

RÉSOLUTION OENO 11/2002

POLYVINYLPOLYPYRROLIDONE (P.V.P.P.)

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 d'analyse et d'appréciation des vins,

DECIDE de remplacer dans le Codex œnologique international, la monographie existante par la monographie suivante :

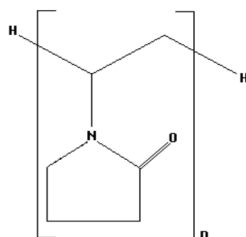
POLYVINYLPOLYPYRROLIDONE

POVIDONE

(PVPP)

$(C_6H_9NO)_n = (111,1)_n$

N° SIN : 1202



1. Objet, origine et domaine d'application

La polyvinylpolypyrrolidone insoluble est un polymère poly[1-(2-oxo-1-pyrrolidinyléthylène)] réticulé de façon à la rendre insoluble. Elle est fabriquée par polymérisation de la N-vinyl-2-pyrrolidone en présence de divers catalyseurs (par exemple de l'hydroxyde de sodium) ou en présence de N,N'-divinylimidazolidone.

La PVPP fixe les polyphénols des vins, cette adsorption dépend du taux de polymérisation. Sa dose d'utilisation est limitée.

2. Synonymes

poly(1-éthénylpyrrolidin-2-one)
Crospovidone (nomenclature de la pharmacopée)
Polyvidone réticulée
Homopolymère réticulé de 1-éthényl-2-pyrrolidone
Polymère réticulé insoluble de la N-vinyl-2-pyrrolidone
P.V.P. insoluble
Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP).

3. Étiquetage

L'étiquette doit mentionner que la PVPP est à usage oenologique, l'efficacité minimum garantie vis-à-vis du test et les conditions de sécurité et de conservation.

4. Caractères

Poudre légère, blanc à blanc crème.
Insoluble dans l'eau et dans les solvants organiques.
Insoluble dans les acides minéraux forts et les alcalins.

5. Essais

5.1. Perte à la dessiccation

Placer 2 g de PVPP dans une capsule de silice de 70 mm de diamètre; dessécher à l'étuve à 100-105° C durant 6 heures.

Laisser refroidir en dessiccateur. Peser. La perte de poids doit être inférieure à 5 p. 100.

Il est également possible de réaliser cette mesure plus rapidement par titration avec le procédé Karl-Fischer. (Voir annexe).

Remarque : Toutes les limites fixées ci-dessous sont rapportées au produit sec.

5.2. Cendres

Incinérer progressivement sans dépasser 600° C le résidu laissé dans l'essai 5.1.

Le poids des cendres doit être inférieur à 0,5 p. 100.

5.3. Préparation de la solution pour essais

Après la pesée des cendres, les dissoudre dans 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (R) et 10 ml d'eau distillée. Chauffer pour activer la dissolution. Porter à 20 ml avec de l'eau distillée. 1 ml de cette solution contient les matières minérales de 0,10 g de PVPP.

5.4. Métaux lourds

10 ml de solution préparée selon le point 5.3 sont placés dans un tube à essai avec 2 ml d'une solution tampon pH 3,5 (R) et 1,2 ml de réactif au thioacétamide (R). Aucun précipité ne doit se produire. Si une coloration brune apparaît, elle doit être inférieure à celle présentée par le témoin comme il est indiqué au Chapitre II.

La teneur en métaux lourds, exprimée en plomb, doit être inférieure à 10 mg/kg.

5.5. Plomb

Sur la solution pour essais préparée selon le point 5.3, doser le plomb par spectrophotométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite au Chapitre II.

La teneur en plomb doit être inférieure à 5 mg/kg.

5.6. Mercure

Doser le mercure selon la méthode décrite au Chapitre II.

La teneur en mercure doit être inférieure à 1 mg/kg.

5.7. Zinc

Doser le zinc selon la méthode décrite au Chapitre II.

La teneur en zinc doit être inférieure à 5 mg/kg.

5.8. Arsenic

Doser l'arsenic selon la méthode décrite au Chapitre II.

