brun clair, soluble dans l'eau. On emploie également le sel disodique de cet acide qui se présente sous forme d'un produit jaune ou brun clair, très soluble dans l'eau.

Purification – L'acide chromotropique doit être pur et ne donner qu'une coloration négligeable dans l'essai à blanc des réactifs préparés avec lui. Dans le cas contraire, on peut le purifier par le procédé suivant :

Dissoudre 10 g d'acide chromotropique ou de sel dans 25 ml d'eau distillée. Si c'est le sel qui a été utilisé, ajouter 2 ml d'acide sulfurique concentré ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) pour libérer l'acide. Ajouter 50 ml de méthanol, chauffer à l'ébullition et filtrer. Ajouter 100 ml de propan–2–ol pour précipiter l'acide libre pur cristallisé, laisser sécher à froid les cristaux essorés.

Réaction – L'addition de chlorure de fer III (1 goutte) à 10 ml d'une solution à 0,1 g‰ donne une coloration verte.

Essai de sensibilité - Diluer 0,5 ml de soluté officinal de formaldéhyde à 1000 ml avec de l'eau. A 5 ml de solution à 0,05 p. 100 d'acide chromotropique dans l'acide sulfurique à 75% (v/v), ajouter 0,1 ml de solution de formaldéhyde ci-dessus et chauffer à 70 °C pendant 20 min. Il doit se produire une coloration violette.

3.1.2 Solution d'acide chromotropique à 0,05 p. 100 dans l'acide sulfurique à 75% (v/v).

Dissoudre 50 mg d'acide chromotropique ou de son sel de sodium dans 35 ml d'eau distillée. Placer cette solution dans un bain d'eau et de glace et ajouter avec précaution par petites portions et en agitant 75 ml d'acide sulfurique concentré ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

Cette solution doit être préparée au moment de l'emploi.

3.1.3 Solution étalon de méthanol à 5 g/l d'alcool à 5% vol.

Méthanol pur ($E_{760} = 64,7 \pm 0,2$ °C)	0.5 g
Alcool absolu (exempt de méthanol)	50 ml
Eau distillée q.s.p.	1 litre

3.1.4 Solution de dilution

Alcool absolu (exempt de méthanol)	50 ml
Eau distillée q.s.p.	1 litre

3.1.5 *Solution d'acide phosphorique à 50 p. 100 (m/v)*

3.1.6 *Solution de permanganate de potassium à 5 p. 100 (m/v)*

3.1.7 *Solution de sulfite neutre de sodium à 2 p. 100 (m/v)*

Solution rapidement oxydée par l'air. Vérifier son titre par titrage iodométrique.

3.2 *Mode opératoire*

Diluer le distillat de vin (voir chapitre *Titre alcoométrique*) de manière à ramener son titre alcoométrique à 5% vol.

Dans un tube à essai bouché à l'émeri, placer 0,5 ml de ce distillat dilué, ajouter 1 goutte d'acide phosphorique à 50 p. 100, 2 gouttes de solution de permanganate de potassium à 5 p. 100, agiter et laisser au repos 10 min.

Décolorer le permanganate par quelques gouttes, 4 en général, de solution à 2 p. 100 de sulfite neutre de sodium (éviter tout excès). Ajouter 5 ml de solution sulfurique d'acide chromotrope à 0,05%. Porter dans un bain d'eau à 70 °C pendant 20 min. Laisser refroidir.

Déterminer l'absorbance A_S , à 570 nm, le zéro de l'échelle des absorbance étant réglé sur le témoin préparé avec 0,5 ml de solution de dilution.

Etablissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de ballons jaugés de 50 ml, placer 2,5-5-10-15-20-25 ml de solution de méthanol à 0,5 g/l dans l'alcool à 5 p. 100. Compléter au trait de jauge avec la solution hydroalcoolique de dilution à 5 p. 100. Ces solutions contiennent, par litre, dans l'alcool à 5% vol., 25-50-100-150-200-250 mg de méthanol.

Traiter 0,5 ml de solution hydroalcoolique de dilution et 0,5 ml de chacune de ces solutions étalons, simultanément et selon la même technique que le distillat de vin ramené à une teneur en alcool de 5% vol.

Déterminer l'absorbance de ces solutions à 570 nm, dans les conditions ci-dessus.

La représentation graphique des absorbances des solutions étalons en fonction des concentrations est une droite.

3.3 *Calculs*

Déterminer la teneur en méthanol, exprimée en mg/l du distillat de vin ramené à un titre alcoométrique de 5% vol., en reportant A_S sur la droite d'étalonnage.

Exprimer la teneur du vin en mg/l en tenant compte de la dilution effectuée pour ramener son titre à 5% vol.

Glycérol et Butane-2,3-diol

Méthode de référence

1. Principe

Après un traitement par une colonne de résine échangeuse d'anions pour fixer les sucres et une quantité importante de mannitol et de sorbitol, on oxyde le glycérol et le butane-2,3-diol par de l'acide périodique. La combinaison obtenue par action de la phloroglucine sur le méthanal, lui-même formé par oxydation du glycérol, est dosée colorimétriquement à 480 nm. La combinaison de la pipéridine et du nitroprussiate de sodium avec l'éthanal formé par oxydation du butane-2,3-diol est dosée colorimétriquement à 570 nm.

2. Appareillage

- 2.1. Colonne de verre de 300 mm environ de longueur et de 10 - 11 mm de diamètre intérieur munie d'un régulateur de débit (robinet).
- 2.2. Spectrophotomètre permettant des mesures entre 300 et 700 nm et cuves de 1 cm de trajet optique.

3. Réactifs

- 3.1. Glycérol, $C_3H_8O_3$
- 3.2. Butane-2,3-diol, $C_4H_{10}O_2$
- 3.3. Échangeur d'anions de forte basicité, par exemple échangeur III de Merck ou Amberlite IRA 400.
- 3.4. Polyvinylpyrrolidone polymérisé (PVPP). (Voir *Codex œnologique international*).
- 3.5. Solution d'acide périodique 0,1 M dans de l'acide sulfurique 0,05 M :
Peser 10,696 g de métaperiodate de sodium ($NaIO_4$) ; dissoudre dans un ballon jaugé de 500 ml avec 50 ml d'acide sulfurique 0,5 M ; amener au trait de jauge avec de l'eau distillée.
- 3.6. Solution d'acide périodique 0,05 M dans de l'acide sulfurique 0,025 M :
Diluer la solution précédente avec de l'eau distillée 1 + 1.
- 3.7. Solution d'acide sulfurique 0,5 M.
- 3.8. Solution d'hydroxyde de sodium 1 M.
- 3.9. Solution d'hydroxyde de sodium à 5 p. 100 (m/v).
- 3.10. Alcool à 96% 100 vol.
- 3.11. Solution de phloroglucine à 2 p. 100 (m/v) à renouveler tous les jours.
- 3.12. Solution d'acétate de sodium anhydre, $Na CH_3COO$ à 27 p. 100 (m/v).
- 3.13. Solution de nitropentacyanoferrate II (nitroprussiate) de sodium, $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$ à 2 p. 100 (m/v) à renouveler tous les jours.
- 3.14. Solution de pipéridine $C_5H_{11}N$ à 25 p. 100 (v/v) ; à renouveler tous les jours.

3.15. Solution étalon de Glycérol.

Préparer une solution contenant 250 mg dans 100 ml de l'échantillon du glycérol dont on dispose et déterminer le titre en glycérol de cet échantillon par la méthode enzymatique ou par periodimétrie (voir ci-dessous en 6).

Préparer ensuite la solution étalon de glycérol en pesant dans une fiole jaugée de 100 ml une masse « m » correspondant à 250 mg de glycérol pur ; porter au trait de jauge avec de l'eau.

3.16. Solution étalon de butane-2,3-diol

Préparer une solution contenant 250 mg dans 100 ml de l'échantillon de butane-2,3-diol dont on dispose et déterminer le titre en butane-2,3-diol de cet échantillon par periodimétrie (voir ci-dessous en 6).

Préparer ensuite la solution étalon de butane-2,3-diol en pesant dans une fiole jaugée de 100 ml une masse « m » correspondant à 250 mg de butane-2,3-diol pur ; porter au trait de jauge avec de l'eau.

3.17 Solution cupro-alkaline.

Solution cuprique A

Sulfate de cuivre, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	40 g
Acide sulfurique ($r=1.84 \text{ g/mL}$)	2 ml
Eau q.s.p	1000 ml

Solution tartro-alkaline B

Tartrate de sodium et de potassium,

$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	200 g
Hydroxyde de sodium	150 g
Eau q.s.p	1000 ml

La solution cupro-alkaline est obtenue en mélangeant, au moment de l'emploi, les solutions A et B à parties égales.

4. Mode opératoire

4.1. *Préparation de la colonne d'échangeur d'anions*

La résine échangeuse d'anions (qui se trouve en général sous la forme Cl^-) doit être conservée dans un flacon en étant recouverte d'eau distillée décarboniquée.

Introduire 30 ml de résine échangeuse d'anions dans la colonne. Placer à la partie supérieure de la colonne un tampon de coton de verre ; on évite ainsi les inclusions d'air dans le lit de résine. Faire passer 150 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 5 p. 100 avec un débit de 3,5 à 5 ml par minute et faire passer ensuite avec le même débit une quantité d'eau distillée décarboniquée jusqu'à réaction neutre ou légèrement alcaline à la phénolphaléine. La résine est alors prête à l'emploi.

L'échangeur d'anions ne peut servir qu'une seule fois. Après, il doit être régénéré avec de l'acide chlorhydrique à 5 p. 100 pendant quelques heures ; on lave ensuite avec de l'eau jusqu'à ce que l'eau de rinçage soit exempte de chlorures (vérifier l'absence de chlorures).

4.2. Préparation de l'échantillon

Diluer le vin au 1/5 (10 ml/50 ml).

Dans le cas de vins fortement colorés, procéder à une décoloration préalable au moyen de PVPP : placer 10 ml de vin dans une fiole jaugée de 50 ml ; diluer avec de l'eau (20 ml) et ajouter 300 mg de PVPP ; agiter de temps en temps pendant 20 minutes, ajuster au trait de jauge et filtrer sur papier filtre plissé.

Prélever 10 ml de la dilution de vin (traité ou non au PVPP) et les mettre sur l'échangeur d'anions. Laisser le vin dilué s'écouler goutte à goutte de façon à ne pas dépasser un débit de 2 ml par minute. Quand le niveau du vin dilué arrive à 5-10 mm au-dessus du coton de verre, faire passer de l'eau distillée décarboniquée en quantité suffisante pour amener le volume de l'éluat à 100 ml, à la vitesse de 2-3 ml par minute. Il faut vérifier que l'éluat est exempt de sucres. Pour cela, on fait bouillir brièvement 5 ml d'éluat avec 5 ml de solution cuproalcaline ; il ne doit se produire ni coloration ni précipité.

4.3. Dosage du glycérol.

4.3.1. Dosage photométrique.

Introduire dans une fiole conique de 100 ml à bouchage émeri :

10 ml d'éluat et ajouter successivement

10 ml d'eau distillée et

10 ml de solution 0,05 M d'acide périodique.

Agiter avec précaution pour bien mélanger et laisser l'oxydation s'effectuer pendant 5 minutes (exactement mesurées). Ajouter ensuite : 10 ml de solution d'hydroxyde de sodium 1 M et 5 ml d'alcool à 96% vol.

Agiter après chaque addition, puis ajouter : 10 ml de solution de phloroglucine.

Mélanger rapidement et transvaser la solution dans la cuve spectrophotométrique de 1 cm de trajet optique. La coloration violette obtenue évolue très rapidement, son intensité passe par un maximum au bout de 50 à 60 secondes et diminue ensuite. Noter l'absorbance maximale. La mesure est effectuée à la longueur d'onde de 480 nm par rapport à l'aire.

4.3.2. Etablissement de la courbe d'étalonnage.

Mettre dans des fioles jaugées de 100 ml :

3,0 – 4,0 – 5,0 - 6,0 – 7,0 et 8,0 ml de solution étalon de glycérol et ajuster aux traits de jauge avec de l'eau distillée.

Ces solutions correspondent, dans les conditions décrites au point 4.2., aux concentrations suivantes :

3,75 – 5,00 – 6,25 – 7,50 – 8,75 et 10,00 g/l de glycérol.

Procéder au dosage décrit en 4.3.1. en mettant à chaque fois le même volume de solution-étalon à la place de l'éluat. La droite d'étalonnage ne passe pas par l'origine.

4.4. *Dosage du butane-2,3-diol*

4.4.1. Dosage photométrique

Introduire dans une fiole conique de 100 ml à bouchage émeri :

20 ml d'éluat et ajouter successivement :

5 ml de la solution d'acétate de sodium et

5 ml de la solution 0,1 M d'acide périodique.

Agiter doucement pour mélanger et laisser au repos 2 minutes exactement pour que l'oxydation se produise.

Ajouter :

5 ml de la solution de nitropentacyanoferrate II (nitroprussiate) et

5 ml de la solution de pipéridine.

Transvaser la solution dans la cuve spectrophotométrique de 1 cm d'épaisseur. La coloration violette obtenue évolue très rapidement : son intensité est maximale au bout de 30 à 40 secondes et diminue ensuite. Noter l'absorbance maximale. La mesure est effectuée à la longueur d'onde de 570 nm par rapport à l'aire.

4.4.2. *Etablissement de la courbe d'étalonnage*

Mettre 10,0 ml de solution étalon de butane-2,3-diol dans une fiole jaugée de 100 ml et ajuster au trait de jauge avec de l'eau distillée. A partir de cette solution, préparer les solutions étalons en mettant respectivement dans des fioles jaugées de 100 ml :

2,0 – 4,0 – 6,0 – 8,0 et 10,0 ml et en ajustant à chaque fois au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Ces solutions correspondent, dans les conditions décrites au point 4.2., aux concentrations suivantes :

0,25 – 0,50 – 0,75 – 1,00 et 1,25 g/l de butane-2,3-diol.

Procéder au dosage décrit au point 4.4.1. en mettant à la place de l'éluat le même volume de chacune des solutions étalons. La droite d'étalonnage ne passe pas par l'origine.

5. Calcul et expression des résultats

5.1. *Glycérol*

5.1.1. Mode de calcul

Lire la teneur en glycérol sur la courbe d'étalonnage. Le résultat s'exprime en g/l avec une décimale.

5.2. *Butane-2,3-diol*

5.2.1. Mode de calcul

Lire la teneur en butane-2,3-diol sur la courbe d'étalonnage. Le résultat s'exprime en g/l avec deux décimales.

6. Titrage Périodimétrique du glycérol et du butane-2,3-diol.

6.1. Réactifs.

6.1.1. Solution d'hydroxyde de sodium 1 M

6.1.2. Solution d'acide sulfurique 0,5 M

6.1.3. Solution d'acide périodique 0,025 M

6.1.4. Solution d'hydrogénocarbonate de sodium, NaHCO₃ à 8 p. 100 (m/v).

6.1.5 Solution d'arsénite de sodium 0,025 M.

Dans une fiole jaugée de 1000 ml, dissoudre 2,473 g d'anhydride arsénieux, As₂O₃ avec 30 ml d'hydroxyde de sodium 1 M, ajouter 35 ml d'acide sulfurique 0,5 M et ajuster au trait de jauge avec de l'eau distillée.

6.1.6. Solution d'iode 0,025 M.

6.1.7. Solution d'iodure de potassium à 10 p. 100 (m/v).

6.1.8. Solution d'empois d'amidon à 2 p. 100 (m/v).

6.2. Mode opératoire

Dans une fiole conique de 300 ml, mettre :

5 ml de la solution de l'échantillon de glycérol (3.15)

45 ml d'eau distillée

ou 25 ml de la solution de l'échantillon de butane-2,3-diol (3.16)

25 ml d'eau distillée.

Ajouter alors :

20 ml d'acide périodique 0,025 M, puis laisser au repos 15 minutes en agitant de temps en temps,

10-20 ml de solution d'hydrogénocarbonate de sodium

20 ml de la solution d'arsénite de sodium,

Laisser au repos 15 minutes en agitant de temps en temps, ajouter :

5 ml de la solution d'iodure de potassium

2 ml d'empois d'amidon.

Titre l'arsénite de sodium excédentaire avec la solution d'iode 0,025 M.

Effectuer parallèlement un essai à blanc en utilisant 50 ml d'eau distillée et les mêmes quantités de réactifs.

6.3. Mode de calcul

6.3.1. Glycérol

1 ml d'acide périodique 0,025 M oxyde 1,151 mg de glycérol.

La teneur en glycérol en g/l de la solution de l'échantillon de glycérol (3-15) est :

$$G = \frac{(X-B) \times 1,151}{\alpha}$$

Le titre en p. 100 en glycérol de l'échantillon de glycérol (3.1) utilisé est :

$$\frac{G}{2,5} \times 100$$

X = ml de la solution d'iode 0,025 M. consommés par la solution de l'échantillon utilisé (3.15).

B = ml de la solution d'iode 0,025 M consommés dans l'essai à blanc.

a = ml de la prise d'essai de la solution (3.15) (égal à 5 ml)

6.3.2. Butane-2,3-diol

1 ml d'acide périodique 0,025 M oxyde 2,253 mg de butane-2,3-diol.

La teneur en 2,3-butanediol en g/l de la solution de l'échantillon de butane-2,3-diol (3.16.) est :

$$BD = \frac{(X' - B') \times 2,253}{b}$$

Le titre en p.100 en butane-2,3-diol de l'échantillon de butane-2,3-diol (3.2) utilisé est

$$\frac{BD}{2,5} \times 100$$

X' = ml de la solution d'iode 0,025 M. consommés par la solution de l'échantillon utilisé (3.16).

B' = ml de la solution d'iode 0,025 M consommés dans l'essai à blanc

B = ml de la prise d'essai de la solution (3.16) (égal à 25 ml).

BIBLIOGRAPHIE

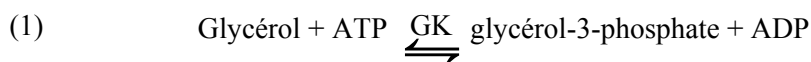
- REBELEIN H., *Z. Lebensm. Unters. U. Forsch.*, 1957, **4**, 296, *F.V. O.I.V.*, N° 63.
TERCERO C., SANCHEZ O., *F.V. O.I.V.*, 1977, n° 651 et 1981, N° 731

Glycérol

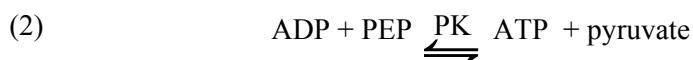
MÉTHODE USUELLE

1. Principe

La glycérokinase (GK) catalyse la phosphorylation du glycérol en glycérol-3-phosphate par l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) (1) :



L'adénosine-5'-diphosphate (ADP) formé est à nouveau transformé en ATP par le phosphoénol-pyruvate (PEP) en présence de pyruvate-kinase (PK) avec formation de pyruvate (2) :



Le pyruvate est réduit en lactate par le nicotinamide-adénine dinucléotide réduit (NADH) en présence de lactate-déshydrogénase (LDH) (3) :



La quantité de NAD⁺ formé durant la réaction est proportionnelle à la quantité de glycérol. L'oxydation de NADH est mesurée par la diminution de son extinction à la longueur d'onde de 334 nm, 340 nm ou 365 nm.

2. Appareillage

2.1. Spectrophotomètre permettant d'effectuer les mesures à 340 nm, maximum d'absorption du NADH.

A défaut, photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm ou à 365 nm.

2.2. Cuves de verre de 1 cm de trajet optique ou cuves à usage unique.

2.3. Micropipettes permettant de prélever des volumes allant de 0,02 à 2 ml.

3. Réactifs

3.1. Tampon (glycylglycine 0,75 M, Mg²⁺ 10⁻³ M, pH = 7,4) :

Dissoudre 10,0 g de glycylglycine et 0,25 g de sulfate de magnésium, MgSO₄·7H₂O, dans environ 80 ml d'eau bidistillée ; ajouter environ 2,4 ml de NaOH (5M) pour obtenir un pH de 7,4 et ajuster le volume à 100 ml.

Cette solution peut se conserver environ trois mois à + 4°C.

3.2. (NADH $8,2 \cdot 10^{-3}$ M, ATP $33 \cdot 10^{-3}$ M, PEP $46 \cdot 10^{-3}$ M)

Dissoudre :

42 mg de nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit – Na₂,
120 mg d'adénosine-5'-triphosphate, Na₂H₂,
60 mg de phosphoénolpyruvate, Na et
300 mg d'hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO₃)
dans 6 ml d'eau bidistillée.

Cette solution se conserve pendant 2-3 jours à + 4 °C.

3.3. Pyruvate-kinase/lactate-déshydrogénase (PK/LDH)

(PK 3 mg /ml, LDH 1 mg /ml)

Utiliser la suspension sans la diluer.

Le mélange peut se conserver environ un an à + 4 °C.

3.4. Glycérokinase, (GK 1 mg/ml)

La suspension peut se conserver environ un an à + 4 °C.

Remarque : L'ensemble des réactifs nécessaires pour ce dosage est disponible dans le commerce.

4. Préparation de l'échantillon

Le dosage du glycérol s'effectue généralement directement sur le vin, après dilution avec de l'eau bidistillée de sorte que la concentration en glycérol de la dilution se situe entre 30 et 500 mg/l (quantité de glycérol dans la prise d'essai comprise entre 3 et 50 µg). Une dilution au $1/50$ (2 ml dans 100 ml) est généralement suffisante.

5. Mode opératoire

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, les mesures d'absorbance se font dans les cuves de 1 cm de trajet optique, l'absorbance zéro étant réglée par rapport à l'air (pas de cuve sur le trajet optique).

Dans les cuves de 1 cm de trajet optique introduire :

	Témoin	Dosage
Solution 3.1	1,00 ml	1,00 ml
Solution 3.2	0,10 ml	10,10 ml
Essai	-	0,10 ml
Eau	2,00 ml	1,90 ml
Suspension 3.3.	0,01 ml	0,01 ml

Mélanger ; au bout de 5 min. environ, lire les absorbances (A₁). Déclencher la réaction par addition de :

Suspension 3.4 0,01 ml 0,01 ml

Mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 5 à 10 min.) et lire les absorbances des solutions (A₂). Si la réaction n'est pas terminée au bout de 10 min., continuer à lire les absorbances de 2 min. en 2 min., jusqu'à ce que la diminution de l'absorbance soit constante sur 2 min.

Déterminer les différences d'absorbance :

$$A_2 - A_1$$

pour le témoin et pour le dosage.

Déduire la différence d'absorbance du témoin (ΔA_T) de celle du dosage (ΔA_D) et établir :

$$(\Delta A = (\Delta A_D) - (\Delta A_T))$$

6. Expression des résultats

6.1. Mode de calcul

La concentration en grammes par litre est donnée par la formule générale :

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

V = volume du test en ml (ici 3,12 ml)

V = volume de l'échantillon en ml (ici 0,1 ml)

PM = poids moléculaire de la substance à doser (ici glycérol = 92,1)

d = trajet optique de la cuve (ici 1 cm)

ε = coefficient d'absorption du NADH à 340 nm :

$$\varepsilon = 6,3 \text{ (mmole}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}\text{)}$$

On obtient :

$$C = 0,456 \times \Delta A \times F$$

F = facteur de dilution

Remarque :

- mesure à 334 nm, $\varepsilon = 6,2 \text{ (mmole}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}\text{)}$

$$C = 0,463 \times \Delta A \times F$$

- mesure à 365 nm ; $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmole}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}\text{)}$

$$C = 0,845 \times \Delta A \times F$$

BIBLIOGRAPHIE

BOEHRINGER , Mannheim, *Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire*, documentation technique.

**DETERMINATION PAR SPECTROMETRIE DE MASSE
ISOTOPIQUE DU RAPPORT D'ISOTOPES $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ DE
L'ETHANOL DU VIN OU DE CELUI OBTENU PAR
FERMENTATION DES MOÛTS, DES MOÛTS
CONCENTRES OU DU SUCRE DE RAISIN**

1. CHAMP D'APPLICATION

La méthode permet la mesure du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'éthanol du vin et de celui de l'éthanol obtenu après fermentation des produits dérivés de la vigne (moût, moût concentré, sucre de raisin).

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

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 C₃ (cycle de Calvin) et C₄ (Hatch et Slack). Ces deux mécanismes de photosynthèse présentent un fractionnement isotopique différent. Ainsi, les produits issus des plantes C₄, 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 C₃. La plupart des végétaux tels que la vigne et la betterave, appartiennent au groupe C₃. La canne à sucre et le maïs appartiennent au groupe C₄. La mesure de la teneur en carbone 13 permet donc la détection et la quantification du sucre d'origine C₄ (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 C₃ et C₄.

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 (¹²C¹⁶O₂), 45 (¹³C¹⁶O₂ et ¹²C¹⁷O¹⁶O) et 46 (¹²C¹⁶O¹⁸O), résultant des différentes combinaisons possibles des isotopes ¹⁸O, ¹⁷O, ¹⁶O, ¹³C et ¹²C, sont déterminées à partir des courants ioniques mesurés sur trois collecteurs différents d'un spectromètre de masse isotopique. Les contributions des isotopomères ¹³C¹⁷O¹⁶O et ¹²C¹⁷O₂ peuvent être négligées en raison de leur très faible abondance. Le courant ionique pour m/z = 45 est corrigé de la contribution de ¹²C¹⁷O¹⁶O qui est calculée en fonction de l'intensité du courant mesuré pour m/z = 46 en considérant les abondances relatives de ¹⁸O et ¹⁷O (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 δ¹³C.

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 ‰

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 anhydron 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 cryopiégeage 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.

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.

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 du vin avant détermination isotopique. Cette extraction est effectuée par la distillation du vin comme décrit dans §3.1 de la méthode RMN-FINS.

Dans le cas du moût de raisins, du moût de raisins concentré et du moût de raisins concentré rectifié (sucre de raisin), les sucres doivent être fermentés en éthanol, d'abord comme décrit dans §3.2 de la méthode RMN-FINS.

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 :

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).
- 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 $^{13}C/^{12}C$ de l'éthanol extrait à partir du vin ou à partir des produits dérivés du raisin après fermentation. Le rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$ peut être exprimé par sa déviation par rapport à une référence de travail. La déviation isotopique carbone 13 ($\delta^{13}C$) 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 $\delta^{13}C$ sont exprimées par rapport à la référence de travail selon :

$$\delta^{13}C_{ech/ref} \text{‰} = 1000 \times (R_{ech} - R_{ref}) / R_{ref}$$

où R_{ech} et R_{ref} sont respectivement les rapports isotopiques $^{13}C/^{12}C$ de l'échantillon et ceux de la référence de travail.

Les valeurs $\delta^{13}C$ sont alors exprimées par rapport au V-PDB selon :

$$\delta^{13}C_{ech/V-PDB} \text{‰} = \delta^{13}C_{ech/ref} + \delta^{13}C_{ref/V-PDB} + (\delta^{13}C_{ech/ref} \times \delta^{13}C_{ref/V-PDB}) / 1000$$

où $\delta^{13}C_{ref/V-PDB}$ est la déviation isotopique préalablement déterminée pour la référence de travail contre le V-PDB.

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 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. Les paramètres de fidélité observés pour les vins sont quasiment identiques à ceux obtenus lors de l'étude collaborative (11.1) sur les distillats.

11.1. Étude collaborative sur les distillats

Année de l'essai interlaboratoires : 1996
Nombre de laboratoires : 20
Nombre d'échantillons aveugle : 6 échantillons en double
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 INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSE – OIV
Ethanol

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
S_r^2	0,006 4	0,007 7	0,003 1	0,012 7	0,006 9	0,004 1
Écart-type de répétabilité (S_r) ‰	0,08	0,09	0,06	0,11	0,08	0,06
Limite de répétabilité r ($2,8 \times S_r$) ‰	0,22	0,25	0,16	0,32	0,23	0,18
S_R^2	0,038 9	0,030 9	0,038 2	0,045 9	0,031 6	0,058 4
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

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
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 :

Date	Vins				Distillats			
	N	S _R	S ² _R	R	N	S _R	S ² _R	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

12. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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.

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.

Acidité totale

1. Définition

L'acidité totale est la somme des acidités titrables lorsqu'on amène le pH à 7 par addition d'une solution alcaline titrée.

Le dioxyde de carbone n'est pas compris dans l'acidité totale.

2. Principe de la méthode

Titration potentiométrique ou titration en présence de bleu de bromothymol comme indicateur de fin de réaction par comparaison à un étalon de coloration.

3. Appareillage

3.1. Trompe à vide à eau.

3.2. Fiole à vide de 500 ml.

3.3. Potentiomètre à échelle étalonnée en unités pH et électrodes. L'électrode de verre doit être conservée dans l'eau distillée. L'électrode au calomel-chlorure de potassium saturé doit être conservée dans une solution saturée de chlorure de potassium.

3.4. Vases cylindriques de 12 cm de diamètre.

4. Réactifs

4.1. Solution tampon pH 7,0 :

Phosphate monopotassique KH_2PO_4	107,3 g
Solution M d'hydroxyde de sodium	500 ml
Eau q.s.p.	1 000 ml

La solution tampon pH 7 du commerce peut également être utilisée.

4.2. Solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium.

4.3. Solution de bleu de bromothymol à 4 g/l.

Bleu de bromothymol ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$)	4 g
Alcool neutre 96 % vol.	200 ml

Après solubilisation ajouter :

Eau sans CO_2	200 ml
Solution M d'hydroxyde de sodium, q.s.p. coloration bleu-vert (pH 7)	7,5 ml
Eau q.s.p.	1000 ml

5. Mode opératoire

5.1. *Préparation de l'échantillon* : Élimination du dioxyde de carbone.

Placer environ 50 ml de vin dans une fiole à vide, agiter et en même temps faire le vide au moyen de la trompe à vide à eau. L'agitation doit durer 1 à 2 minutes.

5.2. *Titration potentiométrique*

5.2.1. Étalonage du pH mètre

L'étalonnage du pH mètre s'effectue à 20 °C en suivant les indications données pour l'appareil utilisé avec la solution tampon de pH 7,00 à 20 °C.

5.2.2. Technique d'une mesure

Dans un vase cylindrique (3.4) placer 10 ml de vin préparé comme indiqué en 5.1.

Ajouter 10 ml environ d'eau distillée et verser à la burette la solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium jusqu'à ce que le pH soit égal à 7 à 20 °C.

L'addition de solution alcaline doit être faite lentement et la solution constamment agitée. Soit n le nombre de millilitres de NaOH 0,1 M versés.

5.3. *Titration avec indicateur (bleu de bromothymol)*

5.3.1. Essai préalable : établissement de l'étalon de coloration

Dans un vase cylindrique (3.4), placer 25 ml d'eau distillée bouillie, 1 ml de solution de bleu de bromothymol et 10 ml de vin préparé comme indiqué en 5.1.

Ajouter la solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium jusqu'à obtention d'une coloration bleu-vert. Ajouter 5 ml de la solution tampon pH 7

5.3.2. Dosage

Dans un vase cylindrique (3.4), placer 30 ml d'eau distillée bouillie, 1 ml de solution de bleu de bromothymol et 10 ml de vin préparé comme indiqué en 5.1.

6. Expression des résultats

6.1. *Mode de calcul*

L'acidité totale exprimée en milliéquivalents par litre sera :

$$A = 10 n$$

Elle est donnée avec une décimale.

L'acidité totale exprimée en grammes d'acide tartrique par litre sera :

$$A' = 0,075 \times A$$

Elle est donnée avec deux décimales.

L'acidité totale exprimée en grammes d'acide sulfurique par litre sera :

$$A' = 0,049 \times A$$

Elle est donnée avec deux décimales.

6.2. *Répétabilité* (*r*) pour le titrage avec indicateur 5.3.) :

$$r = 0,9 \text{ meq/l}$$

$$r = 0,04 \text{ g d'acide sulfurique/l,}$$

$$r = 0,07 \text{ g d'acide tartrique/l .}$$

6.3. *Reproductibilité* (*R*) pour le titrage avec indicateur (5.3).

Pour les vins blancs et rosés :

$$R = 3,6 \text{ meq/l}$$

$$R = 0,2 \text{ g d'acide sulfurique/l,}$$

$$R = 0,3 \text{ g d'acide tartrique/l .}$$

Pour les vins rouges :

$$R = 5,1 \text{ meq/l}$$

$$R = 0,3 \text{ g d'acide sulfurique/l,}$$

$$R = 0,4 \text{ g d'acide tartrique/l .}$$

BIBLIOGRAPHIE

Méthode usuelle :

SEMICHON L., FLANZY M., *Ann. Fals. Fraudes*, 1930, **23**,5.

FÉRE L., *Ibid.*, 1931, **24**, 75.

JAULMES P., *Bull. O.I.V.*, 1953, 26, n° 274, 42; *Ann. Fals. Fraudes*, 1955, **48**, 157.

Acidité volatile

1. Définition

L'acidité volatile est constituée par les acides appartenant à la série acétique qui se trouvent dans le vin à l'état libre et à l'état salifié.

2. Principe de la méthode

Titration des acides volatils séparés du vin par entraînement à la vapeur d'eau et rectification des vapeurs.

Le vin est au préalable débarrassé du dioxyde de carbone.

L'acidité du dioxyde de soufre libre et du dioxyde de soufre combiné distillés dans ces conditions doit être retranchée de l'acidité du distillat.

L'acidité de l'acide sorbique éventuellement ajouté au vin doit également être retranchée.

Remarque : L'acide salicylique utilisé dans certains pays pour stabiliser les vins préalablement à l'analyse se retrouve en partie dans le distillat. Il est nécessaire de le doser et de le défalquer de l'acidité. La méthode de dosage est donnée en annexe de ce chapitre.

3. Appareillage

3.1. Appareil à entraînement à la vapeur d'eau composé :

- d'un générateur de vapeur d'eau; la vapeur d'eau produite doit être exempte de dioxyde de carbone,
- d'un barboteur,
- d'une colonne rectificatrice,
- d'un réfrigérant.

Cet appareil doit répondre aux trois essais suivants :

a) Placer dans le barboteur 20 ml d'eau bouillie; recueillir 250 ml de distillat et les additionner de 0,1 ml de solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium et 2 gouttes de la solution de phénolphaléine; la coloration rose doit être stable pendant au moins 10 secondes (vapeur d'eau exempte de dioxyde de carbone).

b) Placer dans le barboteur 20 ml d'une solution 0,1 M d'acide acétique. Recueillir 250 ml de distillat. Titrer avec la solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium. Le volume versé doit être au moins égal à 19,9 ml. (acide acétique entraîné $\geq 99,5$ %).

c) Placer dans le barboteur 20 ml d'une solution M d'acide lactique. Recueillir 250 ml de distillat et titrer l'acidité avec la solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium.

Le volume versé doit être inférieur ou égal à 1,0 ml (acide lactique distillé $\leq 0,5$ %).

Tout appareil ou toute technique qui satisfait à ces essais constitue un appareil ou une technique officielle internationale.

3.2. Trompe à vide d'eau.

3.3. Fiole à vide.

4. Réactifs

4.1. Acide tartrique cristallisé.

4.2. Solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium.

4.3. Solution de phénolphtaléine à 1 p. 100 dans l'alcool à 96 % vol. neutre.

4.4. Acide chlorhydrique ($\rho_{20} = 1,18$ g/ml) dilué $\frac{1}{4}$ (v/v).

4.5. Solution 0,005 M d'iode.

4.6. Iodure de potassium cristallisé.

4.7. Empois d'amidon à 5 g/l :

Délayer 5 g d'amidon dans 500 ml d'eau environ. Porter à ébullition en agitant et maintenir l'ébullition pendant 10 minutes; ajouter 200 g de chlorure de sodium. Porter au litre après refroidissement.

4.8. Solution saturée de borate de sodium ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$), soit environ 55 g/l à 20 °C.

4.9. Solution 0,1 M d'acide acétique.

4.10. Solution M d'acide lactique (pour la préparation, voir au chapitre *Acide lactique*, en 2. Réactifs).

5. Mode opératoire

5.1. *Préparation de l'échantillon* : élimination du dioxyde de carbone.

Placer environ 50 ml de vin dans une fiole à vide; agiter et en même temps faire le vide au moyen de la trompe à vide d'eau. L'agitation doit durer 1 à 2 min.

5.2. *Entraînement à la vapeur d'eau*.

Placer 20 ml de vin décarboniqué comme indiqué en 5.1 dans le barboteur. Ajouter 0,5 g environ d'acide tartrique. Recueillir au moins 250 ml de distillat.

5.3. *Titration*

Titrer par la solution 0,1 M d'hydroxyde (3.2) de sodium en présence de 2 gouttes de solution de phénolphtaléine, soit n ml le volume versé.

Ajouter 4 gouttes d'acide chlorhydrique dilué $\frac{1}{4}$, 2 ml d'empois d'amidon et quelques cristaux d'iodure de potassium. Titrer le dioxyde de soufre libre par la solution 0,005 M d'iode.

Soit n' ml le volume versé.

Ajouter la solution saturée de borate de sodium jusqu'à réapparition de la coloration rose. Titrer le dioxyde de soufre combiné par la solution 0,005 M d'iode. Soit n'' ml le volume versé.

6. Expression des résultats

6.1. Mode de calcul

L'acidité volatile exprimée en milliéquivalents par litre avec une décimale sera :

$$5 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$

L'acidité volatile exprimée en g d'acide sulfurique par litre avec deux décimales sera :

$$0,245 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$

L'acidité volatile exprimée en g d'acide acétique par litre avec deux décimales sera :

$$0,300 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$

6.2. Répétabilité (r) :

$$r = 0,7 \text{ me/l}$$

$$r = 0,03 \text{ g d'acide sulfurique/l}$$

$$r = 0,04 \text{ g d'acide acétique/l.}$$

6.3 Reproductibilité (R) :

$$R = 1,3 \text{ me/l}$$

$$R = 0,06 \text{ g d'acide sulfurique/l}$$

$$R = 0,08 \text{ g d'acide acétique/l.}$$

6.4. Cas d'un vin additionné d'acide sorbique.

L'acide sorbique étant entraînable à la vapeur d'eau à 96 % pour un volume de distillat de 250 ml, son acidité doit être retranchée de l'acidité volatile, sachant que 100 mg d'acide sorbique correspondent à une acidité de 0,89 milliéquivalent, ou de 0,044 g d'acide sulfurique ou de 0,053 g d'acide acétique et connaissant la teneur en acide sorbique (mg/l) déterminée par ailleurs.

ANNEXE

Dosage de l'acide salicylique entraîné dans le distillat de l'acidité volatile

1. Principe

Après le dosage de l'acidité volatile et la correction du dioxyde de soufre, la présence d'acide salicylique est caractérisée, après acidification, par la coloration violette qui apparaît après addition d'un sel de fer III.

Le dosage de l'acide salicylique entraîné dans le distillat avec l'acidité volatile est effectué sur un deuxième distillat de volume égal à celui sur lequel a été effectué le dosage de l'acidité volatile. Dans ce distillat, l'acide salicylique est dosé par une méthode colorimétrique de comparaison. Il est défalqué de l'acidité du distillat de l'acidité volatile.

2. Réactifs

- Acide chlorhydrique ($\rho_{20} = 1,18$ à $1,19$ g/ml).

- Thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en solution 0,1 M).

- Solution de sulfate de fer III et d'ammonium, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ à 10 p. 100 (m/v).

- Solution de salicylate de sodium 0,01 M. Solution contenant 1,60 g/l de salicylate de sodium $\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$.

3. *Mode opératoire*

3.1. Caractérisation de l'acide salicylique dans le distillat de l'acidité volatile.

Immédiatement après le dosage de l'acidité volatile et la correction du dioxyde de soufre libre et combiné, ajouter dans la fiole conique 0,5 ml d'acide chlorhydrique, 3 ml de la solution 0,1 M de thiosulfate de sodium et 1 ml de la solution de sulfate de fer III et d'ammonium.

En présence d'acide salicylique, une coloration violette apparaît.

3.2. Dosage de l'acide salicylique

Sur la fiole conique précédente, indiquer par un trait repère le volume du distillat. Vider et rincer la fiole.

Soumettre à l'entraînement à la vapeur d'eau une nouvelle prise d'essai de 20 ml de vin et recueillir le distillat dans la fiole conique jusqu'au trait repère. Ajouter 0,3 ml d'acide chlorhydrique pur et 1 ml de la solution de sulfate de fer III et d'ammonium.

Le contenu de la fiole conique se colore en violet.

Dans une fiole conique identique à celle portant le trait repère, placer de l'eau distillée jusqu'au même niveau que celui du distillat. Ajouter 0,3 ml d'acide chlorhydrique pur, 1 ml de solution de sulfate de fer III et d'ammonium. Verser à la burette la solution de salicylate de sodium 0,01 M jusqu'à obtention d'une coloration violette de même intensité que celle de la fiole conique contenant le distillat de vin.

Soit n''' , le nombre de millilitres versés.

4. *Correction de l'acidité volatile*

Retrancher le volume $0,1 \times n'''$ du volume n ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M utilisé pour titrer l'acidité du distillat lors du dosage de l'acidité volatile.

