**Méthode OIV-MA-AS323-02B** Méthodes Type II

# Quantification de l'azote total selon la méthode de Dumas (moûts et vins)

(Résolution Oeno 13/2002)

## 1. DOMAINE D'APPLICATION

La présente méthode s'applique à l'analyse de l'azote total des moûts et des vins dans la gamme de 0 à 1000 mg/l.

## 2. DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE

### 2.1 Principe de la méthode de Dumas

L'analyse de l'azote total se trouvant dans une matrice organique peut-être réalisée par la méthode de Dumas (1831). Celle-ci consiste en une combustion totale de la matrice sous oxygène. Les gaz produits sont réduits par du cuivre puis desséchés ; le $CO_2$ est piégé. L'azote est ensuite quantifié à l'aide d'un détecteur universel.

### 2.2 Principe de l'analyse (figure n° 1)

- Injection de l'échantillon et de l'oxygène dans le tube de combustion à 940°C (1) ;
- Combustion « flash » (2) ;
- La combustion de la nacelle (3) porte temporairement la température à 1800°C ;
- Oxydation complémentaire et piégeage des halogènes sur de l'oxyde cobalto cobaltique argenté et sesquioxyde de chrome granulaire (4) ;
- Réduction des oxydes d'azote en $N_2$ et piégeage des composés soufrés et de l'excès d'oxygène par du cuivre à 700°C (5) ;
- Les gaz présents dans l'hélium sont les suivants : $N_2$, $CO_2$ et $H_2O$ (6) ;
- Piégeage des éléments non dosés : $H_2O$ par de l'anhydrone (perchlorate de magnésium anhydre granulaire) (7) et du $CO_2$ par de l'ascarite (hydroxyde de sodium sur silice) (8) ;
- Séparation chromatographique de l'azote et du méthane éventuellement présent à la suite d'une prise d'essai trop importante (9) ;
- Détection sur catharomètre (10) ;
- Collection du signal et traitement des données (11).