La teneur en arsenic doit être inférieure à 3 mg/kg.

5.9. Cadmium

Effectuer le dosage du cadmium à l'aide de la méthode décrite au Chapitre II du Codex œnologique international par spectrométrie d'absorption atomique.

La teneur en cadmium doit être inférieure à 1 mg/kg.

5.10. Sulfates

Doser les sulfates selon la méthode décrite au Chapitre II.

La teneur en sulfates doit être inférieure à 1 g/kg.

5.11. Dosage de l'azote total

Introduire environ 0,20 g de PVPP exactement pesé dans un ballon de 300 ml avec 15 ml d'acide sulfurique concentré (R) et 2 g de catalyseur de minéralisation (R) et poursuivre l'opération comme il est indiqué au Chapitre II.

La teneur en azote total doit être comprise entre 11 et 12,8 %.

5.12. Solubilité en milieu aqueux

Introduire 10 g de PVPP dans un ballon de 200 ml contenant 100 ml d'eau distillée. Agiter et laisser en contact pendant 24 heures. Filtrer sur filtre écran de porosité 2,5 µm puis sur un filtre écran de porosité 0,8 µm. Le résidu laissé par l'évaporation du filtrat sec, sur bain d'eau à 100° C, doit être inférieur à 50 mg.

La solubilité dans l'eau doit être inférieure à 0,5 p. 100.

5.13. Solubilité en milieu acide et alcoolique.

Introduire 1 g de PVPP dans un ballon contenant 500 ml du mélange suivant :

- Acide acétique : 3 g
- Ethanol : 10 ml
- Eau : 100 ml

Laisser en contact pendant 24 heures. Filtrer sur un filtre écran de porosité 2,5 µm puis sur un filtre écran de porosité 0,8 µm. Concentrer le filtrat sur un bain d'eau à 100° C. Terminer l'évaporation sur bain d'eau à 100° C dans une capsule en silice de 70 mm de diamètre préalablement tarée. Le résidu laissé par évaporation à sec doit être inférieur à 10 mg, compte tenu du résidu laissé éventuellement par l'évaporation de 500 ml du mélange acide acétique-éthanol.

La solubilité en milieu acétique et alcoolique doit être inférieure à 1 p. 100.

6. Efficacité de la PVPP vis-à-vis de l'adsorption des composés polyphénoliques.

6.1. Test à l'acide salicylique

6.1.1. Réactifs :

Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M.

Solution d'acide salicylique 0,1 M (13,81 g d'acide salicylique sont dissous dans 500 ml de méthanol dilué à 1l avec de l'eau.

6.1.2. Mode opératoire :

Peser 2-3 grammes de PVPP dans une fiole conique de 250 ml et noter le poids W, à $\pm 0,001$ g.

Calculer l'extrait sec de l'échantillon (pourcentage de solide) noter P en % à la décimale près.

Ajouter la solution d'acide salicylique 0,1 M selon la formule :

$43 \cdot W \cdot P = \text{ml à ajouter}$

Fermer le flacon et agiter pendant 5 minutes.

Verser le mélange à 25° C sur un filtre déposé sur un entonnoir Büchner relié à un flacon de 250 ml ; faire le vide jusqu'à obtenir au moins 50 ml de filtrat (le filtrat doit être clair).

Pipeter 50 ml de filtrat et le mettre dans une fiole conique de 250 ml.

Déterminer avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M le point de neutralisation à la phénolphthaléine et noter le volume Vs.

Titrer 50 ml d'une solution d'acide salicylique (témoin) de la même manière, et noter le volume Vb.

6.1.3. Calcul :

$$\% \text{ activité} = \frac{Vb - Vs}{Vb} \cdot 100$$

Le pourcentage d'activité doit être égal ou supérieur à 30 p. 100

6.2. Détermination de la capacité d'adsorption de l'oenocyanine (30p. 100 minimum)

6.2.1. Principe

Une petite quantité de PVPP est mise en contact avec une solution d'oenocyanine pendant 5 minutes. L'adsorption à 280 nm de la solution d'oenocyanine traitée est comparée à celle de la solution étalon par rapport à un blanc composé seulement de solvant. La réduction de l'adsorption à 280 nm est utilisée en tant que mesure relative de la capacité de la PVPP à adsorber l'oenocyanine.