BIBLIOGRAPHIE

Méthode unique :

JAULMES P., *Recherches sur l'acidité volatile des vins*, Thèse Diplôme. Pharm. 1991, Montpellier, Nîmes.

JAULMES P., *Ann. Fals. Frauds*, 1950, **43**, 110.

JAULMES P., *Analyse des vins*, 1951, 396, Montpellier.

JAULMES P., *Bull. O.I.V.*, 1953., **26**, n° 274, 48.

JAULMES P., MESTRES R., MANDROU Mlle B., *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 1964, **57**, 119.

Acidité fixe

1. Principe

L'acidité fixe est déterminée par la différence entre l'acidité totale et l'acidité volatile.

2. Expression des résultats

L'acidité fixe est exprimée :

- en milliéquivalents par litre.
- en grammes d'acide sulfurique par litre.
- en grammes d'acide tartrique par litre.

Acides organiques

Les acides organiques du vin peuvent être séparés et éventuellement dosés simultanément par *chromatographie liquide haute performance* (CLHP).

1. Principe de la méthode

Les acides organiques du vin peuvent être séparés sur deux types de phase stationnaire : silice greffée octyl et résine échangeuse d'ions. Les acides sont détectés par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet.

Pour le dosage des acides tartrique et malique, il est préférable d'utiliser la séparation sur silice greffée octyl et pour les acides citrique et lactique, la séparation sur échangeur d'ions. Le dosage de ces acides est effectué par rapport à un étalon externe analysé dans les mêmes conditions.

Cette méthode permet, en outre, une évaluation des teneurs en acides shikimique, acétique, succinique et fumarique.

Remarque : D'autres types de colonnes peuvent également permettre une bonne séparation. Les conditions opératoires et le mode opératoire décrits ci-dessous sont donnés à titre d'exemple.

2. Appareillage

- 2.1. Dispositif de filtration sur membrane de cellulose (diamètre des pores : 0,45 µm).
- 2.2. Cartouches garnies de silice greffée octadécyl (exemple : Sep Pak WATERS ASS.).
- 2.3. Chromatographe en phase liquide haute performance équipé :
 - d'un injecteur à boucle de 10 µl,
 - d'un dispositif de thermostatisation,
 - d'un détecteur, spectrophotomètre permettant les mesures d'absorbance à 210 nm,
 - d'un enregistreur, éventuellement d'un intégrateur.

Conditions opératoires

2.3.1. Cas de la séparation des acides citrique, lactique et acétique :

- colonne garnie de résine échangeuse de cations forte (H⁺) (ex. : HPX-87 H BIO-RAD, longueur 300 mm, diamètre interne 7,8 mm, particules de 9 µm),
- phase mobile : solution d'acide sulfurique 0,0125 M,
- débit de la phase mobile : 0,6 ml/min.,
- température : 60-65 °C (selon le lot de résine).

2.3.2. Cas de la séparation des acides tartrique, malique, lactique, shikimique, succinique et fumarique

- deux colonnes (250 mm de longueur et 4 mm de diamètre interne) placées en série, garnies de silice greffée octyl, particules sphériques de 5 µm de diamètre,
- phase mobile : solution titrant 70 g/l en dihydrogénophosphate de potassium, 14 g/l en sulfate d'ammonium et ajustée à pH 2,1 par addition d'acide phosphorique,
- débit de la phase mobile : 0,8 ml/min.
- température : 20 °C.

3. Réactifs

- 3.1. Eau distillée ou de qualité CLHP
- 3.2. Méthanol distillé
- 3.3. Acide tartrique
- 3.4. Acide malique
- 3.5. Lactate de sodium
- 3.6. Acide shikimique
- 3.7. Acétate de sodium
- 3.8. Acide succinique
- 3.9. Acide citrique
- 3.10. Acide fumarique
- 3.11. Acide sulfurique ($\rho_{20} = 1.84$ g/ml)
- 3.12. Solution d'acide sulfurique 0,0125 M
- 3.13. Dihydrogénophosphate de potassium, KH_2PO_4
- 3.14. Sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- 3.15. Acide orthophosphorique à 85% ($\rho_{20} = 1.71$ g/ml)
- 3.16. Solution de référence composée de : acide tartrique (5 g/l), acide malique (5 g/l), lactate de sodium (6,22 g/l), acide shikimique (0,05 g/l), acétate de sodium (6,83 g/l), acide succinique (5 g/l), acide fumarique (0,01 g/l) et acide citrique (5 g/l).

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'échantillon

Laver préalablement une cartouche par 10 ml de méthanol puis par 10 ml d'eau.

Dégazer l'échantillon de vin ou de moût. Filtrer sur membrane (0,45 µm). Prélever 8 ml d'échantillon filtré dans une seringue préalablement rincée avec l'échantillon ; faire passer sur la cartouche. Éliminer les trois premiers ml et recueillir les 5 ml suivants (éviter d'amener la cartouche à sec).

4.2. *Chromatographie*

Injecter dans le chromatographe successivement 10 µl de solution de référence et 10 µl de l'échantillon préparé selon 4.1. Répéter trois fois ces injections dans le même ordre.

Enregistrer le chromatogramme.

5. **Calculs**

5.1. *Analyse qualitative*

Déterminer les temps de rétention respectifs de chacun des composés élués.

Les acides organiques de la solution de référence sont séparés dans l'ordre d'élution suivant :

- acides citrique, tartrique, malique, succinique + shikimique, lactique fumarique, acétique dans la technique 2.3.2.
- acides tartrique, malique, shikimique, lactique, acétique, citrique, succinique et fumarique dans la technique 2.3.2.

5.2. *Analyse quantitative*

Mesurer la surface de chacun des pics et déterminer la moyenne des trois réponses pour la solution de référence et pour l'échantillon à analyser.

Déduire la concentration de l'échantillon en acides organiques.

6. **Expression des résultats**

Les concentrations sont exprimées :

- en grammes par litre avec une décimale pour les acides tartrique, malique, lactique et succinique,
- en milligrammes par litre pour les acides citrique, acétique et fumarique.

BIBLIOGRAPHIE

TUSSEAU D. et BENOIT C., *F.V. O.I.V.*, 1986, N^{os} 800 et 813 ; *J. Chromatogr.*, 1987, **395**, 323-333.

Acide tartrique

1. Principe des méthodes

1.1. Méthode de référence

L'acide tartrique, précipité sous forme de racémate de calcium, est dosé pondéralement. Ce dosage peut être complété par un dosage volumétrique de comparaison. Les conditions de précipitation : pH, volume total mis en oeuvre, concentration des ions précipitants, sont telles que la précipitation du racémate de calcium est totale tandis que le D(-)tartrate de calcium demeure en solution. Lorsque le vin a été additionné d'acide métatartrique, qui rend la précipitation du racémate de calcium incomplète, il devra subir un traitement préalable d'hydrolyse.

1.2. Méthode usuelle

L'acide tartrique, isolé à l'aide d'une colonne échangeuse d'anions, est dosé colorimétriquement dans l'éluat grâce à la coloration rouge qu'il donne avec l'acide vanadique. Cet éluat contient aussi les acides lactique et malique qui ne sont pas gênants.

2. Méthode de référence

2.1. Méthode pondérale

2.1.1. Réactifs

– Solution d'acétate de calcium contenant 10 g/l de calcium :

Carbonate de calcium : Ca CO ₃	25 g
Acide acétique (ρ ₂₀ = 1,05 g/ml)	40 ml
Eau q.s.p.	1 l

– Racémate de calcium cristallisé : CaC₄O₆H₄. 4H₂O :

Dans un vase cylindrique de 400 ml, introduire 20 ml d'une solution d'acide L(+)tartrique à 5 g/l, 20 ml d'une solution de D(-)tartrate d'ammonium à 6,126 g/l et 6 ml de la solution d'acétate de calcium à 10 g/l de calcium.

Laisser précipiter pendant 2 heures. Recueillir le précipité sur un creuset filtrant de porosité n° 4, le laver à 3 reprises avec 30 ml environ d'eau distillée. Sécher à l'étuve à 70 °C jusqu'à un poids constant. Avec les quantités de réactif mises en oeuvre, on obtient environ 340 mg de racémate de calcium cristallisé.

Conserver en flacon bouché.

– Liqueur de précipitation (pH 4,75) :

D(-)Tartrate d'ammonium	150 mg
Solution d'acétate de calcium à 10 g de calcium par litre	8,8 ml
Eau q.s.p.	1 l

Dissoudre le D(-)tartrate d'ammonium dans 900 ml d'eau ; ajouter 8,8 ml de solution d'acétate de calcium et porter au litre. Le racémate de calcium étant légèrement soluble dans cette liqueur, il convient d'y introduire 5 mg de racémate de calcium par litre, de soumettre à l'agitation pendant 12 heures et filtrer.

Remarque : La liqueur de précipitation peut être préparée à partir d'acide

D(-)tartrique

Acide D(-)tartrique 122 mg

Solution d'hydroxyde d'ammonium ($\rho_{20} = 0,97$ g/ml) à 25 % (v/v) ... 0,3 ml

Dissoudre l'acide D(-)tartrique, ajouter l'hydroxyde d'ammonium ; porter le volume à 900 ml environ. Ajouter 8,8 ml de solution d'acétate de calcium et, après mélange, ajuster le pH à 4,75 par addition d'acide acétique. Porter au litre.

Ajouter 5 mg de racémate de calcium par litre, soumettre à l'agitation pendant 12 heures et de filtrer.

2.1.2. Mode opératoire

- Cas des vins non additionnés d'acide métatartrique

Dans un vase cylindrique de 600 ml, placer 500 ml de liqueur de précipitation et 10 ml de vin. Mélanger et amorcer la précipitation en frottant les parois du vase avec l'extrémité d'une baguette de verre. Laisser précipiter pendant 12 heures (une nuit).

Filtrer sur creuset filtrant de porosité no 4, taré et disposé sur une fiole à vide propre, en entraînant le précipité. Rincer le vase où s'est effectuée la précipitation avec le filtrat et entraîner les dernières particules de précipité.

Sécher à l'étuve à 70 °C jusqu'à poids constant. Peser : soit p le poids de racémate de calcium $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4$ cristallisé avec 4 molécules d'eau.

- Cas des vins additionnés d'acide métatartrique

Lorsqu'on a affaire à un vin additionné d'acide métatartrique ou que l'on soupçonne cette addition, procéder à l'hydrolyse de cet acide dans les conditions suivantes.

Dans une fiole conique de 50 ml, placer 10 ml de vin et 0,4 ml d'acide acétique pur. Fermer la fiole par un bouchon muni d'un crachoir et porter à ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement, transvaser le liquide contenu dans la fiole conique dans un vase cylindrique ; rincer la fiole deux fois par 5 ml d'eau et continuer comme il est indiqué dans le mode opératoire ci-dessus.

L'acide métatartrique est compté comme acide tartrique dans le résultat du dosage.

2.1.3. Expression des résultats

Une molécule de racémate de calcium correspond à une demi-molécule d'acide L(+) tartrique du vin.

La quantité d'acide tartrique par litre de vin, exprimée en milliéquivalents est égale à :

384,5 p.

Elle est donnée avec une décimale.

La quantité d'acide tartrique par litre de vin, exprimée en grammes d'acide tartrique, est égale à :

28,84 p.

Elle est donnée avec une décimale.

La quantité d'acide tartrique par litre de vin, exprimée en grammes de tartrate acide de potassium, est égale à :

36,15 p.

Elle est donnée avec une décimale.

2.2. Dosage volumétrique de comparaison

2.2.1. Réactifs

- Acide chlorhydrique ($\rho_{20} = 1,18$ à $1,19$ g/ml) dilué au 1/5 (v/v).

- Solution d'EDTA 0,05 M :

EDTA (sel disodique bihydraté de l'acide éthylènediamine-tétracétique ou complexon III)	18,61 g
Eau distillée q.s.p.	1 l

- Solution d'hydroxyde de sodium à 40 % (m/v) :

Hydroxyde de sodium	40 g
Eau distillée q.s.p.	100 ml

- Indicateur compléxométrique à l'acide calcéone-carbonique :

Acide calcéone carbonique ou acide 2-hydroxy-4-sulfo-1-naphtylazo-3-naphtoïque	1 g
Sulfate de sodium anhydre	100 g

2.2.2. Mode opératoire

Après pesée, replacer le creuset contenant le précipité de racémate de calcium sur la fiole à vide et dissoudre le précipité avec 10 ml d'acide chlorhydrique dilué. Laver le creuset filtrant avec 50 ml d'eau distillée.

Ajouter 5 ml de solution d'hydroxyde de sodium 40 % et 30 mg environ (une pincée) d'indicateur. Titrer par l'EDTA 0,05 M. Soit n le nombre de millilitres versés.

2.2.3. Expression des résultats

La quantité d'acide tartrique par litre de vin, exprimée en milliéquivalents est égale à :

$$5 n.$$

Elle est donnée avec une décimale.

La quantité d'acide tartrique par litre de vin, exprimée en grammes d'acide tartrique est égale à :

$$0,375 n.$$

Elle est donnée avec une décimale.

La quantité d'acide tartrique par litre de vin exprimée en grammes de tartrate acide de potassium est égale à :

$$0,470 n.$$

Elle est donnée avec une décimale.

3. Méthode usuelle

3.1. Appareillage

3.1.1. Colonne de verre de 300 mm environ de longueur et de 10 - 11 mm de diamètre intérieur munie d'un robinet.

3.1.2. Spectrophotomètre permettant les mesures d'absorbance à la longueur d'onde de 490 nm, avec cuves de 10 mm de trajet optique.

3.2. Réactifs

3.2.1. Pour le traitement préliminaire du vin.

1. Acide acétique ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) dilué à 30 p. 100 (v/v).

2. Échangeur d'anions de forte basicité (par exemple : échangeur d'anions III de Merck) sous forme acétate. Préparer une suspension de l'échangeur (100 g environ) dans 200 ml d'acide acétique dilué à 30 p. 100. Laisser en contact durant au moins 24 heures avant utilisation. Conserver l'échangeur dans l'acide acétique dilué à 30 p. 100 pour des dosages ultérieurs.

3. Acide acétique ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) dilué à 0,5 p. 100 (v/v).

4. Solution de sulfate de sodium à 7,1 g p. 100 ml (0,5 M).

Dissoudre 71 g de sulfate de sodium (Na_2SO_4) anhydre dans de l'eau distillée et ajuster au volume de 1000 ml avec de l'eau distillée.

3.2.2. Pour le dosage de l'acide tartrique

1. Solution d'acétate de sodium à 27 p. 100 (m/v).

Dissoudre 270 g d'acétate de sodium anhydre, $\text{Na CH}_3 \text{COO}$, dans de l'eau distillée et ajuster au volume de 1000 ml.

2. Réactif vanadique.

Dissoudre 10 g de métavanadate d'ammonium ($\text{NH}_4 \text{VO}_3$), dans 150 ml de solution d'hydroxyde de sodium M. Transvaser cette solution dans une fiole

jaugée de 500 ml, ajouter 200 ml de la solution d'acétate de sodium à 27 p. 100. Porter à 500 ml avec de l'eau distillée.

3. Solution d'acide sulfurique M.

4. Solution d'acide sulfurique 0,5 M.

5. Solution d'acide sulfurique 0,05 M.

6. Solution d'acide périodique 0,05 M.

Dans une fiole jaugée de 1000 ml, introduire 10,696 g de périodate de sodium, Na IO_4 , 50 ml d'acide sulfurique 0,5 M et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.

7. Solution de glycérol à 10 p. 100 (m/v).

Dans une fiole jaugée de 100 ml, placer 10 g de glycérol ; compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

8. Solution de sulfate de sodium à 7,1, g p. 100 (voir en 3.2.1.4).

9. Solution d'acide tartrique à 1 g/l.

Dans une fiole jaugée de 500 ml, introduire 0,5 g d'acide tartrique, 6,66 ml de solution d'hydroxyde de sodium M et compléter à 500 ml avec la solution de sulfate de sodium à 7,1 p. 100.

10. Solution d'hydroxyde de sodium, 1 M.

3.3. *Mode opératoire*

3.3.1. Préparation de la colonne d'échangeur d'ions

Placer dans la colonne de verre au-dessus du robinet, un tampon de coton de verre. Imprégner ce tampon avec de l'eau distillée. Verser dans la colonne 10 ml de la suspension de l'échangeur d'ions en phase acétate. Laisser décanter. Placer un tampon de coton de verre à la surface de l'échangeur déposé (de manière à éviter au cours des lavages ultérieurs la remise en suspension de l'échangeur).

L'échangeur ne doit servir que pour une seule opération.

3.3.2. Isolement des acides organiques

Le robinet étant ouvert, laisser la solution d'acide acétique s'écouler jusqu'à environ 2-3 mm au-dessus du tampon de coton de verre placé au-dessus de l'échangeur.

Ajouter 10 ml de solution d'acide acétique à 0,5 p. 100, puis laisser écouler le liquide jusqu'au même niveau que dans l'opération précédente. Répéter encore 4 fois cette opération de lavage.

Après le dernier lavage, le robinet étant fermé, verser sur l'échangeur 10 ml de vin ou de moût. Laisser écouler le vin goutte à goutte (débit moyen 1 goutte par seconde) et arrêter l'écoulement juste au-dessus de l'échangeur. Ajouter à nouveau dans la colonne 10 ml de solution d'acide acétique à 0,5 p. 100, laisser

écouler à la même vitesse que dans l'opération précédente et répéter l'opération de lavage à 7 reprises avec 10 ml d'eau à chaque opération. Au dernier lavage, fermer le robinet dès que le niveau du liquide se trouve un peu au-dessus du tampon de coton de verre supérieur.

Éluer les acides fixés sur l'échangeur à l'aide de la solution de sulfate de sodium à 7,1 p. 100 ; recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 100 ml jusqu'à ajustage au trait de jauge.

3.3.3. Dosage de l'acide tartrique

Dans deux fioles coniques, *a* et *b*, introduire 20 ml d'éluat.

La fiole *a* sert au dosage, la fiole *b*, dans laquelle l'acide tartrique est détruit par l'acide périodique, constitue le témoin.

Introduire dans la fiole *a* :

- 2 ml d'acide sulfurique M,
- 5 ml d'acide sulfurique 0,05 M,
- 1 ml de glycérol à 10 p. 100.

Introduire dans la fiole *b* :

- 2 ml d'acide sulfurique M,
- 5 ml de solution d'acide périodique 0,05 M ; attendre 15 min. ; ajouter ;
- 1 ml de solution de glycérol à 10p. 100 pour détruire l'excès d'acide périodique ; attendre 2 min.

Verser alors en agitant, d'abord dans la fiole *b*, puis aussitôt après dans la fiole *a*, 5 ml de réactif vanadique. Déclencher immédiatement un chronomètre et placer le contenu des fioles *a* et *b* dans les cuves du spectrophotomètre. Au bout de 90 s exactement, mesurer l'absorbance à 490 nm du liquide provenant de la fiole *a* (dosage) par rapport au témoin (fiole *b*).

Si l'éluat est trop riche en acide tartrique et que l'absorbance soit trop élevée, diluer l'éluat avec la solution de sulfate de sodium à 7,1 p. 100 et procéder à la mesure sur la solution diluée.

Remarque : Cas des vins additionnés d'acide métatartrique

Lorsqu'on a affaire à un vin additionné d'acide métatartrique ou que l'on soupçonne cette addition, procéder à l'hydrolyse de cet acide comme il est indiqué pour la méthode de référence.

Après refroidissement, le contenu de la fiole conique est versé au sommet de la colonne d'échangeur, ainsi que les eaux de rinçage (deux fois 5 ml). Continuer comme il est indiqué ci-dessus en 3.3.2. et 3.3.3.

L'acide métatartrique est compté comme acide tartrique dans le résultat du dosage.

3.3.4. Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire 10, 20, 30, 40 et 50 ml de la solution d'acide tartrique à 1 g/l dans des fioles jaugées de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution de sulfate de sodium à 7,1 p. 100 ml. Les concentrations de ces solutions correspondent à des éluats obtenus à partir de vins contenant 1, 2, 3, 4 et 5 g d'acide tartrique par litre.

Dans 2 fioles coniques, *a* et *b*, introduire 20 ml de ces solutions et continuer comme il est indiqué ci-dessus pour l'éluat de vin en 3.3.3.

La représentation graphique des absorbances de ces solutions en fonction de la teneur en acide tartrique est une droite qui s'incurve légèrement vers le point zéro. Préciser, si nécessaire, cette partie de la courbe en soumettant à la mesure des solutions de titre exactement connu inférieur à 1,0 g/l.

3.4. Expression des résultats

Reporter l'absorbance mesurée pour l'éluat sur la courbe d'étalonnage pour obtenir la teneur du vin en acide tartrique en grammes par litre.

Cette teneur est exprimée avec 1 décimale.

BIBLIOGRAPHIE

Méthode de référence :

- KLING A., *Bull. Soc. Chim.*, 1910, **7**, 567.
KLING A., FLORENTIN D., *Ibid*, 1912, **11**, 886.
SEMICHON L., FLANZY M., *Ann. Fals. Fraudes*, 1933, **26**, 404.
PEYNAUD E., *Ibid*, 1936, **29**, 260.
PATO M., *Bull. O.I.V.*, 1944, **17**, n^o 161, 59, n^o 162, 64.
POUX C., *Ann. Fals. Fraudes*, 1949, **42**, 439.
PEYNAUD E., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1951, **18**, 911 ; *Ref. Z. Lebensmit. Forsch.* , 1953, **97**, 142.
JAULMES P., BRUN Mme S., VASSAL Mlle M., *Trav. Soc. Pharm.*, Montpellier, 1961, **21**, 46-51.
JAULMES P., BRUN Mme S., CABANIS J.C., *Bull. O.I.V.*, 1969, n^{os} 462-463, 932.

Méthode usuelle :

- REBELEIN H., *Dtsch. Lebensmit. Rdsch.*, 1961, **57**, 36 ; 1963, **59**, 129 ; 1964, **60**,

Acide lactique

Méthode chimique

1. Principe de la méthode

Méthode usuelle : l'acide lactique, séparé sur colonne de résine échangeuse d'anions, est oxydé en éthanal et dosé par colorimétrie après réaction avec le nitroprussiate de sodium et la pipéridine.

2. Appareillage

- 2.1. Colonne de verre de 300 mm environ de longueur et de 10 - 11 mm de diamètre intérieur munie d'un régulateur de débit (robinet).
- 2.2. Bain d'eau thermostaté à 65 °C.
- 2.3. Spectrophotomètre permettant les mesures d'absorbance à la longueur d'onde de 570 nm avec des cuves de 1 cm de trajet optique.

3. Réactifs

3.1. Pour le traitement préliminaire du vin

Se reporter au chapitre *Acide tartrique*, méthode usuelle, en 3.2.1.

3.2. Pour le dosage de l'acide lactique

1. Solution 0,1 M de sulfate de cérium IV dans l'acide sulfurique 0,35 M.
Dissoudre à froid 40,431 g de cérium IV, $(\text{CeSO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dans 350 ml d'une solution M d'acide sulfurique exactement titrée. Ajuster à 1000 ml avec de l'eau distillée.
2. Solution d'hydroxyde de sodium 2,5 M.
3. Solution d'acétate de sodium à 27 p. 100 (m/v). (préparée à partir d'acétate de sodium anhydre NaCH_3COO).
4. Solution d'acide sulfurique M.
5. Solution de nitroprussiate de sodium à 2 p. 100 (m/v). Conserver en flacon bien bouché et à l'obscurité. A renouveler tous les jours.
6. Solution de pipéridine à 10 p. 100 (v/v). A renouveler tous les jours.
7. Solution d'acide lactique M.
100 ml d'acide lactique sont dilués dans 400 ml d'eau. Cette solution placée dans une capsule est chauffée sur un bain d'eau bouillant pendant 4 heures, en complétant de temps en temps le volume avec de l'eau distillée. Porter au litre après refroidissement. Titrer l'acide lactique sur 10 ml de cette solution avec une solution d'hydroxyde de sodium M. Ajuster la solution à 1 mole d'acide lactique par litre (90 g).

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de la colonne d'échangeur d'ions

Se reporter au chapitre *Acide tartrique*, méthode usuelle, en 3.3.1.

4.2. Isolement des acides organiques.

Se reporter au chapitre *Acide tartrique*, méthode usuelle, en 3.3.2.

4.3. Dosage de l'acide lactique.

Placer 10 ml d'éluat dans un tube de verre de 50 ml de capacité muni d'un bouchon rodé, ajouter 10 ml de solution de sulfate de cérium. Agiter ; placer le tube dans un bain d'eau thermostaté à 65 °C durant 10 min. exactement. Au moment de l'immersion, soulever pendant quelques secondes le bouchon de verre de manière à compenser la pression due à l'échauffement, puis boucher hermétiquement le tube de manière à éviter les pertes d'éthanal formé. Retirer le tube, refroidir sous courant d'eau pour amener à une température voisine de 20 °C, ajouter 5 ml de la solution d'hydroxyde de sodium 2,5 M, mélanger et filtrer.

Prélever 15 ml de filtrat et les verser dans une fiole de 50 ml, bouchant à l'émeri, contenant déjà un mélange homogène de 5 ml de solution d'acétate de sodium à 27 p. 100 et de 2 ml d'acide sulfurique M. Ajouter 5 ml de la solution de nitroprussiate de sodium, mélanger, puis 5 ml de la solution de pipéridine, mélanger rapidement et introduire immédiatement cette solution dans la cuve du spectrophotomètre. La coloration produite, qui varie du vert au violet, est mesurée par rapport à l'air à la longueur d'onde 570 nm ; elle augmente pour diminuer ensuite rapidement. Suivre l'évolution de l'absorbance correspondante et choisir comme valeur définitive, sa valeur maximale. Si l'éluat est trop riche en acide lactique et que l'absorbance soit trop élevée, diluer l'éluat avec la solution de sulfate de sodium à 7,1 p. 100 et procéder à la mesure sur la solution diluée.

4.4. Etablissement de la courbe d'étalonnage

Introduire 10 ml de la solution d'acide lactique M et 10 ml de solution titrée d'hydroxyde de sodium M dans une fiole jaugée de 1000 ml et compléter au trait avec la solution de sulfate de sodium à 7,1 p. 100. En prélever 5, 10, 15, 20 et 25 ml et les introduire dans des fioles jaugées de 100 ml. Compléter au trait repère avec la solution de sulfate de sodium à 7,1 p. 100. Prélever 10 ml des solutions ainsi obtenues et déterminer pour chacune d'elles la valeur de l'absorbance en suivant le mode opératoire décrit ci-dessus pour l'éluat.

Ces solutions correspondent aux éluats obtenus à partir de vins contenant 0,45, 0,9, 1,35, 1,80 et 2,25 g/l d'acide lactique.

La représentation graphique des absorbances de ces solutions en fonction de la teneur en acide lactique est une droite.

4.5. *Expression des résultats*

Reporter l'absorbance mesurée pour l'éluat sur la courbe d'étalonnage pour obtenir la teneur du vin en acide lactique en grammes par litre.

Cette teneur est exprimée avec une décimale.

Remarque : Les vins contenant plus de 250 mg/l de dioxyde de soufre peuvent présenter une teneur en acide éthanolsulfonique qui est compté comme acide lactique. Dans ce cas, il faut corriger le résultat du dosage par celui donné par l'opération complémentaire suivante : 15 ml de l'éluat sont mélangés dans une éprouvette bouchant à l'émeri avec 5 ml d'acétate de sodium à 27 p. 100 et 2 ml d'H₂SO₄ 0,775 M (77,5 ml H₂SO₄ 1 M sont portés à 100 ml avec de l'eau distillée). Puis, comme dans le dosage de l'acide lactique, on ajoute 5 ml de nitroprussiate de sodium à 2 p. 100 et 5 ml de pipéridine à 10 p. 100. Après avoir mélangé, mesurer l'absorbance dans les conditions décrites pour le dosage de l'acide lactique. Reporter cette absorbance sur la droite d'étalonnage pour obtenir la valeur apparente B de l'acide lactique en grammes par litre due à l'acide éthanolsulfonique. Si L' est la teneur apparente du vin en acide lactique en grammes par litre, la teneur réelle L en acide lactique est obtenue par :

$$L = L' - B \times 0,4 \text{ (g/l)}$$

BIBLIOGRAPHIE

REBELEIN H., *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 1961, **57**, 36 ; 1963, **59**, 129 ; 1964, **60**, 140.

Acide lactique

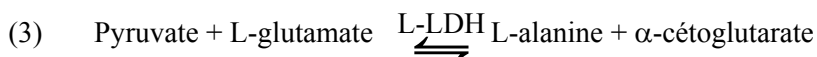
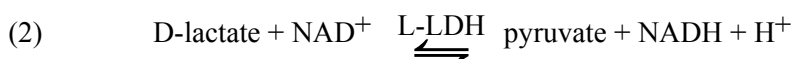
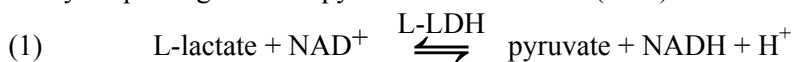
Méthode enzymatique

1. Principe de méthode

En présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) l'acide lactique total (L-lactate et D-lactate) est oxydé en pyruvate dans une réaction catalysée par la L-lactate déshydrogénase (L-LDH) et la D-lactate déshydrogénase (D-LDH).

L'équilibre de la réaction est en faveur du lactate. L'élimination du pyruvate du milieu réactionnel déplace l'équilibre de la réaction dans le sens de la formation de pyruvate.

En présence de L-glutamate, le pyruvate est transformé en L-alanine, réaction catalysée par la glutamate-pyruvate-transaminase (GPT).



La formation de NADH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à la longueur d'onde de 340 nm, est proportionnelle à la quantité de lactate présente.

Remarque : L'acide L-lactique peut être déterminé individuellement par application des réactions (1) et (3). L'acide D-lactique peut être déterminé individuellement par application des réactions (2) et (3).

2. Appareillage

2.1. Spectrophotomètre permettant d'effectuer les mesures à 340 nm, maximum d'absorption du NADH.

À défaut, photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm ou à 365 nm.

2.2. Cuves de verre de 1 cm de trajet optique ou cuves à usage unique.

2.3. Micropipettes permettant de prélever des volumes compris entre 0,02 et 2 ml.

3. Réactifs

Eau bidistillée

3.1. Solution tampon pH 10 (glycylglycine 0,6 mole/l ; L-glutamate 0,1 mole/l).

Dissoudre 4,75 g de glycylglycine, 0,88 g d'acide L-glutamique dans environ 50 ml d'eau bidistillée ; ajuster le pH à 10 avec quelques millilitres de solution d'hydroxyde de sodium 10 M et porter à 60 ml avec de l'eau bidistillée.

La solution reste stable pendant au moins 12 semaines à + 4 °C.

3.2. Solution de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) environ 40×10^{-3} M ; dissoudre 900 mg de NAD dans 30 ml d'eau bidistillée. La solution reste stable pendant au moins 4 semaines à + 4 °C.

- 3.3. Suspension de glutamate-pyruvate-transaminase (GPT) à 20 mg/ml. La suspension est stable pendant au moins un an à + 4 °C.
- 3.4. Suspension de L-lactate-déshydrogénase (L-LDH) à 5 mg/ml. La suspension est stable pendant au moins un an à + 4 °C.
- 3.5. Suspension de D-lactate-déshydrogénase (D-LDH) à 5 mg/ml. La suspension est stable pendant au moins un an à + 4 °C.

Il est recommandé de procéder, préalablement au dosage, à la vérification de l'activité de l'enzyme.

Remarque : L'ensemble des réactifs nécessaires pour le dosage est disponible dans le commerce.

4. Préparation de l'échantillon

Le dosage du lactate s'effectue généralement directement sur le vin sans décoloration préalable et sans dilution si la concentration en acide lactique est inférieure à 100 mg/l. Si la concentration du vin en acide lactique est comprise entre :

- 100 mg/l et 1 g/l diluer $1/_{10}$ avec de l'eau bidistillée ;
- 1 g/l et 2,5 g/l diluer $1/_{25}$ avec de l'eau bidistillée ;
- 2,5 g/l et 5 g/l diluer $1/_{50}$ avec de l'eau bidistillée.

5. Mode opératoire

Remarques préliminaires :

Eviter de toucher avec les doigts la partie de la verrerie qui entre en contact avec le milieu réactionnel, ceci pouvant être une cause d'apport d'acide L-lactique qui fausserait le résultat.

La solution tampon doit être ramenée à 20-25 °C avant de procéder au dosage.

5.1. Dosage de l'acide lactique total

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, les mesures d'absorbance se font dans les cuves de 1 cm de trajet optique, l'absorbance zéro étant réglée par rapport à l'air (pas de cuve sur le trajet optique) ou par rapport à l'eau.

Dans les cuves de 1 cm de trajet optique introduire :

	Témoin (ml)	Dosage (ml)
Solution 3.1.	1.00	1.00
Solution 3.2.	0.20	0.20
Eau bidistillée	1.00	0.80
Suspension 3.3.	0.02	0.02
Echantillon	—	0.20

Mélanger à l'aide d'un agitateur de verre ou d'une baguette de matière synthétique à bout aplati ; après environ 5 minutes, mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_1).

Ajouter 0,02 ml de solution 3.4 et 0,05 ml de solution 3.5, homogénéiser, attendre la fin de la réaction (environ 30 minutes) et mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_2).

Déterminer les différences d'absorbances (A_2-A_1) du témoin et du dosage.

Déduire la différence d'absorbances du témoin de la différence d'absorbance du dosage.

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

5.2. Dosage de l'acide L-lactique et de l'acide D-lactique

Le dosage de l'acide L-lactique et D-lactique peut être réalisé individuellement en appliquant le mode opératoire indiqué pour l'acide lactique total, mais en opérant ainsi après avoir déterminé A_1 :

Ajouter 0,02 ml de solution 3.4, homogénéiser, attendre la fin de la réaction (environ 20 minutes) et mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_2).

Ajouter 0,05 ml de solution 3.5, homogénéiser, attendre la fin de la réaction (environ 30 minutes) et mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_3).

Déterminer les différences d'absorbances (A_2-A_1) pour l'acide L-lactique et (A_3-A_2) pour l'acide D-lactique dans le cas du témoin et dans le cas du dosage.

Déduire la différence d'absorbance du témoin de la différence d'absorbance du dosage

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Remarque : Le temps nécessaire à l'action des enzymes peut varier d'un lot à l'autre. Il n'est donné ci-dessus qu'à titre indicatif. Il est recommandé de le déterminer pour chaque lot. Lorsqu'on dose l'acide L-lactique seul, le temps d'incubation après addition de la L-lactate deshydrogénase peut être ramené à 10 minutes.

6. Expression des résultats

La concentration en acide lactique est donnée en grammes par litre (g/l) avec 1 décimale. 2.5.1. Mode de calcul

6.1. Mode de calcul

La concentration en grammes par litre est calculée par la formule générale :

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times \delta \times v \times 1000} \times \Delta A$$

V = volume du test en millilitres (V = 2,24 ml pour l'acide L-lactique, V = 2,29 ml pour l'acide D-lactique et l'acide lactique total).

v = volume de l'échantillon en millilitres (ici 0,2 ml)

PM = masse moléculaire de la substance à doser (ici acide DL-lactique = 90,08)

δ = trajet optique de la cuve en centimètres (ici 1 cm)

ε = coefficient d'absorption du NADH à 340 nm
($\varepsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

6.1.1 Acide lactique total et acide D-lactique

$$C = 0,164 \times \Delta A$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

Remarque :

- Mesure à 334 nm : $\varepsilon = 6,2 \text{ (mmole}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,167 \times \Delta A$,
- Mesure à 365 nm : $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmole}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,1303 \times \Delta A$,

6.1.2 Acide L-lactique

$$C = 0,160 \times \Delta A$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

Remarque :

- Mesure à 334 nm : $\varepsilon = 6,2 \text{ (mmole}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,163 \times \Delta A$,
- Mesure à 365 nm : $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmole}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,297 \times \Delta A$,

6.2. Répétabilité (r)

$$r = 0,02 + 0,07 x_i$$

x_i = concentration en acide lactique de l'échantillon en g/l.

6.3. Reproductibilité (R)

$$R = 0,05 + 0,125 x_i$$

x_i = concentration en acide lactique de l'échantillon en g/l.

BIBLIOGRAPHIE

- HOHORST H.J., in *Méthodes d'analyse enzymatique*, par BERGMAYER H.U., 2^e éd., p. 1425, Verlag-Chemie Weinheim/Bergstraße, 1970.
GAWEHN K. et BERGMAYER H.U., *ibid.*, p. 1450.
BOEHRINGER, Mannheim, *Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire*, documentation technique.
JUNGE Ch., *F.V., O.I.V.*, 1974, n^o 479.
VAN DEN DRIESSCHE S. et THYS L., *F.V., O.I.V.*, 1982, n^o 755.

Acide citrique

Méthode chimique

1. Principe de la méthode

L'acide citrique est fixé avec les autres acides du vin par une résine échangeuse d'anions. On procède à une élution fractionnée qui permet de le séparer de l'acide citramalique.

L'acide citrique est transformé par oxydation ménagée en acétone, que l'on sépare par distillation. L'éthanal entraîné est oxydé en acide acétique et on dose l'acétone par iodométrie.

2. Appareillage

2.1. Colonne d'échangeur d'anions

Dans une burette à robinet de 25 ml, placer un tampon de laine de verre et verser 20 ml de résine Dowex 1 X 2.

Au commencement, faire subir à la résine deux cycles complets de régénération avec passages alternés de solution M d'acide chlorhydrique et d'hydroxyde de sodium. Rincer avec 50 ml d'eau distillée¹. Saturer la résine d'ions acétate par passage de 250 ml d'une solution 4 M d'acide acétique ; laver avec 100 ml d'eau distillée.

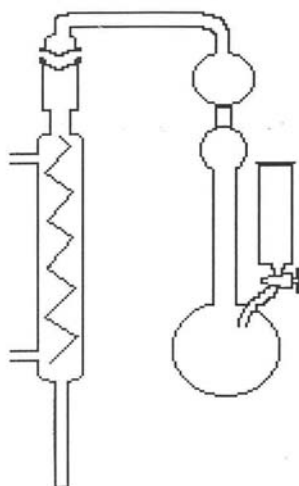


Fig. 1 :
Appareil d'oxydation et distillation
pour dosage de l'acide citrique

L'échantillon à analyser est passé sur la colonne conformément à la description ci-dessous. Après l'élution des acides, rincer avec 50 ml d'eau distillée et procéder à nouveau à la saturation de la résine avec la solution d'acide acétique 4 M. Rincer avec 100 ml d'eau. La résine est prête pour un nouveau dosage.

2.2 Appareil pour oxydation

L'emploi d'un appareil à distiller muni d'un ballon à oxydation, dont le schéma est donné fig. 1, facilite l'introduction de la solution de permanganate de potassium, qui est alors très régulière.

A défaut, utiliser un ballon à fond rond de 500 ml, surmonté d'un entonnoir à robinet, dont le bout est effilé afin que l'addition de permanganate de potassium soit aussi régulière que possible.

¹ Le passage de la solution d'hydroxyde de sodium provoque une contraction qui, suivie d'un gonflement lors du lavage à l'eau, empêche l'écoulement. Il est recommandé d'agiter la résine dès que les premiers millilitres d'eau passent à travers la colonne, pour la décoller du fond de la burette.

3. Réactifs

- Résine Dowex 1 X 2 (50-100 mesh.).
- Solution 4 M d'acide acétique
- Solution 2,5 M d'acide acétique
- Solution 2 M d'hydroxyde de sodium
- Acide sulfurique ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) dilué au $\frac{1}{5}$ (v/v)
- Solution tampon de pH 3,2-3,4

Dihydrogénophosphate de potassium, KH_2PO_4	150 g
Acide phosphorique pur ($\rho_{20} = 1,70$ g/ml)	5 ml
Eau q.s.p.	1000 ml

- Solution de sulfate de manganèse, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, à 50 g/l
- Pierre ponce
- Solution 0,01 M de permanganate de potassium
- Acide sulfurique (dilué au $\frac{1}{3}$ (v/v))
- Solution 0,4 M de permanganate de potassium
- Solution de sulfate de fer II, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ à 40 p. 100 (m/v)
- Solution 5 M d'hydroxyde de sodium
- Solution 0,01 M d'iode
- Solution 0,02 M de thiosulfate de sodium
- Thiodène ou empois d'amidon.

4 Mode opératoire

4.1. Séparation des acides citrique et citramalique

Faire passer 25 ml de vin à travers la colonne d'échangeur d'anions Dowex 1 x 2 sous forme acétate à raison de 3 ml toutes les 2 minutes. Rincer la colonne avec 20 ml d'eau distillée à trois reprises. Éluer les acides avec 200 ml de solution 2,5 M d'acide acétique que l'on fait passer à la même vitesse. Dans cette fraction d'éluat on retrouve les acides succinique, lactique, galacturonique, citramalique et la presque totalité de l'acide malique.

Procéder ensuite à l'élution des acides citrique et tartrique en faisant passer à travers la colonne 100 ml d'une solution 2 M d'hydroxyde de sodium et recueillir l'éluat dans le ballon de l'appareil pour l'oxydation.

