

RÉSOLUTION OIV-OENO 419A-2011

METHODES SPECIFIQUES POUR L'ANALYSE DU SUCRE DE RAISIN (MOUTS DE RAISIN CONCENTRES RECTIFIES)

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE

VU l'article 2 paragraphe 2 iv de l'accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation internationale de la vigne et du vin

CONSIDERANT les travaux de la Sous-commission des méthodes d'analyses sur la mise à jour du recueil des méthodes spécifiques de l'analyse du sucre de raisin

CONSIDERANT la résolution existante OENO 47/2000 concernant les spécifications du sucre de raisin et ses méthodes et le besoin de mettre à jour ces méthodes spécifiques

ETANT DONNÉ que les méthodes suivantes sont déjà reconnues par les autorités internationales,

DECIDES de créer une Annexe F intitulée « Les méthodes spécifiques pour l'analyse du sucre de raisin »

DECIDES d'insérer en Annexe F du recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, les méthodes décrites dans l'annexe suivante

DECIDES d'adapter en conséquence la résolution Oeno 47/2000 incluse dans le Codex Oenologique International.

Annexe B : CONDUCTIVITE

Type IV

1. Principe

Mesure de la conductivité électrique d'une colonne de liquide, délimitée par deux électrodes de platine maintenues parallèles, constituant l'une des branches d'un pont de Wheatstone.

La conductivité varie avec la température. Elle est exprimée à 20 °C.

2. Réactifs

Utilisez seulement un produit chimique de qualité « réactif ».

2.1. Eau déminéralisée pour laboratoires de conductivité spécifique inférieure à 2 microsiemens par cm à 20 °C, par exemple une eau de type II EN ISO 3696.

2.2. Solution de chlorure de potassium de référence.

Dissoudre 0,581 g de chlorure de potassium, KCl, préalablement séché jusqu'à masse constante à la température de 105 °C, dans de l'eau déminéralisée (point 2.1). Compléter à 1 litre avec de l'eau déminéralisée (point 2.1). Cette solution a une conductivité de 1 000 microsiemens par cm à 20 °C. Sa durée de conservation est limitée à 3 mois.

On peut utiliser une préparation achetée dans le commerce.

3. Appareil

3.1. Conductimètre permettant des mesures de conductivité dans un domaine compris entre 1 et 1000 microsiemens par cm ($\mu\text{S cm}^{-1}$).

3.2. Bain d'eau permettant d'amener la température des échantillons à analyser à environ 20 °C (20 ± 2 °C).

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'échantillon à analyser

Utiliser une solution dont la teneur en sucres totaux est de $25 \pm 0,5$ % (m/m) (25° Brix) : peser une masse égale à 2500/P et compléter à 100g avec l'eau (point 2.1), avec P = teneur pour 100 (m/m) en sucres totaux du moût concentré rectifié.

4.2. Détermination de la conductivité

Amener l'échantillon à analyser à 20 °C par immersion dans un bain d'eau. Contrôler la température à 0,1 °C près.

Rincer deux fois la cellule de mesure du conductimètre avec la solution à examiner.

Mesurer la conductivité exprimée en microsiemens par centimètre.

5. Expression des résultats

La conductivité est exprimée en microsiemens par centimètre ($\mu\text{S cm}^{-1}$) à 20 °C, sans

décimale, pour la solution à 25 pour 100 (m/m) (25° Brix) du moût concentré rectifié.

5.1. Calculs

Si l'appareil n'est pas pourvu d'un compensateur de température, corriger la conductivité mesurée au moyen du tableau I. Si la température est inférieure à 20 °C, ajouter la correction; si la température est supérieure à 20 °C, soustraire la correction.

6. Caractéristiques de la méthode

Répétabilité (r)

- $r = 3 \mu\text{S/cm}$;

Reproductibilité (R)

- $R = 16 \mu\text{S/cm}$

TABLEAU I

Corrections de conductivité pour températures différentes de 20 °C en microsiemens cm^{-1}

Conductivité	Températures (°C)									
	20,2 19,8	20,4 19,6	20,6 19,4	20,8 19,2	21,0 19,0	21,2 18,8	21,4 18,6	21,6 18,4	21,8 18,2	22,0(1) 18,0(2)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
100	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4
150	1	1	2	3	3	4	5	5	6	7
200	1	2	3	3	4	5	6	7	8	9
250	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
300	1	3	4	5	7	8	9	11	12	13

350	1	3	5	6	8	9	11	12	14	15
400	2	3	5	7	9	11	12	14	16	18
450	2	3	6	8	10	12	14	16	18	20
500	2	4	7	9	11	13	15	18	20	22
550	2	5	7	10	12	14	17	19	22	24
600	3	5	8	11	13	16	18	21	24	26

(1) Soustraire la correction.

(2) Ajouter la correction.