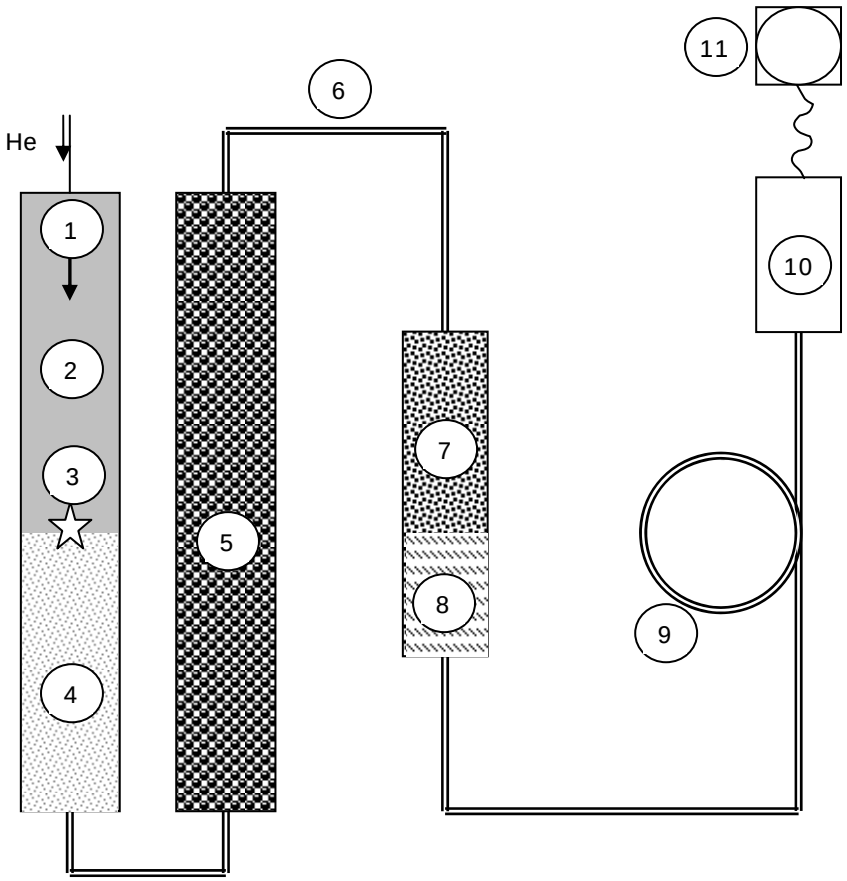


Figure 1 : Schéma du principe de l'analyse

## 3. REACTIFS ET PREPARATION DES SOLUTIONS REACTIVES

**3.1 Azote** (qualité technique) ;

**3.2 Hélium** (pureté 99,99994%) ;

**3.3 Oxyde de chrome (**sesquioxyde de chrome en granules) ;

**3.4 Oxyde de cobalt** (oxyde cobalto-cobaltique argenté granulé) ;

**3.5 Laine de quartz ;**

**3.6 Cuivre** (cuivre réduit en fils) ;

**3.7 Ascarite** (hydroxyde de sodium sur silice) ;

**3.8 Anhydrone** (perchlorate de magnésium anhydre granulaire) ;

**3.9 Oxygène** (pureté 99,995%) ;

**3.10 Atropine ;**

**3.11 Chlorhydrate d'acide glutamique ;**

**3.12 Eau déminéralisée ;**

**3.13 Nacelles en étain.**

## 4. APPAREILLAGE

**4.1 Centrifugeuse** équipée de pots de 25 ml ;

**4.2 Analyseur d'azote ;**

**4.3 Creuset métallique ;**

**4.4 Tube de réaction en quartz (2) ;**

**4.5 Balance de précision** entre 0,5 mg et 30 g à ± 0,3 mg ;

**4.6 Porte-nacelles ;**

**4.7 Etuve ;**

**4.8 Appareil pour plier les nacelles ;**

**4.9 Passeur d'échantillons ;**

**4.10 Ordinateur et imprimante.**

## 5. ECHANTILLONNAGE

Dégazage par barbotage à l'azote (3.1) pendant 5 à 10 mn, des vins effervescents. Les moûts sont centrifugés (4.1) pendant 10 mn à 10°C, à 4200 g.

## 6. MODE OPERATOIRE

- Ouvrir le programme de l'appareil (4.2 et 4.10) ;
- Mettre en chauffe l'appareil (4.2).

*6.1 – Principaux paramètres analytiques*

Analyseur d'azote (4.2) dans les conditions suivantes :
- gaz vecteur : hélium (3.2) ;
- creuset métallique (4.3) à vider toutes les 80 analyses ;tube (4.4) d'oxydation, chauffé à 940 °C, contenant de l'oxyde de chrome (3.3) et de l'oxyde de cobalt (3.4) maintenus par de la laine de quartz (3.5). L'ensemble, tube et réactifs doivent être changés toutes les 4000 analyses ;
- tube (4.4) de réduction, chauffé à 700 °C, contenant le cuivre (3.6) maintenu par de la laine de quartz (3.5). Le cuivre est changé toutes les 450 analyses ;
- tube d'absorption, contenant 2/3 d'ascarite (3.7) et 1/3 d'anhydrone (3.8). Toutes les 200 analyses, l'ascarite qui a pris en bloc est éliminée et remplacée. Les absorbeurs sont complètement changés une fois par an.

- Plus il y a de matière organique à brûler, plus il faut d'oxygène : le temps d'ouverture de la boucle d'oxygène (3.9) est de 15 secondes pour le moût et de 5 secondes pour le vin.

**NOTE : les métaux sont récupérés pour envoi en centre de destruction ou de recyclage spécialisé.**

*6.2 - Préparation de la gamme étalon*

Préparer deux échantillons d'atropine (3.10) entre 4 et 6 mg. Les peser (4.5) directement dans les nacelles. La courbe étalon passe donc par trois points (origine = nacelle vide).

*6.3 – Préparation des autocontrôles*

Les autocontrôles sont passés régulièrement en début et au milieu d'une série d'analyses.

- Les autocontrôles sont réalisés à l'aide d'acide glutamique sous forme de chlorhydrate utilisé sous forme d'une solution à 600 mg/l d'azote dans de l'eau déminéralisée (3.12).

Masse molaire de l'acide glutamique = 183,59
Masse molaire de l'azote = 14,007

$$\frac{183,59 \times 0,6}{14,007} = 7,864 \text{ g/l}$$

- Peser (4.5) 7,864 g d'acide glutamique (3.11) et le diluer dans l'eau déminéralisée (3.12) q.s.p. 1 litre, pour obtenir une solution à 600 mg/l d'azote. Cette solution est diluée au demi, pour obtenir une solution à 300 mg N/l et cette dernière solution est elle-même diluée au demi pour obtenir une solution à 150 mg/l.

*6.4 - Préparation des échantillons :*

6.4.1 - Dans une nacelle (3.13), peser (à 0,01 mg près) 20 µl de moût ou 200 µl de vin avec la balance de précision (4.5). Répéter trois fois l'opération par échantillon ;
6.4.2 - Noter chaque poids ;
6.4.3 – Placer au fur et à mesure les nacelles dans le porte-nacelles (4.6) ;
6.4.4 - Mettre les nacelles dans l'étuve (4.7) réglée à $\simeq$ 60° C, jusqu'à séchage complet du liquide (cela demande au moins une heure) ;
6.4.5 - Plier et écraser les nacelles avec l'appareil prévu à cet effet (4.8), les mettre sur le passeur (4.9) dans l'ordre des numéros.

## 7. EXPRESSION DES RESULTATS

Ils sont exprimés en g/l avec 4 chiffres significatifs après la virgule

## 8. CONTROLE DES RESULTATS

Raccordement indirect par masse, température et volume.

## 9. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE DE LA METHODE

| nombre de laboratoires | teneur moyenne | répétabilité | reproductibilité |
|---|---|---|---|
| 11 | 591 mg/l | 43 mg/l | 43 mg/l |

## 10. BIBLIOGRAPHIE

Dumas A. (1826) : Annales de chimie, 33,342.
Buckee G.K. (1994) : Determination of total nitrogen in Barley, Malt and Beer by Kjeldahl procedures and the Dumas combustion method. Collaborative trial. J. Inst. Brew., 100, 57-64.