4.2. Oxydation

Dans le ballon contenant ce deuxième éluat, ajouter de l'acide sulfurique dilué au $\frac{1}{5}$ (environ 20 ml) pour amener le pH entre 3,2 et 3,8. Ajouter alors 25 ml de solution tampon pH 3,2-3,4, 1 ml de solution de sulfate de manganèse et quelques grains de pierre ponce.

Porter à l'ébullition et distiller 50 ml que l'on rejette.

Placer la solution 0,01 M de permanganate de potassium dans l'entonnoir à robinet et l'introduire à raison de 1 goutte par seconde dans l'éluat en ébullition. Le distillat est recueilli dans un flacon de 500 ml bouchant à l'émeri et contenant quelques millilitres d'eau. Poursuivre l'oxydation jusqu'à coloration brune du liquide indiquant un excès de permanganate de potassium.

4.3. Séparation de l'acétone

Si le volume de distillat est inférieur à 90 ml, porter à ce volume avec de l'eau distillée ; ajouter 4,5 ml d'acide sulfurique dilué au $\frac{1}{3}$ et 5 ml d'une solution 0,4 M de permanganate de potassium.

Si le distillat recueilli dépasse largement ce volume, compléter à 180 ml et doubler la dose des réactifs.

Dans ces conditions (milieu 0,25 M en acide sulfurique et 0,02 M en permanganate de potassium), l'éthanal est oxydé en acide acétique tandis que l'acétone reste intacte.

Le flacon est bouché et laissé au repos pendant 45 min. à la température ambiante. Au bout de ce temps l'excès de permanganate de potassium est détruit par addition de la solution de sulfate de fer (II).

Distiller et recueillir 50 ml environ de distillat dans un flacon bouchant à l'émeri contenant 5 ml d'une solution 5 M d'hydroxyde de sodium.

4.4. Dosage de l'acétone

Ajouter au contenu du flacon 25 ml d'une solution 0,01 M d'iode².

Laisser en contact 20 min. Ajouter 8 ml d'acide sulfurique dilué au $\frac{1}{5}$ et titrer l'excès d'iode par le thiosulfate 0,02 M en présence de thiodène, soit n ml.

Faire dans les mêmes conditions un dosage à blanc en remplaçant les 50 ml de distillat par 50 ml d'eau distillée.

Soit n' ml de thiosulfate utilisés.

5. Calculs

1 ml d'iode 0,01 M correspond à 0,64 mg d'acide citrique.

Dans les conditions opératoires décrites, la quantité d'acide citrique en milligrammes par litre, est donné par

$$(n' - n) \times 25,6$$

6. Expression des résultats

La concentration en acide citrique est exprimée en milligrammes par litre sans décimale.

BIBLIOGRAPHIE

KOGEN A., *Z. Anal. chem.*, 1930, **80**, 112.

BARTELS W., *Z. Unters. Lebensm.* 1933, **65**, 1.

PEYNAUD E., *Bull. O.I.V.*, 1938, **11**, n° 118, 33.

GODET C., CHARRIERE R., *Trav. Chim. Alim. Hyg.*, 1948, **37**, 317.

KOURAKOU Mme S., *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 1962, **55**, 149.

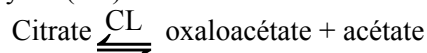
² Cette dose convient pour des teneurs en acide citrique ne dépassant pas 0,5 à 0,6 g/l. Pour des teneurs supérieures le volume prescrit de la solution d'iode n'est pas suffisant et la solution ne prend pas une coloration jaune, caractéristique d'un excès d'iode. Dans ce cas doubler ou tripler la quantité d'iode ajoutée, jusqu'à ce que la solution devienne nettement jaune. Cependant, dans les cas exceptionnels où la teneur du vin en acide citrique dépasse 1,5 g/l, il est préférable de recommencer l'analyse sur 10 ml de vin.

Acide citrique

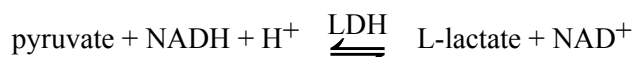
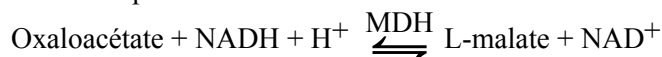
Méthode enzymatique

1 Principe de la méthode

L'acide citrique est transformé en oxaloacétate et acétate dans une réaction catalysée par la citrate-lyase (CL) :



En présence de la malate-déshydrogénase (MDH) et de la lactate-déshydrogénase (LDH), l'oxaloacétate et son dérivé de décarboxylation, le pyruvate, sont réduits en L-malate et en L-lactate par le nicotinamide-adenine-dinucléotide réduit (NADH) :



La quantité de NADH oxydé en NAD⁺ dans ces réactions est proportionnelle au citrate présent. L'oxydation du NADH est mesurée par la diminution de son absorbance à la longueur d'onde 340 nm.

2 Appareillage

- 2.1 Spectrophotomètre permettant d'effectuer les mesures à 340 nm, maximum d'absorption du NADH.
À défaut, photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm ou à 365 nm
- 2.2. Cuves de verre de 1 cm de trajet optique ou cuves à usage unique.
- 2.3. Micropipettes permettant de prélever des volumes allant de 0,02 à 2 ml.

3. Réactifs

- 3.1. Tampon pH 7,8 (glycylglycine 0,51 M ; pH = 7,8 ; Zn²⁺ : 0,6 × 10⁻³ M) :
Dissoudre 7,13 g de glycylglycine dans environ 70 ml d'eau bidistillée.
Ajuster le pH à 7,8 avec environ 13 ml de solution d'hydroxyde de sodium 5 M ; ajouter 10 ml de solution de chlorure de zinc ZnCl₂, à 80 mg dans 100 ml et porter à 100 ml avec de l'eau bidistillée.
La solution reste stable pendant au moins 4 semaines à + 4 °C.
- 3.2. Solution de nicotinamide-adenine-dinucléotide réduit (NADH), environ 6.10⁻³ M : dissoudre 30 mg de NADH et 60 mg de NaHCO₃ avec 6 ml d'eau bidistillée. La solution reste stable pendant au moins 4 semaines à + 4 °C.
- 3.3. Solution de malate déshydrogénase/lactate déshydrogénase, (MDH/LDH) (0,5 g MDH/ml ; 2,5 mg LDH/ml) : on fait un mélange de 0,1 ml MDH (5 g MDH/ml), 0,4 ml de solution de sulfate d'ammonium (3,2 M) et 0,5 ml LDH (5 mg/ml).
Cette suspension est stable pendant au moins un an à + 4 °C.

3.4. Solution de citrate-lyase CL (5 mg de protéine/ml). Dissoudre 168 mg de lyophilisat dans 1 ml d'eau glacée. La solution est stable pendant au moins une semaine à + 4 °C et pendant au moins 4 semaines sous forme congelée.

Il est recommandé de procéder, préalablement au dosage, à la vérification de l'activité de l'enzyme.

3.5. Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) (*Voir Codex œnologique international*).

Remarque : L'ensemble des réactifs nécessaires pour ce dosage est disponible dans le commerce.

4. Préparation de l'échantillon

Le dosage du citrate s'effectue généralement directement sur le vin sans décoloration préalable et sans dilution, à condition que la teneur en acide citrique soit inférieure à 400 mg/l. Sinon, procéder à la dilution du vin de manière que la concentration en citrate se situe entre 20 et 400 mg/l (quantité de citrate dans la prise d'essai comprise entre 5 µg et 80 µg).

Dans le cas de vins rouges riches en composés phénoliques, il est recommandé de le traiter au préalable par la PVPP : mettre en suspension dans l'eau 0,2 g environ de PVPP, laisser reposer 15 minutes. Filtrer sur filtre plissé.

À 10 ml de vin placé dans une fiole conique de 50 ml, ajouter la PVPP humide prélevée à la spatule sur le filtre. Agiter pendant 2 à 3 minutes. Filtrer.

5. Mode opératoire

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, les mesures d'absorbance se font dans les cuves de 1 cm, l'absorbance zéro étant réglée par rapport à l'air (pas de cuve sur le trajet optique).

Dans les cuves de 1 cm d'épaisseur, introduire :

	Témoin	Dosage
Solution 3.1	1,00 ml	1,00 ml
Solution 3.2	0,10 ml	0,10 ml
Echantillon	-	0,20 ml
Eau bidistillée	2,00 ml	1,80 ml
Solution 3.3	0,02 ml	0,02 ml

Mélanger ; après environ 5 minutes, lire les absorbances des solutions témoin et dosage (A_1).

Ajouter :

Solution 3.4	0,02 ml	0,02 ml
--------------------	---------	---------

Mélanger ; attendre la fin de la réaction (environ 5 min.) et lire les absorbances des solutions témoin et dosage (A_2).

Déterminer les différences d'absorbances ($A_1 - A_2$) du témoin et du dosage.

Déduire la différence d'absorbances du témoin de la différence d'absorbances du dosage : ΔA_D and ΔA_T .

Remarque : Le temps nécessaire à l'action des enzymes peut varier d'un lot à l'autre. Il n'est donné ci-dessus qu'à titre indicatif. Il est recommandé de le déterminer pour chaque lot.

6. Expression des résultats

La concentration en acide citrique est donnée, en milligrammes par litre (mg/l) sans décimale.

6.1. Mode de calcul

La concentration en milligrammes par litre est donnée par la formule générale :

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times \delta \times v} \times \Delta A$$

V = volume du test en millilitres (ici 3,14 ml)

v = volume de l'échantillon en millilitres (ici 0,2 ml)

PM = masse moléculaire de la substance à doser (ici, acide citrique anhydre = 192,1)

δ = trajet optique de la cuve en centimètres (ici 1 cm)

ε = coefficient d'absorption du NADH ; à 340 nm,

$$\varepsilon = 6.3 \text{ mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1}$$

on obtient :

$$C = 479 \times \Delta A$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

Remarque :

- Mesure à 334 nm : $C = 488 \times \Delta A$ ($\varepsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1}$).
- Mesure à 365 nm : $C = 887 \times \Delta A$ ($\varepsilon = 3,4 \text{ mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1}$).

6.2. Répétabilité (r)

Teneur en acide citrique inférieure à 400 mg/l : $r = 14 \text{ mg/l}$.

Teneur en acide citrique supérieure à 400 mg/l : $r = 28 \text{ mg/l}$.

6.3. Reproductibilité (R)

Teneur en acide citrique inférieure à 400 mg/l : $R = 39 \text{ mg/l}$.

Teneur en acide citrique supérieure à 400 mg/l : $R = 65 \text{ mg/l}$.

BIBLIOGRAPHIE

MAYER K. et PAUSE G., *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 1969. **2**, 143

JUNGE Ch., *F.V., O.I.V.*, 1970, n° 364

BOEHRRINGER, Mannheim, *Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire*, documentation technique.

VAN DEN DREISCHE S. et THYS L., *F.V., O.I.V.*, 1982, n° 755.

Acide malique total

Méthode usuelle

1 Principe de la méthode

L'acide malique isolé à l'aide d'une colonne de résine échangeuse d'anions est dosé colorimétriquement dans l'éluat grâce à la coloration jaune qu'il donne sous l'action de l'acide sulfurique à 96 p. 100 et de l'acide chromotropique. Les substances contenues dans l'éluat interfèrent dans cette réaction. Mais ces substances réagissent, contrairement à l'acide malique, avec l'acide sulfurique à 86 pour 100 et l'acide chromotropique. Pour éliminer cette interférence, il suffit donc de soustraire de l'absorbance obtenue après réaction avec l'acide chromotropique et l'acide sulfurique à 96 p. 100, l'absorbance obtenue après réaction avec l'acide chromotropique et l'acide sulfurique à 86 p. 100.

2. Appareillage

- 2.1. Colonne de verre de 250 mm environ de longueur et de 35 mm de diamètre intérieur, munie d'un robinet.
- 2.2. Colonne de verre de 300 mm environ de longueur et de 10 – 11 mm de diamètre intérieur, munie d'un robinet.
- 2.3. Bain d'eau à 100 °C.
- 2.4. Spectrophotomètre permettant les mesures d'absorbance à la longueur d'onde de 420 nm avec cuves de 10 mm de trajet optique.

3. Réactifs

- 3.1. *Échangeur d'anions de forte basicité (par exemple Merck III).*
- 3.2. *Hydroxyde de sodium à 5 p. 100 (m/v).*
- 3.3. *Acide acétique à 30 p. 100 (m/v).*
- 3.4. *Acide acétique à 0,5 p. 100 (m/v).*
- 3.5. *Solution de sulfate de sodium (Na₂SO₄) à 10 p. 100 (m/v).*
- 3.6. *Acide sulfurique concentré à 95-97 % (m/m).*
- 3.7. *Acide sulfurique à 86 p. 100 (m/m).*
- 3.8. *Solution d'acide chromotropique à 5 p. 100 (m/v).*

À préparer extemporanément avant chaque dosage en dissolvant 500 mg de chromotropate de sodium (C₁₀H₆Na₂O₈S₂.2H₂O) dans 10 ml d'eau distillée.

- 3.9. *Solution d'acide DL-malique à 0,5 g/l.*

Dissoudre 250 mg d'acide malique (C₄H₆O₅) dans une quantité suffisante de solution de sulfate de sodium à 10 p. 100 (3.5) pour avoir 500 ml.

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'échangeur d'ions

Placer dans la colonne de verre 35 × 250 mm au-dessus du robinet un tampon de coton de verre imprégné d'eau distillée. Verser dans la colonne de l'échangeur d'ions mis en suspension dans l'eau de manière à avoir un espace libre d'environ 50 mm au-dessus de la surface de l'échangeur d'ions. Après rinçage avec 1000 ml d'eau distillée, remplir la colonne avec la solution d'hydroxyde de sodium à 5 p. 100, laisser écouler le liquide jusqu'à environ 2–3 mm au-dessus de la surface de l'échangeur d'ions, répéter encore 2 fois cette opération et laisser en contact durant 1 heure. Laver la colonne avec 1000 ml d'eau distillée. Ensuite, remplir la colonne avec la solution d'acide acétique à 30 p. 100, laisser écouler le liquide jusqu'à environ 2-3 mm au-dessus de la surface de l'échangeur d'ions, répéter cette opération 2 fois et laisser en contact durant au moins 24 heures avant l'emploi. Conserver ensuite l'échangeur d'ions dans l'acide acétique à 30 p. 100 pour les dosages ultérieurs.

4.2. Préparation de la colonne d'échangeur d'ions

Placer dans la colonne de verre 11 × 300 mm au-dessus du robinet un tampon de coton de verre. Verser dans la colonne l'échangeur d'ions, préparé comme décrit en 4.1, sur une hauteur de 10 cm. Le robinet étant ouvert, laisser la solution d'acide acétique à 30 p. 100 s'écouler jusqu'à environ 2-3 mm au-dessus de la surface de l'échangeur. Laver l'échangeur avec 50 ml de la solution d'acide acétique à 0,5 p. 100.

4.3. Isolement de l'acide DL-malique

Verser sur l'échangeur préparé comme décrit en 4.2, 10 ml de vin ou de moût. Laisser écouler le vin goutte à goutte (débit moyen : une goutte par seconde) jusqu'à environ 2-3 mm au-dessus de la surface de l'échangeur d'ions. Laver la colonne d'abord avec environ 50 ml de la solution d'acide acétique à 0,5 pour 100 et puis avec environ 50 ml d'eau distillée ; laisser écouler ces liquides avec la même vitesse que le vin.

Éluer les acides fixés sur l'échangeur d'ions à l'aide de la solution de sulfate de sodium à 10 p. 100 avec la même vitesse que les opérations précédentes (1 goutte/sec.), recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 100 ml jusqu'à ajustage au trait de jauge.

On peut régénérer l'échangeur comme décrit en 4.1.

4.4. Dosage de l'acide malique

Prendre deux tubes à large ouverture de 30 ml, bouchant à l'émeri, "A" et "B". Introduire dans chaque tube 1,0 ml d'éluat et 1,0 ml de la solution d'acide chromotrope à 5 p. 100. Ajouter dans le tube "A" 10,0 ml d'acide sulfurique à 86 p. 100 (témoin) et dans le tube "B" 10,0 ml d'acide sulfurique à 96 p. 100 (mesure). Boucher et agiter pour obtenir une homogénéité parfaite sans

mouiller le rodage. Plonger les tubes pendant 10 minutes exactement dans un bain d'eau porté préalablement à une vive ébullition. Refroidir les tubes à 20 °C à l'obscurité. Exactement 90 minutes après le début du refroidissement, mesurer l'absorbance du tube "B" par rapport au témoin (tube "A") à la longueur d'onde 420 nm dans les cuves de 1 cm de trajet optique.

4.5. *Établissement de la courbe d'étalonnage*

Prélever 5 - 10 - 15 et 20 ml de la solution d'acide malique à 0,5 g/l et les introduire dans des fioles jaugées de 50 ml ; porter au trait de jauge avec la solution de sulfate de sodium à 10 p. 100.

Les solutions ainsi obtenues correspondent à des éluats obtenus à partir de vins contenant 0,5 - 1,0 - 1,5 et 2,0 g d'acide DL-malique par litre.

Continuer comme il est indiqué en 4.4.

Les valeurs de l'absorbance obtenues avec ces solutions-étalons reportées en fonction des teneurs en acide malique correspondantes s'alignent sur une droite passant par l'origine.

Étant donné que l'intensité de la coloration dépend beaucoup de la concentration de l'acide sulfurique, il est nécessaire de vérifier la courbe d'étalonnage pour au moins 1 point lors de chaque série de mesures pour mettre en évidence un changement éventuel dans la concentration de l'acide sulfurique.

5. Expression des résultats

Reporter l'absorbance mesurée pour l'éluat sur la courbe d'étalonnage pour obtenir la teneur en acide DL-malique en grammes par litre. Cette teneur est exprimée avec 1 décimale.

BIBLIOGRAPHIE

REINHARD C., KOEDING, G., *Zur Bestimmung der Apfelsäure in Fruchtsäften, Flüssiges Obst.*, 1989, **45**, S, 373 ff.

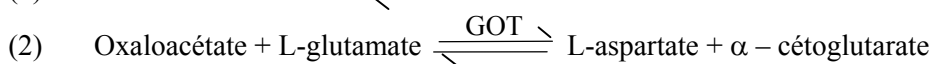
Acide L-malique

Méthode enzymatique

1. Principe de la méthode

En présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) l'acide L-malique (L-malate) est oxydé en oxaloacétate dans une réaction catalysée par la L-malate-deshydrogénase (L-MDH).

L'équilibre de la réaction est en faveur du malate. L'élimination de l'oxaloacétate du milieu réactionnel délace l'équilibre de la réaction dans le sens de la formation d'oxaloacétate. En présence de L-glutamate, l'oxaloacétate est transformé en L-aspartate, réaction catalysée par la glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT).



La formation de NADH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à la longueur d'onde de 340 nm, est proportionnelle à la quantité de L-malate présente.

2. Appareillage

2.1. Spectrophotomètre permettant d'effectuer les mesures à 340 nm, maximum d'absorption du NADH.

À défaut, photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm ou à 365 nm.

2.2. Cuves de verre de 1 cm de trajet optique ou cuves à usage unique.

2.3. Micropipettes permettant de prélever des volumes compris entre 0,01 et 2 ml

3. Réactifs

Eau bidistillée

3.1. Tampon pH 10 (glycylglycine 0,60 mol/l, L-glutamate 0,1 mol)

Dissoudre 4,75 g de glycylglycine et 0,88 g d'acide L-glutamique dans environ 50 ml d'eau bidistillée ; ajuster le pH à 10 avec environ 4,6 ml de solution d'hydroxyde de sodium 10 M et porter à 60 ml avec de l'eau bidistillée.

La solution reste stable pendant au moins 12 semaines + 4 °C.

3.2. Solution de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD), environ 0,047 M :

dissoudre 420 mg de NAD dans 12 ml d'eau bidistillée. La solution reste stable pendant au moins 4 semaines à + 4 °C.

3.3. Suspension de glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT) à 2 mg/ml.

La suspension est stable pendant au moins un an à + 4 °C.

3.4. Solution de L-malate-deshydrogénase (L-MDH) à 5 mg/ml.

La solution est stable pendant au moins un an à + 4 °C.

Remarque : L'ensemble des réactifs nécessaires pour le dosage est disponible dans le commerce.

4. Préparation de l'échantillon

Le dosage du L-malate s'effectue généralement directement sur le vin sans décoloration préalable et sans dilution, à condition que la teneur en acide L-malique soit inférieure à 350 mg/l (mesures à 365 nm). Sinon, procéder à la dilution du vin avec de l'eau bidistillée de sorte que la concentration en L-malate se situe entre 30 et 350 mg/l (quantité de L-malate dans la prise d'essai comprise entre 3 et 35 µg).

Si la concentration en malate du vin est inférieure à 30 mg/l le volume de la prise d'essai peut être augmenté jusqu'à 1 ml. Dans ce cas le volume de l'eau à ajouter est réduit afin que les volumes totaux soient les mêmes dans les deux cuves.

5. Mode opératoire

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, les mesures d'absorbance se font dans les cuves de 1 cm de trajet optique, l'absorbance zéro étant réglé par rapport à l'air (pas de cuve sur le trajet optique) ou par rapport à l'eau. Dans les cuves de 1 cm de trajet optique introduire :

	Témoin	Dosage
Solution 3.1	1,00 ml	1,00 ml
Solution 3.2	0,20 ml	0,20 ml
Eau bidistillée	1,00 ml	0,90 ml
Suspension 3.3	0,01 ml	0,01 ml
Echantillon	-	0,10 ml

Mélanger ; après environ 3 min., mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_1). Ajouter :

Solution 3.4	0,01 ml	0,01 ml
--------------------	---------	---------

Mélanger ; attendre la fin de la réaction (environ 5 à 10 minutes) et mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_2).

Déterminer les différences d'absorbances ($A_2 - A_1$) du témoin et du dosage.

Déduire la différence d'absorbances du témoin de la différence d'absorbances du dosage.

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Remarque : Le temps nécessaire à l'action des enzymes peut varier d'un lot à l'autre. Il n'est donné ci-dessus qu'à titre indicatif. Il est recommandé de le déterminer pour chaque lot.

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

La concentration en acide L-malique est donnée en grammes par litre (g/l) avec 1 décimale.

6.1. Mode de calcul

La concentration en grammes par litre est calculée par la formule générale :

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times \delta \times 1000} \times \Delta A$$

V = volume du test en ml (ici 2,22 ml)

v = volume de l'échantillon en millilitres (ici 0,1 ml)

P.M = masse moléculaire de la substance à doser (ici, acide L-malique = 134,09)

δ = trajet optique de la cuve en centimètres (ici 1 cm)

ε = coefficient d'absorption du NADH ; à 340 nm,
 $\varepsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1}$

on obtient pour le L-malate :

$$C = 0,473 \times \Delta A$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

Remarque :

- Mesure à 334 nm, $\varepsilon = 6,2 \text{ (mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,482 \times \Delta A$
- Mesure à 365 nm, $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,876 \times \Delta A$

6.2. Répétabilité (r)

$$r = 0,03 + 0,034 x_i$$

x_i = concentration en acide malique de l'échantillon en g/l.

6.3. Reproductibilité (R)

$$R = 0,05 + 0,071 x_i$$

x_i = concentration en acide malique de l'échantillon en g/l.

BIBLIOGRAPHIE

BERGMEYER H.U., *Méthodes d'analyse enzymatique*, 2^e éd., Verlag-Chemie Weinheim/Bergstrasse, 1970

BOERHINGER, Mannheim, *Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire*, documentation technique.

VAN DEN DRIESSE S. et THYS L., F.C. O.I.V., 1982, n° 755

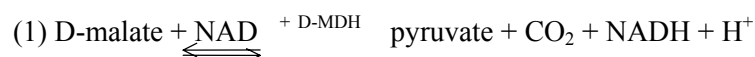
Acide D-malique

(Résolution oeno 6/98)

DOSAGE PAR MÉTHODE ENZYMATIQUE

1. Principe :

En présence de D-malate-deshydrogénase (D-MDH), l'acide D-malique (D-malate) est oxydé en oxalo-acétate par le nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD). L'oxalo-acétate formé est transformé en pyruvate et dioxyde de carbone.



La formation de NADH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à la longueur d'onde de 334, 340 ou 365 nm, est proportionnelle à la quantité de D-malate présente.

2. Réactifs :

Les réactifs permettant environ 30 déterminations sont présentés dans le commerce en coffret comprenant :

- 1/ Flacon 1 contenant environ 30 ml de solution de tampon Hepes acide [N-(2-hydroxyéthyl)pipérazine-N'-2-éthane sulfonique] pH = 9,0 et stabilisateurs ;
- 2/ Flacon 2 contenant environ 210 mg de lyophilisat de NAD ;
- 3/ Flacon 3 (au nombre de trois), contenant le lyophilisat de D-MDH, titrant environ 8 unités.

Préparation des solutions :

- 1/ Utiliser le contenu du flacon 1 sans dilution.
Amener la solution à 20-25 °C avant l'emploi;
- 2/ Dissoudre le contenu du flacon 2 dans 4 ml d'eau bidistillée;
- 3/ Dissoudre le contenu d'un des flacons 3 dans 0,6 ml d'eau bidistillée. Amener la solution à 20-25 °C avant l'emploi.

Stabilité des solutions :

Le contenu du flacon 1 se conserve au moins un an à + 4 °C ; la solution 2 se conserve environ 3 semaines à + 4 °C et 2 mois à - 20 °C ; la solution 3 se conserve 5 jours à + 4 °C.

3. Appareillage :

- 3.1. Spectrophotomètre permettant d'effectuer les mesures à 340 nm maximum d'absorption du NADH.

A défaut, photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm et 365 nm. S'agissant de mesures absolues d'absorbance (pas de

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Acide D-malique – Méthode enzymatique

gamme d'étalonnage, mais référence au coefficient d'extinction du NADH), les échelles des longueurs d'onde et des absorbances de l'appareil doivent être contrôlées.

3.2. Cuves de 1 cm de trajet optique en verre ou cuves à usage unique.

3.3. Micropipettes permettant de prélever des volumes compris entre 0,01 et 2 ml.

4. Préparation de l'échantillon :

Le dosage du D-malate s'effectue généralement directement sur le vin sans décoloration préalable.

La quantité de D-malate dans la cuve devant être comprise entre 2 µg et 50 µg, il convient de diluer le vin de telle manière que la concentration en malate soit comprise entre 0,02 et 0,5 g/l ou 0,02 et 0,3 g/l (selon l'appareillage utilisé).

Tableau de dilution

Quantité estimée de D malate /litre	Dilution avec de l'eau	Facteur de dilution F
Mesure à :		
340 ou 334 nm 365 nm		
< 0,3 g < 0,5 g	-	1
0,3-3,0 g 0,5-5,0 g	1 + 9	10

5. Mode opératoire :

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, les mesures d'absorbance se font dans les cuves de 1 cm de trajet optique, l'absorbance zéro étant réglée par rapport à l'air (pas de cuve sur le trajet optique) ou par rapport à l'eau.

Dans les cuves de 1 cm de trajet optique, introduire :

	Témoin	Essai
Solution 1	1,00 ml	1,00 ml
Solution 2	0,10 ml	0,10 ml
Eau bidistillée	1,80 ml	1,70 ml
Echantillon	-	0,10 ml

Mélanger. Après environ 6 minutes, mesurer les absorbances des solutions témoin et essai (A_1).

Ajouter,

	Témoin	Essai
Solution 3	0,05 ml	0,05 ml

Mélanger ; attendre la fin de la réaction (environ 20 min.) et mesurer les absorbances des solutions témoin et d'essai (A_2).

Déterminer les différences d'absorbances ($A_2 - A_1$) du témoin (ΔA_T) et de l'essai (ΔA_D).

Déduire la différence d'absorbance du témoin de la différence d'absorbance de l'essai :

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Remarque : Le temps nécessaire à l'action des enzymes peut varier d'un lot à l'autre. Il n'est donné ci-dessus qu'à titre indicatif. Il est recommandé de le déterminer pour chaque lot.

L'acide D-malique réagit vite. Une activité supplémentaire de l'enzyme transforme aussi l'acide L-tartrique même si la vitesse est beaucoup moins rapide. C'est la raison pour laquelle il y a une faible réaction parasite qu'il est possible de corriger par extrapolation (v. annexe 1).

6. Expression des résultats :

La concentration en milligrammes par litre est calculée par la formule générale :

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A$$

V = volume du test en ml (ici 2,95 ml)

v = volume de l'échantillon en ml (ici 0,1 ml)

PM = masse moléculaire de la substance à doser (ici acide D-malique = 134,09)

d = trajet optique de la cuve en cm (ici 1 cm)

ε = coefficient d'absorption du NADH :

à 340 nm = 6,3 (l mmol⁻¹ cm⁻¹)

à 365 nm = 3,4 (l mmol⁻¹ cm⁻¹)

à 334 nm = 6,18 (l mmol⁻¹ cm⁻¹).

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

La concentration en acide D-malique est donnée en milligrammes par litre (mg/l) sans décimale.

7. Fidélité :

Les détails de l'essai interlaboratoire portant sur la fidélité de la méthode sont résumés dans l'annexe 2. Les valeurs dérivées de l'essai interlaboratoire peuvent ne pas être applicables aux gammes de concentration en analyte et aux matrices autres que celles données en annexe 2.

7.1. Répétabilité :

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur une matière identique soumise à essai, par un opérateur utilisant le même appareillage, dans l'intervalle de temps le plus court, ne dépassera pas la valeur de répétabilité r dans plus 5 % des cas.

La valeur est : $r = 11$ mg/l.

7.2. Reproductibilité :

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur une matière identique soumise à essai dans deux laboratoires ne dépassera pas la valeur de reproductibilité R dans plus de 5 % des cas.

La valeur est : $R = 20$ mg/l.

8 Remarques :

Compte tenu de la précision de la méthode, les valeurs d'acide D-malique inférieures à 50 mg/L doivent être confirmées par une autre méthode d'analyse utilisant un autre principe de mesure par exemple celle de PRZYBORSKI et al, (1993) et les valeurs d'acide D-malique inférieures à 100 mg/L ne doivent pas être interprétées comme une addition d'acide D,L-malique au vin.

La prise d'essai de vin dans la cuvette ne doit pas être supérieure à 0,1ml pour éviter d'éventuelles inhibitions de l'activité enzymatique par les polyphénols.

BIBLIOGRAPHIE

PRZYBORSKI et al. Mitteilungen Klosterneuburg 43, 1993; 215-218.

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Acide D-malique – Méthode enzymatique

ANNEXE 2

Résultats statistiques de l'essai interlaboratoires :

Année de l'essai interlaboratoires : 1995
 Nombre de laboratoires : 8
 Nombre d'échantillons : 5 avec addition d'acide D-malique

Echantillon	A	B	C	D	E
Type de vin	rouge	rouge	blanc	blanc	blanc
Nombre de laboratoires retenus après élimination des laboratoires présentant des résultats aberrants	7	8	7	8	7
Nombre de laboratoires ayant des résultats aberrants	1	-	1	-	1
Nombre de résultats acceptés	35	41	35	41	36
Valeur moyenne (\bar{x}) (mg/l)	161,7	65,9	33,1	106,9	111,0
Ecart-type de répétabilité (s_r) (mg/l)	4,53	4,24	1,93	4,36	4,47
Ecart-type relatif à la répétabilité (RSD_r) (%)	2,8	6,4	5,8	4,1	4,00
Limite de répétabilité (r) (mg/l)	12,7	11,9	5,4	12,2	12,5
Ecart-type de reproductibilité (s_R) (mg/l)	9,26	7,24	5,89	6,36	6,08
Ecart-type relatif à la reproductibilité (RSD_R) (%)	5,7	11	17,8	5,9	5,5
Limite de reproductibilité (R) (mg/l)	25,9	20,3	16,5	17,8	17,0

**DOSAGE DE L'ACIDE D-MALIQUE DANS LES VINS
POUR DES FAIBLES TENEURS,
EN EMPLOYANT LA METHODE ENZYMATIQUE**
(Résolution Oeno 16/2002)

1. DOMAINE D'APPLICATION

La méthode décrite est appliquée au dosage, par voie enzymatique, de l'acide D-malique des vins avec de teneurs inférieures à 50 mg/l.

2. PRINCIPE

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation de l'acide D-malique (D-malate) par le nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) en oxaloacétate qui est transformé en pyruvate et dioxyde de carbone; la formation de NADH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à la longueur d'onde de 340 nm, est proportionnelle à la quantité de D-malate présente (principe de la méthode décrite pour le dosage de l'acide D-malique pour des teneurs supérieures à 50 mg/l), après l'introduction dans la cuve de mesure d'une quantité d'acide D-malique équivalente à 50 mg/l.

3. REACTIFS

Solution d'acide D-malique à 0,199 g/l, au-delà des réactifs indiqués dans la méthode décrite pour des teneurs supérieures à 50 mg/l.

4. APPAREILLAGE

L'appareillage indiqué dans la méthode décrite pour des teneurs supérieures à 50 mg/l.

5. PREPARATION DE L'ECHANTILLON

La préparation de l'échantillon est indiquée dans la méthode décrite pour des teneurs supérieures à 50 mg/l.

6. MODE OPERATOIRE

Le mode opératoire indiqué dans la méthode décrite pour des teneurs supérieures à 50 mg/l. (résolution Oeno 6/98), mais avec l'introduction dans la cuve d'une quantité d'acide D-malique équivalente à 50 mg/l. (introduction de 0,025 ml d'une solution d'acide D-malique à 0,199 g/l, en substitution du volume équivalent de l'eau) ; les valeurs obtenues sont diminuées de 50 mg/l.

7. VALIDATION INTERNE

Résumé du dossier de validation interne de la méthode de dosage de l'acide D-malique après adjonction préalable de 50 mg/l de cet isomère.

Gamme de travail	0 mg à 70 mg d'acide D-malique par litre. Dans ces limites, la méthode est linéaire, avec un coefficient de corrélation entre 0,990 et 0,994
Limite de quantification	24,4 mg/l
Limite de détection	8,3 mg/l
Sensibilité	0,0015 abs / mg/l
Taux de récupération	87,5 à 115,0% pour les vins blancs et 75 à 105% pour les vins rouges
Répétabilité	=12,4 mg/l pour les vins blancs (selon la méthode OIV, =12,5 mg/l) =12,6 mg/l pour les vins rouges (selon la méthode OIV, =12,7 mg/l)
Coefficient de variation	4,2% à 7,6% (vins blancs et vins rouges)
Variabilité intralaboratoire	CV=7,4% (s=4,4 mg/l; moyenne=59,3 mg/l)

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chretien D., Sudraud P., 1993. Présence naturelle d'acide D(+)-malique dans les moûts et les vins, *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 27: 147-149.

Chretien D., Sudraud P., 1994. Présence naturelle d'acide D(+)-malique dans les moûts et les vins, *Feuille Vert de l'OIV*, 966.

Delfini C., Gaetano G., Gaia P., Piangerelli M.G., Cocito C., 1995. Production of D(+)-malic acid by wine yeasts, *Rivista de Viticoltura e di Enologia*, 48: 75-76.

OIV, 1998. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts. Mise à jour Septembre 1998. OIV, Paris.

Przyborski H., Wacha C., Bandion F., 1993. Zur bestimmung von D(+)Apfelsäure in wein, *Mitteilung Klosterneuburg*, 43: 215-218.

Machado M. et Curvelo-Garcia A.S.; 1999; , FV. O.I.V. N° 1082, Ref. 2616/220199.

Acide L-ascorbique

1 Principe des méthodes

Les méthodes proposées permettent de doser l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique présents dans les vins et les moûts.

1.1. Méthode de référence

L'acide L-ascorbique est oxydé par action du charbon actif en acide déhydroascorbique. Ceci forme un composé fluorescent par réaction avec l'orthophénylènediamine (O.P.D.A.). Un essai témoin en présence d'acide borique permet de déterminer la fluorescence parasite (par formation d'un complexe acide borique - acide déhydroascorbique) et de la déduire du dosage fluorimétrique.

1.2. Méthode usuelle

L'acide L-ascorbique est oxydé par l'iode en acide déhydroascorbique. Ce composé est précipité par la 2,4-dinitrophénylhydrazine en bis (2,4-dinitrophénylhydrazone). Après séparation par chromatographie sur couche mince et solubilisation en milieu acétique, ce composé coloré en rouge est dosé par spectrophotométrie à 500 nm.

2 Méthode de référence (méthode fluorimétrique)

2.1. Appareillage

2.1.1. Fluorimètre.

Utiliser un spectrofluorimètre équipé d'une lampe à spectre continu en se plaçant à la puissance minimale de la lampe.

Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission optimales pour l'essai seront déterminées préalablement et dépendent de l'appareil utilisé. À titre indicatif la longueur d'onde d'excitation se situe au voisinage de 350 nm, la longueur d'onde d'émission au voisinage de 430 nm.

Cuves de 1 cm de trajet optique.

2.1.2. Filtre en verre fritté de porosité 3.

2.1.3. Tubes à essai (diamètre : 10 mm).

2.1.4. Agitateur pour tubes à essai

2.2. Réactifs

2.2.1. Solution de dihydrochlorure d'ortho-phénylènediamine ($C_6H_{10}Cl_2N_2$), à 0,02 g p. 100, préparée extemporanément.

2.2.2. Solution d'acétate de sodium trihydraté à 500 g/l.

2.2.3. Solution mixte d'acide borique et d'acétate de sodium

Dissoudre 3 g d'acide borique dans 100 ml de solution d'acétate de sodium à 500 g/l. Cette solution doit être préparée extemporanément.

2.2.4. Solution d'acide acétique ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) dilué à 56 p. 100 (v/v) de pH voisin de 1,2.

2.2.5. Solution de référence d'acide L-ascorbique à 1 g par litre

Dissoudre, au moment de l'emploi, 50 mg d'acide L-ascorbique, préalablement déshydraté dans un dessiccateur à l'abri de la lumière, dans 50 ml de solution d'acide acétique.

2.2.6. Charbon actif très pur pour analyses ¹

Placer dans une fiole conique de 2 litres de capacité, 100 g de charbon actif, ajouter 500 ml d'une solution d'acide chlorhydrique, ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml) à 10 p. 100 (v/v). Porter à l'ébullition, filtrer sur filtre en verre fritté de porosité 3. Recueillir le charbon ainsi traité dans une fiole conique de 2 l de capacité. Ajouter 1 l d'eau, agiter et filtrer sur filtre de verre fritté de porosité 3. Répéter deux fois cette opération. Placer le résidu dans une étuve réglée à 115 ± 5 °C pendant 12 heures (une nuit par exemple).

2.3. Mode opératoire

2.3.1. Préparation de l'échantillon de vin ou de moût

Prélever un volume de vin ou de moût et le diluer à 100 ml dans une fiole jaugée avec la solution d'acide acétique à 56% afin d'obtenir une solution dont la concentration en acide L-ascorbique soit comprise entre 0 et 60 mg/litre. Homogénéiser le contenu de la fiole jaugée par agitation. Ajouter 2 g de charbon actif et laisser en contact durant 15 min. en agitant de temps en temps. Filtrer sur papier filtre ordinaire en éliminant les premiers millilitres de filtrat.

Dans deux fioles jaugées de 100 ml introduire 5 ml de filtrat et, respectivement, 5 ml de solution mixte d'acide borique et d'acétate de sodium (essai témoin) et 5 ml de solution d'acétate de sodium (dosage). Laisser en contact durant 15 minutes en agitant de temps en temps, compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

Prélever 2 ml du contenu de chacune des fioles, ajouter dans un tube à essai, ajouter 5 ml de solution d'ortho-phénylènediamine ; mélanger à l'aide de l'agitateur ; laisser la réaction se développer durant 30 min. à l'obscurité, puis effectuer la mesure au spectrofluorimètre.

2.3.2. Courbe d'étalonnage

Dans trois fioles jaugées de 100 ml placer respectivement 2, 4 et 6 ml de solution de référence d'acide L-ascorbique, compléter à 100 ml avec la solution d'acide acétique. Homogénéiser par agitation. Les solutions de référence préparées contiennent respectivement 2, 4 et 6 mg d'acide ascorbique/100 ml.

Ajouter 2 g de charbon actif dans chacune des fioles et laisser en contact durant 15 min. en agitant de temps en temps. Filtrer sur papier filtre ordinaire en éliminant les premiers millilitres.

¹ Une des appellations commerciales est "norite"

Introduire respectivement 5 ml de chacun des filtrats recueillis dans trois fioles jaugées de 100 ml (première série). Répéter l'opération dans une deuxième série de trois fioles jaugées. Ajouter dans chacune des fioles de la première série (correspondant à l'essai témoin) 5 ml de solution mixte d'acide borique et d'acétate de sodium et dans chacune des fioles de la deuxième série 5 ml de solution d'acétate de sodium.

Laisser en contact durant 15 min. en agitant de temps en temps. Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Prélever 2 ml du contenu de chacune des fioles, ajouter 5 ml de solution d'ortho-phénylènediamine, agiter. Laisser la réaction se développer durant 30 min. à l'obscurité, puis effectuer la mesure au spectrofluorimètre.

2.3.3. Détermination fluorimétrique

Régler, pour chaque solution de la courbe d'étalonnage et pour la solution du dosage, le zéro de l'échelle des mesures sur l'essai témoin correspondant. Effectuer ensuite la mesure de l'intensité de la fluorescence pour chaque solution de la gamme d'étalonnage et pour le dosage.