ANNEXE C :

HYDROXYMETHYLFURFURAL (HMF) par la méthode par chromatographie liquide haute performance

Type IV

1. Principe de la méthode

Méthode par chromatographie liquide haute performance

Séparation sur colonne en phase inversée et détermination à 280nm

2. Réactifs

2.1. Eau distillée pour usage en laboratoire de norme qualité EN ISO 3696

2.2. Méthanol, CH₃OH distillé ou de qualité HPLC. – Numéro CAS 67-59-1

2.3. Acide acétique, CH₃COOH (ρ_{20} = 1,05 g/ml). – Numéro CAS 64-19-7

2.4. Phase mobile: eau (point 2.1) méthanol (point 2.2) acide acétique (point 2.3) préalablement filtrés sur membrane (0,45 μ m), (40: 9:1 v/v).

Cette phase mobile doit être préparée chaque jour et dégazée avant utilisation.

2.5. Solution de référence d'hydroxyméthylfurfural à 25 mg/l (m/v).

Placer, dans une fiole jaugée de 100 ml, 25 mg exactement pesés d'hydroxyméthylfurfural, $C_6H_3O_6$ et compléter au volume avec du méthanol (point 2.2).

Diluer cette solution au $1/10^e$ avec du méthanol (point 2.2) et la filtrer sur membrane ($0,45\ \mu m$).

Cette solution, placée au réfrigérateur en flacon de verre brun, hermétiquement fermé, se conserve 2 à 3 mois.

(la concentration de la solution de référence est donnée à titre indicatif)

3. Matériel

3.1. Equipement

3.1.1. Chromatographie en phase liquide haute performance équipée :

d'un injecteur à boucle de 5 ou 10 μl (à titre indicatif),

d'un détecteur spectrophotomètre permettant des mesures à 280 nm,

d'une colonne de silice greffée octadécyl (*par exemple: Bondapak C_{18} – Corasil, Waters Ass.*),

d'un enregistreur, et si nécessaire, d'un intégrateur.

Débit de la phase mobile : 1,5 ml/min (à titre indicatif),.

3.1.2. Dispositif de filtration sur membrane ($0,45\ \mu m$)

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'échantillon

Utiliser la solution obtenue en diluant le moût concentré rectifié à 40 pour 100 (m/v) (introduire 200 g de moût concentré rectifié exactement pesé dans un ballon jaugé de 500 ml, compléter au trait avec de l'eau et homogénéiser), et la filtrer sur membrane ($0,45\ \mu m$).

4.2. Détermination chromatographique

Injecter dans le chromatographe 5 (ou 10) μl de l'échantillon préparé comme indiqué au point 4.1 et 5 (ou 10) μl de solution de référence d'hydroxyméthylfurfural (point 3.2.5). Enregistrer le chromatogramme.

Le temps de rétention de l'hydroxyméthylfurfural est voisin de 6 - 7 minutes.

Le volume injecté et la séquence sont donnés à titre indicatif. On peut aussi procéder

à la détermination chromatographique avec une courbe d'étalonnage

5. Expression des résultats

La teneur en hydroxyméthylfurfural des moûts concentrés rectifiés est exprimée en milligrammes par kilogramme de sucres totaux.

5.1. Mode de calcul

Soit C mg/l, la teneur en hydroxyméthylfurfural de la solution de moût concentré rectifié à 40 pour 100 (m/v).

Teneur en hydroxyméthylfurfural en milligrammes par kilogramme de sucres totaux:

- $250 * C/P$

P = teneur pour 100 (m/m) en sucres totaux du moût concentré rectifié.

6. Caractéristiques de la méthode

Répétabilité (r)

r = 0.5 mg/kg sucres totaux

Reproductibilité (R)

R = 3.0 mg/kg sucres totaux

ANNEXE E : DETERMINATION DU TITRE ALCOOMETRIQUE VOLUMIQUE ACQUIS (TAV) DES MOUTS CONCENTRES (MC) ET DU SUCRE DE RAISIN (MOUTS CONCENTRES RECTIFIES, MCR)

Type : IV

1. Introduction

Les moûts concentrés et le sucre de raisin (or MCR) sont des produits visqueux renfermant de faibles teneurs en alcool; la détermination de leur TAV acquis nécessite l'utilisation d'une méthode dont les performances (linéarité, répétabilité, reproductibilité, spécificité, limites de détection et de quantification) permettent de mesurer des teneurs en alcool inférieures à 1%vol.

2. Domaine d'application

La méthode s'applique aux moûts concentrés et au sucre de raisin.

3. Principe

Une masse connue de moût concentré (MC) ou de sucre de raisin est alcalinisée par une suspension d'hydroxyde de calcium puis distillée. Le titre alcoométrique volumique du distillat est déterminé par densimétrie électronique ou par densimétrie utilisant une balance hydrostatique.