6.2.2. Réactifs

- Oenocyanine (hydrate d')
- Ethanol (absolu)
- Eau distillée.

6.2.3. Appareil

- Spectrophotomètre, UV visible.
- Cuves en quartz, 1 cm de trajet optique.
- Béchers, 150 ml.
- Fiole jaugée, 1 litre.
- Barreaux d'agitation en téflon et agitateur magnétique.
- Seringues.
- Filtres pour seringues, (porosité 0,45 µm).

6.2.4. Mode opératoire

- Solution E. Dissoudre 80 mg d'hydrate d'oenocyanine dans 50 ml d'éthanol. Transférer quantitativement dans une fiole jaugée d'un litre (avec de l'eau distillée) et diluer au volume marqué avec de l'eau distillée. Etiqueter sous le nom Solution E, et conserver dans un flacon ambré. Cette solution est la solution

étalon.

- Solution R. Préparer la solution de référence en diluant 50 ml d'éthanol dans 1 litre d'eau distillée. Cette solution est la solution R (de référence).
- Peser, en triple, 50 mg $\pm$ 0,1 mg de l'échantillon dans des béchers de 150 ml. Y ajouter le barreau d'agitation en téflon et placer sur un agitateur magnétique.

NOTE : Le temps de contact entre l'échantillon et la solution est *critique*. Au cours des étapes suivantes, l'addition de la solution aux échantillons se fera par échelonnements afin de prévoir exactement 5 minutes entre l'introduction de la solution et la filtration de chaque échantillon.

- A l'aide d'une pipette, ajouter 100 ml de la solution E à deux des échantillons et ajouter 100 ml de la solution R au troisième échantillon. Mettre la minuterie en marche après que les 100 ml ont été ajoutés.
- Agiter pendant 5 minutes $\pm$ 5 secondes.
- Retirer immédiatement une partie de la solution et filtrer dans une fiole propre, à l'aide d'une seringue et d'un filtre dont le diamètre des pores est de 0,45 μ m. Les solutions filtrées peuvent être conservées dans un endroit frais et sombre pendant 1 heure au maximum avant de mesurer l'absorbance UV.
- Installer le spectrophotomètre UV conformément aux instructions du fabricant concerné afin de mesurer l'absorbance à 280 nm. Mettre l'appareil à zéro sur 280 nm en utilisant la solution R comme blanc.
- Mesurer le degré d'absorbance de chaque extrait filtré à 280 nm par rapport à la solution R en utilisant des cuves en quartz de 1 cm de trajet optique.

6.2.5. Calculs

$$\text{Capacité adsorbante} = \frac{A_o - (A_T - A_B) \times 100}{A_B}$$

Sachant que :

- A_o = Absorbance de la solution E

- A_T = Absorbance de la solution échantillon
- A_B = Absorbance de la solution à blanc (PVPP sans oenocyanine)

Rapporter la moyenne des deux solutions échantillon.

7. Détermination du monomère N-vinyl-2-pyrrolidone dans la PVPP à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance avec detection UV.

7.1. Principe

Le monomère N-vinyl-2-pyrrolidone est extrait du polymère PVP avec le méthanol. La solution de méthanol est analysée par CLHP en utilisant une colonne en phase inversée de type C8 désactivée, la quantification s'effectue par détection UV à 235 nm. La PVP soluble est éliminée de l'entrée de la colonne par une technique de rétrobalayage automatique (backflush).

Cette méthode est applicable aux échantillons dont la concentration en monomère est comprise entre 0,4 et 100 mg/l.

La teneur en N-vinyl-2-pyrrolidone dans la PVPP ne doit pas excéder 10 mg par kg.

