

RESOLUTION OENO 9/2006

DOSAGE DES POLYOLS DERIVANT DES SUCRES ET DES SUCRES RESIDUELS DANS LES VINS SECS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

L'ASSEMBLEE GENERALE

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

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

DECIDE de compléter l'annexe A du Recueil International des méthodes d'analyse par la méthode de type IV suivante:

Titre	Type de Méthode
DOSAGE DES POLYOLS DERIVANT DES SUCRES ET DES SUCRES RESIDUELS DANS LES VINS SECS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE	IV

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.

Remarque 1. 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. Hexaméthylidisilazane (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 1/10^e 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 1/30^e à 1/50^e 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 ts en sorbitol dans le vin sera

$$ts = 200 \times \frac{s}{S} \times \frac{I}{i} \text{ en mg par litre}$$

un même raisonnement permet de calculer la teneur tg en glucose

$$tg = 200 \times \frac{g}{G} \times \frac{I}{i}$$

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.

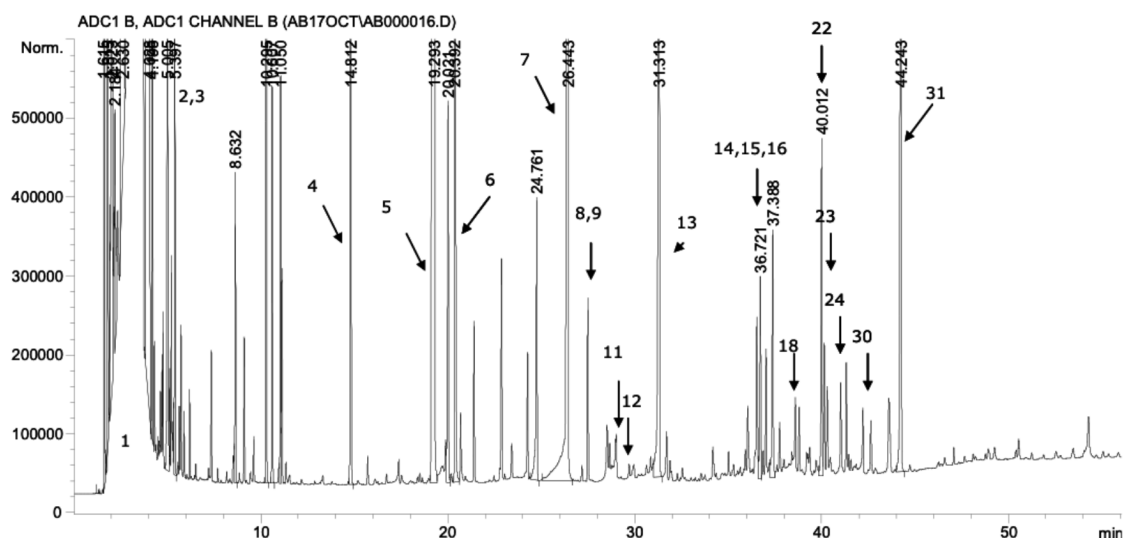
Tableau 1 Répétabilité du dosage de quelques substances de l'extrait sec du vin après dérivation TMS.

	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

1. 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.
2. BERTRAND A. (1974), Dosage des principaux acides du vin par chromatographie en phase gazeuse. *FV OIV* 717—718, 253—274.
3. DUBERNET M.O. (1974), Application de la chromatographie en phase gazeuse à l'étude des sucres et polyols du vin: thèse 3^e 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 : rhannose ; 9 : Arabinose ; 12 : xylytol ; 13 : arabitol ; 14, 15 et 16 : fructose ; 17 : galactose + inconnu ; 18 : glucose α ; 19 : galactose + acide galacturonique ; 20 et 21 : inconnus ; 22 : mannitol ; 23 sorbitol ; 24 : glucose β ; 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 μ m. Injection split, 60 °C 3 °C/min, 240 °C. Ci-dessous grossissement.