4. Réactifs

- Suspension d'hydroxyde de calcium 2M de qualité analytique, obtenue en versant avec précaution un litre d'eau chaude (60 à 70°C) sur environ 120 g de chaux vive (CaO).
- Solution d'anti-mousse obtenue par dilution de 2 ml d'anti-mousse silicone concentrée dans 100 ml d'eau.
- Eau purifiée pour laboratoire de qualité EN ISO 3696.

5. Matériel

- Matériel courant de laboratoire dont une fiole de 200 ml.
- Balance analytique permettant d'effectuer des pesées à 0,1 g près.

On peut employer tout type de distillation ou d'hydrodistillation pourvu qu'elle soit conforme au test suivant :

Distiller un mélange eau-éthanol d'un TAV de 10% cinq fois de suite. Le distillat doit avoir un TAV d'au moins 9,9%vol. Après la cinquième distillation, la perte d'alcool ne devra pas excéder 0,02% à chaque distillation.

Densimètre électronique utilisant un résonateur de flexion ou un densimètre utilisant une balance hydrostatique.

6. Mode opératoire

Homogénéiser l'échantillon par retournements successifs du flacon.

Dans une fiole jaugée de 500 ml, peser environ 200 g de moût concentré ou de moût concentré rectifié (jusqu'à 0.1 g). Noter le poids (PE) de cet échantillon test. Remplir jusqu'à la graduation avec de l'eau déminéralisée. Cette solution a un m/v en moût de 40%.

Obtention du distillat

Transférer 250 ml de solution à 40% dans la fiole de distillation, ajouter dans le ballon environ 10ml de suspension d'hydroxyde de calcium, environ 5 ml de solution anti-mousse et, éventuellement, un régulateur d'ébullition (morceaux de porcelaine par exemple)

Porter doucement à ébullition.

Récupérer le distillat dans une fiole jaugée de 100 ml (environ 90 ml).

Laisser le distillat revenir à température ambiante, puis compléter au trait de jauge avec de l'eau purifiée.

Mesure du TAV

Elle s'effectue par densimétrie électronique ou par balance hydrostatique.

7. Calcul

$$\text{Titre alcoométrique volumique acquis} = \frac{TAV \text{ mesuré} \times 200 \times MV}{PE}$$

TAV mesuré = teneur en alcool donnée par le densimètre, en % vol

PE = prise d'essai de moût concentré ou sucre de raisin, en poids.

MV= densité de moût concentré ou de moût concentré rectifié en g/ml

Les résultats sont exprimés avec 2 chiffres après la virgule et arrondis à 0,05%vol près.

8. Caractéristiques de la méthode

8.1. Linéarité de la réponse

La linéarité du densimètre pour des faibles valeurs de TAV est un des paramètres

critiques de cette méthode, une gamme étalon de 10 solutions hydroalcooliques de TAV compris entre 0 et 5 %vol. a été préparée. Chaque solution a été analysée 3 fois. La réponse du densimètre est parfaitement linéaire dans ce domaine comme le montre la droite d'étalonnage de la figure 1.

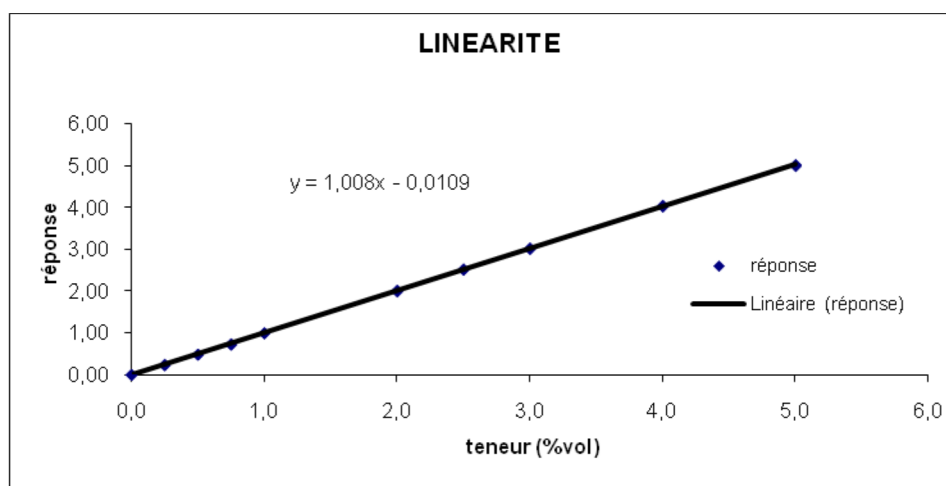


Figure 1 : Linéarité de la détermination du TAV par densimétrie électronique entre 0 et 5% vol.