7.2. Réactifs

- Méthanol, classe CLHP.
- Eau, microfiltrée de résistivité $> 18 \text{ M}\Omega$.
- N-vinyl-2-pyrrolidone

7.3. Appareillage

7.3.1. Verrerie

- Assemblage CLHP pour filtrer les solvants ; entièrement en verre.
- Filtres pour phases mobiles, nylon 0,45 μm .
- Pipettes graduées (10, 20 et 100 ml).

- Fioles jaugées (100 et 1000 ml).
- Pipettes de 7,5 ml, en polyéthylène.
- Spatules convenant à la manipulation de grammes de poudre.
- Petites fioles avec bouchons en polyéthylène.
- Filtres de porosité 0,45 μ m en microfibre de verre.

7.3.2. Instruments

- Balance permettant la lecture jusqu'à 0,1 mg.
- Agitateur magnétique
- Système CLHP avec colonne de type C8 et détecteur UV-Visible.

7.4. Mode opératoire

7.4.1. Préparation de la phase mobile

A l'aide d'une pipette introduire 200 ml de méthanol classe CLHP dans un fiole jaugée de 1000 ml. Diluer au volume requis avec de l'eau classe CLHP et mélanger.

Filtrer/dégazer la phase mobile et la transférer ensuite dans le réservoir de solvant pour la pompe CLHP.

7.4.2. Préparation des étalons

- Solution étalon VP 1000 mg/l

Peser environ 100 mg de N-vinyl-2-pyrrolidone à 0,1 mg près, dans une fiole jaugée de 100 ml. Diluer au volume requis avec la phase mobile.

- Solution étalon VP 100 mg/l

Diluer 10 ml de la solution à 1000 mg/l au volume requis, avec la phase mobile, dans une fiole jaugée de 100 ml.

- Solution étalon VP 10 mg/l.

Diluer 10 ml de la solution à 100 mg/l au volume requis, avec la phase mobile, dans une fiole jaugée de 100 ml.

- Solution étalon VP 1 mg/l

Diluer 10 ml de la solution à 10 mg/l au volume requis, avec la phase mobile, dans une fiole jaugée de 100 ml.

7.4.3. Préparation de l'échantillon

Dans une petite fiole, peser environ 2,0 g de PVPP à 0,1 mg près.

A l'aide d'une pipette, introduire 20 ml de méthanol classe CLHP dans la fiole contenant l'échantillon.

Fermer hermétiquement la fiole et la placer sur l'agitateur automatique. Extraire pendant une heure à une vitesse de 130 rotations par minute.

Après une heure, retirer la fiole de l'agitateur. Filtrer le surnageant à travers un filtre de porosité 0,45 µm en microfibre de verre.

7.4.4. Analyse par CLHP

Installer l'appareil de CLHP conformément aux instructions du fabricant et équilibrer la colonne et le détecteur avec la phase mobile pendant au moins une heure avant d'analyser l'étalon et les échantillons.

Conditions de CLHP (à titre d'exemple) :

- Vol. d'injection : 20 microlitres
- Débit du solvant : 1 ml/minute
- Détection : 235 nm

Durée : 10 minutes pour les étalons sans rétrobalayage de colonne, 60 minutes pour les échantillons avec rétrobalayage de colonne, dont 10 minutes pour le rétrobalayage et 50 minutes pour le reconditionnement de la colonne.

Injecter un étalon de 10 mg/l de N-vinyl-2-pyrrolidone (concentration absolue) à trois reprises tous les 6 à 10 échantillons afin de contrôler la performance du système.

7.4.5. Calculs

$$\text{mg/l de VP} = \frac{20 \times (\text{aire du pic de l'échantillon}) \times (\text{Facteur de réponse})}{\text{échantillon en grammes}}$$

$$\text{avec facteur de réponse} = \frac{(\text{concentration d'étalon en mg/l})}{(\text{aire du pic de l'étalon})}$$

Remarque :

- Limite de détection et quantité minimale quantifiable

La limite de détection (signal/bruit = 3 pour un échantillon de PVPP avec une teneur de 0,27 mg/l en N-vinyl-2-pyrrolidone) est de ~ 0,10 mg/l avec une quantité minimale quantifiable (signal/bruit = 10) de 0,33 mg/l.