Tracer la courbe d'étalonnage. Elle doit être linéaire et passer par l'origine. Reporter sur cette droite la valeur relative au dosage et déduire la teneur C en acide ascorbique + acide déhydroascorbique de la solution analysée.

2.4. Expression des résultats

La concentration du vin en acide L-ascorbique + acide déhydroascorbique exprimée en milligrammes par litre sera :

$$C \cdot X \cdot F$$

F = facteur de dilution

3. Méthode usuelle (colorimétrique)

3.1. Appareillage

3.1.1. Centrifugeuse de laboratoire et tubes à centrifuger de 50 ml de capacité et à bouchons rodés.

3.1.2. Bain d'eau refroidie thermostaté entre 5 et 10 °C.

3.1.3. Bain d'eau refroidie thermostaté à 20 °C.

3.1.4. Plaques pour chromatographie sur couche mince prêtes à l'emploi, 20 × 20 cm, recouvertes de gel de silice G (épaisseur 0,25 ou 0,3 mm).

3.1.5. Cuve pour chromatographie.

3.1.6. Micropipette permettant de délivrer des volumes de 0,2 ml.

3.1.7. Spectrophotomètre permettant d'effectuer des mesures d'absorbance à 500 nm équipé de cuves de 1 cm de trajet optique.

3.2. *Réactifs*

3.2.1. Solution d'acide métaphosphorique à 30 p. 100 (m/v)

Prélever 30 g d'acide métaphosphorique préalablement broyé au mortier. Laver rapidement par immersion et agitation dans l'eau distillée. Dissoudre l'acide lavé dans de l'eau distillée en agitant dans une fiole jaugée de 100 ml, ajuster au trait de jauge. La solution obtenue titre environ 30 p. 100 (m/v) en acide métaphosphorique.

3.2.2. Solution d'acide métaphosphorique à 3 pour 100 (m/v)

Préparée extemporanément par dilution 1/10 avec l'eau distillée de la solution 3.2.1.

3.2.3. Solution d'acide métaphosphorique à 1 pour 100 (m/v)

Préparée extemporanément par dilution 1/30 avec l'eau distillée de la solution 3.2.1.

3.2.4. Suspension de polyamide

Mettre en suspension 10 g de poudre de polyamide pour chromatographie avec 60 ml d'eau distillée, laisser en contact durant 2 heures. La quantité préparée est suffisante pour 4 déterminations.

3.2.5. Thiourée

3.2.6. Solution 0,05 M d'iode

3.2.7. Solution de 2,4-dinitrophénylhydrazine à 6 % (m/v).

Mettre en suspension 6 g de 2,4-dinitrophénylhydrazine dans 50 ml d'acide acétique cristallisable ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) ; ajouter 50 ml d'acide sulfurique ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) ; la 2,4-dinitrophénylhydrazine se dissout par agitation.

3.2.8. Acétate d'éthyle additionné de 2 p. 100 (v/v) d'acide acétique cristallisable ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml).

3.2.9. Chloroforme.

3.2.10. Solution d'amidon à 0,5 p. 100 (m/v).

3.2.11. Phase mobile : acétate d'éthyle, chloroforme, acide acétique cristallisable (50:60:5).

Laisser au repos le mélange solvant 12 heures avant l'emploi.

3.2.12. Acide acétique cristallisable ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml).

3.2.13. Solution d'acide L-ascorbique à 1 g par litre de solution d'acide métaphosphorique à 1 p. 100.

3.3. *Mode opératoire*

3.3.1. Oxydation de l'acide L-ascorbique en acide déhydroascorbique

Placer 50 ml de vin dans une fiole jaugée de 100 ml, ajouter 15 ml de suspension de polyamide et ajuster au trait repère avec la solution d'acide métaphosphorique à 3 p. 100. Laisser en contact durant une heure en agitant à intervalles rapprochés. Filtrer sur filtre plissé. Recueillir 20 ml de filtrat dans un tube à centrifuger, ajouter 1 ml de solution 0,05 M d'iode. Homogénéiser par agitation le contenu du tube à centrifuger bouché et, après 1 minute, réduire l'excès d'iode par 25 mg environ de thiourée.

3.3.2. Formation et extraction de la bis(2,4-dinitrophénylhydrazone) de l'acide dicétogulonique

Placer le tube dans un bain d'eau refroidie entre 5 et 10 °C, ajouter 4 ml de solution de 2,4-dinitrophénylhydrazine. Homogénéiser le contenu du tube en évitant de mouiller le bouchon de verre. Boucher soigneusement le tube et l'abandonner dans un bain d'eau à 20 °C durant 16 heures environ (une nuit par exemple). Ajouter au contenu du tube à centrifuger 15 ml d'acétate d'éthyle, reboucher le tube, agiter durant 30 sec. et centrifuger durant 5 min. en appliquant une force centrifuge de 300 à 350 g. Prélever à la pipette 10 ml de l'acétate d'éthyle d'extraction et les placer dans une fiole conique à bouchon rodé. Ajouter au contenu du tube à centrifuger 5 ml d'acétate d'éthyle. Boucher le tube. Agiter durant 30 s et centrifuger pendant 5 min. dans les mêmes conditions. Prélever 5 ml de l'acétate d'éthyle d'extraction et rajouter ce volume à la solution de la première extraction dans la fiole conique. Homogénéiser le mélange par agitation.

3.3.3. Séparation par chromatographie de la bis(2,4-dinitrophénylhydrazone)

A effectuer dans les 2 heures qui suivent l'extraction.

À partir d'une marge de 2 cm au bas de la plaque et de 2 cm latéralement, déposer linéairement sur toute la distance 0,2 ml de l'extrait d'acétate d'éthyle. Placer la phase mobile dans la cuve sur une hauteur de 1 cm et laisser l'atmosphère de la cuve se saturer des vapeurs des solvants. Introduire la plaque, laisser migrer le solvant jusqu'au bord supérieur de la plaque. Sécher la plaque durant une heure sous une hotte ventilée. Décrocher, à l'aide d'une spatule, perpendiculairement à la zone de migration, la zone colorée en rouge (caractéristique de la bis(2,4-dinitrophénylhydrazone). Recueillir le substrat sur une feuille de papier glacé et le transvaser quantitativement dans une fiole conique à bouchon rodé, ajouter 4 ml d'acide acétique. Laisser en contact durant 30 min. en agitant fréquemment. Filtrer sur papier filtre plissé directement dans la cuve du spectrophotomètre. Le filtrat obtenu doit être limpide. Régler le zéro de l'échelle des absorbances du spectrophotomètre avec l'acide acétique, mesurer l'absorbance de la solution.

3.3.4. Courbe d'étalonnage

Placer dans 3 fioles jaugées de 100 ml respectivement 5, 10 et 15 ml de solution d'acide L-ascorbique à 1 g par litre, ajuster au trait de jauge avec la solution d'acide métaphosphorique à 1 p. 100. Les solutions obtenues titrent respectivement 50, 100 et 150 mg/litre en acide ascorbique. Traiter 50 ml de chacune de ces solutions selon le mode opératoire décrit en 3.3.1, 3.3.2 et 3.3.3. Tracer la courbe d'étalonnage, elle doit être linéaire et passer par l'origine.

3.4. *Expression des résultats*

Porter sur la droite d'étalonnage la valeur de l'absorbance mesurée en 3.3.3, en déduire la concentration C en acide L-ascorbique + acide déhydroascorbique de la solution analysée.

3.4.1. Mode de Calcul

La concentration du vin en acide ascorbique + acide déhydroascorbique, exprimée en milligrammes par litre, est égale à C.

N.B. - Si la concentration en acide L-ascorbique + acide déhydroascorbique est supérieure à 150 mg/litre, réduire le volume de la prise d'essai à 25, 20 ou 10 ml de vin et multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution F.

BIBLIOGRAPHIE

Méthode de référence :

Norme AFNOR, 76-107, ARNOR, Tour Europe, Paris.
PROM T., *F.V.*, *O.I.V.*, 1984, n° 788.

Méthode usuelle :

GENEVOIS L. & HEBRE Cl., *F.V.*, *O.I.V.*, 1964, n° 148.
Wine Research Laboratory of the Max Von Pettenkofer Institute, Berlin, *F.V.*, *O.I.V.*, 1969, n° 318.

Acide sorbique

1 Principe des méthodes

1.1 Méthode de dosage par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet

L'acide sorbique (acide *trans,trans*-hexa-2,4-diénoïque) extrait par entraînement à la vapeur d'eau est dosé dans le distillat du vin par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet. Les substances interférant sur la mesure d'absorption dans l'ultraviolet sont éliminées par évaporation à sec de la prise d'essai du distillat légèrement alcalinisée par une solution d'hydroxyde de calcium. Les teneurs inférieures à 20 mg/l doivent être confirmées par la caractérisation par chromatographie en couche mince (sensibilité : 1 mg/l).

1.2. Méthode de dosage par chromatographie gazeuse

L'acide sorbique extrait dans l'éther éthylique est dosé par chromatographie en phase gazeuse en présence d'un étalon interne.

1.3. Méthode de recherche de traces par chromatographie sur couche mince

L'acide sorbique extrait dans l'éther éthylique est séparé par chromatographie sur couche mince et sa concentration est évaluée semi-quantitativement.

2 Méthode de dosage par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet

2.1. Appareillage

2.1.1. Appareil d'entraînement par la vapeur d'eau (cf. *Acidité volatile*).

2.1.2. Bain d'eau à 100 °C.

2.1.3. Spectrophotomètre permettant des mesures à la longueur d'onde de 256 nm avec cuves en quartz de 1 cm de trajet optique.

2.2 Réactifs

2.2.1. Acide tartrique cristallisé.

2.2.2. Solution d'hydroxyde de calcium environ 0,02 M.

2.2.3. Solution de référence d'acide sorbique à 20 mg par litre.

Dissoudre 20 mg d'acide sorbique dans 2 ml environ de solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium. Verser dans une fiole jaugée de 1000 ml, ajuster au trait de jauge avec de l'eau. On peut également dissoudre 26,8 mg de sorbate de potassium dans l'eau et compléter à 1000 ml avec de l'eau.

2.3. *Mode opératoire*

2.3.1. Distillation

Placer dans le barboteur de l'appareil d'entraînement par la vapeur d'eau 10 ml de vin, ajouter environ 1 g d'acide tartrique. Recueillir 250 ml de distillat.

2.3.2. Courbe d'étalonnage

Préparer par dilutions avec l'eau à partir de la solution de référence quatre solutions de référence diluées titrant respectivement 0,5-1-2,5 et 5 mg d'acide sorbique par litre; mesurer à l'aide du spectrophotomètre leurs absorbances respectives à 256 nm par rapport à l'eau distillée. Tracer la courbe des variations de l'absorbance en fonction des concentrations des solutions. La variation est linéaire.

2.3.3. Dosage

Dans une capsule de 55 mm de diamètre placer 5 ml de distillat, ajouter 1 ml de solution d'hydroxyde de calcium. Évaporer à sec sur bain d'eau bouillante.

Reprendre le résidu par quelques millilitres d'eau distillée, entraîner quantitativement dans une fiole jaugée de 20 ml et ajuster au trait de jauge avec les eaux de rinçage. Mesurer l'absorbance à 256 nm à l'aide du spectrophotomètre comparativement à une solution témoin obtenue par dilution à 20 ml avec de l'eau de 1 ml de solution d'hydroxyde de calcium.

Porter la valeur de l'absorbance mesurée sur la droite d'étalonnage, en déduire la concentration C de la solution en acide sorbique.

Remarque : Dans la pratique courante, cette évaporation à sec peut être négligée. Opérer directement la mesure d'absorbance sur le distillat dilué au ¼ par rapport à l'eau distillée.

2.4. *Expression des résultats*

2.4.1. Mode de calcul

La concentration en acide sorbique du vin exprimée en milligrammes par litre est égale à :

$$100 \times C$$

C = concentration en acide sorbique de la solution analysée par spectrophotométrie, exprimée en milligrammes par litre.

3. Méthode de dosage par chromatographie en phase gazeuse

3.1. Appareillage

3.1.1. Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'une colonne en acier inoxydable (4 m × 1/8 de pouce) préalablement traitée par le diméthylchlorosilane et garnie de phase stationnaire, constituée par un mélange de diéthylèneglycol succinate (5%) et d'acide phosphorique (1%) (DEGS-H₃PO₄) ou par un mélange de

diéthylèneglycol adipate (7%) et d'acide phosphorique (1%) (DEGA-H₃PO₄) fixé sur Gaschrom Q 80-100 mesh.

Pour le traitement au diméthylchlorosilane (DMDCS), faire passer dans la colonne une solution titrant 2 à 3 g de DMDCS dans le toluène.

Laver immédiatement la colonne avec du méthanol; faire passer un courant d'azote, puis de l'hexane et à nouveau un courant d'azote. La remplir ensuite.

Conditions opératoires :

- température du four : 175 °C.
- température de l'injecteur et du détecteur : 230 °C.
- gaz vecteur : azote (débit 20 ml/min.).

3.1.2. Microseringue de 10 microlitres de capacité graduée par 0,1 microlitre.

3.2. Réactifs

3.2.1. Éther éthylique distillé au moment de l'utilisation.

3.2.2. Solution de l'étalon interne : solution d'acide undécanoïque dans l'éthanol à 95 pour 100 vol. titrant 1 g par litre.

3.2.3. Solution aqueuse d'acide sulfurique, ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) dilué $\frac{1}{3}$ (v/v).

3.3. Mode opératoire

3.3.1. Préparation de l'échantillon à analyser

Dans un tube de verre de 40 ml environ de capacité et muni d'un bouchon rodé introduire 20 ml de vin, ajouter 2 ml de solution de l'étalon interne et 1 ml de solution diluée d'acide sulfurique.

Après agitation par retournements successifs, ajouter au contenu du tube 10 ml d'éther éthylique. Extraire l'acide sorbique dans la phase organique par agitation du tube durant 5 min. Laisser décanter.

3.3.2. Préparation de la solution de référence

Sélectionner un vin dont le chromatogramme de l'extrait à l'éther ne présente aucun pic au niveau de l'élution de l'acide sorbique; surcharger ce vin en acide sorbique à la concentration de 100 mg par litre. Traiter 20 ml de l'échantillon ainsi préparé selon le mode opératoire décrit en 3.3.1.

3.3.3. Chromatographie

Injecter successivement dans le chromatographe à l'aide d'une microseringue 2 μ l de la phase étherée obtenue en 3.3.2 et 2 μ l de la phase étherée obtenue en 3.3.1.

Enregistrer les chromatogrammes respectifs; vérifier l'identité des temps de rétention respectifs de l'acide sorbique et de l'étalon interne. Mesurer la hauteur (ou la surface) de chacun des pics enregistrés.

3.4. Expression des résultats

3.4.1. Mode de calcul

La concentration en acide sorbique du vin analysé, exprimée en milligrammes par litre, est égale à :

$$100 \times \frac{h}{H} \times \frac{I}{i}$$

H = hauteur du pic de l'acide sorbique dans la solution de référence.

h = hauteur du pic de l'acide sorbique dans l'échantillon à analyser.

I = hauteur du pic de l'étalon interne dans la solution de référence.

i = hauteur du pic de l'étalon interne dans l'échantillon à analyser.

NOTE : La concentration en acide sorbique peut être déterminée de la même manière à partir des mesures de la surface des pics respectifs.

4. Méthode de recherche de traces d'acide sorbique par chromatographie sur couche mince

4.1. Appareillage

4.1.1. Plaques pour chromatographie sur couche mince prêtes à l'emploi, 20 × 20 cm recouvertes de gel de polyamide (épaisseur : 0,15 mm) additionné d'un indicateur de fluorescence.

4.1.2. Cuve pour chromatographie sur couche mince.

4.1.3. Micropipette ou microseringue permettant de délivrer des volumes de 5 µl à ± 0,1 µl près.

4.1.4. Lampe à rayonnement ultraviolet (254 nm).

4.2. Réactifs

4.2.1. Éther éthylique

4.2.2. Solution aqueuse d'acide sulfurique ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) dilué 1/3 (v/v).

4.2.3. Solution de référence d'acide sorbique dans un mélange hydroéthanolique à 10 % d'éthanol (vol.) environ titrant 20 mg par litre.

4.2.4. Phase mobile : hexane-pentane-acide acétique (20:20:3)

4.3. Mode opératoire

4.3.1. Préparation de l'échantillon à analyser

Dans un tube en verre de 25 ml environ de capacité et muni d'un bouchon rodé, placer 10 ml de vin, ajouter 1 ml de solution d'acide sulfurique dilué et 5 ml d'éther éthylique. Agiter par retournements successifs. Laisser décanter.

4.3.2. Préparation des solutions diluées de référence

Par dilution à partir de la solution 4.2.3 préparer cinq solutions diluées de référence titrant respectivement 2, 4, 6, 8 et 10 mg d'acide sorbique par litre.

4.3.3. Chromatographie

À 2 cm du bord inférieur de la plaque, déposer à l'aide d'une microseringue ou d'une micropipette 5 µl de phase étherée obtenue en 4.3.1 et 5 µl de chacune des solutions diluées de référence, les dépôts étant distants de 2 cm.

Placer la phase mobile dans la cuve pour chromatographie sur une hauteur de 0,5 cm environ et laisser l'atmosphère de la cuve se saturer des vapeurs des solvants. Placer la plaque dans la cuve. Laisser développer le chromatogramme sur 12 à 15 cm (la durée de développement est de 30 minutes environ). Sécher la plaque sous un courant d'air froid. Examiner le chromatogramme sous une lampe à rayonnement ultraviolet à 254 nm.

Les taches relatives à l'acide sorbique apparaissent en violet sombre sur le fond jaune fluorescent de la plaque.

4.4. Expression des résultats

La comparaison de l'intensité du spot de l'échantillon à analyser et des spots des solutions de référence permet d'évaluer semi-quantitativement la concentration en acide sorbique entre 2 et 10 mg par litre. Une concentration égale à 1 mg par litre pourra être déterminée avec un dépôt de 10 µl de solution de l'échantillon à analyser.

Des concentrations supérieures à 10 mg par litre pourront être déterminées avec un volume de dépôt de la solution à analyser inférieur à 5 µl (mesuré à l'aide d'une microseringue).

BIBLIOGRAPHIE

JAULMES P., MESTRES R. & MANDROU B., *Ann. Fals. Exp. Chim.*, n° spécial, réunion de Marseille, 1961, 111-116.

MANDROU, B., BRUN, S. & ROUX E., *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 1975, 725, 29-48.

CHRETIEN D., PEREZ L. & SUDRAUD P., *F.V., O.I.V.*, 1980, n° 720

pH

1. Principe

Mesure de la différence de potentiel entre deux électrodes plongées dans le moût ou le vin. L'une des électrodes a un potentiel qui est une fonction définie du pH du liquide, l'autre a un potentiel fixe et connu et constitue l'électrode de référence.

2. Appareillage

2.1 pH mètre étalonné en unités pH permettant des mesures à 0,05 unité près au moins.

2.2 Électrodes :

- électrode de verre, à conserver dans l'eau distillée;
- électrode de référence au calomel-chlorure de potassium saturé, à conserver dans une solution saturée de chlorure de potassium;
- ou électrode combinée à conserver dans l'eau distillée.

3. Réactifs

– Solutions tampons :

- Solution saturée de tartrate acide de potassium. Solution, contenant au moins 5,7 g/l de hydrogénotartrate 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.

$$\text{pH} \left\{ \begin{array}{l} 3,57 \text{ à } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,56 \text{ à } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,55 \text{ à } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{array} \right.$$

- Solution 0,05 M de phtalate acide de potassium. Solution contenant 10,211 g/l de hydrogénophtalate de potassium ($\text{HOOC C}_6\text{H}_4 \text{ COOK}$) à 20 °C. (Durée maximale de conservation : 2 mois.)

$$\text{pH} \left\{ \begin{array}{l} 3,999 \text{ à } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,003 \text{ à } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,008 \text{ à } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,015 \text{ à } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{array} \right.$$

- Solution contenant :

Dihydrogénophosphate de potassium, KH_2PO_4	3,402 g
Hydrogénophosphate de potassium, K_2HPO_4	4,354 g
Eau q.s.p.	1 l

(Durée maximale de conservation : 2 mois)

$$\text{pH} \left\{ \begin{array}{l} 6,90 \text{ à } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,88 \text{ à } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,86 \text{ à } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,85 \text{ à } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{array} \right.$$

N.B. :- Les solutions tampons de référence du commerce peuvent également être utilisées.

4. Mode opératoire

4.1 Mise au zéro de l'appareil

La mise à zéro s'effectue avant toute mesure, en suivant les indications données pour l'appareil utilisé.

4.2 Étalonnage du pH mètre

L'étalonnage s'effectue à 20 °C en suivant les indications données pour l'appareil utilisé avec les solutions tampons de pH 6,88 et 3,57 à 20 °C. Utiliser la solution tampon de pH 4,00 à 20 °C pour contrôler le calibrage de l'échelle.

4.3 Mesure

Plonger l'électrode dans le vin ou le moût dont la température doit être comprise entre 20 et 25 °C et aussi proche que possible de 20 °C. Lire directement sur l'échelle la valeur du pH.

Effectuer au moins deux déterminations sur le même vin.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

5. Expression des résultats

Le pH du moût ou du vin est exprimé avec 2 décimales.

**DOSAGE DES ACIDES ORGANIQUES ET ANIONS MINERAUX
DANS LES VINS PAR CHROMATOGRAPHIE IONIQUE
(Oeno 23/2004)**

Préambule

Le développement de la chromatographie ionique haute performance dans les laboratoires a permis d'étudier le dosage par cette technique des acides organiques et anions minéraux dans les boissons alcoolisées ou non.

S'agissant particulièrement de l'analyse des vins, les résultats des essais d'intercomparaison et les mesures des taux de recouvrement ont permis de valider une méthodologie analytique.

L'intérêt majeur de cette méthode tient au fait que les colonnes échangeuses d'ions permettent une séparation de la plupart des acides organiques et anions et la détection par conductimétrie affranchit l'analyste des interférences dues à la présence de composés phénoliques. Or, ce type d'interférences est très notable dans les méthodes chromatographiques qui comportent une détection dans l'ultra-violet à 210 nm.

1 - OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La méthode de dosage des anions minéraux et acides organiques par chromatographie ionique est applicable aux boissons alcoolisées (vins, eaux-de-vie et liqueurs). Elle permet de doser les acides organiques dans les domaines de concentration, rapportés dans le tableau 1; ces concentrations sont obtenues par dilution des échantillons.

Tableau 1 : Domaine de concentration des anions pour leur analyse par chromatographie ionique

Sulfate	0,1 à 10	mg/l
Ortho-phosphate	0,2 à 10	mg/l
Acide malique	1 à 20	mg/l
Acide tartrique	1 à 20	mg/l
Acide citrique	1 à 20	mg/l
Acide isocitrique	0,5 à 5	mg/l

Les gammes de travail mentionnées ci-dessus sont données à titre indicatif. Elles englobent les modes d'étalonnage couramment pratiqués et sont donc modulables en fonction du type d'appareillage utilisé (nature de la colonne, sensibilité du détecteur, ...) et du mode opératoire (volume d'échantillon injecté, dilution, ...).

2- PRINCIPE

Séparation des anions minéraux et acides organiques sur une résine échangeuse d'ions.

Détection par conductimétrie.

Identification d'après le temps de rétention et quantification au moyen d'une courbe d'étalonnage.

3 - REACTIFS

Tous les réactifs utilisés lors de l'analyse doivent être de qualité analytique. L'eau servant à la préparation des solutions doit être de l'eau distillée ou désionisée d'une conductivité inférieure à 0,06 μS , exempte des anions dosés à des seuils compatibles avec les limites de détection que permet d'atteindre l'appareillage utilisé.

3.1 Eluant

La composition de l'éluant dépend de la nature de la colonne de séparation et de la nature de l'échantillon à analyser. Elle est cependant toujours préparée à partir de solutions aqueuses d'hydroxyde de sodium.

Les performances de l'analyse chromatographique sont altérées par carbonatation de la solution d'hydroxyde de sodium; en conséquence, les flacons de phase mobile sont balayés à l'hélium avant adjonction d'hydroxyde de sodium et il faut prendre toutes les précautions afin d'éviter de les contaminer par l'air ambiant.

Enfin, ce sont des solutions d'hydroxyde de sodium concentrées commerciales qui seront utilisées.

Remarque

Le tableau du chapitre 7 rappelle les principaux interférents susceptibles d'être présents dans les échantillons.

Il est donc nécessaire de savoir au préalable s'ils coéluent avec les ions à doser et s'ils sont présents à une concentration telle que l'analyse est perturbée.

Les boissons fermentées contiennent de l'acide succinique qui peut interférer avec l'acide malique. A cet effet, il est nécessaire d'ajouter du méthanol dans l'éluant pour améliorer la résolution de la colonne au niveau de ces deux substances (20 % de méthanol).

3.2 Solutions mères étalons

Préparer des solutions mères étalons de concentrations précises voisines de celles indiquées sur le tableau suivant. Dissoudre dans l'eau, dans des fioles jaugées de 1000 ml, des quantités de sels ou d'acides correspondants. (Tableau 2)

Tableau 2 : Concentration des anions dosés dans les solutions mères étalons

Anions et acides (mg)	Composés pesés	Concentration finale (mg/l)	Quantité pesée
Sulfate	Na ₂ SO ₄	500	739,5
Orthophosphate	KH ₂ PO ₄	700	1003,1
Ac. malique	Ac. malique	1000	1000,0
Ac. tartrique	Ac. tartrique	1000	1000,0
Ac. citrique	Ac. Citrique.H ₂ O	1000	1093,8
Ac. isocitrique	Isocitrate 3Na.2H ₂ O	400	612,4

Remarque

Le laboratoire doit prendre les précautions nécessaires au regard du caractère hygroscopique de certains sels.

3.3 Solutions d'étalonnage

Les solutions d'étalonnage sont obtenues par dilution dans l'eau des solutions mères de chaque ion ou acide.

Ces solutions doivent contenir l'ensemble des ions ou acides dosés dans une gamme de concentrations recouvrant nécessairement celle correspondant aux échantillons à analyser. Elles doivent être préparées le jour de leur emploi.

Au moins deux solutions d'étalonnage et un blanc doivent être analysés de façon à établir, par substance, des courbes d'étalonnage à l'aide de trois points (0, demi-concentration maximale, concentration maximale).

Remarque

Le tableau 1 donne des indications sur les concentrations maximales en anions et acides dans les solutions d'étalonnage mais les performances des colonnes chromatographiques sont meilleures avec des solutions très diluées.

Il faut donc rechercher au mieux l'adéquation entre les performances de la colonne et le niveau de dilution des échantillons.

En général, on est amené à diluer l'échantillon entre 50 et 200 fois au maximum, sauf cas particulier.

Pour améliorer la durée de vie des solutions filles, il est souhaitable de les préparer en solution dans un mélange eau/ méthanol (80/20).

4 - APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire et,

4.1 Ensemble instrumental pour la chromatographie ionique comprenant:

4.1.1 Réservoir(s) d'éluant(s)

4.1.2 Pompe à débit constant, sans effet de pulsation

4.1.3 Dispositif d'injection, soit manuel, soit automatique, constitué d'une vanne à boucle d'échantillonnage (par exemple 25 ou 50 µl).

4.1.4 Colonnes de séparation

Ensemble constitué d'une colonne échangeuse d'anions, de performance contrôlée, éventuellement d'une précolonne de même nature que la colonne principale. A titre d'exemple, il est possible d'utiliser les colonnes AS11 et précolonne AG11 de DIONEX®.

4.1.5 Système de détection

Cellule de conductivité à circulation, de très faible volume, reliée à un conductimètre comportant plusieurs gammes de sensibilité. Afin d'abaisser la conductivité de l'éluant, un dispositif de suppression chimique, échangeur de cations est installé en amont de la cellule de conductivité.

4.1.6 Enregistreur, intégrateur ou autre dispositif de traitement des signaux.

4.2 Balance sensible au 1 mg

4.3 Fioles jaugées de 10 à 1000 ml

4.4 Pipettes calibrées de 1 à 50 ml

4.5 Membranes filtrantes de diamètre moyen de pore de 0,45 µm.

5 - ECHANTILLONNAGE

Les échantillons sont dilués en tenant compte des anions minéraux et des acides organiques que l'on souhaite doser.

Si leur concentration est très variable dans l'échantillon, deux niveaux de dilution seront nécessaires afin de respecter les domaines de concentration couverts par les solutions d'étalonnage.

6 - MODE OPERATOIRE

Mettre en marche l'appareillage en suivant les instructions du constructeur.

Régler les conditions de pompage (flux d'éluant) et de détection de manière à obtenir une séparation sélective des pics dans la gamme de concentrations des ions à analyser.

Laisser le système s'équilibrer jusqu'à obtention d'une ligne de base stable.

6.1 Etalonnage

Préparer les solutions d'étalonnage comme indiqué en 3.3.

Injecter les solutions d'étalonnage de façon à ce que le volume injecté soit au moins de 5 fois celui de la boucle d'échantillonnage pour permettre le rinçage du système.

Tracer les courbes d'étalonnage pour chaque ion. Celles-ci doivent être normalement des droites.

6.2 Essai à blanc

Injecter l'eau utilisée dans la préparation des solutions d'étalonnage et des échantillons.

Contrôler l'absence de pics parasites et quantifier les anions minéraux présents (chlorure, sulfate..).

6.3 Analyse

Diluer l'échantillon éventuellement à deux niveaux différents comme indiqué en 5, de sorte que les anions et acides à doser soient présents dans la gamme des concentrations des solutions d'étalonnage.

Filtrer l'échantillon dilué sur une membrane filtrante (4.5) avant injection.

Procéder ensuite comme pour l'étalonnage (6.1).

7 - REPETABILITE, REPRODUCTIBILITE

Cette méthode a été testée par un circuit interlaboratoire mais il ne s'agit pas d'une validation formelle selon le protocole OIV (Oeno 6/99).

La limite de répétabilité et la limite de reproductibilité du dosage de chaque ion dans les

vins ont été calculées selon la norme ISO 5725.

Chaque analyse a été répétée 3 fois.

Nombre de laboratoires participants: 11; Les résultats sont les suivants:

Vin blanc

	Nb labos retenus	Moyenne (mg/l)	Répétabilité (mg/l)	Reproductibilité (mg/l)
Acide malique	11/11	2745	110	559

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Acide organique

Acide citrique	9/11	124	13	37
Acide tartrique	10/11	2001	96	527
Sulfate	10/11	253	15	43
O.phosphate	9/11	57	5	18

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Acide organique

Vin rouge

	Nb labos retenus	Moyenne (mg/l)	Répétabilité (mg/l)	Reproductibilité (mg/l)
Acide malique	8/11	128	16	99
Acide citrique	8/10	117	8	44
Acide tartrique	9/11	2154	48	393
Sulfate	10/11	324	17	85
O.phosphate	10/11	269	38	46

8 - CALCUL DES TAUX DE RECOUVREMENT

L'échantillon supplémenté est un vin blanc

Détermination	Nb labos retenus	Concentration initiale (mg/l)	Ajout réel (mg/l)	Ajout mesuré (mg/l)	Taux de récupération (%)
Ac. citrique	11/11	122	25,8	24,2	93,8
Ac. malique	11/11	2746	600	577	96,2
Ac. tartrique	11/11	2018	401	366	91,3

9 - RISQUES D'INTERFERENCES

Toute substance dont le temps de rétention coïncide avec celui de l'un des ions analysés peut constituer une interférence.

Les interférences les plus courantes sont les suivantes:

Anions ou acides	Interférents
Nitrate	bromure
Sulfate	oxalate, maléate
Orthophosphate	phtalate
Ac. malique	Ac. succinique, Ac. citramalique
Ac. tartrique	Ac. malonique
Ac. citrique	-
Ac. isocitrique	-

Remarque

L'ajout de méthanol dans la phase mobile peut résoudre certains problèmes analytiques.

Par exemple:

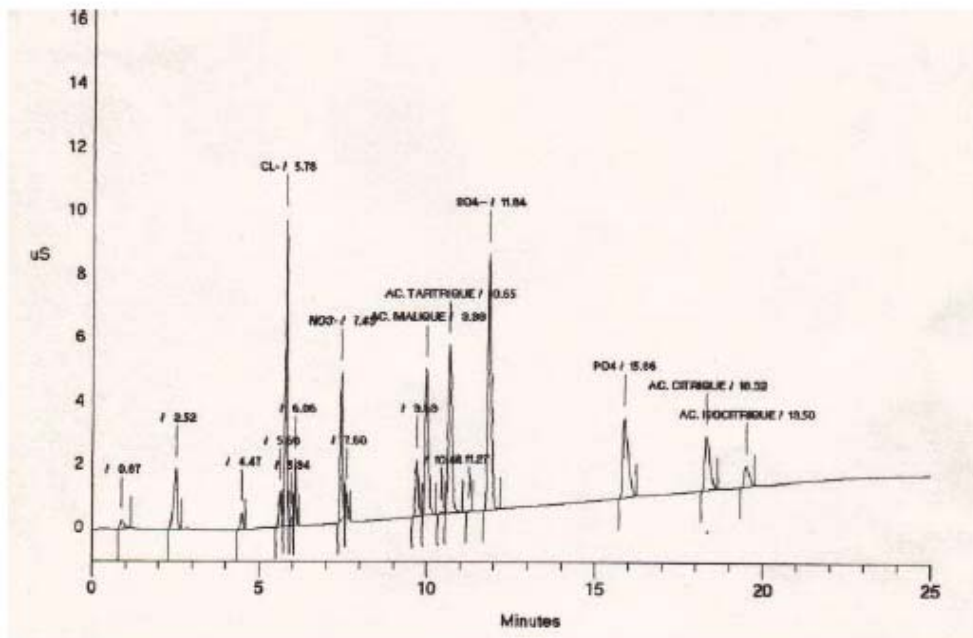
- La présence de méthanol dans la phase mobile n'est pas toujours requise; cependant elle est indispensable pour obtenir une résolution convenable entre acide succinique et acide malique lors de l'analyse des vins.

- Les ions oxalates et sulfates coéluent avec la plupart des conditions chromatographiques; il faut 13% de méthanol dans la phase mobile pour les séparer.

- La résolution des pics correspondant aux acides acétique et lactique est satisfaisante si l'on réalise un gradient d'élution en hydroxyde de sodium, sans méthanol.

10 - EXEMPLES DE CHROMATOGRAMMES

Annexe (a)



Chromatogramme d'une solution d'étalonnage d'acides organiques et d'anions minéraux: Chlorure (1,96 mg/l), Nitrate (2,21 mg/l), Acide malique (5,35 mg/l), Acide tartrique (5,08 mg/l), Sulfate (2,8 mg/l), O.phosphate (3,9 mg/l), Acide citrique (3,24 mg/l), Acide isocitrique (1,6 mg/l).

Appareillage utilisé de marque DIONEX: Pompe, Détecteur PED, suppresseur AMMSII avec AUTOREGEN, colonne AS11 et précolonne AG11.

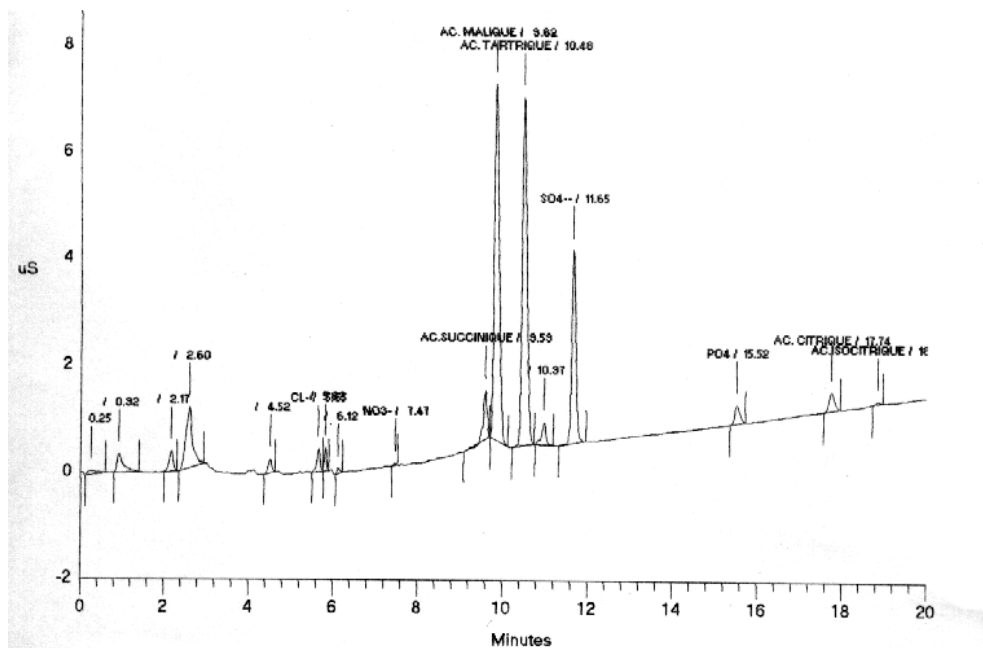
Débit 2ml/mn -

Phase mobile 1: Eau-NaOH 0,5mM/l, méthanol (80/20)

Phase mobile 2: Eau-NaOH 100mM/l, méthanol (80/20)

Gradient d'élution: 100% Phase mobile 1 à 65% phase mobile 1 en 25 mn.

Annexe (b)



Chromatogramme d'un vin rosé dilué 200 fois:

Appareillage utilisé de marque DIONEX: Pompe, Détecteur PED, supprimeur AMMSII avec AUTOREGEN, colonne AS11 et précolonne AG11.

Débit 2ml/mn -

Phase mobile 1: Eau-NaOH 0,5mM/l, méthanol (80/20)

Phase mobile 2: Eau-NaOH 100mM/l, méthanol (80/20)

Gradient d'élution: 100% Phase mobile 1 à 65% phase mobile 1 en 25 mn.

**DOSAGE DE L'ACIDE SHIKIMIQUE DANS LE VIN PAR
CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE ET
DETECTION UV
(Oeno 33/2004)**

1. Introduction

L'acide shikimique (acide 3,4,5-Trihydroxycyclohex-1-ène-1-carboxylique) est biosynthétisé à partir d'acide quinique par déshydratation et joue un rôle majeur comme précurseur de phénylalanine, tyrosine, tryptophane et des alcaloïdes végétaux [1]. L'acide shikimique se trouve naturellement dans une grande variété de fruits [2].

Les Etats membres sont encouragés à poursuivre la recherche dans ce domaine pour éviter les évaluations non scientifiques de ces résultats.

Le dosage de l'acide shikimique par CLHP a été validé dans le cadre d'une étude collaborative internationale par des analyses d'échantillons de vins présentant des teneurs naturelles en acide shikimique allant de 10 à 150 mg/l. La validité a été prouvée par une comparaison inter-laboratoire utilisant respectivement la CLHP, la GC/FID et GC/MS .[3]

2. Domaine d'application

Ce document décrit une méthode usuelle en mode isocratique qui s'applique à la détermination quantitative d'acide shikimique dans les vins rouges, rosés et blancs (y compris vins mousseux et vins spéciaux) à des concentrations allant de 1 mg/l jusqu'à 300 mg/l en utilisant la chromatographie liquide haute performance (CLHP). La méthode peut s'appliquer aux vins mousseux à condition que les échantillons soient préalablement dégazés (par sonication par exemple).

3. Principe

L'acide shikimique est dosé directement, sans préparation d'échantillon, par chromatographie liquide haute performance en utilisant un système de colonnes couplées. La première colonne est de type C₁₈ et la deuxième colonne est de type échangeuse de cations. Elle est chauffée à 65°C. En utilisant une eau légèrement acidifiée comme solvant d'élution, on obtient une bonne résolution de l'acide shikimique sans effets de matrice du vin. Grâce à la double liaison du cyclohexène, l'acide shikimique présente un maximum d'absorption situé à 210 nm et peut donc être facilement détecté par un détecteur UV.

4. Réactifs et matériaux

- 4.1 Acide shikimique (CAS 138-59-0), d'une pureté minimum de 98 %
- 4.2 Acide sulphurique 0,5 M
- 4.3 Eau bidistillée
- 4.4 Préparation du solvant d'éluion (0,01 M H₂SO₄)
Pipeter 20 ml d'acide sulfurique 0,5 M (4.2) dans une fiole jaugée de 1000 ml, remplir d'eau bidistillée (4.3) jusqu'à environ 900 ml, agiter et ajuster à 1000 ml. Filtrer le solvant d'éluion au moyen d'un filtre dont les pores ont un diamètre inférieur ou égal à 0,45 µm et dégazer.
- 4.5 Préparation de la solution mère étalon (500 mg/l d'acide shikimique)
Peser exactement 50 mg d'acide shikimique (4.1), transférer quantitativement dans une fiole jaugée de 100 ml, remplir d'eau bidistillée (4.3) jusqu'à 90 ml environ, agiter et ajuster à 100 ml. La solution mère étalon peut être conservée pendant plusieurs mois à 18°C.
- 4.6 Préparation des solutions étalons de travail (5, 25, 50, 100, 150 mg/l d'acide shikimique) Diluer la solution mère à raison de 500 mg/l (4.5) avec de l'eau bidistillée (4.3) pour obtenir cinq solutions étalons de travail de 5, 25, 50, 100, 150 mg/l d'acide shikimique. Préparer les solutions étalons quotidiennement.