8.2. Spécificité de la méthode

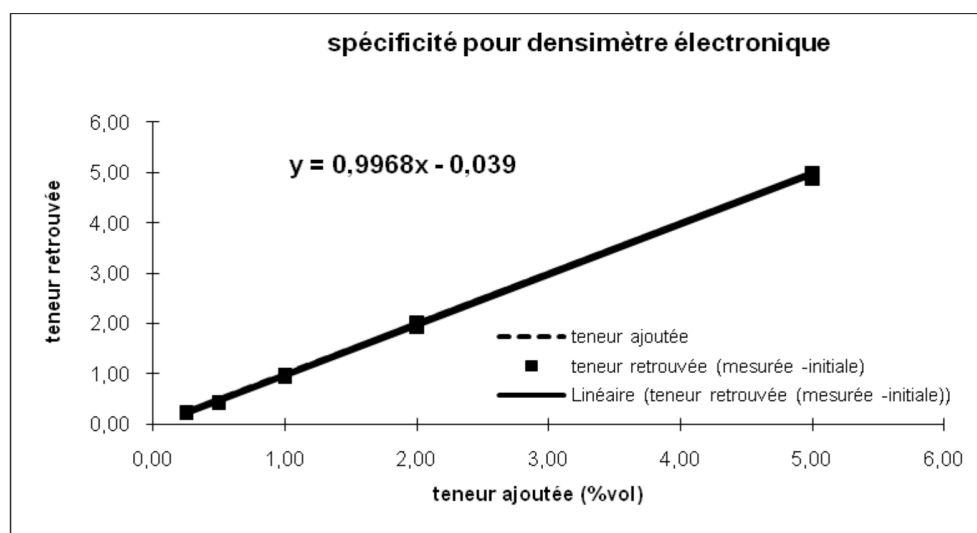
Le second point critique de cette méthode est la distillation de moûts visqueux renfermant de petites quantités d'alcool. Afin de vérifier la spécificité, des quantités connues d'éthanol (de 0,25 %vol à 5%vol) ont été ajoutées à des MC et du sucre de raisin. Les échantillons supplémentés ont été distillés dans les conditions précédemment définies puis les distillats ont été analysés par densimétrie électronique ou par balance hydrostatique.

Les résultats sont présentés dans le tableau 1, le taux de récupération est satisfaisant, il est compris entre 88 % et 99 %. Comme le montre la droite de la figure 2, la méthode est spécifique (pente voisine de 1, ordonnée à l'origine voisine de 0).

Echantillon	Teneur initiale (%vol.)	Teneur ajoutée (%vol.)	Teneur retrouvée (%vol.)	Taux de récupération (%)

MC 1	0,00	0,25	0,22	88
MC 1	0,00	1,00	0,98	98
sucre de raisin (MCR) 1	0,00	1,00	0,94	94
sucre de raisin (MCR) 1	0,00	2,00	1,97	99
MC 2	0,00	0,50	0,44	88
sucre de raisin (MCR) 2	0,00	5,00	4,94	99

Tableau 1 : Taux de récupération de la détermination du TAV acquis des MC et sucre de raisin



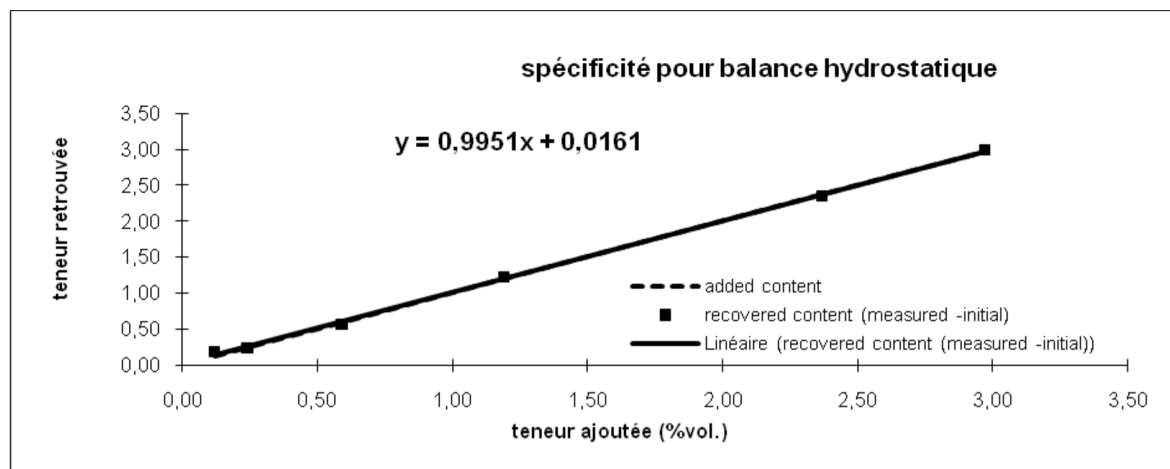


Figure 2 : Spécificité de la détermination du TAV acquis des MC et sucre de raisin

8.3. Répétabilité

La répétabilité de la méthode a été déterminée à partir de 20 échantillons de MC ou de sucre de raisin supplémentés ou non en alcool. Chaque échantillon a été analysé 3 fois de suite, de façon à être dans des conditions identiques. Les limites de répétabilité obtenues sont les suivantes :

Répétabilité pour la densimétrie électronique	valeur calculée
écart-type	0,009
CV ou RSD en %	0,9 %
limite r	0,024 %vol.
limite r en %	3 %
Répétabilité avec la balance hydrostatique	Valeur calculée
Ecart-type	0,013
CV ou RSD en %	1,7%
limite r	0,038 %vol.
limit r en %	5,3%

Tableau 2 : Répétabilité de la détermination du TAV acquis des MC et sucre du raisin

8.4. Reproductibilité

La reproductibilité des résultats est déterminée en analysant le même moût en double, à différentes dates pendant une période donnée. Les résultats sont donnés dans le tableau 3.