- Récupération

Lors d'un essai au laboratoire, la N-vinyl-2-pyrrolidone, surchargée avec du PVPP à raison de 1, 10 et 100 mg/l de VP, a été respectivement récupérée à 108 %, 99,0 % et 102 %.

- Temps de rétention

La durée moyenne de rétention du pic de N-vinyl-2-pyrrolidone (au taux de 10 mg/l) est de 6,34 ± 0,08 minutes, pour un système colonne + précolonne de 13 cm de long.

- Interférences

La durée appropriée de rétrobalayage sera déterminée pour chaque système et on l'effectuera rigoureusement sans quoi un blocage de la colonne pourrait se produire.

8. Détermination de LA N,N'-divinylimidazolidone libre dans la PVPP à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse.

Cette détermination est à effectuer lorsque la technique de préparation de la PVPP utilise le N,N'-divinylimidazolidone.

La teneur en N,N'-divinylimidazolidone libre dans la PVPP ne doit pas excéder 2 mg par kg.

8.1. Principe

Dosage par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire du N',N'-divinylimidazolidone libre dans un solvant (acétone) à partir de PVPP non soluble. La limite de détection est de 1 mg/kg.

8.2. Solution de l'étalon interne :

Dissoudre 100 mg de nitrile d'acide heptanoïque pesé à 0,1 mg près dans 500 ml d'acétone.

8.3. Préparation de l'échantillon

Peser de 2 à 2,5 g de polymère à 0,2 mg près et verser dans une fiole conique de 50 ml. A l'aide d'une pipette, ajouter 5 ml de solution de l'étalon interne, puis 20 ml d'acétone. Agiter le mélange pendant 4 heures, puis laisser reposer et stabiliser au moins 15 heures et analyser le liquide surnageant par chromatographie en phase gazeuse.

8.4. Solution d'étalonnage

Peser 25 mg de N,N'-divinylimidazolidone à 0,2 mg près et verser dans une fiole jaugée; porter à 100 ml avec de l'acétone. A l'aide d'une pipette, transférer 2,0 ml de cette solution dans une fiole jaugée de 50 ml et porter à 50 ml avec de l'acétone. Transvaser 2 ml de cette solution dans une fiole jaugée de 25 ml, ajouter 5 ml de la solution de l'étalon interne (voir plus haut) et ajuster au volume avec de l'acétone.

8.5. Conditions de la chromatographie en phase gazeuse (à titre d'exemple) :

Colonne (silice fondue) capillaire (Carbowax réticulé - 20 M), longueur 30 m, diamètre intérieur 0,25 mm, épaisseur du film 0,5 µm.

Colonne température programmée : 140°C à 240°C, 4°C/ minute.

Injecteur : injecteur split, 220°C.

Ddébit de purge 30 ml/min.

Détecteur : Détecteur thermoïonique (optimisé conformément aux instructions du fabricant), 250°C.

Gaz vecteur : Hélium, 1 bar (suppression).

Volume injecté : 1 µl de solution surnageante d'échantillon ou de solution d'étalonnage.

8.6. Procédure

Validation du facteur de réponse pour les conditions spécifiques d'analyse grâce à des injections répétées de solution d'étalonnage.

Analyse de l'échantillon. La teneur en N,N'-divinylimidazolidone dans la PVPP non soluble ne doit pas être supérieure à 0,1 %.

8.7. Calcul du facteur de réponse :

$$f = \frac{Wd \times Ase}{Wse \times Ad}$$

Wd - quantité de N,N'-divinylimidazolidone utilisée (mg)

Wse - quantité d'étalon interne (mg)

Ase - aire du pic de l'étalon interne

Ad - aire du pic de la N,N'-divinylimidazolidone.