5. Appareillage et matériel

Equipement usuel de laboratoire et en particulier le matériel suivant:

- 5.1 Système CLHP capable d'effectuer l'analyse d'une solution d'acide shikimique
- 5.1.1 Chromatographe CLHP équipé d'une vanne d'injection 6 voies avec boucle d'échantillonnage de 5 µl ou tout autre dispositif, automatique ou manuel, assurant une injection fiable de micro volumes.
- 5.1.2 Système de pompes à régime isocratique pour maintenir un débit constant ou programmé avec une précision maximale
- 5.1.3 Système permettant de chauffer une colonne de 300 mm jusqu'à 65 °C

5.1.4 Détecteur UV-VIS avec cellule à circulation et fonctionnant à la longueur d'onde de 210 nm

5.1.5 Intégrateur ou tout autre système de collecte de données

5.2 Colonnes CLHP en acier inoxydable.

5.2.1 Pré-colonne

Il est recommandé de prévoir une pré-colonne en amont des colonnes analytiques.

5.2.2 Colonnes analytiques

1. Colonne en phases inversées (à température ambiante)

Matériau: acier inoxydable

Diamètre interne: 4 - 4,6 mm

Longueur: 200 - 250 mm

Phase stationnaire: matériau sphérique, C₁₈ en phases inversées, particules de 5 µm de diamètre^{*)}

Couplée

2. Colonne échangeuse de cations (chauffée à 65°C)

Matériau: acier inoxydable

Diamètre interne: 4 - 7,8 mm

Longueur: 300 mm

Phase stationnaire: résine de type polystyrène-divinylbenzène avec un taux de réticulation à 8 % et à groupements sulfoniques sous forme hydrogène (S-DVB)^{**)}

6. **Echantillonnage**

Les échantillons de vins limpides sont introduits directement dans des fioles pour échantillons et analysés par chromatographie sans préparation préalable. Les échantillons troubles sont filtrés à travers une membrane de

^{*)} LichrospherTM 100 RP-18, HypersilTM-ODS or OmnicromTM YMC-ODS-A sont des exemples de colonnes adaptées disponibles dans le commerce.

^{**)} AminexTM HPX 87-H ou RezexTM ROA-Organic Acid sont des exemples de colonnes adaptées et disponibles dans le commerce.

diamètre de pores de 0,45 µm avant injection, après élimination des premières fractions de filtrats.

7. Procédure

7.1 Mode opératoire de l'analyse CLHP

Injecter 5 µL de vin dans l'appareil chromatographique (système d'injection à boucle).

Débit: 0,4 ml/min

(si le diamètre interne de la colonne échangeuse de cations est de 4 mm)

0,6 ml/min

(si le diamètre interne de la colonne échangeuse de cations est de 7,8 mm)

Phase mobile: 0,01 M H₂SO₄

Chauffage de la colonne échangeuse de cations: 65 °C

Durée: 40 mn

Temps nécessaire à l'équilibration: 20 mn (afin que toutes les substances du vin aient bien été éliminées)

Longueur d'onde de détection: 210 nm

Volume d'injection: 5 µL

Note: en raison des différences de propriétés de séparation entre les colonnes et des différences de volume mort entre les différents appareils CLHP, le temps de rétention absolu (mn) pour le pic d'acide shikimique peut varier de manière plus ou moins significative. Bien que l'acide shikimique puisse être identifié facilement en calculant facteur de séparation (α) par rapport à un pic de référence, l'acide tartrique, est le premier pic et le pic dominant dans le chromatogramme. En essayant différentes colonnes en phases inversées C₁₈ et diverses colonnes échangeuses de cation, un facteur de séparation (α) de 1,33 (\pm 0.2) a été calculé.

7.2. Limite de détection

La limite de détection de cette méthode calculée selon le protocole OIV, a été estimée à 1 mg/l

8. Calibration

Préparer une courbe de calibration à 5 points à partir des solutions étalons de travail (4.6).

La détermination quantitative de l'acide shikimique est effectuée en suivant la méthode de l'étalonnage externe en mesurant les surfaces des pics de temps de rétention de l'acide shikimique et en les comparant à la courbe de calibration pertinente. Les résultats, en acide shikimique, sont exprimés en mg/l à une décimale.

9. Etude collaborative

La méthode a été validée par une étude collaborative avec la participation de 19 laboratoires internationaux suivant la résolution de l'OIV oeno 6/2000 "Protocole pour la validation des méthodes d'analyse" et notamment les recommandations sur la planification, la conduite et l'interprétation des études de performance des méthodes d'analyse. L'étude a porté sur 5 échantillons différents de vins rouges et blancs avec des concentrations de 10 à 120 mg/l. (voir annexe 3)

Les écarts-type de répétabilité et de reproductibilité sont corrélés à la concentration d'acide shikimique (voir Annexe 2). Les paramètres de performance réels peuvent être calculés comme suit:

$$s_r = 0,0146 x + 0.2716$$

$$s_R = 0,0286 x + 1.4883$$

x: concentration d'acide shikimique (mg/l)

Exemple:

Acide shikimique: 50 mg/l

$s_r = \pm 1.0$ mg/l

$s_R = \pm 2.92$ mg/l

10. Annexe

Un exemple de séparation de l'acide shikimique et des autres acides organiques est mentionné dans l'annexe 1.

La corrélation entre la concentration de l'acide shikimique et l'écart type de répétabilité et de reproductibilité figure dans l'annexe 2.

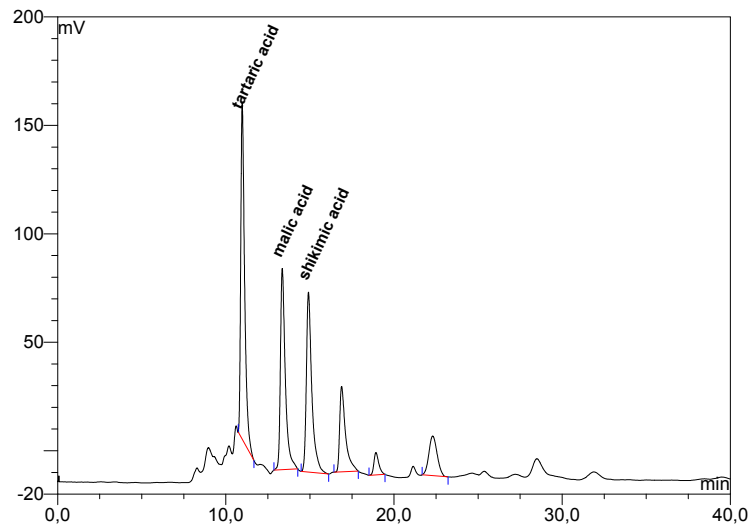
Les statistiques provenant des résultats d'une étude inter laboratoire sont fournis dans l'annexe 3.

11. Références

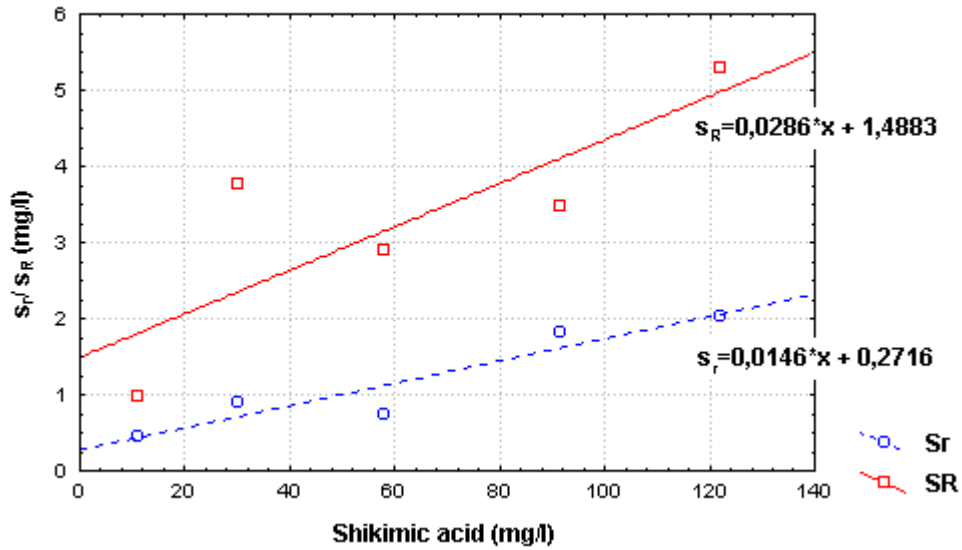
- [1] Römpf Lexikon Chemie-Version 2.0, Stuttgart/New York, Georg Thieme Verlag 1999
- [2] Wallrauch S., Flüssiges Obst 3, 107 – 113 (1999)

- [3] 44th session SCMA, 23-26 march 2004, comparison of HPLC, GC, and GC-MS determination of Shikimic acid in wine, FV 1193

Annexe 1: Chromatogramme des acides organiques du vin



Annexe 2: Corrélation entre la concentration de l'acide shikimique et les écarts-type de répétabilité et de reproductibilité



Annexe 3: Tableau de performance de la méthode

Identification des échantillons	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires participants	19	19	19	19	19
Nombre de laboratoires retenus	17	18	17	18	18
Moyenne mg/l	58.15	30.05	11.17	122.17	91.20
s_r^2	0.54588	0.84694	0.19353	4.32417	2.67306
s_r	0.73884	0.92030	0.43992	2.07946	1.63495
RSD _r (%)	1.27	3.06	3.93	1.70	1.79
r	2.07	2.58	1.23	5.82	4.58
s_L^2	8.45221	13.27078	0.73013	24.62737	8.55508
s_R^2	8.99809	14.11773	0.92366	28.95154	11.22814
s_R	2.99968	3.75736	0.96107	5.38066	3.35084
RSD _R (%)	5.16	12.50	8.60	4.40	3.67
R	8.40	10.52	2.69	15.07	9.38

s_r^2 variance de répétabilité
 s_r écart-type de répétabilité
RSD_r (%) écart-type relatif/ répétabilité
r répétabilité
 s_L^2 variance “sure” interlaboratoires
 s_R^2 variance de reproductibilité
 s_R écart-type de reproductibilité

RSD_R (%) écart-type relatif/reproductibilité
R reproductibilité

Titre	DOSAGE DE L'ACIDE SORBIQUE DANS LES VINS PAR ELECTROPHORESE CAPILLAIRE	
Type de méthode	IV	
Résolution	Oeno 4/2006	

1 Domaine d'application

La présente méthode permet de doser l'acide sorbique dans les vins dans une gamme de 0 à 300 mg/l.

2 Principe

La charge négative de l'ion sorbate permet de le séparer efficacement par électrophorèse capillaire. En sortie de colonne, la détection est effectuée dans l'ultraviolet à 254 nm.

3 Réactifs et produits

3.1 Réactifs

- 3.1.1 Dihydrogénophosphate de sodium [10049-21-5] pureté > 96%
- 3.1.2 Hydrogénophosphate de sodium [10028-24-7] pureté > 99%
- 3.1.3. Hydroxyde de sodium [1310-73-2] pureté > 97%
- 3.1.4. Hippurate de sodium [532-94-5] pureté > 99%
- 3.1.5 Eau déminéralisée (< 15 MOHMS) ou bidistillée

3.2 Solution tampon de migration

Le tampon de migration est constitué d'une solution aqueuse de :

Dihydrogénophosphate de sodium (3.1.1)	5 mM
Hydrogénophosphate de sodium (3.1.2)	5 mM

3.3 Standard interne

Hippurate de sodium (3.1.4) en solution aqueuse à 0.5 g.L-1.

3.4 Solutions de rinçage

3.4.1 Hydroxyde de sodium (3.1.3) N/10

3.4.2 Hydroxyde de sodium (3.1.3) N

4 Préparation des échantillons

Les échantillons de vin sont préparés selon le schéma suivant qui entraîne une dilution au 1/20 :

Vin à analyser :	0.5 ml
Hydroxyde de sodium (3.1.3) N/10 :	0.5 ml
Standard interne (3.1.4) à 0.5 g.L-1 :	0.5 ml
qsp 10 ml avec de l'eau déminéralisée (3.1.5)	

5 Conditions opératoires

5.1 Conditionnement du capillaire

Avant sa première utilisation, et dès que les temps de migration augmentent, le capillaire doit être conditionné selon le processus suivant :

5.1.1 Rinçage avec une solution d'hydroxyde de sodium 1N (3.4.2) sous 20 psi (140 kPA) pendant 8 mn.

5.1.2 Rinçage avec une solution d'hydroxyde de sodium (3.4.1) 0.1 N sous 20 psi (140 kPA) pendant 12 mn

5.1.3 Rinçage à l'eau (3.1.5) sous 20 psi (140 kPA) pendant 10 mn

5.1.4 Rinçage au tampon de migration (3.2) sous 20 psi (140 kPA) pendant 30 mn

5.2 Conditions de migration

Ces conditions peuvent éventuellement être sujettes à de légères modifications en fonction de l'appareillage utilisé.

5.2.1 Le capillaire en silice fondue est de 31 cm de longueur, avec un diamètre de 50 microns.

- 5.2.2 Température de migration : 25 °C
- 5.2.3 Longueur d'onde de lecture : 254 nm.
- 5.2.4 Lecture du signal en mode direct (l'acide sorbique absorbe dans l'UV).
- 5.2.5 Premier prérinçage sous pression à 30 psi (210 kPA) avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N (3.4.1) pendant 30 secondes
- 5.2.6 Deuxième prérinçage sous pression à 30 psi (210 kPA) au tampon de migration (3.2) pendant 30 secondes.
- 5.2.7 L'injection se fait sous pression de 0,3 psi (2,1 kPA) pendant 10 secondes.
- 5.2.8 La migration dure environ 1.5 à 2 minutes sous une différence de potentiel de + 25 kV, en polarité normale (cathode à la sortie).

- 5.2.9 Certains appareils d'électrophorèse capillaire proposent des vials de grande contenance pour les solutions tampon de migration. Ceci est préférable lorsque plusieurs analyses sont réalisées à la suite, car les propriétés électrolytes se conservent plus longtemps.

5.3 Lecture des résultats

Les pics d'absorption du standard interne et de l'acide sorbique sont obtenus en moyenne 1 à 1,5 minutes après le début de la phase de migration sous tension. Le temps de migration est assez constant, mais peut légèrement varier en fonction de l'état du capillaire. En cas de dégradation du temps de migration, un reconditionnement du capillaire est nécessaire, et si les conditions nominales ne sont pas rétablies, le capillaire doit être remplacé.

6 Caractéristiques de la méthode

Les différentes étapes de validation interne décrites ont été effectuées selon la résolution OIV OENO 10/2005.

6.1 Répétabilité intralaboratoire

Écart type de répétabilité Sr	1,6 mg.L⁻¹
Répétabilité r	4,6 mg.L⁻¹

6.2 Linéarité

Droite de régression	$Y = 0,99491 X + 2,52727$
Coefficient de corrélation r	0,9997
Écart type résiduel Sxy	1,6 mg.L ⁻¹
Écart type pente Sb	0,008 mg.L ⁻¹

6.3 Reproductibilité intralaboratoire

Écart type de reproductibilité SR	2,1 mg.L-1
Reproductibilité R	5,8 mg.L-1

6.4 Limites de détection et de quantification

Limite de détection Ld	1,8 mg.L ⁻¹
Limite de quantification Lq	4,8 mg.L ⁻¹

6.5 Robustesse

La méthode étant relative, les éventuelles légères variations des conditions d'analyse n'auront pas d'influence sur le résultat final, mais auront essentiellement des influences sur le temps de migration.

6.6 Spécificité de la méthode

L'éventuelle influence des principaux additifs œnologiques a été testée. Aucun n'entraîne une modification des résultats.

6.7 Raccordement de la méthode à la méthode de référence OIV

La méthode de référence OIV est le dosage par spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet. L'acide sorbique, extrait par entraînement à la vapeur d'eau, est dosé dans le distillat du vin par spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet à 256 nm.

6.7.1 Comparaison des répétabilités

	Électrophorèse capillaire	Méthode de référence OIV
Écart type de répétabilité S_r	1,6 mg.L⁻¹	2,5 mg.L⁻¹
Répétabilité r	4,6 mg.L⁻¹	7,0 mg.L⁻¹

6.7.2 Justesse de la méthode usuelle par rapport à la méthode de référence

Coefficient de corrélation r	0,999
Biais moyen Md	0,03 mg.L⁻¹
Écart type biais moyen Sd	3,1 mg.L⁻¹
Z-score (Md/ Sd)	0,01

Titre	DOSAGE DES PRINCIPAUX ACIDES ORGANIQUES DES VINS PAR ELECTROPHORESE CAPILLAIRE	
Type de méthode	III	
Résolution	Oeno 5/2006	

1. INTRODUCTION

Les acides tartrique, malique et lactique sont séparés et dosés par électrophorèse capillaire après simple dilution et addition d'étalon interne.

2. TITRE

DOSAGE DES PRINCIPAUX ACIDES ORGANIQUES DES VINS PAR ELECTROPHORESE CAPILLAIRE

3. DOMAINE D'APPLICATION

L'électrophorèse capillaire permet de doser les acides tartrique et malique des moûts ainsi que les acides tartrique, malique et lactique des vins préalablement dilués, dégazés et filtrés si besoin.

4. DEFINITIONS

4.1 ELECTROPHORESE CAPILLAIRE

L'électrophorèse capillaire : ensemble de techniques qui utilisent un capillaire de silice de très faible diamètre pour séparer efficacement à l'aide d'un tampon approprié, à la fois des petites et des grosses molécules électriquement chargées en présence d'un courant électrique de fort voltage.

4.2 TAMPON POUR ELECTROPHORESE

Solution contenant un ou plusieurs solvants et des solutés de mobilités électrophorétiques convenables capables de tamponner le pH de cette solution.

4.3 MOBILITE ELECTROPHORETIQUE

Aptitude d'un ion à se déplacer rapidement sous l'effet d'un champ électrique.

4.4 FLUX ELECTROSMOTIQUE

Ecoulement du solvant du tampon le long de la paroi interne du capillaire dû aux déplacements des ions solvatés sous les effets du champ et des charges électriques de la silice.

5. PRINCIPE

Les séparations des solutés d'un mélange par électrophorèse capillaire sont obtenues par migrations différentielles dans un électrolyte tamponné appelé tampon. L'électrophorèse se déroule dans un tube de silice de diamètre intérieur compris entre 25 et 75 μm . Les solutés à séparer sont entraînés simultanément par 2 forces qui peuvent agir dans le même sens ou en sens contraire. Ces deux forces sont dues au **champ électrique** et au **flux électrosmotique**.

Le champ électrique est représenté par la tension en volts appliquée entre les électrodes ramenée à un centimètre de capillaire, il est exprimé en $\text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$. La mobilité est une caractéristique de l'ion. Plus les molécules sont petites et chargées plus leur mobilité électrophorétique est importante.

Dans le cas où la paroi interne du capillaire est non revêtue, les charges électriques négatives de la silice vont engendrer une fixation d'une partie des cations du tampon. La solvatation et le déplacement vers la cathode d'une partie des cations du tampon créent le flux électrosmotique. Les choix du pH du tampon et l'utilisation d'additifs permettent de contrôler le sens et l'intensité de ce flux électrosmotique.

L'addition d'un ion chromophore dans le tampon permet l'obtention de pics négatifs qui représentent quantitativement les solutés à séparer qui n'absorbent pas à la longueur d'onde utilisée.

6. REACTIFS ET PRODUITS

6.1 Produits purs de qualité pure pour analyse à 99 % au moins

- 6.1.1 Sulfate de sodium
- 6.1.2 Acide L-tartrique
- 6.1.3 Acide D,L- malique
- 6.1.4 Acide citrique monohydraté
- 6.1.5 Acide succinique
- 6.1.6 Acide D,L-lactique
- 6.1.7 Dihydrogénophosphate de sodium
- 6.1.8 Gluconate de sodium
- 6.1.9 Chlorate de sodium
- 6.1.10 Acide dipicolinique
- 6.1.11 Bromure de céthyl-triméthyl-ammonium
- 6.1.12 Acétonitrile pour CLHP
- 6.1.13 Eau pure désionisée, ultrafiltrée
- 6.1.14 Hydroxyde de sodium.

6.2 Solutions

6.2.1. Solution mère d'étalonnage

Solution dans l'eau pure (6.1.13) des différents acides à doser (6.1.1 à 6.1.6) à des concentrations exactement connues comprises entre 800 et 1200 mg l⁻¹

Solution à conserver à +5° C pendant 1 mois maximum.

6.2.2. Solution d'étalon interne

Solution de chlorate de sodium (6.1.9) à environ 2 g l⁻¹ dans l'eau pure (6.1.13)

Solution à conserver à +5° C pendant 1 mois maximum

6.2.3 Solution d'étalonnage à injecter

Dans une fiole jaugée de 50 ml de classe "A", déposer à l'aide de pipettes de classe "A":

2 ml de la Solution d'étalonnage (6.2.1)

1 ml de solution d'étalon interne (6.2.2)

Compléter à 50 ml avec de l'eau pure (6.1.13)

Homogénéiser par agitation

Solution à préparer chaque jour

6.2.4 Solutions d'hydroxyde de sodium

6.2.4.1 Solution d'hydroxyde de sodium M

Placer dans une fiole de 100 ml 4 g d'hydroxyde de sodium (6.1.14)

Compléter avec de l'eau pure (6.1.13)

Agiter jusqu'à dissolution complète.

6.2.4.2 Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M

Placer dans une fiole de 100 ml 10 ml d'hydroxyde de sodium M (6.2.4.1)

Compléter avec de l'eau pure (6.1.13)

Homogénéiser.

6.2.5 Tampon électrophorétique

Dans une fiole jaugée de 200 ml de classe "A", déposer

0.668 g d'acide dipicolinique (6.1.10)

0.364 g de bromure de céthyl-triméthyl-ammonium (6.1.11)

20 ml d'acétonitrile (6.1.12)

160 ml environ d'eau pure (6.1.13)

Agiter jusqu'à complète dissolution (si besoin placer dans un bain à ultrasons pour éliminer les agrégats)

Amener à pH 5.64 avec tout d'abord de la solution d'hydroxyde de sodium M (6.2.4.1) puis avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M (6.2.4.2)

Compléter à 200 ml avec de l'eau pure (6.1.13)

Homogénéiser par agitation

Solution à préparer chaque mois.

Conservation à la température du laboratoire.

7 APPAREILLAGE

Un équipement d'électrophorèse capillaire nécessaire pour ces dosages contient essentiellement :

- Un passeur d'échantillons
- Deux flacons (vials) contenant du tampon
- Un capillaire de silice non revêtue de 50 µm de diamètre interne et de 60 cm de longueur entre l'entrée du capillaire et la cellule de détection. De 7 à 15 cm, suivant les appareils,

supplémentaires sont nécessaires pour que la sortie du capillaire soit immergée au centre d'un autre flacon

- Une alimentation haute tension de courant continu capable de délivrer des tensions de 30 à + 30 kv. Les électrodes immergées dans les deux flacons où débouchent les extrémités du capillaire sont reliées aux bornes du générateur
- Un système de pressurisation capable de faire circuler le tampon dans le capillaire et permettre l'injection de la prise d'essai
- Un détecteur UV
- Un système d'acquisition des données

8 Préparation des échantillons pour essai

8.1 Dégazage et filtration

Les échantillons riches en gaz carbonique sont dégazés pendant 2 mn aux ultrasons. Les échantillons troubles sont filtrés sur une membrane dont le diamètre des pores moyen est de 0,45 µm.

8.2 Dilution et ajout d'étalon interne

Placer 2 ml d'échantillon dans une fiole jaugée de 50 ml
Ajouter 1 ml de solution d'étalon interne (6.2.2).
Compléter à 50 ml avec de l'eau pure (6.1.13)
Homogénéiser.

9 MODE OPERATOIRE

9.1 Conditionnement d'un capillaire neuf

- Circulation d'eau pure (6.1.13) en sens inverse (de la sortie du capillaire vers le flacon d'entrée) pendant 5 mn avec une pression de 40 psi environ (2,76 bar ou 276 kPa)
- Circulation d'hydroxyde de sodium 0,1 M (6.2.4.2) en sens inverse pendant 5 mn à la même pression
- Circulation d'eau pure (6.1.13) en sens inverse (de la sortie du capillaire vers le flacon d'entrée) pendant 5 mn à la même pression
- Recommencer ce cycle : passages d'eau pure, d'hydroxyde de sodium 0,1 M, eau pure
- Circulation du tampon électrophorétique (6.2.5) en sens inverse pendant 10 mn.

9.2 Reconditionnement d'un capillaire en cours d'utilisation

Lorsque que la qualité des séparations devient insuffisante un nouveau conditionnement du capillaire s'impose. Si les résultats obtenus ne sont toujours pas satisfaisants, changer le capillaire et le conditionner.

9.3 Vérification de la qualité du capillaire

Analyser à 5 reprises la solution d'étalonnage (6.2.3) dans les conditions d'analyses préconisées.

9.4 Conditions de séparation et de détection

- Allumage de la lampe du détecteur 1 heure avant le début des analyses
- Rinçage du capillaire par circulation du tampon électrophorétique (6.2.5) pendant 3 mn en sens inverse sous une pression de 40 psi
- Injection par pression à 0,5 psi pendant 6 à 15 secondes des échantillons préparés en 8.1
- La polarité est réglée afin que l'anode soit du côté du détecteur
- Appliquer une tension de 0 à 16 Kv en 1 mn puis de 16 Kv pendant 18 mn environ
- (la durée de la séparation peut légèrement varier en fonction de la qualité du capillaire)
- La température est maintenue à + 25 °C
- La détection dans l'ultra violet est faite à 254 nm
- Rinçage du capillaire par circulation du tampon électrophorétique (6.2.5) pendant 2 mn en sens inverse sous une pression de 40 psi
- Changer le du tampon électrophorétique (6.2.5) contenu dans flacons d'entrée et de sortie tous les 6 injections au minimum.

9.5. Ordre dans lequel les analyses doivent être effectuées

- Changer le tampon électrophorétique (6.2.5) à chaque nouvelle série d'analyses

La séquence des analyses contient dans l'ordre :

- Analyse de la solution d'étalonnage (6.2.3)
- Analyse du matériau de référence (échantillon externe de concentration connue pour les différents acides à doser)

- Analyse des échantillons préparés en 8.2.
- A la fin des analyses effectuer un rinçage à l'eau pure (6.1.13) de 10 mn en sens inverse, (de la sortie du capillaire vers l'entrée),
- Eteindre la lampe du détecteur.

10 CALCULS DES RESULTATS

Les calculs sont faits à partir des surfaces des pics obtenues après intégrations.

Les surfaces des pics de solutés de la solution d'étalonnage (6.2.3) sont corrigées en tenant compte des variations de surfaces des pics de l'étalon interne. Le coefficient de réponse pour chaque acide est calculé.

Les surfaces des pics de l'étalon interne et des pics des solutés sont relevées pour chaque échantillon. Les surfaces des solutés à doser sont recalculées en tenant compte de nouveau des variations de surfaces des pics de l'étalon interne pour obtenir des surfaces dites "corrigées".

Les surfaces corrigées sont ensuite multipliées par la valeur du coefficient de réponse correspondant.

FORMULE DE CALCULS

Les abréviations utilisées pour le calcul de la concentration d'un acide sont données dans le tableau suivant:

Les surfaces sont exprimées par les nombres entiers d'unités d'intégration.

Les concentrations sont données en g/l. (ne conserver que deux décimales).

ABREVIATIONS		
	SOLUTION DE REFERENCE	ECHANTILLON
SURFACES DU PIC DE L'ACIDE DOSE	S_{AR}	S_{AE}
PICS D'ETALON INTERNE	S_{EIR}	S_{EIE}
CONCENTRATION DE L'ACIDE DOSE	C_{AR}	C_E

La formule de calcul est:

$$C_E = \frac{CAR \times S_{AE} \times S_{EIR}}{SAR \times S_{EIE}}$$

Chaque fois que cela est possible, l'analyse en double exemplaire permet de mettre en évidence une erreur éventuelle dans la reconnaissance des pics ou une imprécision des intégrations. Le passeur d'échantillons permet de réaliser les analyses en mode automatique tout au long du jour et de la nuit.

11 FIDELITE

11.1. Organisation des essais

Afin d'obtenir une validation interlaboratoires, des échantillons ont été confiés à 5 laboratoires. Chaque laboratoire a analysé en doubles exemplaires 16 échantillons. Ces échantillons comprenaient 2 vins blancs secs, 2 vins blancs liquoreux, 2 vins rosés et 2 vins rouges. Chaque vin était présenté de façon anonyme ainsi que son double, le tout dans un ordre tiré au hasard.

11.2. Mesure de la fidélité

ESTIMATION DE LA FIDELITE APRES ANALYSES INTERLABORATOIRES			
Nombre de laboratoires participants:	5		
Résultats donnés en mg / l			
	ACIDE TARTRIQUE	ACIDE MALIQUE	ACIDE LACTIQUE
valeurs moyennes des concentrations	1395	1884	1013
valeurs moyennes des écarts types de répétabilité	38	54	42
valeurs moyennes des écarts types de réproductibilité	87	113	42

12 ANNEXES

ESSAIS INTERLABORATOIRES								
Dosage de l'ACIDE TARTRIQUE par électrophorèse capillaire								
Identification de l'échantillon	vins blancs secs		vins blancs liquoreux		vins rosés		vins rouges	
	A et D	B et C	E et F	G et H	I et J	K et L	M et N	O et P
Nombre de laboratoires participants	5	5	5	5	5	5	5	5
Nombre de résultats acceptés	5	5	4	5	5	5	4	5
Valeur moyenne en mg/l	1943	2563	1440	255	553	1885	1373	1148
Valeur acceptée en mg/l	1943	2563	1387	2217	1877	1593	1370	1830
Ecart-type de répétabilité (Sr)	27	25	106	23	40	31	25	24
Coefficient de variation de répétabilité	1,4	1	7,7	1	2,2	1,9	1,8	1,3
Limite de répétabilité (r)	77	70	298	65	113	86	70	66
Ecart-type de reproductibilité (SR)	96	128	174	80	57	55	52	53
Coefficient de variation de reproductibilité en %	4,9	5	12,6	3,6	3	3,5	3,8	2,9
Limite de reproductibilité (R)	268	359	488	223	160	154	145	148

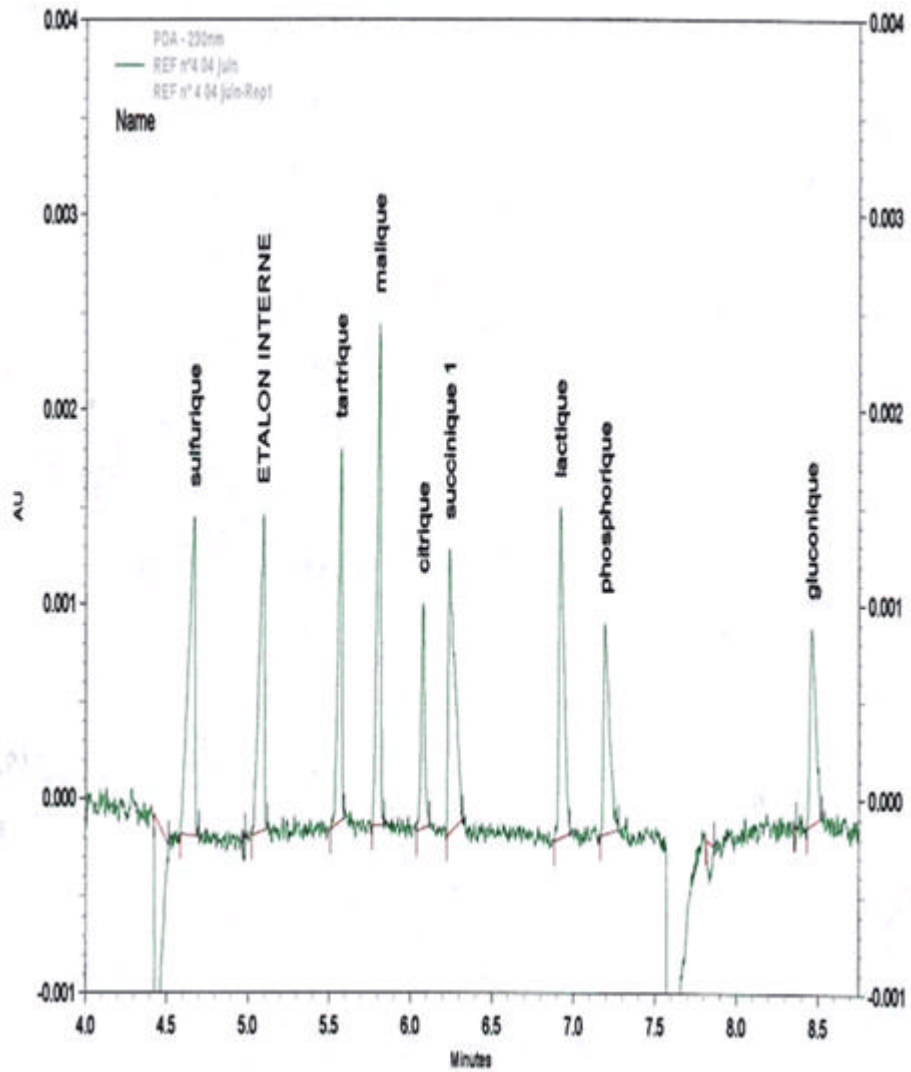
RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Acides organiques – Electrophorèse Capillaire

ESSAIS INTERLABORATOIRES								
Dosage de l'ACIDE MALIQUE par électrophorèse capillaire								
Identification de l'échantillon	vins blancs secs		vins blancs liquoreux		vins rosés		vins rouges	
	A et D	B et C	E et F	G et H	I et J	K et L	M et N	O et P
Nombre de laboratoires participants	5	5	5	5	5	5	5	5
Nombre de résultats acceptés	5	5	5	5	5	5	4	5
Valeur moyenne en mg/l	2571	1602	1680	2539	3524	2109	173	86
Valeur acceptée en mg/l	2571	1602	1680	2539	3524	2109	177	86
Ecart-type de répétabilité (Sr)	54	19	113	35	61	109	7	32
Coefficient de variation de répétabilité	2,1	1,2	6,7	1,4	1,7	5,2	4,1	3,7
Limite de répétabilité (r)	151	54	315	99	170	305	20	89
Ecart-type de reproductibilité (SR)	90	51	171	97	279	142	21	53
Coefficient de variation de reproductibilité en %	13,6	9,8	41	39,6	14,7	9	14,1	7,6
Limite de reproductibilité (R)	252	142	479	273	782	397	59	14

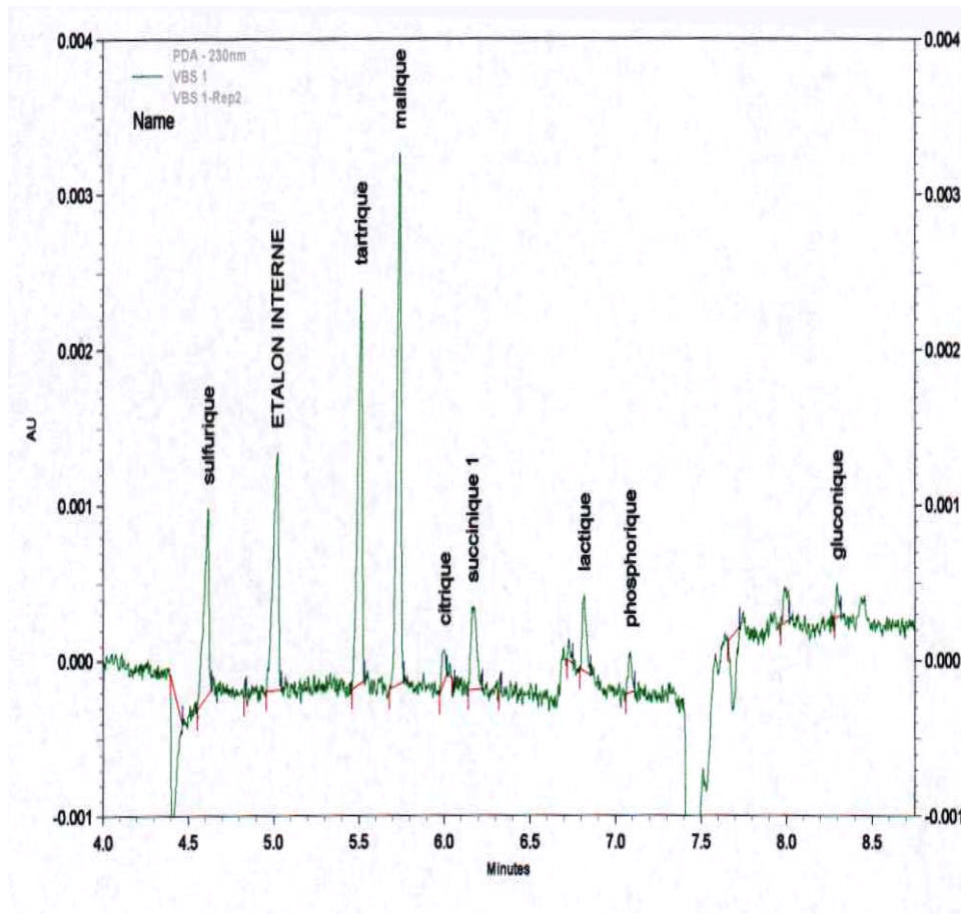
RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Acides organiques – Electrophorèse Capillaire

ESSAIS INTERLABORATOIRES									
Dosage de l'ACIDE LACTIQUE par électrophorèse capillaire									
résultats donnés en mg / l									
Identification de l'échantillon	vins blancs secs		vins blancs liquoreux		vins rosés		vins rouges		
	A et D	B et C	E et F	G et H	I et J	K et L	M et N	O et P	
Nombre de laboratoires participants	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Nombre de résultats acceptés	4	5	5	5	5	5	4	5	4
Valeur moyenne en mg/l	659	1324	258	255	553	1885	2066	1148	
Valeur acceptée en mg/l	650	1324	258	255	553	1885	2036	1148	
Ecart-type de répétabilité (Sr)	20	42	20	39	27	99	75	16	
Coefficient de variation de répétabilité	3,1	3,2	7,8	15,1	4,8	5,3	3,7	16	
Limite de répétabilité (r)	57	117	56	108	75	278	211	46	
Ecart-type de reproductibilité (SR)	20,357	41,79	20	38,57	26,786	99,29	75,36	16,429	
Coefficient de variation de reproductibilité en %	13,6	9,8	41	39,6	14,7	9	14,1	7,6	
Limite de reproductibilité (R)	247	363	296	283	227	475	802	243	

ELECTROPHOREGRAMME D'UNE SOLUTION ETALON D'ACIDES



ELECTROPHEROGRAMME D'UN VIN



13 BIBLIOGRAPHIE

ARELLANO M., COUDERC F. et PUIG .L (1997) : Simultaneous separation of organic and inorganic acids by capillary zone electrophoresis. Application to wines and fruit juices. *Am. J. Enol. Vitic.*, 48, 408-412.

KANDL T. et KUPINA S. (1999): An improved capillary electrophoresis procedure for the determination of organics acids in grape juices and wine. *Am. J. Vitic.*, 50, 155-161.

KLAMPF C.F. (1999): Analysis of organics acids and inorganics anions in different types of beer using capillary zone electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 987-990.

Titre	DOSAGE DES ACIDES SORBIQUE, BENZOÏQUE, SALICYLIQUE DANS LES VINS PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE	
Type de méthode	IV	
Résolution	Oeno 6/2006	

1. Introduction

L'acide sorbique et son sel de potassium est un antiseptique utilisable en œnologie mais certains pays ne tolèrent pas sa présence dans les vins y compris à l'état de trace. Ceci se justifiant en particulier en raison de l'odeur de géranium apparaissant lors de la dégradation de l'acide sorbique par les bactéries lactiques. Les acides benzoïques et salicyliques sont toujours interdits dans les vins mais ils sont utilisés dans d'autres boissons.

2. Domaine d'application

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

3. Principe

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

4. Produits

- 4.1 Eau pure microfiltrée (par exemple de résistivité supérieure à 18,2 MΩ)
- 4.2 Tétrahydrofurane pur
- 4.3 Méthanol pur
- 4.4 Acide chlorhydrique 0,1 M (préparé à partir d'ampoules à diluer)

4.5 Eau à pH2 amener 650 ml d'eau (4.1) à pH2 contrôlé à l'aide du pHmètre (5.5) en versant goutte à goutte sans agitation l'acide chlorhydrique 0,1 M (4.4)

4.6 Solution d'élution. Mélanger 650 ml d'eau à pH2 (4.5), 280 ml de méthanol (4.3) et 7 ml de tétrahydrofurane (4.2).

Remarque : il est également possible d'utiliser d'autres solvants d'élution, par exemple : 80% d'une solution d'acétate d'ammonium 0,005M (0,38 g/l) ajustée à pH 4 avec de l'acide acétique pur + 20% d'acétonitrile

4.7 Acide sorbique pur

4.8 Acide benzoïque pur

4.9 Acide salicylique pur

4.10 Alcool pur

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

4.12 Solution mère des acides à 500 mg/l. Dissoudre 50 mg des acides sorbique (4.7), benzoïque (4.8), salicylique (4.9) dans 100 ml de la solution hydroalcoolique à 50 % vol. (4.11)

4.13 Solution filles des acides sorbique, benzoïque, salicylique. Diluer la solution mère (4.12) dans la solution hydroalcoolique (4.11) de manière à obtenir les concentrations finales désirées par exemple pour une solution à

- 200 mg/l placer 20 ml de la solution mère (4.12) dans une fiole de 50 ml compléter au trait de jauge avec (4.11).