Reproductibilité pour la densimétrie électronique	valeur calculée
écart-type	0,043
CV ou RSD en %	3 %
limite R	0,12%vol
limite R en %	9 %
Reproductibilité avec la balance hydrostatique	Valeur calculée
Ecart-type	0,026
CV ou RSD en %	3,4%
limite R	0,076%vol.
limit R en %	10,6%

Tableau 3 - Reproductibilité de la détermination du TAV acquis des MC et sucre de raisin

8.5. Limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) estimées à partir de l'étude de linéarité sont les suivantes :

LD = 0,01 %vol.

LQ = 0,05%vol.

La limite de quantification a été vérifiée par l'analyse de moûts dont le TAV est à un niveau de concentration de 0,05%vol.

8.6. Incertitude

L'incertitude a été évaluée à partir de l'écart-type de reproductibilité, elle est de

0,10%vol.

ANNEXE G : SACCHAROSE (CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE)

Type IV

1. Principe

Méthode de recherche et de dosage par chromatographie liquide haute performance. Le saccharose est séparé sur colonne de silice greffée alkylamine et détecté par réfractométrie. La quantification se fait par rapport à un étalon externe analysé dans les mêmes conditions.

Remarques : l'authenticité d'un moût ou d'un vin peut être contrôlée en appliquant méthode par RMN du deutérium décrite pour la détection de l'enrichissement des moûts, des moûts concentrés rectifiés et des vins.

Les conditions chromatographiques sont données à titre d'exemple.

2. Réactifs

2.1. Eau distillée pour usage en laboratoire de norme qualité EN ISO 3696.

2.2. Acétonitrile (CH_3CN) de qualité HPLC -N° CAS 75-05-8

2.3. Saccharose Numéro CAS 57-50-1.

2.4. *Phase mobile* : acétonitrile-eau, (80:20 v/v) préalablement filtrée sur membrane (0,45 μm), (La composition de la phase mobile est donnée à titre indicatif.)

Cette phase mobile doit être dégazée avant utilisation.

2.5. Solution de référence : solution aqueuse de saccharose à 1,2 g/l. Filtrer cette solution sur une membrane (0,45 μm). (La concentration de la solution standard est donnée à titre indicatif.)

3. Matériel

3.1. *Chromatographe en phase liquide haute performance équipé*

1. D'un injecteur à boucle de 10 μl (à titre indicatif)
2. D'un détecteur, réfractomètre différentiel ou réfractomètre interféromètre;

3. D'une colonne de silice greffée alkylamine (25 mm de longueur et 4 mm de diamètre interne) (à titre indicatif)
4. D'une pré colonne remplie de la même phase) (à titre indicatif)
5. D'un dispositif d'isolation ou de thermostatisation (30 °C) de la pré colonne et des colonnes d'analyse
6. D'un enregistreur, éventuellement, d'un intégrateur;
7. Débit de la phase mobile: 1 ml/min. (à titre indicatif)

3.2. Dispositif de filtration sur membrane (0,45 µm)

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'échantillon

Utiliser la solution obtenue en diluant le moût concentré rectifié à 40 pour 100 (m/v) comme il est indiqué dans l'Annexe H «Acidité totale» en 5.1 et la filtrer sur membrane (0,45 µm).

4.2. Détermination chromatographique

Injecter successivement dans le chromatographe 10 µl de la solution de référence et 10 µl de l'échantillon préparé comme indiqué en 4.1.

Répéter ces injections dans le même ordre.

Enregistrer le chromatogramme.

Le temps de rétention du saccharose est voisin de 10 minutes.

Le volume de l'ention du saccharose est voisin de 10 minutes. On peut aussi procéder à la détermination chromatographique avec une courbe d'étalonnage.

5. Calculs

Utiliser pour le calcul la moyenne des deux réponses pour la solution de référence et pour l'échantillon.

Soit C g/l, la teneur en saccharose de la solution de moût concentré rectifié à 40 pour 100 (m/v).

Teneur en saccharose en grammes par kilogramme de moût concentré rectifié : $2,5 \times C$

6. Expression des résultats

La teneur en saccharose est exprimée en grammes par kilogramme avec une décimale.