8.8. Calcul de la teneur en N,N'-divinylimidazolidone :

$$CD = \frac{1000 \times f \times Ad \times Wse}{Ase \times Ws} \text{ (mg/kg)}$$

CD = concentration de la N,N'-divinylimidazolidone (mg/kg)

f = facteur de réponse

Ad = aire du pic pour la N,N'-divinylimidazolidone

Wse = quantité d'étalon interne ajoutée à l'échantillon (mg)

Ase = aire du pic de l'étalon interne

Ws = quantité d'échantillon utilisée (g)

9. Conservation

La PVPP doit être conservée dans des lieux ventilés dans des récipients étanches à l'abri d'éléments volatils qu'elle peut adsorber.

Déclaration du Danemark :

« Lorsqu'il existent des différences dans des spécifications de pureté, des définitions

ou des méthodes d'analyse entre l'OIV et les autres organisations intergouvernementales compétentes, comme le Codex Alimentarius ou l'Union Européenne, le Danemark pense que tous les efforts possibles doivent être réalisés pour identifier les raisons de ces différences et pour les atténuer autant que possible, afin d'éviter l'existence de réglementations internationales différentes sur un même sujet. »

ANNEXE

Procédé Karl-Fischer.

1. CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode a pour objet de déterminer la teneur en eau dans le PVP à liaison transversale. Les résidus de vinylpyrrolidone n'interféreront pas aux taux habituellement présents (0, 1 %). La méthode détectera l'eau à des concentrations supérieures à 0,05 % (m/m).

2. PRINCIPE

L'échantillon est dissous dans du méthanol anhydre et titré à l'aide du réactif Karl-Fischer (KF) sans pyridine. L'eau réagit avec la solution de titrage de la manière suivante :



Le point final (excès I₂) est déterminé en contrôlant le changement du courant entre deux microélectrodes de platine polarisées. Le titrage KF typique est totalement automatisé et produira directement les niveaux d'eau calculés.

3. REACTIFS

1. Réactif Karl Fischer sans pyridine.
2. Méthanol, anhydre
3. Gel de silice avec indicateur d'humidité pour la dessiccation du tube dans la cellule.

4. Le standard analytique peut être obtenu auprès de laboratoires spécialisés (actuellement BASF, D-67056 Ludwigshafen)

4. APPAREIL

Titrimètre Karl Fischer.

5. METHODE

1. Remplir le récipient de titrage avec 50 ml de méthanol anhydre ou une quantité suffisante pour couvrir les électrodes. Remplir le tube de dessiccation au-dessus de la cellule avec du gel de silice frais.
2. Etalonner la solution de titrage en utilisant de l'eau distillée comme étalon. Consigner le poids de l'échantillon et de la tare, tel qu'indiqué dans le manuel des instruments.

L'appareil calculera automatiquement la moyenne du titre et la sauvegardera en mémoire. Pour les appareils plus anciens, calculer le titre moyen (à savoir, la solution de titrage H_2O/ml en mg) pour trois déterminations. Si l'on dispose d'une interface de balance analytique pour consigner le poids de l'échantillon, suivre les instructions du manuel.

3. Ajouter 0,075 g à 0,150 g d'échantillon (à 0,1 mg près) dans le récipient de réaction et agiter pendant 2 minutes.

Consigner le poids de l'échantillon et de la tare. L'appareil mesurera le titrage et déterminera automatiquement le pourcentage de teneur en eau.

4. Faire l'analyse en double exemplaire.

6. CALCULS

1. Titre de la solution de titrage KF, T

$$\frac{\text{étalon d'eau (en mg)}}{\text{solution de titrage utilisée (en ml)}}$$

2. % d'eau dans l'échantillon

$$\frac{0,1 TV}{S}$$

Quand

V = ml de solution de titrage utilisée

S = poids de l'échantillon en grammes.

7. INTERFERENCES

Des concentrations élevées de résidus de vinylpyrrolidone (>0,5 %) réagiront avec l'iode et donneront des résultats très inexacts.

(Un taux résiduel de vinylpyrrolidone de 1 % (p/p) correspond au niveau de H₂O relevé de 0,16% (m/m)). Un excès de base dans l'échantillon risque de modifier le pH de la solution et de donner des résultats peu élevés. Les échantillons avec pH >8 devront être tamponnés avec 5 g d'acide benzoïque pour 50 ml.