- 1 mg/l placer 2 ml de solution mère (4.12) dans une fiole de 50 ml. Compléter au trait de jauge avec 4.11

Des solutions intermédiaires peuvent être réalisées de la même manière selon les nécessités de l'étalonnage

5. Appareils

5.1 Verrerie de laboratoire en particulier pipette et fioles jaugées

5.2 Bain à ultrasons

5.3 Dispositif de filtrations sous vide pour volume important (1 l) utilisant des membranes filtrantes de diamètre de pore inférieur à 1 µm (généralement 0,45 µm)

5.4 Minifiltre pour échantillon (1 à 2 ml) utilisant des membranes filtrantes de diamètre de pore inférieur à 1 µm (généralement 0,45 µm)

5.5 pH mètre

- 5.6 Chromatographe en phase liquide fonctionnant en mode isocratique muni d'un dispositif d'injection pour faibles volumes (par exemple) vanne à boucle de 10 ou 20 µl.
- 5.7 Détecteur pouvant fonctionner dans l'ultra violet 235 nm muni d'une cuve à circulation pour CLHP (par exemple de 8 µl pour 1 cm de trajet optique)
- 5.8 Colonne pour CLHP de phase stationnaire de 5 µm type silice greffée par des groupes octadécyles (C18) de 20 cm de long 4 mm de diamètre intérieur.
- 5.9 Système d'acquisition des données

6. Préparation des échantillons et du solvant d'élution

- 6.1 Filtrer les échantillons à analyser à l'aide du minifiltre (5.4)
- 6.2 Dégazer le solvant d'élution (4.6) durant 5 minutes à l'aide du bain à ultrasons (5.2)
- 6.3 Filtrer le solvant à l'aide du dispositif (5.4)

7. Mode opératoire

- 7.1 Conditionnement de la colonne. Avant l'injection mettre en route la pompe et rincer la colonne avec le solvant durant au minimum 30 minutes
- 7.2 Injecter une des solutions filles (4.13) afin de s'assurer de la sensibilité du système et de la bonne résolution des pics des substances à analyser.
- 7.3 Injecter l'échantillon à analyser faire éventuellement l'analyse d'un échantillon identique ayant été supplémenté par les acides à rechercher (adapter l'ajout à la quantité éventuellement décelée lors de l'analyse précédente, pour 1 mg présent ajouter également 1 mg...)

S'assurer de la bonne résolution des pics des acides recherchés avec les pics du vins (normalement il n'en existe pas dans cette zone)

8. Calcul

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

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

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

9. Caractéristiques de la méthode

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

10. Bibliographie

- Dosage de l'acide sorbique dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. et SARRE Ch., *Feuillets Verts O.I.V.*, 654-681.
- Dosage de l'acide salicylique dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. et SARRE Ch., *Feuillets Verts O.I.V.*, 655-682.
- Dosage de l'acide benzoïque, dans les sodas et autres produits alimentaires liquides, par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. et SARRE Ch. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 71, 761, 35-39.
- Application de la chromatographie liquide à l'analyse des vins et des moûts. 1979. SALAGOITY-AUGUSTE M.-H. Doctorat de l'université de Bordeaux 2.

<i>Titre</i>	DETERMINATION DE LA PRESENCE D'ACIDE METATARTRIQUE	
<i>Type de méthode</i>	IV	
<i>Résolution</i>	Oeno 10/2007	

1. Introduction

L'acide métatartrique ajouté au vin pour éviter les précipitations tartriques est traditionnellement dosé par différence entre l'acide tartrique total après hydrolyse à chaud de l'acide métatartrique et l'acide tartrique naturel avant hydrolyse. Toutefois, compte tenu de la précision du dosage de l'acide tartrique, des traces d'acide métatartrique ne sont pas décelables par cette méthode, il faut donc caractériser cet additif non accepté dans certains pays par une méthode plus spécifique.

2. Domaine d'application

Vins susceptibles de contenir de l'acide métatartrique à l'état de trace.

3. Principe

L'acide métatartrique forme avec l'acétate de cadmium en milieu moyennement acide, un précipité insoluble ; il est le seul de tous les éléments présents dans le moût et le vin à donner un tel précipité.

Remarque : L'acide tartrique est aussi précipité avec l'acétate de cadmium, mais seulement en présence d'une teneur en alcool supérieure à 25 % vol. Le précipité se re-dissout dans l'eau, contrairement au précipité obtenu avec l'acide métatartrique.

Le précipité cadmique d'acide métatartrique est décomposé par chauffage avec de l'hydroxyde de sodium et libère l'acide tartrique. Ce dernier forme avec le métavanadate d'ammonium une coloration orangée spécifique.

4. Réactifs

- 4.1 Solution d'acétate de cadmium à 5 p.100
 - 4.1.1 Acétate de cadmium dihydraté à 98 %
 - 4.1.2 Acide acétique pur
 - 4.1.3 Eau distillée ou déminéralisée
 - 4.1.4 Solution d'acétate de cadmium : dissoudre 5 g d'acétate de cadmium (4.1.1) dans 99 mL d'eau (4.1.3) ajouter 1 mL d'acide acétique pur (4.1.2)
- 4.2 Hydroxyde de sodium 1M
- 4.3 Acide sulfurique 1M
- 4.4 Solution de métavanadate d'ammonium à 2 p. 100 en poids
 - 4.4.1 Métavanadate d'ammonium
 - 4.4.2 Acétate de sodium trihydraté à 99 %
 - 4.4.3 Solution d'acétate de sodium à 27 p. 100 : dissoudre 478 g d'acétate de sodium (4.4.2) dans 1 litre d'eau (4.1.3)
 - 4.4.4 Solution de métavanadate d'ammonium : dissoudre 10 g de métavanadate d'ammonium (4.4.1) dans 150 mL d'hydroxyde de sodium 1 M (4.2) ajouter 200 mL de la solution d'acétate de sodium à 27 p. 100 (4.4.3) et compléter à 500 mL avec de l'eau (4.1.3)
- 4.5 Ethanol à 96 % vol.

5. Appareillage

- 5.1 Centrifugeuse avec un rotor pouvant recevoir des flacons de 50 mL de capacité
- 5.2 Spectromètre pouvant fonctionner dans le visible et recevoir des cuves de 1 cm de trajet optique.

6. Mode opératoire

- 6.1 Centrifuger 50 mL de vin pendant 10 minutes à 11000 rpm
- 6.2 Prélever 40 mL de vin limpide à l'éprouvette et les placer de nouveau dans un flacon pour centrifugeuse
- 6.3 Ajouter 5 mL d'éthanol à 96 % vol (4.5)
- 6.4 Ajouter 5 mL de la solution d'acétate de cadmium (4.1.4)
- 6.5 Mélanger et laisser reposer 10 minutes
- 6.6 Centrifuger pendant 10 minutes à 11000 rpm
- 6.7 Décanner par retournement total du flacon (une fois) et jeter le surnageant.

En présence d'acide métatartrique, il se forme un précipité lamellaire au fond du tube.

En l'absence de précipité, l'échantillon sera considéré comme exempt d'acide métatartrique. Dans le cas contraire ou si l'on veut établir avec certitude la présence d'un léger précipité, procéder comme suit :

6.8 Laver une fois le précipité avec 10 mL d'eau (4.1.3) sous la forme d'un jet énergétique vers le fond du tube ce qui à pour but de détacher le précipité du fond

6.9 Ajouter 2 mL de solution d'acétate de cadmium (4.1.4)

6.10 Centrifuger à 11000 rpm pendant 10 minutes puis jeter le surnageant par retournement complet du tube (une fois)

6.11 Après addition d'un mL d'hydroxyde de sodium 1 M (4.2), plonger le tube à centrifuger pendant 5 minutes dans un bain d'eau à 100° C

6.12 Après refroidissement, ajouter 1 mL d'acide sulfurique 1M (4.3) et 1 mL de solution de métavanadate d'ammonium (4.4.4)

6.13 Attendre 15 minutes

6.14 Centrifuger durant 10 minutes à 11000 rpm

6.15 Verser le surnageant dans une cuve de spectrophotomètre et mesurer l'absorbance à 530 nm, après avoir fait le zéro avec de l'eau (4.1.3)

Soit Abs_E

Témoin. On réalise en parallèle un témoin constitué du même vin que celui analysé mais chauffé préalablement 2 minutes 30 à l'aide d'un générateur de micro-ondes réglé sur la puissance maximum ou encore au bain d'eau à 100° C durant 5 minutes

Soit Abs_T

7. Résultat

La présence d'acide métatartrique dans le vin est établie lorsque, à 530 nm :

$$Abs_E - Abs_T > 0,050$$

Titre	DOSAGE SIMULTANE DE L'ACIDE L-ASCORBIQUE ET DE L'ACIDE D-ISOASCORBIQUE (ACIDE ERYTHORBIQUE) DANS LE VIN PAR HPLC ET DETECTION UV	
Type de méthode	II	<i>Réf: OIV 112008 AS313-22</i>
Résolution	Oeno 11/2008	

1. INTRODUCTION

L'acide ascorbique est un antioxydant présent naturellement dans toute une série de denrées alimentaires. La quantité normale d'acide ascorbique dans le raisin diminue lors de l'élaboration des moûts et au cours de la vinification. Il peut être ajouté aux moûts et aux vins dans certaines limites.

La méthode décrite a été validée dans le cadre d'essais interlaboratoires, par des analyses d'échantillons de vin avec des quantités ajoutées d'acide L-ascorbique et d'acide D-isoascorbique respectivement de 30 mg/L à 150 mg/L et de 10 mg/L à 100 mg/L.

2. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode convient au dosage simultané de l'acide L-ascorbique et de l'acide D-isoascorbique (acide érythorbique) dans le vin par chromatographie liquide haute performance et détection UV dans une plage de 3 à 150 mg/L.

Pour des teneurs supérieures à 150 mg/L, une dilution de l'échantillon est nécessaire.

3. PRINCIPE

Les échantillons sont directement injectés dans le système HPLC après filtration sur membrane. Les analytes sont séparés sur une colonne à phase inversée et sont soumis à une détection UV à 266 nm. La quantification de l'acide L-ascorbique et de l'acide D-isoascorbique est effectuée par rapport à un étalon externe.

Remarque : Les colonnes et les conditions de fonctionnement sont données à titre d'exemple. D'autres types de colonnes peuvent également assurer une bonne séparation.

4. REACTIFS ET PRODUITS

4.1 Réactifs

- 4.1.1. n-octylamine, pureté = 99,0 %
- 4.1.2. Acétate de sodium x 3 H₂O, pureté = 99,0 %
- 4.1.3. Acide acétique pur, 100 %
- 4.1.4. Acide phosphorique, approx. à 25 %
- 4.1.5. Acide oxalique, pureté = 99,0 %
- 4.1.6. Ascorbate oxydase
- 4.1.7. Acide L-ascorbique, ultra = 99,5 %
- 4.1.8. Acide D-isoascorbique, pureté = 99,0 %
- 4.1.9. Eau bidistillée
- 4.1.10. Méthanol, p.A. 99,8 %

4.2 Préparation de la phase mobile

4.2.1 Solutions pour la phase mobile

Préparer les solutions suivantes pour la phase mobile :

- 4.2.1.1 12,93 g de n-octylamine dans 100 mL de méthanol
- 4.2.1.2 68,05 g d'acétate de sodium x 3 H₂O dans 500 mL d'eau bidistillée
- 4.2.1.3 12,01 g d'acide acétique pur dans 200 mL d'eau bidistillée
- 4.2.1.4 Solution tampon (pH 5,4) : 430 mL de solution d'acétate de sodium (4.2.1.2) et 70 mL de solution d'acide acétique (4.2.1.3)

4.2.2 Préparation de la phase mobile

Ajouter 5 mL de solution de n-octylamine (4.2.1.1) à environ 400 mL d'eau bidistillée dans un bécher. Ajuster cette solution à un pH de 5,4 à 5,6, en ajoutant goutte à goutte de l'acide phosphorique à 25% (4.1.4). Ajouter 50 mL de la solution tampon (4.2.1.4) et transférer le composé dans une fiole jaugée de 1000 mL, puis compléter avec de l'eau bidistillée. Avant utilisation, la phase mobile doit être filtrée à l'aide d'une membrane (cellulose régénérée de 0,2 µm) et si possible dégazée avec de l'hélium (pendant environ 10 minutes) selon les besoins du système HPLC utilisé.

4.3 Préparation de la solution étalon

Remarque :

Toutes les solutions étalons (solution mère 4.3.1. et solutions de travail 4.3.2) doivent être préparées chaque jour et de préférence stockées dans un réfrigérateur avant injection.

4.3.1 Préparation de la solution mère (1 mg/mL)

Préparer une solution aqueuse d'acide oxalique à 2% et éliminer l'oxygène dissout par barbotage à l'azote.

Peser exactement 100 mg d'acide L-ascorbique et 100 mg d'acide D-isoascorbique dans une fiole jaugée de 100 mL, et la remplir de solution aqueuse d'acide oxalique à 2%.

4.3.2 Préparation des solutions de travail

Pour les solutions de travail, diluer la solution mère (4.3.1) aux concentrations désirées avec la solution d'acide oxalique à 2%. Des concentrations entre 10 mg/L et 120 mg/L sont recommandées. Par exemple 100 µl, 200 µl, 400 µl, 800 µl 1200µl à 10 mL, correspondant à 10, 20, 40, 80 et 120 mg/L.

5. APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, en particulier les équipements suivants :

5.1 Pompe HLPC

5.2 Injecteur à boucle de 20 µl

5.3 Détecteur UV

6. ÉCHANTILLONNAGE

Des échantillons de vin sont filtrés sur une membrane d'un diamètre de pore de 0,2 µm avant injection.

Pour des teneurs supérieures à 150 mg/L, une dilution de l'échantillon est nécessaire.

7. MODE OPERATOIRE

7.1 Conditions d'utilisation du système HLPC

Injecter dans l'appareil chromatographique 20 µl de l'échantillon filtré sur membrane.

Précolonne : par exemple Nucléosil 120 C18 (4 cm x 4 mm x 7 µm)
Colonne : par exemple Nucléosil 120 C18 (25 cm x 4 mm x 7 µm)
Volume d'injection : 20 µl
Phase mobile : voir 4.2.2, isocratique
Débit : 1 mL/min
Détection UV : 266 nm
Cycle de rinçage : au moins 30 mL d'eau bidistillée suivis de 30 mL de méthanol et de 30 mL d'acétonitrile

7. 2 Identification/Confirmation

L'identification des pics s'effectue par comparaison des temps de rétention des étalons et des échantillons. Avec le système chromatographique décrit en exemple, les temps de rétention sont respectivement de 7,7 min pour l'acide L-ascorbique et 8,3 min pour l'acide D-isoascorbique (voir figure 1, chromatogramme A).

Pour confirmer des résultats positifs, ces échantillons doivent être traités avec une spatule d'ascorbate oxydase et mesurés de nouveau (voir figure 1, chromatogramme B).

En raison de la dégradation de l'acide L-ascorbique et de l'acide D-isoascorbique provoquée par l'ascorbate oxydase, aucun signal ne devrait être trouvé au temps de rétention de l'acide L-ascorbique et de l'acide D-isoascorbique. En cas de détection de

pics parasites, leur surface doit être prise en compte dans le calcul de la concentration des analytes.

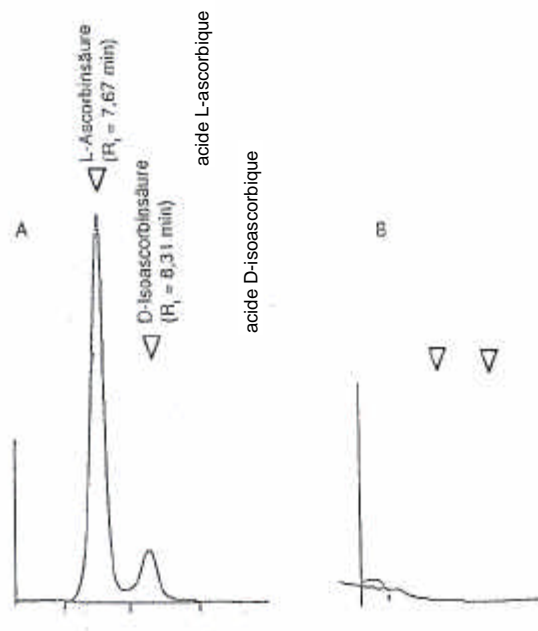


Figure 1 : Exemple de chromatogramme d'un vin blanc : A avant le traitement à l'ascorbate oxydase ; B après traitement

Remarque : Il est recommandé d'analyser les échantillons traités à l'ascorbate oxydase à la fin d'une séquence suivie du cycle de rinçage pour éliminer les restes d'ascorbate oxydase de la colonne, faute de quoi l'acide L-ascorbique et l'acide D-isoascorbique pourraient être convertis par les restes d'ascorbate oxydase lors de la mesure HPLC et le résultat pourrait s'en trouver affecté.

8. CALCULS

Préparer une courbe d'étalonnage à partir des solutions de travail (4.3.2). Selon la méthode de l'étalon externe, la quantification de l'acide L-ascorbique et de l'acide D-isoascorbique est réalisée en mesurant les surfaces des pics et en les comparant à la concentration correspondante sur la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés à une décimale en mg/L d'acide L-ascorbique et d'acide

D-isoascorbique respectivement (par exemple 51,3 mg/L).

Pour des teneurs supérieures à 150 mg/L, prendre en compte la dilution.

9. FIDELITE

La méthode a été testée dans le cadre d'un essai interlaboratoire organisé en 1994 par l'ancien Office fédéral d'hygiène publique (Bundesgesundheitsamt, Allemagne), auquel ont participé 27 laboratoires. Le programme de l'essai interlaboratoire a suivi le § 35 de la loi allemande relative aux denrées alimentaires, qui a été accepté par l'O.I.V jusqu'à l'introduction du nouveau protocole (OENO 6/2000).

L'étude a porté sur quatre échantillons différents de vin - deux vins blancs et deux vins rouges – avec cinq répétitions de chaque échantillon demandées. Étant donné qu'il n'était pas possible de préparer des échantillons avec une stabilité suffisante des analytes (vitesses de dégradation différentes), il a été décidé d'envoyer aux participants des quantités définies de substances étalons pures ainsi que les échantillons de vin. Les laboratoires ont reçu pour consigne de transférer les étalons quantitativement dans les échantillons de vin et de les analyser immédiatement. Des volumes de 30 à 150 mg/L pour l'acide L-ascorbique et de 10 à 100 mg/L pour l'acide D-isoascorbique ont été analysés. Les résultats détaillés de l'étude sont présentés dans l'ANNEXE. L'évaluation a été réalisée selon DIN/ISO 5725 (version 1988).

Les écarts-types de répétabilité (s_r) et de reproductibilité (s_R) étaient en adéquation avec les concentrations d'acide L-ascorbiques et d'acide D-isoascorbique. Le paramètre de précision réelle peut être calculé à l'aide des équations suivantes :

Acide L-ascorbique

$$s_r = 0,011 x + 0,31$$

$$s_R = 0,064 x + 1,39$$

x : concentration d'acide L-ascorbique (mg/L)

Acide D-isoascorbique

$$s_r = 0,014 x + 0,31$$

$$s_R = 0,079 x + 1,29$$

x : concentration d'acide D-isoascorbique (mg/L)

Exemple :

50 mg/L d'acide D-isoascorbique

$$s_r = 1,0 \text{ mg/L}$$

$$s_R = 5,2 \text{ mg/L}$$

10. AUTRES CARACTERISTIQUES DE L'ANALYSE

10.1 Limite de détection

La limite de détection de cette méthode a été estimée à 3 mg/L pour l'acide L-ascorbique et l'acide D-isoascorbique.

10.2 Justesse

Le récupération moyenne calculée à partir de l'essai interlaboratoire mené sur quatre échantillons (voir l'ANNEXE) a été de :

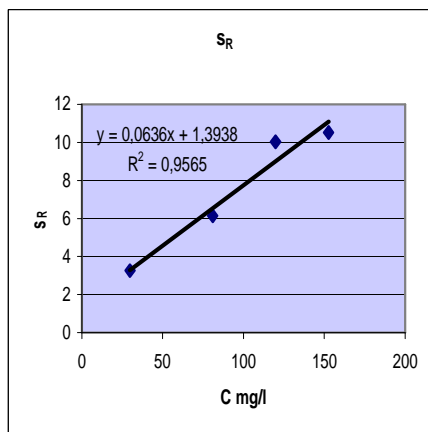
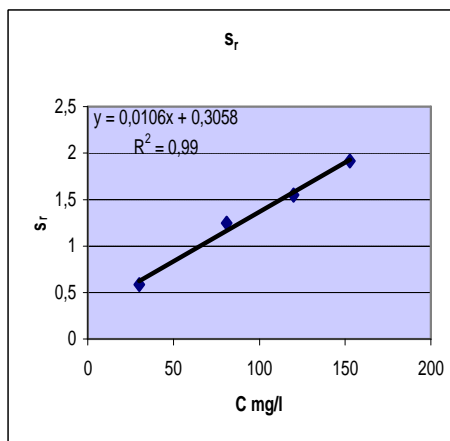
100,6 % pour l'**acide L-ascorbique**

103,3 % pour l'**acide D-isoascorbique**

11. ANNEXE : ESSAI INTERLABORATOIRES

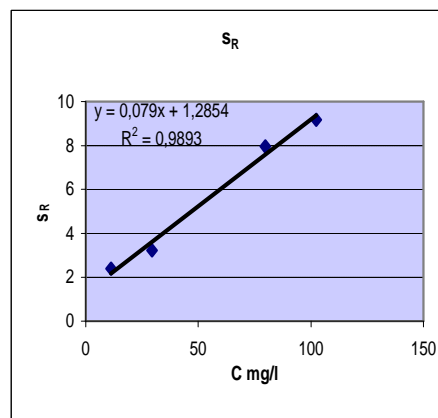
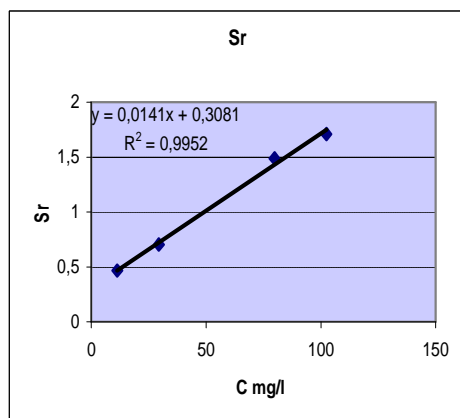
Acide L-ascorbique

		Vin Rouge I	Vin Blanc II	Vin Rouge III	Vin Blanc IV
x	mg/L	152,7	119,8	81,0	29,9
Quantité ajoutée	mg/L	150	120	80	30
Récupération	%	101,8	99,8	101,3	99,7
n		25	23	25	23
Valeurs aberrantes		1	3	1	3
Répétabilité (s _r)	mg/L	1,92	1,55	1,25	0,58
Répétabilité relative (Rel. s _r)	%	1,3	1,3	1,5	1,9
Valeur de répétabilité d'Horrat		0,17	0,17	0,19	0,20
R	mg/L	5,4	4,3	3,5	1,6
Reproductibilité (s _R)	mg/L	10,52	10,03	6,14	3,26
Reproductibilité relative (Rel. s _R)	%	6,9	8,4	7,6	10,9
Coefficient de variation de reproductibilité d'Horwitz	%	7,5	7,8	8,3	9,6
Valeur de reproductibilité d'Horrat		0,92	1,08	0,92	1,14
R	mg/L	29,5	28,1	17,2	9,1



Acide D-isoascorbique

		Vin Rouge I	Vin Blanc II	Vin Rouge III	Vin Blanc IV
x	mg/L	102,4	79,8	11,3	29,4
Quantité ajoutée	mg/L	100	80	10	30
Récupération	%	102,4	99,8	113,0	98,0
n		25	23	24	22
Valeurs aberrantes		1	3	2	4
Répétabilité (s_r)	mg/L	1,71	1,49	0,47	0,70
Répétabilité relative (Rel. s_r)	%	1,7	1,9	4,1	2,4
Valeur de répétabilité d'Horrat		0,21	0,23	0,37	0,25
r	mg/L	4,8	4,2	1,3	2,0
Reproductibilité (s_R)	mg/L	9,18	7,96	2,394	3,23
Reproductibilité relative (Rel. s_R)	%	9,0	10,0	21,2	11,0
Coefficient de variation de reproductibilité d'Horwitz	%	8,0	8,3	11,1	9,6
Valeur de reproductibilité d'Horrat		1,12	1,21	1,91	1,14
R	mg/L	25,7	22,3	6,7	9,0



12. BIBLIOGRAPHIE

B. Seiffert, H. Swaczyna, I. Schaefer (1992) : Deutsche Lebensmittelrundschau, 88 (2) p. 38-40

C. Faulstich: Simultaneous determination of L -ascorbic acid and D -isoascorbic acid (erythorbic acid) in wine by HPLC and UV-detection – OIV FV 1228, 2006

Titre	DETERMINATION DE L'ORIGINE DE L'ACIDE L-TARTRIQUE : VEGETALE OU FOSSILE PAR LA DETERMINATION DE SON ACTIVITE ¹⁴C	
Type de méthode	IV	<i>Réf: OIV 122008 AS313-23</i>
Résolution	Oeno 12/2008	

1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La méthode permet d'identifier l'origine de l'acide tartrique, végétale ou fossile et de déterminer les proportions respectives des 2 formes dans l'éventualité d'un mélange des deux. Dans ce dernier cas, la méthode permet de détecter la présence de quantités d'acide L-tartrique (L(+)-tartrique) d'origine fossile inférieures à 10 %.

2. PRINCIPE

L'acide tartrique d'origine végétale commercialisé est, dans la majorité des cas, un produit d'origine vinicole. C'est le hydrogénotartrate de potassium présent dans les lies qui est exploité et commercialisé sous forme d'acide L-tartrique. La teneur de cet acide en ¹⁴C est donc, comme l'éthanol des vins, liée à la teneur en ¹⁴C du dioxyde de carbone de l'année de production des vins dont il est issu. Cette activité est relativement élevée en liaison avec les activités humaines.

L'acide tartrique de synthèse, issu de produits fossiles, a lui une teneur en ¹⁴C beaucoup plus basse voire négligeable.

La mesure de l'activité ¹⁴C en DPM/g de carbone (Désintégration Par Minute) par scintillation liquide permet donc de déterminer l'origine et un éventuel mélange des deux formes.

3. REACTIFS ET PRODUITS

3.1 Réactifs

3.1.1 liquide scintillant, par exemple Instagel Plus

3.1.2 étalon toluène ¹⁴C dont l'activité est certifiée par un laboratoire certifié pour l'étalonnage, pour le calcul de l'efficacité de l'appareil et de son rendement par l'établissement de la courbe de quenching.

3.1.3 standards ¹⁴C, ³H et du toluène ¹²C pour le bruit de fond pour la calibration du compteur à scintillation

3.1.4 nitrométhane à 99 %

3.1.5 eau ultrapure (> 18 MO)

3.1.6 solution de toluène ¹⁴C à environ 430 DPM/mL obtenue par dilution dans le toluène ¹²C de la solution mère étalon ¹⁴C

3.2 Etalons

3.2.1 Etablissement de la courbe de quenching

Après avoir réalisé une calibration du scintillateur avec les 3 standards certifiés ^{14}C et ^3H et du toluène ^{12}C réaliser la courbe de quenching suivant le protocole suivant.

Préparer une douzaine de flacons avec 10 mL d'une solution à 500 g/L d'acide L-tartrique fossile dans l'eau, rajouter ensuite une quantité telle d'étalon ^{14}C toluène pour avoir environ 400-1000 DPM au total par flacon (au besoin faire une solution intermédiaire de la solution étalon dans du toluène), puis ajouter des concentrations croissantes de nitrométhane, par exemple pour 12 tubes : 0, 0, 0, 5, 10, 15, 20, 35, 50, 100, 200 et 400 μL puis 10 mL de liquide scintillant. Il faut qu'il y ait au moins 3 échantillons sans nitrométhane.

Etablir la courbe de quenching une fois par an en analysant les tubes par ordre de teneur croissante en nitrométhane.

La courbe de quenching permet alors de déterminer l'efficacité ou le rendement moyen.

3.2.2 Détermination du bruit de fond (blanc de l'analyse)

A partir de l'acide L-tartrique fossile, par exemple celui utilisé pour le calcul du rendement, déterminer le bruit de fond ou blanc de l'analyse. Cette analyse doit être réalisée immédiatement après la courbe de quenching puis environ tous les mois.

3.2.3 Etablissement de la courbe d'étalonnage

Il faut vérifier la pureté des acides L-tartriques fossile et végétal par HPLC avant analyse par scintillation.

Etalonnage avec un mélange d'acide tartrique (dont on connaît de manière certaine l'origine végétale) contenant entre 0% et 100 % de cette forme en association avec la forme fossile.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Origine de l'acide L-tartrique

Préparation des solutions à 500 g/L			
	Blanc ou bruit de fond	Etalons	Autocontrôle
Pesée	respectivement dans des fioles jaugées de 50 mL		
	25 g acide L-tartrique fossile	25 g de mélanges connus d'acide L-tartrique fossile et végétal	utiliser le blanc
Dissolution	boucher		
	bien homogénéiser le mélange par secouage et/ou retournement		
Préparation des mélanges scintillant			
	Dans des flacons en plastique ajouter respectivement		
Prise d'essai à partir des solutions à 500 g/L	10 mL à l'aide de pipettes jaugées		
Ajout dosé	////////////////////////////////////	////////////////////////////////////	100 µL
Ajout du liquide e scintillant	10 mL à l'aide d'un distributeur automatique		
	visser le bouchon et secouer fortement		
	attendre 15 min et mettre en analyse pendant 500 min		

3.3 AUTOCONTROLE

3.3.1 Nature du produit utilisé pour l'autocontrôle

Une solution d'acide L-tartrique fossile à 500 g/L est dopée avec du ¹⁴C toluène (DPM<100)

La détermination du bruit de fond doit être réalisée conjointement avec la même solution d'acide L-tartrique fossile.

3.3.2 Type d'autocontrôle

L'ajout dosé mesuré permet de vérifier qu'il n'y a pas interférence spectrale dans le milieu examiné.

3.3.3 Limite de contrôle

La limite de contrôle dépend du matériel utilisé, une valeur de 5 % est acceptable.

3.3.4 Fréquence et séquence de la vérification

Une fois par mois en utilisation courante, ou à chaque série d'analyse, un autocontrôle est effectué sur le scintillateur. Ce contrôle est également effectué à chaque changement de lot de liquide scintillant ou après établissement d'une nouvelle courbe de quenching.

3.3.5 Règles de décision à prendre en fonction des résultats de l'autocontrôle

Si les résultats sortent des limites de contrôle, après vérification du protocole, procéder à une calibration du scintillateur puis refaire l'autocontrôle.

Si la calibration est correcte mais pas la mesure du nouvel autocontrôle, refaire une courbe de quenching et un autocontrôle.

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Origine de l'acide L-tartrique

4. APPAREILLAGE

4.1 spectromètre à scintillation liquide avec ordinateur et imprimante préalablement étalonné et dont la courbe de quenching a été établie, par exemple, avec du nitrométhane

4.2 flacons pauvres en potassium (40K) munis de bouchons à vis, à faible bruit de fond et identiques

4.3 pipettes de 10 mL à 2 traits

4.4 burette à distribution automatique s'adaptant au pas de vis du flacon de liquide scintillant

4.5 verrerie de laboratoire

5. ECHANTILLONS

La pureté des échantillons peut éventuellement être vérifiée par HPLC avant analyse par scintillation.

Faire une solution à 500 g/L d'échantillon à analyser dans de l'eau ultra pure.

Préparation des solutions à 500 g/L				
	Blanc analytique ou bruit de fond	Etalons	Autocontrôle	Echantillon
Pesée	respectivement dans des fioles jaugées de 50 mL			
	25 g acide L-tartrique fossile	25 g de mélanges connus d'acide L-tartrique fossile et végétal	utiliser le blanc	25 g
Dissolution	boucher bien homogénéiser le mélange par secouage et/ou retournement			
Préparation des mélanges scintillants				
	Dans des flacons en plastique ajouter respectivement			
Prise d'essai à partir des solutions à 500 g/L	10 mL à l'aide de pipettes jaugées			
Ajout dosé	////////////////////////////////////	////////////////////////////////////	100 µL	////////////////////////////////////
Ajout du liquide scintillant	10 mL à l'aide d'un distributeur automatique visser le bouchon et secouer fortement			
	attendre 15 minutes et mettre en analyse pendant 500 minutes			
Remarques	passer un échantillon à 0 % d'acide tartrique végétal, soit 10 mL d'acide tartrique fossile et 10 mL de liquide scintillant, tous les 5 à 10 échantillons analysés. effectuer une détermination du bruit de fond à la fin de chaque série d'analyses			

6. CALCULS

Les mesures sont données directement en Coups Par Minutes (CPM), mais il faut les convertir en DPM/g de carbone.

6.1 Résultats

Calcul de l'activité spécifique ^{14}C de l'échantillon en DPM/g de Carbone:

$$A = \frac{(X - X') \times 100 \times 3,125(1)}{Rm \times m}$$

A : activité en désintégrations/minutes et par gramme de carbone

X : CPM de l'échantillon

X' : CPM pour l'acide L-tartrique fossile utilisé pour le bruit de fond

m : masse d'acide tartrique dans la prise d'essai de 10 mL de la solution à 500 g/L soit 5 g d'acide

Rm : c'est le rendement moyen exprimé en pourcentage

(1) il y a 3,125 grammes d'acide tartrique pour un gramme de carbone (rapport de la masse molaire de l'acide (150 g/mol) sur la masse totale du carbone (soit $4 \times 12 = 48$ g/mol))

Le résultat est donné avec une décimale.

6.2 Vérification des résultats avec l'autocontrôle

Il faut vérifier en comparant la valeur obtenue au § 6.1 avec le résultat donné par la méthode de l'ajout dosé. Si la différence est importante (> 5 %), dans ce cas recalculer la valeur en DPM à partir de la valeur en CPM suivant :

$$\text{DPM recalculées} = \frac{\text{CPM}}{Rm}$$

avec le rendement moyen obtenu à partir de la courbe de quenching.

Les 2 résultats ne doivent pas différer de plus de 5 % de la valeur moyenne. Sinon, refaire une analyse de l'échantillon en doublant la quantité d'étalon interne. Comparer les 2 résultats obtenus avec les étalons, s'ils ne diffèrent pas de plus de 5 % autour de la moyenne des 2, donner le résultat moyen.

Remarque : dans ce cas cela signifie que le quenching de l'échantillon est tel que l'analyse directe n'est pas exploitable.

6.3 Incertitude

L'incertitude obtenue dans des conditions standards d'analyse est de $\pm 0,7$ DPM/g de carbone.

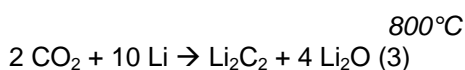
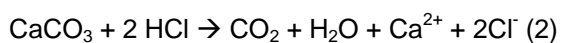
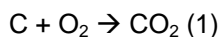
7. VALIDATION PAR RAPPORT A UNE METHODE DE REFERENCE

7.1 Principe

L'acide tartrique est transformé en CO₂ par combustion puis transformé en benzène ;

La mesure est alors effectuée en scintillation liquide.

Après avoir subi un prétraitement destiné à éliminer les contaminations, le CO₂ de l'échantillon est transformé en benzène selon la chaîne de réactions suivantes:



(1) Echantillon organique: Le carbone, avec un balayage d'oxygène et une source de chaleur (ou par combustion en présence d'oxygène sous pression) donne le dioxyde de carbone de l'échantillon CO₂.

(2) Echantillon minéral (carbonates marins ou continentaux, eaux, etc) : Le carbonate est attaqué par de l'acide chlorhydrique pur (HCl) pour donner le dioxyde de carbone CO₂ de l'échantillon avec de l'eau et du calcium ionisé.

(3) L'action du dioxyde de carbone CO₂ sur du lithium métal chauffé entre +600°C et +800°C donne du carbure de lithium et de l'oxyde de lithium (Li₂O).

(4) L'action de l'eau (hydrolyse) sur le carbure de lithium donne de l'acétylène (C₂H₂), de l'hydroxyde de lithium, . Il faut utiliser de l'eau non tritiée et sans radon.

(5) La trimérisation de l'acétylène sur catalyseur à base d'alumine recouvert de chrome-vanadium à 185°C environ donne le benzène (C₆H₆).

7.2 Mode Opérateur

Le dioxyde de carbone (CO₂) obtenu soit après brûlage, combustion ou attaque acide d'un échantillon, est conservé dans une colonne de stockage. On place une quantité de lithium (lithium = catalyseur permettant une transformation chimique) nécessaire dans une coupelle en nickel et on place le tout au fond d'un réacteur de chauffe. On fait le vide dans ce réacteur et on chauffe sa partie inférieure tout en refroidissant sa partie supérieure au niveau des parois grâce à une poche de circulation d'eau.

7.2.1 Carburation.

Après une heure de chauffe environ, la température atteint 650 °C. On peut alors mettre le CO₂ en présence du lithium fondu. La quantité de lithium est toujours en excès par rapport à la quantité de carbone de l'échantillon. L'excès de lithium à utiliser par rapport aux conditions **stoechiométriques** varie selon les auteurs de 20% à 100%.

La réaction chimique (carburation ou "capture") est quasi instantanée et ce sont les premières minutes de la capture qui sont déterminantes dans le processus de carburation.

Cette réaction est **exothermique** (un gain de 200 °C). La carburation est assez rapide et elle est considérée à l'état carburé dès les premières 20 minutes, mais le chauffage reste permanent durant 45 à 50 minutes de façon à éliminer les traces de **radon** (fils de l'uranium) qui peuvent éventuellement se trouver mêlées au dioxyde de carbone.

7.2.2 Refroidissement.

Une fois le temps de traitement (chauffage) terminé, on laisse les réacteurs refroidir jusqu'à obtenir une température ambiante (25-30 °C).

7.2.3 Hydrolyse du Carbure de Lithium.

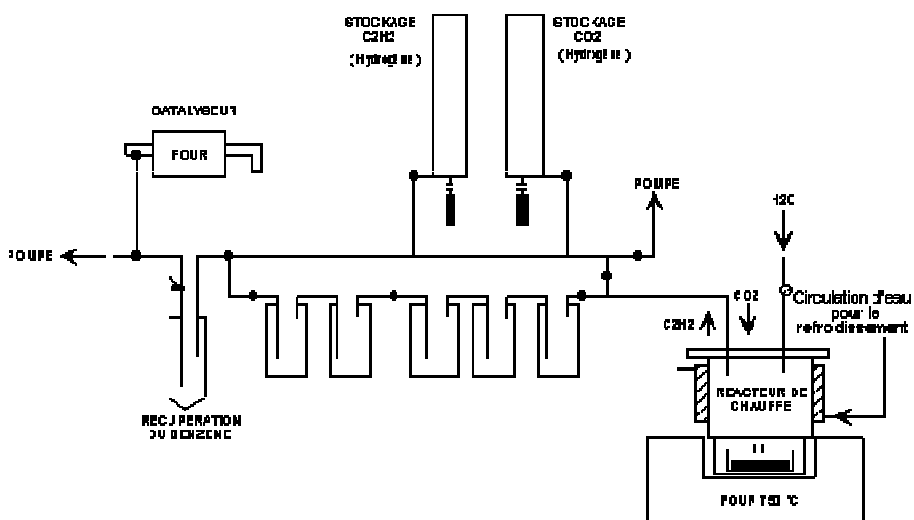
On introduit de l'eau dans le réacteur, en quantité largement supérieure aux besoins de la réaction (1,5 L). La réaction chimique est instantanée et le dégagement de **l'acétylène** se produit dans le même temps. Cette réaction est également exothermique (gain en température de +80°C à +100°C).

L'acétylène produit est ensuite ramené à l'état gazeux (sublimation) pour être capté sur le catalyseur alumine au vanadium-chrome Cr^{3+} . Celui-ci est préalablement déshydraté pendant trois heures minimum à l'air puis ensuite deux heures sous vide primaire avec un chauffage à +380 °C. La déshydratation est capitale pour évacuer toute l'eau résidente sur les billes du catalyseur.