7. Caractéristiques de la méthode

Répétabilité (r)

$r = 1,1 \text{ g/kg moût}$

ANNEXE H : ACIDITE TOTALE

Type IV

1. Définition

L'acidité totale d'un moût concentré rectifié 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

2.1. Titrage potentiométrique ou titrage en présence de bleu de bromothymol comme indicateur de fin de réaction par comparaison à un étalon de coloration.

3. Réactifs

3.1. Solutions tampons

3.1.1 pH 7,0:

Phosphate monopotassique KH_2PO_4 : 107,3 g

Solution M d'hydroxyde de sodium (NaOH): 500 ml

Eau q.s.p.: 1 000ml.

3.1.2 pH 4,0 :

Solution 0,05 M de phtalate acide de potassium. Solution contenant 10,211 g/l de phtalate acide de potassium ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$), à 20 °C.

Les solutions tampons de référence du commerce détectables par le SI peuvent également être utilisées.

Par exemple: pH $1,679 \pm 0,01$ at 25°C

- pH $4,005 \pm 0,01$ at 25°C
- pH $7,000 \pm 0,01$ at 25°C

3.2. Solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium (NaOH).

3.3. 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) environ 7,5 ml

Eau q.s.p. 1000 ml

4. Appareillage

4.1. Potentiomètre à échelle étalonnée en unités pH et électrodes.

A titre indicatif, 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. Une électrode combinée est le plus souvent employée, la conserver dans l'eau distillée.

4.2. Vases cylindriques de 100 ml de capacité.

5. Mode opératoire

5.1. Préparation de l'échantillon

Introduire 200 g de moût concentré rectifié exactement pesé dans un ballon jaugé de 500 ml. Compléter au trait avec de l'eau. Homogénéiser.

5.2. Titrage potentiométrique

5.2.1. Mise à zéro de l'appareil

La mise à zéro s'effectue avant toute mesure, en suivant les indications données pour l'appareil utilisé.

5.2.2. Étalonnage du pH mètre

Le pH-mètre doit être étalonné à 20° en utilisant des solutions tampons standard connectées au SI. Les valeurs de pH sélectionnées doivent comprendre une gamme de valeurs que l'on peut rencontrer dans les moûts. Si le pH-mètre utilisé n'est pas compatible avec l'étalonnage pour des valeurs suffisamment faibles, on pourra procéder à une vérification en utilisant une solution tampon standard reliée au SI et dont la valeur pH sera proche des valeurs rencontrées dans les moûts.

5.2.3. Méthode de mesure

Dans un vase cylindrique (4.4) placer un volume d'échantillon 50 ml, 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 (3.2) jusqu'à ce que le pH soit égal à 7 à 20 °C. L'addition de d'hydroxyde de sodium doit être faite lentement et la solution constamment agitée. Soit n le nombre de millilitres de NaOH 0,1 M versés.

5.3. Titrage avec indicateur (bleu de bromothymol)

5.3.1. Essai préalable: établissement du point de virage

Dans un vase cylindrique (4.4), placer 25 ml d'eau distillée bouillie, 1 ml de solution de bleu de bromothymol (3.3) et un volume de 50 ml préparé comme indiqué en 5.1. Ajouter la solution 0,1 M d'hydroxyde de sodium (3.2) jusqu'à obtention d'une coloration bleu-vert. Ajouter 5 ml de la solution tampon pH 7 (3.1).

5.3.2. Dosage

Dans un vase cylindrique (4.4), placer 30 ml d'eau distillée bouillie, 1ml de solution de bleu de bromothymol (3.3), un volume d'échantillon 50ml préparé comme indiqué en 5.1. Ajouter la solution 0,1M d'hydroxyde de sodium (3.2) jusqu'à obtention d'une coloration identique à celle obtenue à l'essai préalable (5.3.1). Soit n le nombre de millilitres de solution d'hydroxyde de sodium 0,1M versés.

6. Expression des résultats

6.1. Mode de calcul

Acidité totale exprimée en milliéquivalents par kilogramme de moût concentré rectifié:

- $A = 5 \times n$

Acidité totale exprimée en milliéquivalents par kilogramme de sucres totaux :

- $A = (500 \times n)/P$
- P = teneur pour 100 (m/m) en sucres totaux.

Elle est exprimée avec 1 décimale.

7. Caractéristiques de la méthode

Répétabilité (r)

$r = 0,4 \text{ meq /kg sucres totaux}$

Reproductibilité (R)

$R = 2,4 \text{ meq /kg sucres totaux}$

ANNEXE I : pH

Type IV

1. Principe

Mesure de la différence de potentiel entre deux électrodes plongées dans le liquide étudié. 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. Réactifs

2.1. Solutions tampons:

2.1.1. Solution saturée de tartrate acide de potassium. Solution contenant au moins 5,7 g/l de tartrate acide de potassium ($C_4H_5KO_6$), à 20 °C. Cette solution peut se conserver 2 mois en présence de 0,1 g de thymol pour 200ml).

Rapport pH/température

- 3,57 à 20 °C
- 3,56 à 25 °C

- 3,55 à 30 °C

2.1.2. Solution 0,05 M de phthalate acide de potassium. Solution contenant 10,211 g/l de phthalate acide de potassium ($C_8H_5KO_4$), à 20 °C. (Durée maximale de conservation: 2 mois).

Rapport pH/température

- 3,999 à 15 °C
- 4,003 à 20 °C
- 4,008 à 25 °C
- 4,015 à 30 °C

2.1.3 .Solution contenant :

Phosphate monopotassique, KH_2PO_4 3,402 g

Phosphate dipotassique, K_2HPO_4 4,354 g

Eau q.s.p. 1 000 ml

(Durée maximale de conservation : 2 mois)

Rapport pH/température

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

Remarque : Les solutions tampons de référence du commerce détectables par le SI peuvent également être utilisées.

Par exemple: pH 1.679 ± 0.01 à 25°C

- pH 4.005 ± 0.01 à 25°C
- pH 7.000 ± 0.01 à 25°C

3. Appareils

3.1. pH mètre étalonné en unités pH permettant des mesures à 0,01 unité près au moins.

3.2. Électrodes:

3.2.1. Électrode de verre.

3.2.2. Électrode de référence au calomel-chlorure de potassium saturé.

3.2.3. Ou électrode combinée.

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'échantillon à analyser

Diluer le moût concentré rectifié avec de l'eau pour obtenir une concentration de $25 \pm 0,5$ pour 100 (m/m) en sucres totaux (25° Brix). Si P est la teneur pour 100 (m/m) en sucres totaux du moût concentré rectifié, peser une masse égale à $2\,500\,P$ et compléter à 100 g avec de l'eau. L'eau utilisée doit avoir une conductivité inférieure à 2 microsiemens par centimètre.

4.2. Mise au zéro de l'appareil

La mise au zéro s'effectue avant toute mesure, en suivant les indications données pour l'appareil utilisé.

4.3. Étalonnage du pH mètre

Le pH-mètre doit être étalonné à 20° en utilisant des solutions tampons standard connectées au SI. Les valeurs de pH sélectionnées doivent comprendre une gamme de valeurs que l'on peut rencontrer dans les moûts. Si le pH-mètre utilisé n'est pas compatible avec l'étalonnage pour des valeurs suffisamment faibles, on pourra procéder à une vérification en utilisant une solution tampon standard reliée au SI et dont la valeur pH sera proche des valeurs rencontrées dans les moûts.

4.4. Mesure

Plonger l'électrode dans l'échantillon analysé 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 échantillon.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

5. Expression des résultats

Le pH de la solution à 25 pour 100 (m/m) (25 ° Brix) du moût concentré rectifié est exprimé avec 2 décimales.

6. Caractéristiques de la méthode

Répétabilité (r)

- $r = 0,07$

Reproductibilité (R)

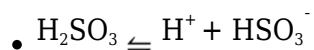
- $R = 0,07$

ANNEXE J : DIOXYDE DE SOUFRE

Type IV

1. Définitions

On appelle dioxyde de soufre, le dioxyde de soufre présent dans le moût ou le vin sous les formes suivantes: H_2SO_3 , HSO_3^- dont l'équilibre est fonction du pH et de la température:



H_2SO_3 représente le dioxyde de soufre moléculaire.

On appelle dioxyde de soufre total l'ensemble des différentes formes de dioxyde de soufre présentes dans le vin à l'état libre ou combiné à ses constituants.

2. Matériels

Le dioxyde de soufre total est extrait par entraînement à chaud (100 °C environ) du moût concentré rectifié préalablement dilué.

2.1. Réactifs

2.1.1. Acide phosphorique, 85 % (H_3PO_4) ($\rho_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$)

2.1.2. Solution de peroxyde d'hydrogène, 9,1 g H_2O_2 /litre (3 volumes).

2.1.3. Réactifs indicateurs

Rouge méthyl : 100 mg

Bleu de méthylène : 50 mg

Alcool 50 % vol. : 100 ml

2.1.4. Solution d'hydroxide de sodium (NaOH), 0,01 M.

2.2. Appareillage

2.2.1. L'appareil utilisé doit être conforme au schéma ci-dessous, principalement en ce qui concerne le réfrigérant.

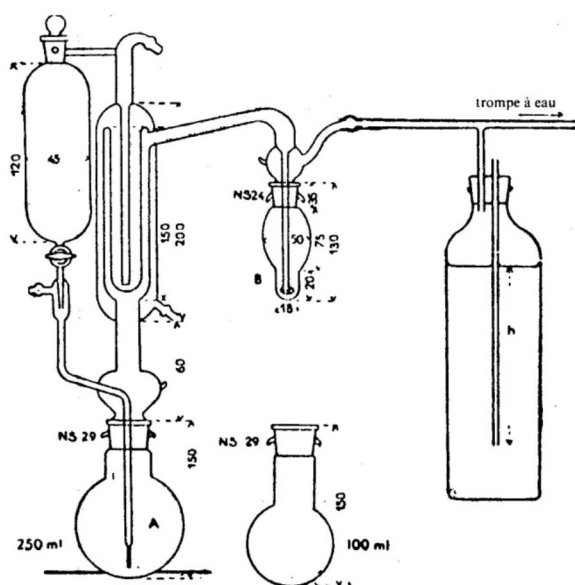


Figure 1 - Les dimensions sont indiquées en millimètres. Les diamètres internes des 4 tubes concentriques qui constituent le réfrigérant sont: 45, 34, 27 et 10 mm.