7.2.4 Trimérisation - Polymérisation de l'acétylène en benzène par catalyse.

Avant la trimérisation, la température du catalyseur doit être retombée entre +60 et +70 °C, cette réaction étant exothermique également, il y aura auto-entretien de cette température. Puis le catalyseur est à nouveau chauffé à +180 °C pendant 1h30 et **le benzène** vaporisé est désorbé pour être piégé dans un doigt entouré d'azote liquide. Cette désorption se déroule sous vide dynamique. A la fin de la manipulation, on laisse le benzène cristallisé se réchauffer jusqu'à température ambiante pour qu'il trouve sa forme liquide avant d'être utilisé pour le comptage.

7.3 Banc de chimie pour la synthèse du Benzène



7.4 Solution chimique de référence pour le comptage.

On utilise comme référence pour les comptages en scintillation liquide, un volume établi à **4 mL de solution**.

Cette solution comprend une base idéale de 3,52g de benzène de l'échantillon (solvant) + le liquide scintillant (soluté) composé de 2 scintillants, un primaire et un secondaire.

Sachant que la masse volumique du benzène est 0.88 g/litre, donc **0,88 x 4mL = 3,52 g**.

Liquide Scintillant Primaire	Butyl-PBD
Composition chimique	(2-(4-Biphénylyl)-5-(4-tertbutyl-phényl)-1,3,4-oxadiazole)
Fluorescence maximale en longueur d'onde	367 nanomètres
Liquide Scintillant Secondaire	bis-MSB
Composition chimique	1,4-Di-(2-Méthylstyryl)-Benzène
Fluorescence maximale en longueur d'onde	415 nanomètres
Propriétés optiques d'absorption et d'émission du couplage des deux scintillants :	
Longueur d'onde de l'absorption maxi	409 nanomètres
Longueur d'onde de l'émission maxi	412 nanomètres

7.5 Correction delta 13C pour le fractionnement Isotopique.

La mesure implique une correction pour le fractionnement isotopique au travers de la procédure de normalisation avec un standard ¹³C PDB d'une valeur de – 25 ‰

8. CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

8.1 Mise en oeuvre

Un échantillon d'acide tartrique d'origine vinicole et un échantillon d'acide tartrique de synthèse ont été utilisés pour préparer des solutions tests d'acide tartrique à 500 g/L.

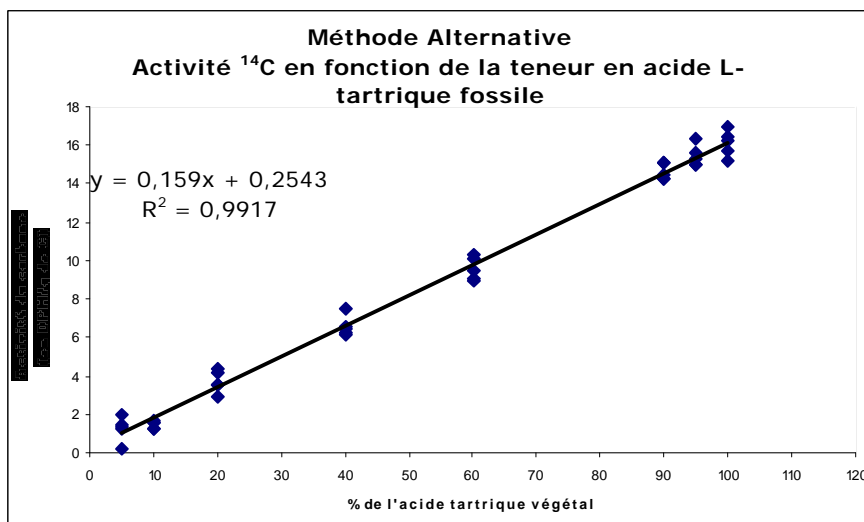
Les teneurs en acide tartrique d'origine vinicole des solutions tests variaient entre 0% et 100%.

L'origine et la pureté des deux échantillons de départ ont été préalablement vérifiées à l'aide de la méthode de référence.

8.2 Résultats:

Les résultats sont donnés dans le tableau et la figure suivant :

% D'ACIDE TARTRIQUE D'ORIGINE VINICOLE		
TENEURS REELLES	RESULTATS DE LA METHODE ALTERNATIVE	RESULTATS DE LA METHODE DE REFERENCE
0	0 et 0	0
10	3,5 et 6,0	12
20	11,4 et 12	22
30	24,6 et 25,4	31
40	34,7 et 38	40
50	41,4 et 50,6	50
60	57,8 et 58,8	63
70	60 et 63,3	70
80	81	81
85	84	86
90	88	91
95	94	96
100	100	100



8.3 Justesse, Fidélité

La justesse est de 6,9%

L'écart type de répétabilité de la méthode alternative est de : 2,86 % d'acide tartrique végétal.

9. BIBLIOGRAPHIE

Recueil des méthodes internationales d'analyse des boissons spiritueuses, des alcools et de la fraction aromatiques des boissons, Office Internationale de la Vigne et du Vin, Edition officielle, juin 1994, page 201, 204, 210 et 307.

Méthodes d'analyses communautaires de l'alcool neutre applicables dans le secteur du vin, règlement C.E.E n°625/2003, 2 avril 2003, Journal Officiel des communautés européennes du 15 mai 1992, n°L130, p18. (Journal officiel du 8 avril 2003, N° L90, p4.)

J. GUERAIN et S. TOURLIERE , Radioactivité carbone et tritium dans les alcools, Industries Alimentaires et Agricoles – 92e année juillet - août 1975, N° 7-8

S. COHEN, B. CRESTO, S. NACHAMPASSAK, T. PAYOT, B. MEDINA, S. CHAUVET, Détermination de l'origine de l'acide tartrique L(+): naturelle ou fossile par la détermination de son activité C14 - Document OIV FV 1238, 2006

Titre	DIOXYDE DE CARBONE	
Type de méthode	II	avec une gamme de concentration jusqu'à 1,5 g/L
Résolution	Oeno 3/2006	(A 39 modifiée par oeno 21/2003 et complétée par la résolution Oeno 3/2006)

1. Principe de la méthode

1.1. Cas des vins tranquilles (surpression de CO₂ ≤ 0,5 x 10⁵ Pa) ¹

Le volume de vin prélevé sur l'échantillon amené au voisinage de 0 °C est versé dans un excès suffisant de solution titrée d'hydroxyde de sodium pour avoir un pH de 10 - 11. On titre avec une solution acide en présence d'anhydrase carbonique. La teneur en dioxyde de carbone est déduite du volume versé pour passer de pH 8,6 (forme carbonate acide) à 4,0 (acide carbonique). Un titrage témoin effectué dans les mêmes conditions sur le vin décarboniqué permet de tenir compte du volume de solution d'hydroxyde de sodium consommé par les acides du vin.

1.2. Cas des vins pétillants et des vins mousseux

L'échantillon de vin à analyser est amené au voisinage de son point de congélation. Après soutirage d'un certain volume destiné à servir de témoin après décarbonation, on alcalinise le reste de la bouteille pour fixer tout le CO₂ sous forme de carbonate neutre. On titre avec une solution acide en présence d'anhydrase carbonique. La teneur en dioxyde de carbone est déduite du volume de solution acide versée pour passer de pH 8,6 (forme carbonate acide) à pH 4,0 (acide carbonique). Un titrage témoin effectué dans les mêmes conditions sur le vin décarboniqué permet de tenir compte du volume de solution d'hydroxyde de sodium consommé par les acides du vin.

2. Description de la méthode

2.1. Cas des vins tranquilles

(surpression de dioxyde de carbone ≤ 0,5 x 10⁵ Pa).

¹ 1 bar = 10⁵ Pascal (Pa)

2.1.1. Appareillage

- Agitateur magnétique
- pH mètre.

2.1.2. Réactifs

- Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M.
- Solution d'acide sulfurique 0,05 M.
- Solution d'anhydrase carbonique à 1 gramme par litre.

2.1.3. Mode opératoire

Refroidir l'échantillon de vin aux environs de 0 °C ainsi que la pipette de 10 ml servant à son prélèvement.

Prélever dans un vase cylindrique de 100 ml, 25 ml de solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium ; ajouter 2 gouttes de solution aqueuse d'anhydrase carbonique à 1 g par litre. Y introduire 10 ml de vin au moyen de la pipette refroidie à 0 °C.

Placer le vase cylindrique sur l'agitateur magnétique, mettre en place l'électrode et le barreau magnétique et procéder à une agitation modérée.

Lorsque le liquide est revenu à la température ambiante, verser par affusion lente la solution 0,05 M d'acide sulfurique jusqu'à pH 8,6.

Continuer les affusions d'acide sulfurique 0,05 M jusqu'à pH 4,0. Soit n ml le volume utilisé entre pH 8,6 et 4,0.

Procéder par ailleurs à l'élimination du CO₂ sur 50 ml environ de l'échantillon de vin par agitation sous vide pendant 3 minutes, en réchauffant la fiole dans un bain d'eau à 25 °C environ.

Appliquer sur 10 ml de vin décarboniqué le mode opératoire ci-dessus : soit n' ml le volume utilisé.

2.1.4. Expression des résultats

1 ml de solution titrée d'acide sulfurique 0,05 M correspond à 4,4 mg de dioxyde de carbone.

La quantité de dioxyde de carbone, en grammes par litre de vin, est donnée par :

$$0,44 (n - n').$$

Elle est exprimée avec 2 décimales.

Remarque : Dans le cas des vins peu chargés en CO₂ (CO₂ < 1 g/l), l'addition d'anhydrase carbonique pour catalyser l'hydratation du CO₂ n'est pas nécessaire.

2.2. *Cas des vins pétillants et des vins mousseux*

2.2.1. Appareillage

- Agitateur magnétique.
- pH mètre.

2.2.2. Réactifs

- Solution d'hydroxyde de sodium à 50 p. 100 (m/m).
- Solution d'acide sulfurique 0,05 M.
- Solution d'anhydrase carbonique à 1 gramme par litre.

2.2.3. Mode opératoire

Sur la bouteille de vin à analyser, tracer un repère au niveau du remplissage et la refroidir jusqu'à début de congélation.

Laisser la bouteille se réchauffer légèrement, tout en l'agitant, jusqu'à disparition des cristaux de glace.

Déboucher rapidement et mettre de côté, dans une éprouvette graduée, 45 à 50 ml de vin qui serviront au dosage témoin. Le volume exact de ce prélèvement, v ml, sera déterminé par lecture sur l'éprouvette après son retour à la température ambiante.

Ajouter, sitôt le prélèvement effectué, 20 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 50 p. 1000 dans la bouteille pour une contenance de 750 ml.

Attendre que le vin soit revenu à la température ambiante.

Placer dans un vase cylindrique de 100 ml, 30 ml d'eau distillée bouillie et 2 gouttes de la solution d'anhydrase carbonique à 1 g/l. Y ajouter 10 ml de vin alcalinisé.

Placer le vase sur l'agitation magnétique, mettre en place l'électrode et le barreau magnétique et procéder à une agitation modérée.

Verser par affusion lente la solution d'acide sulfurique 0,05 M jusqu'à pH 8,6.

Continuer les affusions d'acide sulfurique 0,05 M jusqu'à pH 4,0. Soit n ml le volume utilisé entre pH 8,6 et 4,0.

Procéder par ailleurs à l'élimination du CO_2 sur les v ml de vin, mis à côté pour le dosage témoin, par agitation sous vide pendant 3 minutes, en réchauffant la fiole dans un bain d'eau à 25 °C environ. Prélever 10 ml de vin décarboniqué dans 30 ml d'eau distillée bouillie, ajouter 2 à 3 gouttes de solution d'hydroxyde de sodium 50 p. 100 pour amener le pH à 10-11. Appliquer ensuite le mode opératoire ci-dessus. Soit n' ml, le volume d'acide sulfurique 0,05 M versé.

2.2.4. Expression des résultats

1 ml de solution d'acide sulfurique 0,05 M correspond à 4,4 mg de dioxyde de carbone.

Vider la bouteille de son vin alcalinisé et déterminer à 1 ml près le volume initial du vin en la remplissant avec de l'eau jusqu'au trait de repère, soit V ml.

La quantité de dioxyde de carbone en grammes par litre de vin est donnée par :

$$0,44 (n - n') \times \frac{V - v + 20}{V - v}$$

Elle est exprimée avec 2 décimales.

2.3. Calcul de la surpression théorique

La surpression à 20 °C, $P_{aph_{20}}$, exprimée en Pascals, est donnée par la formule :

$$P_{aph_{20}} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5} (0,86 - 0,01A)(1 - 0,00144S)} - P_{atm}$$

avec :

Q = Teneur en grammes de CO₂ par litre de vin

A = Titre alcoolométrique du vin à 20 °C

S = Teneur en sucres du vin en grammes par litre

P_{atm} = Pression atmosphérique, exprimée en Pascals

2.4 Remarque

Le mode opératoire ci-dessous peut être employé à *titre usuel* pour des vins contenant moins de 4 g par litre de dioxyde de carbone.

Il est nécessaire de disposer de deux échantillons du vin à analyser.

Ouvrir l'un des échantillons après l'avoir refroidi aux environs de 5 °C et ajouter immédiatement 5 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium à 50% (m/m), pour 275 ml d'échantillon. Boucher aussitôt et mélanger. Prélever 10 ml de vin ainsi traité dans un vase cylindrique contenant 40 ml d'eau et ajouter 3 gouttes de solution d'anhydrase carbonique à 0,1 g/l. Titrer avec une solution d'acide sulfurique 0,02275 M jusqu'à pH 8,6, puis jusqu'à pH 4,0 et relever le volume versé entre pH 8,6 et 4,0, soit *n* ml.

Procéder par ailleurs à l'élimination du dioxyde de carbone sur 25 ml environ de vin, prélevés sur le deuxième échantillon, par agitation sous vide durant 1 min. dans un flacon de 500 ml contenant III gouttes de solution d'anhydrase carbonique. Ajouter 0,33 ml de

solution d'hydroxyde de sodium à 50% (m/m). Appliquer sur 10 ml de vin décarboniqué le mode opératoire ci-dessus. Soit n' ml le volume utilisé, 1 ml H_2SO_4 0,02275 M correspond à 200 mg de dioxyde de carbone par litre.

Teneur du vin analysé en dioxyde de carbone, en milligrammes par litre :

$$(n - n') \times 200 \times 1,013$$

BIBLIOGRAPHIE

Méthode de référence :

CAPUTI A, UEDA M., WALTER P, & BROWN T., *Amer, J, Enol, Vitic.*, 1970, **21**, 140-144,
SUDRAUD P., *F., O.I.V.*, 1973, n° 350,
GORANOV N., *F.V., O.I.V.*, 1983, n° 758,
BRUN S, & TEP Y., *F.V., O.I.V.*, 1981, n° 736 & 1982, n° 736 (bis),

- Etude collaborative -

**Titrage du dioxyde de carbone dans les vins pétillants
et mousseux**

- Rapport sur les résultats obtenus -

Objectif de l'étude

L'objectif de l'étude est de déterminer les caractéristiques de répétabilité et de reproductibilité de la méthode de référence (MA-F-AS314-01-DIOCAR) pour le titrage du CO₂ dans les vins pétillants et mousseux. Les définitions de l'OIV et les limites de CO₂ sont disponibles dans la résolution OENO 1/2002.

Besoins et objectifs de l'étude

La méthode de référence pour le titrage du CO₂ n'incluant pas des données de précision, c'est à cette fin que ces essais collaboratifs ont été menés.

En raison de la particularité analytique de cette méthode, le protocole de validation conventionnel n'a pas pu être complètement respecté. Sur une bouteille d'échantillon, on n'a pu effectuer qu'une seule détermination indépendante. Chaque bouteille a dû être considérée comme individuelle. Il n'a donc pas été possible de procéder aux essais d'homogénéité prévus d'ordinaire dans le cadre des enquêtes préliminaires d'une étude collaborative. Il a donc fallu travailler en étroite collaboration avec les producteurs afin d'avoir un matériau d'essai homogène.

Les échantillons ont été prélevés dans un lot au cours du remplissage des bouteilles, directement sur la ligne de remplissage dans un court intervalle de temps, en supposant donc que le CO₂ avait été distribué de manière homogène dans toutes les bouteilles.

L'étude a été conçue comme une série de répétitions en aveugle. L'anonymat complet des échantillons n'a pas pu être garanti car les partenaires/producteurs impliqués dans l'étude utilisaient différents types de bouteilles et/ou d'obturateurs pour les différents échantillons. Il a donc fallu se fier à l'honnêteté des laboratoires participant à l'étude à qui on a demandé de réaliser une analyse indépendante des données, sans modification de ces données.

Objet et domaine d'application

1. La méthode est quantitative.

2. la méthode est applicable pour le titrage alcoométrique du CO₂ dans les vins pétillants et mousseux pour vérifier le respect des normes.

Matériaux et matrices

L'étude collaborative a porté sur 6 échantillons différents. Ceux-ci ont tous été envoyés en répliques en aveugle. Au total 12 bouteilles ont donc été distribuées aux participants.

Tableau 1 : Echantillons et codes

Echantillon	Code bouteille	Type
Echant. A	(Code 1 + 9)	Vin mousseux
Echant. B	(Code 2 + 5)	Vin pétillant
Echant. C	(Code 3 + 4)	Vin mousseux
Echant. D	(Code 6 + 10)	Vin pétillant
Echant.E	(Code 7 + 11)	Vin pétillant
Echant. F	(Code 8 + 12)	Vin mousseux (rouge)

Mesures de contrôle

La méthode étudiée dans le présent document est déjà approuvée dans la pratique. Seules les données de précision manquantes devaient être déterminées par l'étude collaborative. Il n'a pas été nécessaire d'effectuer d'essai préliminaire car la plupart des laboratoires utilisaient déjà la méthode de référence pour leurs analyses usuelles.

Méthode à suivre et pièces justificatives

Toutes les pièces justificatives nécessaires ont été fournies aux participants (lettre d'accompagnement, référence de la méthode d'analyse, formulaire de réception de l'échantillon et fiche de résultats). La détermination de la teneur de CO₂ devait être exprimée en g/l.

Analyse des données

1. La détermination des valeurs aberrantes a été évaluée par le test de Cochran, le test de Grubbs unilatéral et le test de Grubbs bilatéral.
2. Une analyse statistique a été effectuée pour obtenir les données de répétabilité et reproductibilité
3. Les valeurs de HORRAT ont été calculées.

Participants

13 laboratoires appartenant à plusieurs pays ont participé à l'étude collaborative. On a attribué un code à chaque laboratoire. Les laboratoires participants ont une expérience reconnue dans l'analyse du CO₂ dans les vins mousseux.

Tableau 2 : Liste des participants.

Landesuntersuchungsamt D-56068 Koblenz (Coblence) ALLEMAGNE	Institut für Lebensmittelchemie und Arzneimittelprüfung D-55129 Mainz (Mayence) ALLEMAGNE
Landesuntersuchungsamt D-67346 Speyer ALLEMAGNE	Institut für Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen D-10557 BERLIN ALLEMAGNE
Servicio Central de Viticultura y Enologia E-08720 Villafranca Del Penedes ESPAGNE	Landesuntersuchungsamt D-54295 Trier (Trèves) ALLEMAGNE
Landesuntersuchungsamt D-85764 Oberschleißheim ALLEMAGNE	Instituto Agrario di S. Michele I-38010 S. Michele all Adig ITALIE
Chemisches Landes- u. Staatl. Veterinäruntersuchungsamt D-48151 Münster ALLEMAGNE	Ispettorato Centrale Repressione Frodi I-31015 Conegliano (Treviso) ITALIE
Bundesamt für Weinbau A-7000 Eisenstadt AUTRICHE	BgVV D-14195 Berlin ALLEMAGNE
Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt D-70736 Fellbach ALLEMAGNE	

9. Résultats

Pour la détermination du CO₂ les valeurs d'incertitude sont calculées directement à partir des résultats soumis. Aux fins de l'évaluation de l'étude collaborative, le calcul de la valeur Horrat est pertinent. Pour tous les échantillons on a obtenu une valeur Horrat < 2 pour la reproductibilité et la répétabilité, ce qui est convaincant pour une étude collaborative. Le Tableau 3 donne les résultats du titrage de CO₂ par échantillon.

Tableau 3 : Résumé des résultats du titrage de CO₂.

CO ₂	ECHANT. A	ECHANT. B	ECHANT. C	ECHANT. D	ECHANT. E	ECHANT. F
Moyenne [g/l]	9,401	3,344	9,328	4,382	4,645	8,642
r [g/l]	0,626	0,180	0,560	0,407	0,365	0,327
sr [g/l]	0,224	0,064	0,200	0,145	0,130	0,117
RSDr %	2,379	1,921	2,145	3,314	2,803	1,352
Hor	0,893	0,617	0,804	1,109	0,946	0,501
R [g/l]	1,323	0,588	0,768	0,888	0,999	0,718
sR [g/l]	0,473	0,210	0,274	0,317	0,357	0,256
RSDR %	5,028	6,276	2,942	7,239	7,680	2,967
HoR	1,245	1,331	0,728	1,599	1,711	0,726

METHODE DE MESURE DE LA SURPRESSION DES VINS EFFERVESCENTS (Oeno 21/2003)

1. PRINCIPE

Après stabilisation thermique et agitation de la bouteille, la surpression est mesurée à l'aide d'un aphromètre (jauge de pression). Elle est exprimée en Pascals (Pa) (méthode de type I).

2. APPAREILLAGE

L'appareil permettant la mesure de la surpression dans les bouteilles de vins mousseux et pétillants s'appelle un aphromètre. Il se présente différemment suivant le bouchage de la bouteille (capsule métallique, couronne, bouchon liège ou plastique).

2.1 Pour les bouteilles munies d'une capsule

Il est constitué de trois parties (figure 1):

- La partie supérieure (ou vis porte-aiguille) est composée du manomètre, d'une bague de serrage manuel, d'une vis sans fin qui coulisse dans la partie moyenne, et d'une aiguille qui traverse la capsule. L'aiguille possède un trou latéral qui communique la pression au manomètre. Un joint assure l'étanchéité de l'ensemble sur la capsule de la bouteille.
- La partie moyenne (ou écrou) sert à centrer la partie supérieure. Elle se visse dans la partie inférieure de manière à maintenir fortement l'ensemble sur la bouteille.
- La partie inférieure (ou étrier) est munie d'un ergot qui se glisse sous la bague de la bouteille, de manière à retenir l'ensemble. Il existe des bagues adaptées à chaque type de bouteille.

2.2 Pour les bouteilles munies d'un bouchon

Il est constitué de deux parties (figure 2):

- La partie supérieure est identique à l'appareil précédent ; toutefois, l'aiguille est plus longue. Cette dernière est formée d'un long tube creux au bout duquel est placée une pointe qui aidera à traverser le bouchon. Cette pointe est amovible, elle tombe dans le vin une fois le bouchon traversé.
- la partie inférieure est formée par l'écrou et d'une base venant reposer sur le bouchon. Celle-ci est munie de quatre vis de serrage servant à maintenir l'ensemble sur le bouchon.

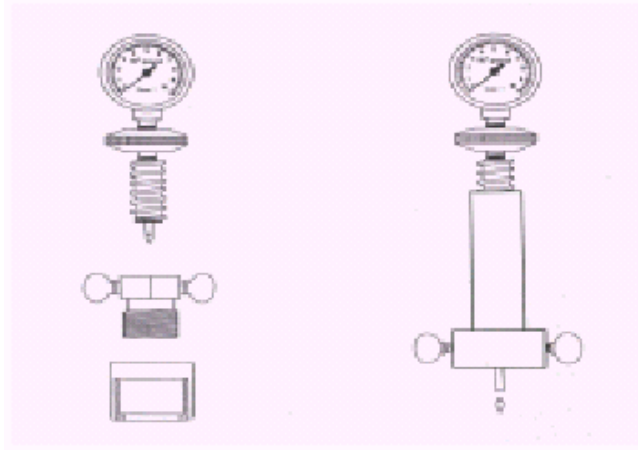


Figure1
Aphromètre
pour capsules

Figure 2
Aphromètre
pour bouchons

Remarques concernant les manomètres équipant ces deux types d'appareil :

- Ils peuvent être soit mécaniques à tube de Bourdon, soit numériques à capteur piézoélectrique. Dans le premier cas, le tube de Bourdon sera obligatoirement en acier inoxydable.
- Ils sont gradués en pascals (abréviation Pa). Pour les vins mousseux, il est plus pratique d'utiliser le 10^5 pascals (10^5 Pa) ou le kilopascal (kPa) comme unité.
- Ils peuvent être de différentes classes. La classe d'un manomètre est la précision de la lecture par rapport à la pleine échelle exprimée en pourcentage (ex. manomètre 1000 kPa classe 1, signifie pression d'utilisation maximale 1000 kPa, lecture à ± 10 kPa). La classe 1 est recommandée pour des mesures précises.

3. MODE OPERATOIRE

La mesure doit s'effectuer sur des bouteilles dont la température est stabilisée depuis au moins 24 heures.

Après avoir percé la couronne, le bouchon de liège ou de plastique, la bouteille doit alors être fortement agitée jusqu'à pression constante, pour effectuer la lecture.

3.1 Cas des bouteilles capsulées

Glisser l'ergot de l'étrier sous la bague de la bouteille. Visser l'écrou jusqu'à ce que l'ensemble soit serré sur la bouteille.

La partie supérieure est alors vissée dans l'écrou. Pour éviter des pertes de gaz le percement de la capsule doit s'effectuer le plus rapidement possible, pour amener le joint au contact de la capsule. La bouteille doit être ensuite fortement agitée jusqu'à pression constante pour effectuer la lecture.

3.2 Cas des bouteilles bouchées

Mettre une pointe en place au bout de l'aiguille. Positionner l'ensemble du montage sur le bouchon. Serrer les quatre vis sur le bouchon.

Visser la partie supérieure (l'aiguille traverse alors le bouchon). La pointe doit tomber dans la bouteille pour que la pression puisse se transmettre au manomètre. Effectuer la lecture après agitation de la bouteille jusqu'à pression constante. Récupérer la pointe après lecture.

4. EXPRESSION DES RESULTATS

La surpression à 20 °C ($P_{aph_{20}}$) est exprimée en pascals (Pa) ou en kilopascals (kPa).

Elle doit être en concordance avec la précision du manomètre (par exemple: $6,3 \cdot 10^5$ Pa ou 630 kPa et non $6,33 \cdot 10^5$ Pa ou 633 kPa pour un manomètre 1000 kPa pleine échelle, de classe 1).

Quand la température de mesure est différente de 20 °C, il convient d'apporter une correction en multipliant la pression mesurée par le coefficient approprié (voir tableau 1).

0	1,85	13	1,24
1	1,80	14	1,20
2	1,74	15	1,16
3	1,68	16	1,13
4	1,64	17	1,09
5	1,59	18	1,06
6	1,54	19	1,03
7	1,50	20	1,00
8	1,45	21	0,97
9	1,40	22	0,95
10	1,36	23	0,93
11	1,32	24	0,91
12	1,28	25	0,88

TABLEAU 1 : Rapport de la surpression $P_{aph_{20}}$ d'un vin pétillant ou mousseux à 20 °C à la surpression P_{aph_t} à une température t

5. CONTRÔLE DES RESULTATS

Méthode de détermination directe de paramètres physiques (méthode critère de type I)

Vérification des aphromètres

Les aphromètres doivent être vérifiés régulièrement (au moins une fois par an).

La vérification se fait à l'aide d'un banc d'étalonnage. Il permet de comparer le manomètre à tester à un manomètre de référence, de classe supérieure, raccordé aux étalons nationaux, monté en parallèle. Le contrôle est utilisé pour confronter les valeurs indiquées par les deux appareils pour des pressions croissantes puis décroissantes. S'il y a une différence entre les deux, une vis de réglage permet d'effectuer les corrections nécessaires.

Les laboratoires et les organismes autorisés sont tous équipés de tels bancs d'étalonnage; ils sont également disponibles auprès des constructeurs de manomètres.

Détermination du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du CO_2
dans les vins mousseux
Méthode employant la spectrométrie de masse de rapport
isotopique (SMRI)
(Résolution Oeno 7/2005)

Avant-propos

La méthode standard décrite ci-après a été élaborée avec le consentement de tous les laboratoires participant à l'étude collective de l'OIV : Analyses ^{13}C -SMRI du CO_2 dans le vin mousseux (2003-2004).

Introduction

Le vide, dans une bouteille de vin mousseux, contient une phase gazeuse riche en CO_2 , équilibrée avec le CO_2 dissous en phase liquide. Ce gaz évolue durant la seconde fermentation, sous l'effet de l'ajout du sucre provenant de raisin, de betterave, de canne à sucre ou de maïs. Mais la teneur en CO_2 des vins mousseux peut aussi être augmentée artificiellement au moyen de CO_2 industriel.

En 1997, une méthode autonome de détermination du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du CO_2 de vins mousseux par spectrométrie de masse des isotopes (SMRI) a été présentée à l'OIV. Cette méthode a par la suite généré de nouvelles procédures fondées sur des techniques automatisées en ligne, conçues dans certains laboratoires européens. Une de ces procédures a été présentée à l'OIV en 2001. Ces prochaines années, les progrès techniques pourraient fort bien conduire à de nouvelles procédures permettant de déterminer, de façon fiable et rapide, le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de nombreux échantillons de CO_2 . Une description exhaustive de toutes les procédures applicables aux différentes techniques risque de faire tomber rapidement la méthode en désuétude. La méthode suivante tient compte de ce fait : elle décrit les principes de base pour une bonne mesure de la teneur en carbone 13 du CO_2 procédant de vin mousseux et fournit un bref aperçu des procédures utilisées aujourd'hui, accompagné d'une description exhaustive, à base d'exemples, des procédures fondées sur des techniques hors-ligne et en ligne.

**Détermination du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du CO_2
dans les vins mousseux.**

**Méthode employant la spectrométrie de masse de rapport
isotopique (SMRI)**

1. Champ d'application

Cette méthode détermine, par la spectrométrie de masse des isotopes (SMRI), le rapport isotopique stable du carbone ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) du CO_2 dans les vins mousseux. Cette méthode couvre une vaste gamme de procédures, dont l'application est fonction des instruments disponibles.

2. Références normatives

ISO 5725-2:1994 « Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure. Partie 2 : méthode de base pour la détermination de la répétabilité et la reproductibilité d'une méthode de mesure standard ».

ISO 78-2:1999 « Chimie – Plans de normes. Partie 2 : méthodes d'analyse chimique ».

3. Définitions

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: 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 (‰).

V-PDB : Vienna-Pee-Dee Belemnite. Le standard PDB est un carbonate de calcium fossile de la Caroline du sud, aux États-Unis d'Amérique, présentant le rapport isotopique ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou R_{PDB}) = 0,0112372. Cette valeur sert de point de référence à l'échelle PDB internationale commune pour les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ exprimées en parties pour mille (‰).

m/z : Rapport masse sur charge.

S_r : Écart-type de répétabilité. Écart-type observé dans les résultats d'essais conduits sous des conditions de répétabilité (conditions

permettant d'obtenir des résultats d'essais conduits indépendamment avec la même méthode à partir d'échantillons identiques, dans le même laboratoire et avec le même opérateur utilisant le même matériel à de brefs intervalles de temps).

- r : Limite de répétabilité. Valeur inférieure ou égale à la différence absolue entre deux résultats d'essais obtenus sous des conditions de répétabilité, avec une probabilité de 95 % ; $r=2,8 \cdot S_r$.
- S_R : Écart-type de reproductibilité. Écart-type observé dans les résultats d'essais conduits sous des conditions de reproductibilité (conditions permettant d'obtenir des résultats d'essais conduits avec la même méthode à partir d'échantillons identiques, dans des laboratoires différents et avec des opérateurs différents utilisant un matériel différent).
- R : Limite de reproductibilité. Valeur inférieure ou égale à la différence absolue entre deux résultats d'essais obtenus sous des conditions de reproductibilité, avec une probabilité de 95 % ; $r=2,8 \cdot S_R$.

4. Principe

Les plantes sont classées C3 ou C4 en fonction de l'itinéraire suivi par la synthèse du sucre. Le sucre des plantes C3, telles le raisin et la betterave, présente une teneur en ^{13}C inférieure à celle du sucre de plantes comme la canne à sucre et le maïs. Cette différence est préservée dans la teneur en ^{13}C des produits de fermentation de sucres, tels l'éthanol et le CO_2 . En outre, le CO_2 industriel employé dans l'industrie alimentaire, qui procède de la combustion de combustibles fossiles ou du traitement thermique de carbonate, présente une teneur en ^{13}C différente de celle des produits issus de plantes C3 et C4. En conséquence, le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du CO_2 des vins mousseux est régi par le type de sucre employé durant la seconde fermentation (C3 ou C4) ou par la composition isotopique du CO_2 industriel ajouté.

Les études conduites à ce jour sur la teneur en ^{13}C du CO_2 des vins mousseux ont révélé que le CO_2 obtenu par fermentation du sucre de plantes C3 présentait une $\delta^{13}\text{C}$ de -17 ‰ à -26 ‰, alors que le CO_2 obtenu par fermentation du sucre de plantes C4 avait une $\delta^{13}\text{C}$ de l'ordre de -7 ‰ à -10 ‰. Les vins gazéifiés ont un rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ inférieur à -29 ‰ ou supérieur à -10 ‰, en fonction de la source de

bioxyde de carbone¹⁻⁴. En conséquence, la mesure du rapport isotopique stable du carbone ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) de CO_2 dans les vins mousseux peut constituer une bonne méthode pour détecter l'origine du gaz.

La teneur en ^{13}C est déterminée à partir du bioxyde de carbone obtenu d'un vin mousseux. Les différentes combinaisons possibles des isotopes ^{18}O , ^{17}O , ^{16}O et ^{13}C , ^{12}C génèrent le nombre de masse 44 correspondant à l'isotopomère $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$, le nombre de masse 45 correspondant aux espèces $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ et $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ et le nombre de masse 46 correspondant à l'isotopomère $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$ ($^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ et $^{12}\text{C}^{17}\text{O}_2$ peuvent être ignorés en raison de leur très faible abondance). Les courants ioniques correspondants sont déterminés sur les trois différents collecteurs. Le courant ionique m/z 45 est corrigé de la contribution de $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$, calculée en fonction de l'intensité du courant mesurée pour m/z 46, en considérant les abondances relatives de ^{18}O et de ^{17}O (correction de Craig). La comparaison avec une référence calibrée contre la référence internationale V-PDB autorise alors le calcul de la teneur en ^{13}C sur l'échelle relative $\delta^{13}\text{C}$ ‰.

5. Réactifs

Les matériaux et consommables sont fonction de l'appareillage employé dans le laboratoire.

Lorsque la séparation et la purification des échantillons de CO_2 sont exécutées par cryopiégeage dans une ligne de vide, les réactifs suivants sont employés :

- Azote liquide
- Éthanol
- CO_2 solide

En général, les consommables suivants sont employés pour l'analyse avec un système à flux continu (EA-SMRI ou GC-C-SMRI). D'autres matériaux de qualité analogue peuvent remplacer l'un ou l'autre des produits recensés :

- Hélium pour analyse (CAS 07440-59-7).
- Oxygène pour analyse (CAS 07782-44-7).
- Bioxyde de carbone pour analyse, utilisé comme gaz de référence secondaire pour la teneur en carbone 13 (CAS 00124-38-9).

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du CO_2 dans les vins mousseux

- Réactif d'oxydation pour le four du système de combustion – ex. : oxyde de cuivre pour micro-analyse (CAS 1317-38-0).
- Desséchant pour l'élimination de l'eau produite par la combustion – ex. : perchlorate de magnésium pour micro-analyse (CAS 10034-81-4). Inutile lorsque le système EA-SMRI ou GC-C-SMRI élimine l'eau par cryopiégeage.
- Colonne capillaire et membrane Naphion pour l'élimination de l'eau produite par la combustion dans les systèmes GC-C-SMRI.

Le gaz de référence employé dans les mesures peut être un gaz certifié ou un gaz de travail calibré par rapport aux références internationales avec des valeurs delta connues (gaz certifiés ou matériaux de référence). Ci-après figure une liste de quelques-uns des matériaux de référence internationaux pouvant être employés pour le réglage d'étalons gazométriques et le contrôle des étalons gazométriques :

<u>Code échantillon</u>	<u>Matériau</u>	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$	
IMEP-8-A	CO_2	-6,40 ‰	Messer Griesheim
ISO-TOP	CO_2	-25,7 ‰	Messer Griesheim
BCR-656	Éthanol	-20,91 ‰	IRMM
BCR-657	Glucose	-10,76 ‰	IRMM
SAI-692C	CO_2	-10,96 ‰	Oztech Trading Corporation (USA)
NBS-22	Huile	-29,7 ‰	IAEA
IAEA-CH-6 (ANU)	Sucrose	-10,4 ‰	IAEA
NBS-18	Calcite	-5,1 ‰	IAEA
NBS-19	Calcaire sec	+1,95 ‰	IAEA
FID-Mix Varian	mélange de	n-alcanes	dans de l'isooctanol
	C14	-29,61 ‰	
	C15	-25,51 ‰	
	C16	-33,39 ‰	

6. Appareillage

L'appareillage de laboratoire pour la mesure du rapport isotopique du carbone consiste généralement en ce qui suit :

- Spectromètre de masse de rapport isotopique (SMRI), capable de déterminer la teneur en ^{13}C du CO_2 en abondance naturelle, à un degré de précision interne d'au moins 0,05 ‰ (exprimé en valeur relative δ). La précision interne se définit ici comme étant la différence entre deux mesures du même échantillon de CO_2 .

Le spectromètre de masse est généralement équipé d'un triple collecteur permettant de mesurer simultanément les intensités de courant de m/z 44, 45 et 46. Le spectromètre de masse doit en outre, soit être équipé d'un système d'introduction double, autorisant la mesure en alternance de l'échantillon inconnu et d'un échantillon de référence, soit appliquer une technique à flux continu (CF-SMRI).

- Systèmes à flux continu (CF-SMRI). Des systèmes à flux continu appliquant un système automatisé d'échantillonnage de gaz peuvent être employés. Ci-dessous figure une liste de quelques techniques CF-SMRI adaptées à la présente méthode et disponibles dans le commerce :
 - GC-C-SMRI (Chromatographie en phase gazeuse – combustion – SMRI).
 - EA-SMRI (Analyseur élémentaire équipé pour les injections liquides ou solides).

Ces systèmes séparent et purifient le CO_2 , puis éluent le bioxyde de carbone vers la chambre d'ionisation du spectromètre.

- Ligne de vide en verre ou en acier, avec des cryopièges, reliée à une pompe capable d'atteindre une pression inférieure à $5,10^{-3}$ mbar.
- Dispositifs d'échantillonnage de gaz, disponibles dans le commerce (ex. : seringue pour échantillons gazeux) ou conçus en interne, capables d'extraire une aliquote de CO_2 d'un vin mousseux sans fractionnement isotopique.
- Flacons scellés pour les échantillons gazeux, adaptés au passeur automatique d'échantillons vers les systèmes à flux continu.
- Flacons scellés pour les aliquotes de vin mousseux, adaptés à la ligne de vide et/ou au passeur automatique d'échantillons vers les systèmes à flux continu.

7. Procédure

La méthode proposée compte trois étapes : échantillonnage du CO_2 , purification et séparation du CO_2 et mesure du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Ces étapes peuvent être totalement indépendantes (système autonome) ou intégralement ou partiellement interconnectées (système continu). Toute procédure permettant d'éviter le fractionnement isotopique de l'échantillon de CO_2 durant les trois étapes de la méthode pourra être appliquée. Des informations complémentaires sur les procédures fondées sur des systèmes autonomes et continus sont fournies aux Annexes A, B et C.

La description ci-après renvoie aux procédures appliquées par les laboratoires participant à l'essai inter-laboratoires.

7.1. Procédures d'échantillonnage de CO_2

- a. Échantillonnage du CO_2 à température ambiante dans le vide de la bouteille, par insertion d'un dispositif spécial à travers le bouchon.
- b. Échantillonnage du CO_2 dans le vide de la bouteille après extraction du bouchon et étanchéification de la bouteille au moyen d'un mécanisme de fermeture de précision, imperméable au gaz, relié au dispositif d'échantillonnage. La bouteille de vin mousseux doit être refroidie en-deçà de 0°C avant l'installation du mécanisme de fermeture, puis réchauffée à température ambiante. Une aliquote de gaz collectée dans le dispositif d'échantillonnage est prélevée au moyen d'une seringue étanche au gaz et injectée dans un flacon CG scellé.
- c. Échantillonnage du CO_2 dans une aliquote de vin mousseux. La bouteille de vin mousseux doit être refroidie à 4°C - 5°C avant l'extraction du bouchon. Les aliquotes de vin sont disposées dans une bouteille spéciale, adaptée à la ligne de vide en verre ou au passeur automatique d'échantillons.

7.2. Procédures de purification et de séparation du CO_2

- a. Les gaz non condensés et l'eau présents dans l'échantillon gazeux sont éliminés dans une ligne de vide au moyen de cryopièges.
- b. Les échantillons gazeux sont purifiés et le CO_2 est séparé par différents systèmes continus reliés au SMRI au moyen d'un

système à flux continu ou d'un cryopiège. Les systèmes continus pouvant être utilisés sont, entre autres, les suivants :

- cryopiège à eau autonome, relié à un système à flux continu,
- piège à eau (perchlorate de magnésium), suivi d'un chromatographe en phase gazeuse,
- chromatographe en phase gazeuse, relié directement ou indirectement au SMRI ou via une interface de combustion.

7.3. Mesure du ratio $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

Le rapport isotopique du carbone du CO_2 obtenu dans du vin se mesure au moyen d'un spectromètre de masse des rapports isotopiques.

8. Calcul

Rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du CO_2 dans du vin mousseux exprimé par déviation à partir d'un étalon de travail ($\delta^{13}\text{C}$) préalablement étalonné par rapport à la référence internationale PDB (Pee Dee Belemnite). Ce paramètre est défini comme étant la différence relative pour mille entre les rapports ^{13}C et ^{12}C d'un échantillon par rapport à la référence PDB. La référence PDB consiste en un carbonate de calcium fossile de la Caroline du sud, aux États-Unis, présentant un rapport isotopique (R_{PDB}) = 0,0112372. Cette valeur sert de point de référence à l'échelle PDB internationale commune pour les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ exprimées en parties pour mille (‰).

Les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ exprimées par rapport à l'étalon de travail sont calculées au moyen de l'équation suivante :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{éch/réf}} (\text{‰}) = 1\,000 \times (R_{\text{éch}} - R_{\text{réf}}) / R_{\text{réf}}$$

où

$R_{\text{éch}}$ est le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de la prise d'essai ;

$R_{\text{réf}}$ est le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'étalon de travail.

Les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ exprimées par rapport à la référence PDB sont calculées au moyen de l'équation suivante :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{éch/V-PDB}} (\text{‰}) = \delta_{\text{éch/réf}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{réf/V-PDB}} + (\delta^{13}\text{C}_{\text{éch/réf}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{réf/V-PDB}}) / 1000$$

où

$\delta^{13}\text{C}_{\text{réf/V-PDB}}$ est la déviation isotopique de l'étalon de travail préalablement déterminé contre le PDB, exprimée en parties pour mille (‰).

Les résultats sont exprimés avec deux décimales.

9. Précision

L'essai inter-laboratoires sur la précision de la méthode est spécifié à l'Annexe D.

9.1. Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur un même échantillon d'essai par un opérateur utilisant le même appareil dans le plus bref intervalle de temps possible excédera la limite de répétabilité r dans 5 % des cas au maximum.

Les valeurs moyennes admises pour l'écart type de la limite de répétabilité (S_r) et de répétabilité (r) sont égales à :

$$S_r = 0,21 \text{ ‰} \quad r = 0,58 \text{ ‰}$$

9.2. Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats individuels obtenus sur un même échantillon d'essai par deux laboratoires excédera la limite de reproductibilité R dans 5 % des cas au maximum.

Les valeurs moyennes admises pour l'écart type de la limite de reproductibilité (S_R) et de reproductibilité (R) sont égales à :

$$S_R = 0,47 \text{ ‰} \quad R = 1,33 \text{ ‰}$$

10. Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit spécifier les données suivantes :

- toutes les informations nécessaires à l'identification de l'échantillon testé
- mention de la Méthode standard internationale
- la méthode employée, avec mention de la procédure d'échantillonnage et de mesurage et recensement des instruments employés
- les résultats de l'essai et les unités, avec les résultats des

déterminations individuelles et leur moyenne, calculés comme indiqué à la Section 8 (« Calcul »)

- toute variance par rapport à la procédure spécifiée
- toute caractéristique inhabituelle observée durant l'essai
- la date de l'essai
- si la répétabilité a été vérifiée
- une description de la procédure de calibrage du gaz de référence appliquée pour la mesure des prises d'essai.

Annexes (A,B,C,D)

11. Bibliographie

1. « *Mesure du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du gaz carbonique des vins mousseux et des vins gazéifiés* », J. Merin et S. Mínguez. *Office International de la Vigne et du Vin. Paris. F.V. 1039, 2426/200297 (1997).*
2. « *Examination of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopes in sparkling and semi-sparkling wine with the aid of simple on-line sampling* », M. Boner et H. Förstel. *Office International de la Vigne et du Vin. Paris. F.V. 1152. (2001).*
3. « *Use of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for studying the origin of CO_2 in sparkling wine* », J. Dunbar. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 311, 578-580 (1982).
4. « *Contribution to the study of the origin of CO_2 in sparkling wines by determination of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio* », I. González-Martin, C. González-Pérez et E. Marqués-Macías. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1149-1151 (1997).
5. « *Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance studies* ». *Pure Appl. Chem.*, 1995, 67, 331-343.

ANNEXE A

**Procédure expérimentale fondée sur des systèmes autonomes
pour l'échantillonnage et le mesurage
(dispositif d'échantillonnage conçu en interne, ligne de vide
autonome et SMRI à double système d'entrée)**

1. Matériel

- Dispositif d'échantillonnage. Le dispositif employé pour extraire les aliquotes gazeuses de la bouteille consiste en une pince (aiguille d'acier) dotée de trois orifices latéraux, par lesquels pénètre le gaz. Il est relié à un système de clapets composé de deux clapets reliés en séquence, d'une capacité d'environ 1 mL. Un clapet est fixé à la pince (Clapet 1) et l'autre à un tube d'acier (Clapet 2), qui relie le dispositif à une ligne de vide. Si la ligne de vide est en verre, un adaptateur à tube d'acier flexible doit être installé. Le Schéma ci-après représente le dispositif de captation des gaz.
- Ligne de vide autonome avec deux cryopièges ($P < 0,05$ mbar). Deux types de ligne de vide peuvent être employés : verre ou acier.
- Spectromètre de masse des rapports isotopiques – double système d'entrée, capable de déterminer la teneur en ^{13}C du CO_2 en abondance naturelle, à un degré de précision interne d'au moins 0,05 ‰ (exprimé en valeur relative δ). La précision interne se définit ici comme étant la différence entre deux mesures du même échantillon de CO_2 .

2. Procédure (voir le Schéma)

2.1. Échantillonnage du CO_2

1. Relier le dispositif d'échantillonnage à la ligne de vide et tester sa capacité d'étanchéité.
2. Insérer le dispositif d'échantillonnage avec les clapets fermés dans le bouchon en effectuant un mouvement circulaire tout en maintenant le dispositif à la verticale.
3. Relier l'ensemble dispositif d'échantillonnage-bouteille de vin à la ligne de vide et vidanger la ligne et le réservoir délimités par les deux clapets (Clapet 2 ouvert, Clapet 1 fermé).

4. Une fois que le vide est créé dans le réservoir, fermer le clapet 2, ouvrir le clapet 1 et maintenir cette configuration pendant 1 minute. Après le temps d'équilibre, fermer le clapet 1. Le gaz enfermé dans le réservoir est alors purifié.

2.2. Purification et séparation du CO_2

1. Transférer le CO_2 collecté dans le réservoir vers le premier cryopiège avec de l'azote liquide pendant au moins 1 minute, puis pomper le gaz non condensé jusqu'à obtention d'une pression inférieure à 0,05 mbar.
2. Transférer l'échantillon de CO_2 vers le dispositif de mesure en employant de l'azote liquide dans le second cryopiège et en échangeant l'azote liquide dans le premier cryopiège contre un piège à eau de -80 ± 5 °C. Maintenir cette configuration pendant au moins 1 minute.
3. Pomper le gaz non condensé (jusqu'à obtention d'une pression inférieure à 0,05 mbar) avant de fermer le dispositif de mesure.

2.3. Mesure du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

Le rapport isotopique du carbone du CO_2 obtenu se mesure au moyen d'un SMRI à double système d'entrée.

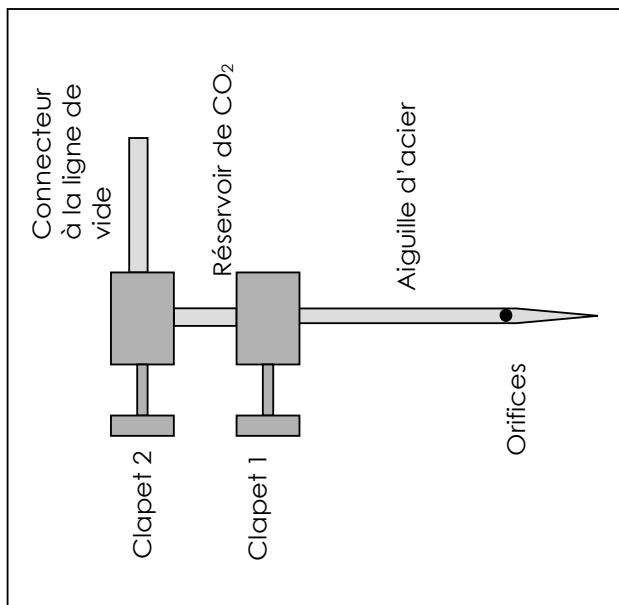
3. Référence

« Mesure du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ du gaz carbonique des vins mousseux et des vins gazéifiés », J. Merín et S. Mínguez. Office International de la Vigne et du Vin, F.V. 1039, 2426/200297.

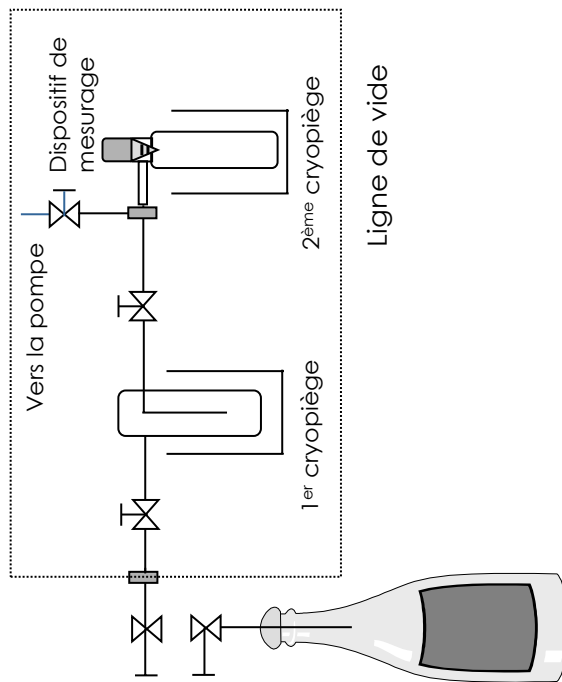
ANNEXE A

Diagramme du système autonome

Dispositif d'échantillonnage de gaz



Échantillonnage de gaz et purification du CO_2



ANNEXE B

Procédure expérimentale fondée sur des systèmes continus pour l'échantillonnage et le mesurage (CF-SMRI)

1. ÉCHANTILLONNAGE TECHNIQUE

En premier lieu, le système d'échantillonnage est vidangé, le bioxyde de carbone est extrait de la bouteille au moyen d'un « dispositif d'échantillonnage » et une quantité spécifique est transférée vers la cuve de stockage. Après application d'une surpression, une petite quantité de gaz est introduite dans le flux continu d'hélium au moyen d'un restricteur. Le système d'échantillonnage est représenté au Schéma 2.

Un flux continu de dioxyde de carbone est maintenant présent dans le flux d'hélium (flux d'échantillonnage). Le flux résiduel d'hélium est exempt de dioxyde de carbone et fait fonction de débit nul. Des « pics de commutation » artificiels sont générés par commutation provisoire entre le débit nul et le flux d'échantillonnage (temps de commutation : 2 secondes), dont les rapports isotopiques sont mesurés par le spectromètre de masse.

2. Procédure (voir Schéma)

2.1. Vidange du système d'échantillonnage

Le système d'échantillonnage est intégralement vidangé jusqu'à obtention d'une pression négative de 1 mbar (V3 fermé).

2.2. Échantillonnage

Le bouchon est transpercé par un « dispositif d'échantillonnage » et l'atmosphère de la bouteille est transférée vers la cuve de stockage de gaz (GV) par pression négative (hausse de pression après 50 mbars environ). Le clapet de réglage fin (VF) autorise l'écoulement maîtrisé et lent du gaz. Le gaz est purifié dans le cryopiège à l'issue du transfert.

2.3. Alimentation

Après l'échantillonnage (V3 et V2 fermés, V4 ouvert), une surpression de 1,5 bar est constituée à l'aide d'hélium. Le gaz à mesurer est conduit au CF-SMRI par l'ouverture de V3. Le mesurage peut être effectué après une première mise en condition de 150 secondes. Un capillaire est intégré comme restricteur, n'autorisant le passage que d'une très faible quantité de gaz porteur (10 mL/mn).

2.4. Mesurage

Un flux continu de bioxyde de carbone est maintenant présent dans le flux d'échantillonnage d'hélium (PRO). La commutation entre le flux d'échantillonnage (PRO) le flux d'hélium pur (NUL) permet de générer des pics de commutation artificiels.

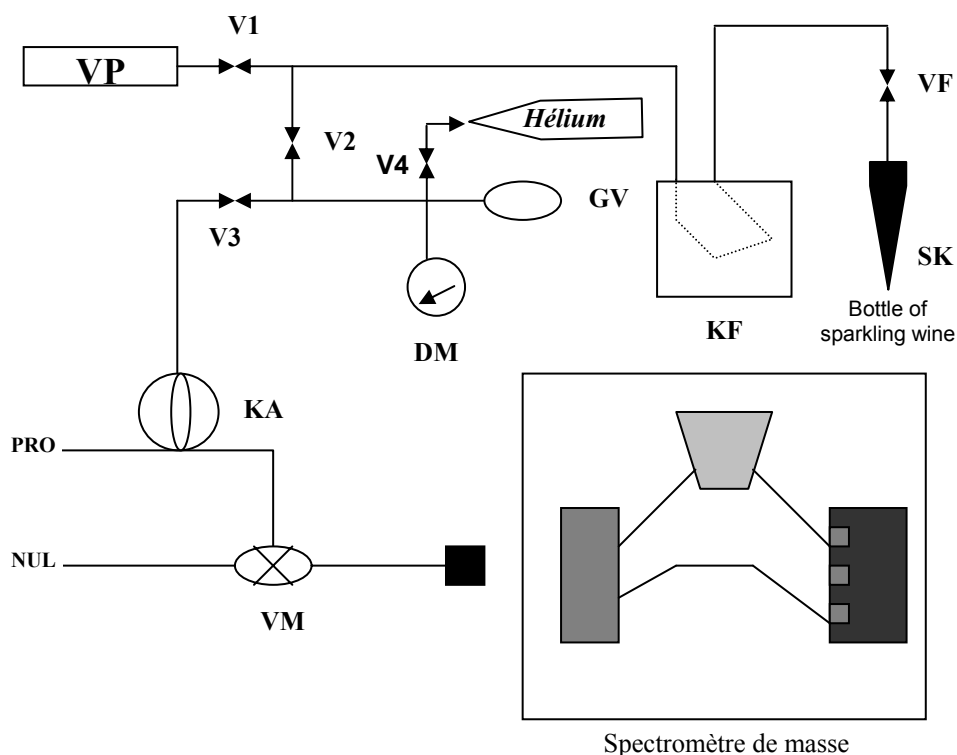
Commutation sur le flux d'échantillonnage : 2 secondes
(débit nul : 10-30 secondes).

3. Référence

« *Examination of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopes in sparkling and semi-sparkling wine with the aid of simple on-line sampling* », M. Boner et H. Förstel.
Office International de la Vigne et du Vin, FV 1152.

ANNEXE B

Diagramme du système continu



- V1-V4** clapet de non retour
- VP** pompe à vide
- VF** clapet de réglage fin
- SK** dispositif d'échantillonnage
- PRO** flux d'échantillonnage d'hélium (50 ml/min)
- NUL** flux d'hélium (débit nul) (60 ml/min)
- KF** propan-1-ol du piège à eau à -90°C
- GV** cuve de stockage de gaz 250 ml
- DM** manomètre
- KA** capillaire restricteur (10 cm, $150\ \mu\text{m}$)
- VM** clapet 2/4 voies

ANNEXE C

Procédure expérimentale fondée sur la technique GC-C-SMRI

1. Caractéristiques des instruments

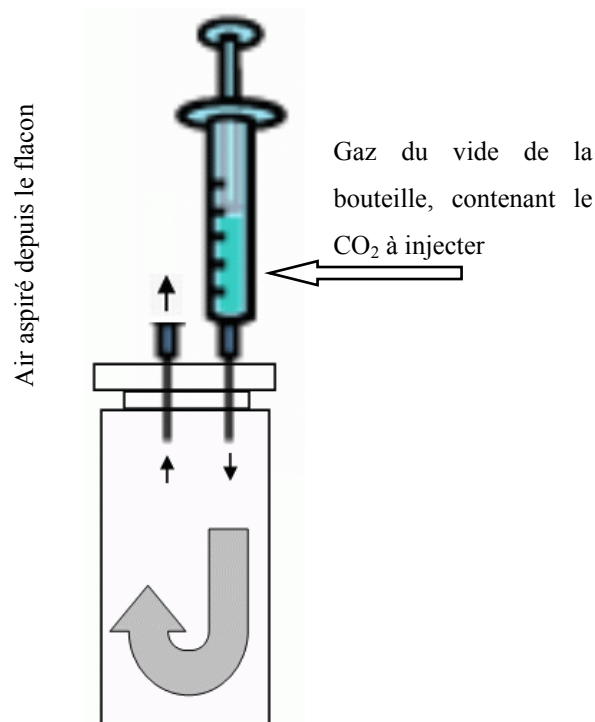
- Chromatographe en phase gazeuse : GC Varian 3400.
- Colonne capillaire : HP-INNOWax (glycol polyéthylénique réticulé), 30 m x 0,25 mm ID, épaisseur du film : 0,5 μm .
- Interface de combustion ThermoFinnigan-MAT, avec four à oxydation réglé à 940° C ou à l'arrêt ; four de réduction à 640° C ou à l'arrêt.
- Spectromètre de masse : DeltaPlus ThermoFinnigan-MAT.

2. Procédure

2.1. Échantillonnage du CO_2

1. Des aliquotes de gaz ont été collectées au moyen d'une seringue de 25 cm^3 , avec insertion d'une longue aiguille d'acier au travers du bouchon. La pression du CO_2 a spontanément rempli la seringue avec le gaz du vide de la bouteille.
2. Le gaz est transféré dans des flacons pré-obturés aux fins de l'analyse. Les flacons employés pour stocker le gaz sont préalablement obturés au moyen de capsules à septum de Téflon-silicone. Pour évacuer l'air situé à l'intérieur – et ainsi le CO_2 atmosphérique –, une seconde aiguille est plantée dans le septum, de manière à garantir que le gaz du vide de la bouteille pousse bien l'air dans le flacon. Voir le schéma ci-dessous.

REMARQUE : une seringue de plus grande capacité est employée, en fonction du volume du flacon, pour garantir une parfaite propreté du flacon. Dans le cas présent, une seringue de 25 cm^3 (ou de capacité plus grande) est employée avec un flacon de 2 ml.

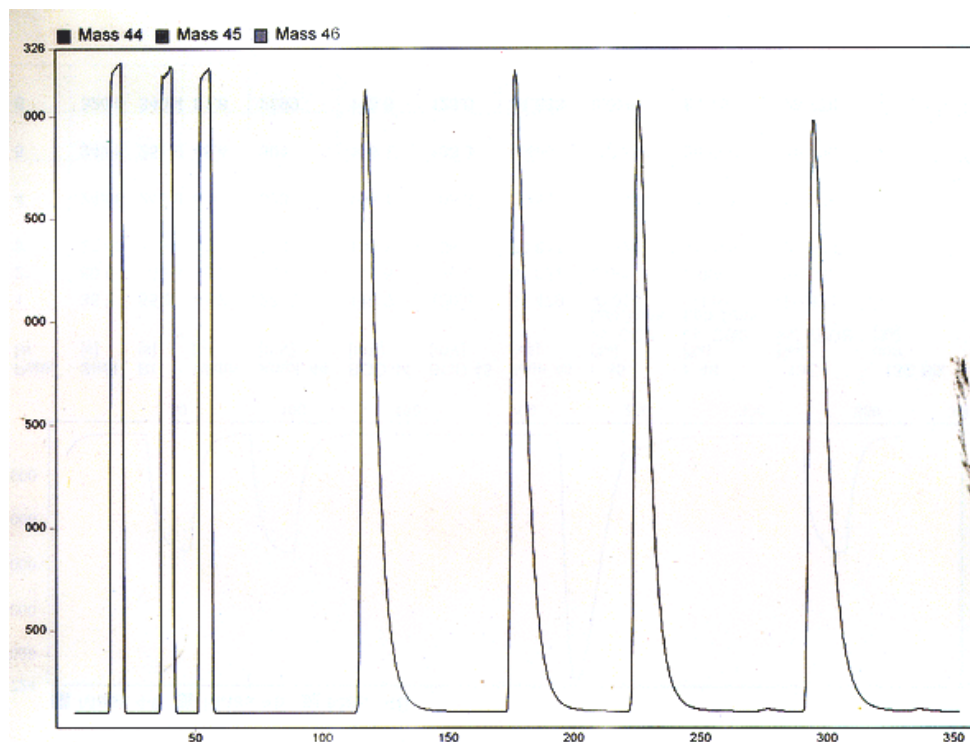


* Attention : le format du flacon n'est pas à échelle avec celui de la seringue .

2.2. Analyses GC-SMRI : injection du CO_2 et mesure du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

Une très faible quantité μl de gaz a été directement injectée dans la colonne au moyen d'une seringue Hamilton de 10 μl à aiguille en acier cémenté. Des conditions de dédoublement de haut débit étaient définies. L'hélium porteur était à 20 PSI.

Quatre injections ont été effectuées lors de chaque mise en condition de chacun des échantillons. Le temps total d'exécution pour l'analyse a été de 6 minutes. Voir le chromatogramme ci-dessous.



2.3. Traitement des résultats

Le logiciel employé pour l'enregistrement et la confection des signaux du spectromètre de masse est la version 1.50 d'Isodat NT, de ThermoFinnigan-Bremen, sous le système d'exploitation MS-Windows NT.

Pour chaque échantillon, la valeur $\delta^{13}\text{C}$ moyenne est calculée comme étant la valeur moyenne des 3 dernières injections. La valeur $\delta^{13}\text{C}$ de la première injection est systématiquement rejetée.

ANNEXE D

(à titre d'information)

**Résultats statistiques de l'essai inter-laboratoires essais de
champagne comercial à supprimer 2 ;2**

Conformément à ISO 5725:1994, les paramètres suivants ont été définis dans le cadre d'un essai inter-laboratoires conduit par 11 laboratoires européens et 1 laboratoire mexicain.

Année de l'essai inter-laboratoires 2003-2004
Nombre de laboratoires 12
Nombre d'échantillons 5, en double aveugle
Paramètre $\delta^{13}\text{C}$ de CO₂

Identification de l'échantillon	A	B	C	D	E
Nombre de laboratoires participants	12	12	12	12	12
Nombre de laboratoires retenus après élimination des résultats aberrants	12	11	12	12	12
Nombre d'expériences menées en parallèle par laboratoire	2	2	2	2	2
Nombre de résultats acceptés	24	22	24	24	24
Moyenne ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	-9,92	-20,84	-23,66	-34,80	-36,43
s_r^2	0,057	0,031	0,119	0,006	0,044
Écart-type de répétabilité (S_r) ‰	0,24	0,18	0,35	0,08	0,21
Valeur de répétabilité, r (2,8 x S_r) ‰	0,67	0,49	0,97	0,21	0,58
S_R^2	0,284	0,301	0,256	0,140	0,172
Écart-type de reproductibilité (S_R) ‰	0,53	0,55	0,51	0,37	0,41
Valeur de reproductibilité, R (2,8 x S_R) ‰	1,49	1,54	1,42	1,05	1,16

Types d'échantillons : A Vin mousseux – Sucre C₄
B Vin mousseux – Sucre C₃
C Vin mousseux – Sucre C₃
D Vin gazéifié
E Vin gazéifié

<i>Titre</i>	DOSAGE DU DIOXYDE DE CARBONE DANS LE VIN PAR METHODE MANOMETRIQUE	
<i>Type de méthode</i>	II	pour une échelle de concentration allant de 0,5 g/l à 7 g/
<i>Résolution</i>	Oeno 2/2006	

1. PRINCIPE

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

2. REACTIFS

- 2.1. Eau fraîchement distillée ou désionisée ;**
- 2.2. Hydroxyde de sodium** (pureté >98%) ;
- 2.3. Acide sulfurique** (pureté >95-97%) ;
- 2.4. Carbonate de sodium** anhydre (pureté >99%).

Préparation des solutions réactives

2.5. Hydroxyde de sodium 10 M : Dissoudre 100 g d'hydroxyde de sodium (2.2) dans 200 ml d'eau (2.1) et ajuster à 250 ml dans une fiole jaugée.

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

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

2.8. Mélanges étalons de dioxyde de carbone à 0,4 ; 1 ; 2 ; 4 and 6 g/l : à l'aide de pipettes verser 2, 5, 10, 20 et 30 ml de la

solution étalon (2.7) dans des fioles jaugées de 50 ml et ajuster avec de l'eau (2.1).

3. APPAREILLAGE

- 3.1. Fioles jaugées de 250 ml et 50 ml ;**
- 3.2. Four ;**
- 3.3. Dessiccateur ;**
- 3.4. Balance d'une exactitude de ± 0.1 mg ;**
- 3.5. Réfrigérateur ou bain réfrigérant à - 4°C ;**
- 3.6. Densimètre électronique (ou pycnomètre) et bain thermostaté à 20 °C;**
- 3.7. Pipettes de 0,5, 2, 3, 5, 10, 20 et 30 ml ;**
- 3.8. flacons côniques de 100 ml, à large ouverture ;**
- 3.9. Manomètre numérique** (permettant de mesurer des écarts de pression de l'ordre de 200 kPa avec une exactitude de 0,1 kPa) ;
- 3.10. Fiole à vide de 25 ml équipé d'un flacon de réaction de 3 ml et d'une vanne trois voies (voir la figure 1) ;**
- 3.11. Générateur de vide** (par exemple une trompe à eau).
- 3.12 Ampoule à décanter**

4. MODE OPERATOIRE

4.1. Préparation de l'échantillon

Préparer les échantillons en double. Refroidir l'échantillon en le laissant une nuit dans un réfrigérateur ou 40 minutes dans un bain réfrigérant à - 4°C (3.5). Verser 3 ml d'hydroxyde de sodium 10M (2.5) dans un flacon cônique de 100 ml (3.8). Peser le flacon et son contenu à 0,1 mg près. Verser approximativement 75 ml de l'échantillon refroidi dans le flacon cônique contenant l'hydroxyde de sodium. Peser à 0,1 mg près. Mélanger et laisser revenir à température ambiante.

4.2. Dosage du dioxyde de carbone contenu par méthode manométrique

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

pression. Fermer la vanne trois voies. Mélanger l'acide et l'échantillon en inclinant l'ensemble et en le secouant vigoureusement. Noter la pression. L'échantillon peut être dilué si nécessaire.

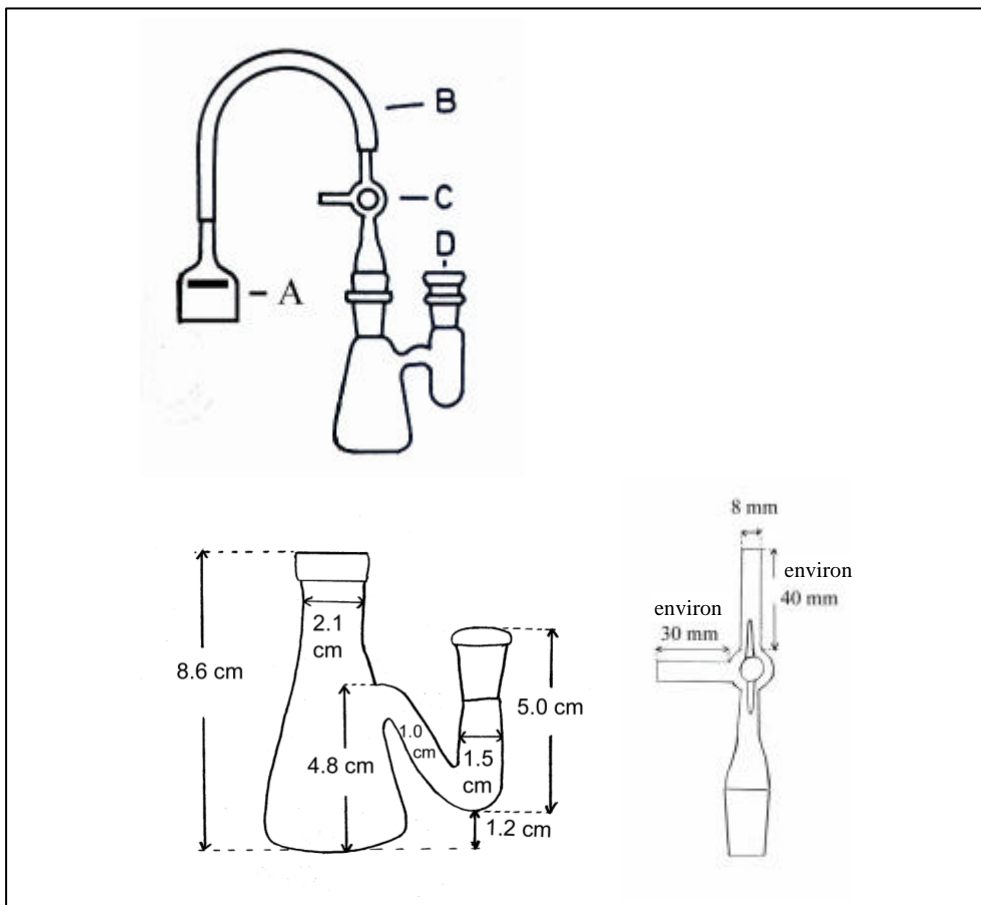


Fig. 1. Appareillage. A manomètre, B tuyau en caoutchouc, C valve à trois voies, D ballon à réaction (gauche) et caractéristiques approximatifs de la verrerie (centre et à droite)

4.3. Etalonnage

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

4.4. Mesure de la densité de l'échantillon.

Enlever le contenu de dioxyde de carbone des solutions d'étalonnage par agitation dans une ampoule à décanter puis sous un vide généré par une trompe à eau pendant trois minutes. Mesurer la masse volumique à l'aide d'un densimètre électronique ou d'un pycnomètre.

5. CALCUL

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

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

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

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

où

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

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

d (kg/m^3) = masse volumique de l'échantillon.

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

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

où

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

p_{ap} = lecture de la pression avant addition de H_2SO_4 (par exemple la pression atmosphérique)

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

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

où

p_i = augmentation de pression (équation 2)

a = pente de la droite d'étalonnage

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

V = volume d'échantillon (équation 1)

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

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

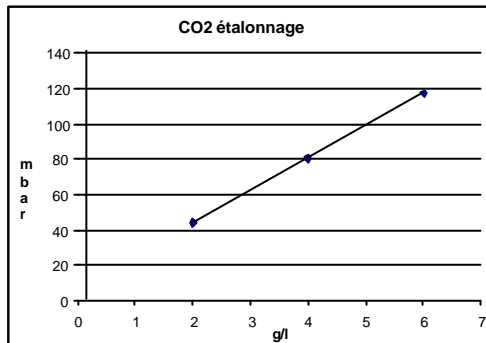
$$\text{CO}_2 \text{ \% (m/m)} = C \times 100/d \quad (4)$$

Exemple de calcul de la teneur en dioxyde carbone :

Etalonnage

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

pente	18.25000
ordonnée à l'or.	7.50000
correlation	0.99995



RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Dioxyde de Carbone - Manométrie

<i>Echantillon</i>	masse volumique d (en kg/m ³)	poids (fiolle + soude) ml (g)	Poids (fiolle + soude + échant.) ml (g)	pression initiale p _φ (mbar)	Pression finale p _s (mbar)	p _s - p _φ (2)	volume de l'échantillon V (mL) (1)	CO ₂ (g/L) (3)	valeur moyenne de CO ₂ (g/L)
vin mousseux 1	1027,2	84,6287	156,1620	1021	1112	91	69,64	4,77	4,80
vin mousseux 1	1027,2	84,6287	156,1620	1021	1113	92	69,64	4,83	
vin mousseux 2	1025,3	86,1066	153,4407	1021	1118	97	65,67	5,13	5,13
vin mousseux 2	1025,3	86,1066	153,4407	1021	1118	97	65,67	5,13	

6. VALIDATION

6.1 Performances de la méthode

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

Annexe A

Référence

European Brewery Convention Analytica-EBC, Fourth edition, 1987, 9.15
Carbon dioxide.

Ali-Mattila E et Lehtonen P.(2002), OIV, FV 1153.

OIV, SCMA 2002, FV N° 1153, determination of carbon dioxide in
alcoholic beverages by a modified EBC method

OIV, SCMA 2004, FV N° 1192, determination of carbon dioxide in
alcoholic
Beverages by a modified EBC method, Statistical results of the
collaborative study

OIV, SCMA 2005, FV N° 1222, comparison of the titrimetric method and
the modified EBC method for the determination of carbon dioxide in
alcoholic beverages

Ali-Mattila, E. and Lehtonen, P., Determination of carbon dioxide in
alcoholic beverages by a modified EBC method, Mitteilungen
Klosterneuburg 52 (2002): 233-236

Annexe B

Résultats statistiques de l'étude collaborative

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

1. But de l'étude

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

2. Besoins et finalité de l'étude

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

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

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

3. Portée et applicabilité

La méthode proposée est quantitative et applicable à la détermination de la teneur en dioxyde de carbone des boissons alcoolisées. Cette méthode a été validée dans le cadre d'une étude collaborative de détermination de la teneur en dioxyde de carbone de vins, bières, cidres et vins mousseux au moyen d'analyses pratiquées à des niveaux compris approximativement entre 0,4 g/L et 12 g/L (Remarque : le

niveau d'étalonnage actuel est compris entre 0,4 g/L et 6 g/L. Les échantillons doivent être dilués avec de l'eau jusqu'à ce niveau, lorsque la teneur en dioxyde de carbone est supérieure à 6 g/L).

4. Matériaux et matrices

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

5. Échantillons d'apprentissage

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

6. Mode opératoire et documents de support

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

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

7. Analyse des données

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

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

8. Participants

Neuf laboratoires de différents pays ont participé à l'étude collaborative. Des codes ont été attribués à ces laboratoires. Les laboratoires

participants avaient une expérience établie en matière d'analyse de boissons alcoolisées.

Alcohol Control Laboratory
Alko Inc.
P.O.Box 279
FIN-01301 Vantaa
Finlande

Altia Ltd
Valta-akseli
Rajamäki
Finlande

Arcus AS
Haslevangen 16
P.O.Box 6764 Rodeløkka
0503 Oslo
Norvège

ARETO Ltd
Mere pst 8a
10111 Tallinn
Estonie

Bundesamt für Weinbau

Gölbeszeile 1
A-7000 Eisenstadt
Autriche

Comité Interprofessionnel du
Vin de Champagne
5, rue Henri MARTIN
BP 135
51204 EPERNAY CEDEX
France

High-Tec Foods Ltd

Ruomelantie 12 B
02210 Espoo
Finlande

Institut für Radioagronomie
Forschungszentrum
Jülich GMBH
Postfach 1913
52425 JÜLICH
Allemagne

Systembolagets laboratorioum
Armaturvägen 4,
S-136 50 HANINGE
Suède

9. Résultats

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

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Dioxyde de Carbone - Manométrie

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

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

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

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

1. Enlevé en raison d'une erreur systématique importante, manifestation due à un mauvais étalonnage
2. Valeur aberrante selon le test de Cochran
3. Valeur aberrante selon le test de Grubbs

RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV
Dioxyde de Carbone - Manométrie

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

	Bière	Cidre	Vin blanc	Vin rouge	Vin pétillant	Vin mousseux
Moyenne (g/L)	5,145	4,859	1,316	0,532	5,139	6,906
Moyenne (Rép.1) (g/L)	5,156	4,833	1,306	0,510	5,154	6,897
Moyenne (Rép.2) (g/L)	5,134	4,885	1,327	0,553	5,124	6,914
Ecart type de répétabilité (s_r) (g/L)	0,237	0,089	0,060	0,053	0,086	0,149
Ecart type de reproductibilité (s_R) (g/L)	0,237	0,139	0,135	0,059	0,124	0,538
Ecart type relatif de répétabilité (SDR_r) (%)	4,597	1,821	4,562	9,953	1,663	2,163
Ecart type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	4,611	2,855	10,22	11,07	2,407	7,795
Limite de répétabilité r (2,8*s_r) (g/L)	0,662	0,248	0,168	0,148	0,239	0,418
Limite de reproductibilité R (2,8*s_R) (g/L)	0,664	0,388	0,377	0,165	0,346	1,507
Cf x Valeur de HORRAT	1,043	0,640	1,883	1,779	0,544	1,843

Conclusion

Les valeurs de Horrat sont inférieures à 2, ce qui signifie que la méthode est acceptable. Les valeurs de Horrat sont cependant légèrement élevées. Dans cinq des neuf laboratoires participants ces essais ont été réalisés pratiquement sans expérience préalable. Les résultats peuvent par conséquent être considérés comme pour le moins très satisfaisants. La méthode donne les résultats en g/L mais ces résultats peuvent être convertis en unités de pression. ¹

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

Annexe C

Validation à des niveaux bas de dioxyde de carbone

1. Limite de détection et limite de détermination

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

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

2. Ajouts d'étalons

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

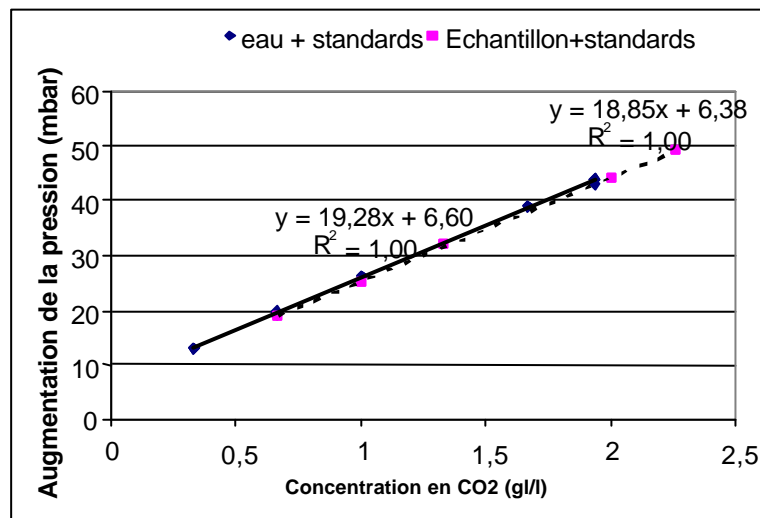


Fig. 1 Ajouts d'étalons à l'échantillon et à l'eau

Données statistiques des essais:

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

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

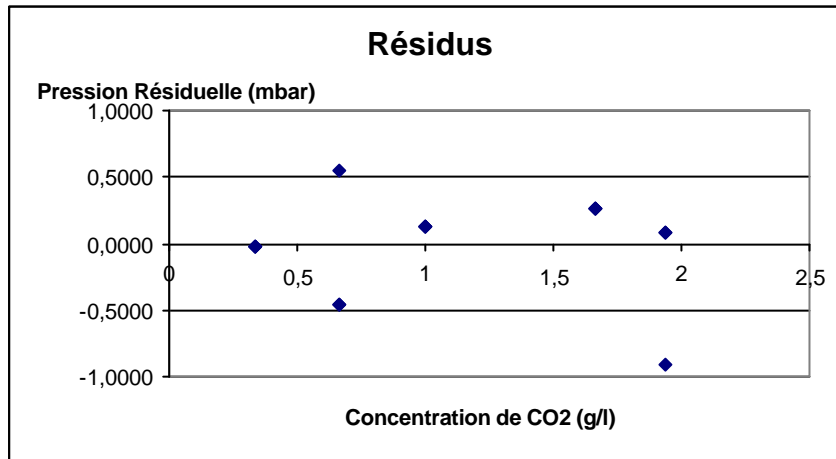


Fig. 2. Les résidus de l'équation "eau+standards"

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

Annexe D

Comparaison avec d'autres techniques et laboratoires

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

Echantillon	Méthode EBC modifiée (g/l)	Anton Paar CarboQC (g/l)	Différence
Vin mousseux	9,14	9,35	-0,21
Cidre	4,20	4,10	0,1
Vin blanc	1,18	1,10	0,08
Vin rouge	1,08	0,83	0,25
Bière 1	5,26	5,15	0,11
Bière 2	4,89	4,82	0,07
Bière 3	4,90	4,92	-0,02
Bière sans alcool 1	5,41	5,33	0,08
Bière sans alcool 2	5,39	5,36	0,03
		Moyenne	0,06

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

2. Comparaison entre Bfr, Allemagne et ACL, Finlande

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

Différence moyenne	0,14 g/l
Différence standard	0,13 g/l
Z-score	1,04

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

Les données statistiques sont les suivantes:

Différence moyenne	-0,01 g/l
Différence standard	0,26 g/l
Z-score	-0,03

Conclusion

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

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

Conformément à la jurisprudence, l'O.I.V. 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'O.I.V. 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'O.I.V., est illicite et constitue une contrefaçon.

© O.I.V. - 2009

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