Le tube d'amenée des gaz dans le barboteur B est terminé par une petite sphère de 1 cm de diamètre comportant sur son grand cercle horizontal 20 trous de 0,2 mm de diamètre. On peut également le terminer par une plaque de verre fritté assurant la formation d'un grand nombre de très petites bulles réalisant un bon contact des

phases gazeuse et liquide.

Le débit gazeux qui doit parcourir l'appareil doit être de 40 l/h environ. Le flacon placé à la droite de l'appareil est destiné à limiter de 20 à 30 cm d'eau la dépression produite par la trompe à eau. Pour pouvoir régler cette dépression de manière que le débit soit correct, il y a avantage à placer un débitmètre à tube semi-capillaire entre le barboteur et le flacon.

2.2.2. Microburette.

3. Mode opératoire

3.1 Dans le cas des moûts concentrés rectifiés, utiliser la solution obtenue en diluant l'échantillon à analyser à 40 pour 100 (m/v) comme il est indiqué au chapitre «Acidité totale» en 5.1. Dans le ballon A de 250ml de l'appareil à entraînement, introduire 50 ml de cette solution et 5ml d'acide phosphorique (2.2.1). Mettre en place le ballon.

3.2 Placer dans le barboteur B 2 à 3 ml de solution de peroxyde d'hydrogène (2.2.2), la neutraliser avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,01 M (2.2.4), porter le moût contenu dans le ballon A à l'ébullition au moyen d'une petite flamme de 4 à 5 cm de haut qui doit lécher directement le fond du ballon. Ne pas placer sous le ballon une toile métallique, mais le poser sur un disque percé d'un trou de 30 mm de diamètre. On évite ainsi la pyrogénéation des matières extractives de l'échantillon sur les parois du ballon.

Maintenir l'ébullition pendant le passage du courant d'air (ou d'azote). En 15 minutes, le dioxyde de soufre total a été entraîné et oxydé. Doser l'acide sulfurique formé par la solution 0,01 M d'hydroxyde de sodium (2.2.4).

Soit n le nombre de millilitres versés.

4. Calcul

Dioxyde de soufre en milligrammes par kilo de sucres totaux (prise d'essai 50ml d'échantillon préparé) (3.1) :

$$\bullet (1600 \times n)/P$$

P = teneur pour 100 (m/m) en sucres totaux

5. Expression des résultats

Le total de dioxyde de soufre est exprimé en mg/kg de sucre total.

6. Caractéristiques de la méthode

Répétabilité (r)

Teneur < 50 mg/l (prise d'essai de 50 ml), $r = 1 \times 250 / P$ mg/kg de sucre total

Reproductibilité (R)

Teneur < 50 mg/l (prise d'essai de 50 ml), $R = 9 \times 250 / P$ mg/kg de sucre total

ANNEXE K : CARACTERISTIQUES CHROMATIQUES

Type IV

1. Principe

Mesure de l'absorbance, à 425 nm sous 1 cm d'épaisseur, du moût concentré rectifié dont la concentration en sucres a été ramenée à 25 pour 100 (m/m) (25 ° Brix).

2. Appareils

2.1. Spectrophotomètre permettant des mesures entre 300 et 700 nm.

2.2. Cuves de verre, de trajet optique égal à 1 cm.

2.3. Filtre à membrane de porosité 0,45 µm.

3. Mode opératoire

3.1. Préparation de l'échantillon

Utiliser la solution dont le titre en sucres est de 25 pour 100 (m/m) (25 ° Brix) préparée comme il est indiqué au chapitre «pH», en 4.1. La filtrer sur un filtre à membrane de porosité 0,45µm.

3.2. Détermination de l'absorbance

Régler l'absorbance zéro pour la longueur d'onde 425 nm sur une cuve de 1cm de trajet optique contenant de l'eau distillée.

Relever l'absorbance A à cette longueur d'onde, de la solution à 25 pour 100 de sucres (25 ° Brix) obtenue en 3.1, placée dans une cuve de 1cm de trajet optique.

4. Expression des résultats

L'absorbance à 425nm du moût concentré rectifié en solution à 25 pour 100 (m/m) de sucres (25 ° Brix) est exprimée avec 2 décimales.

Répétabilité (r)

- $r = 0,01$ AU à 25° Brix