RÉSOLUTION OIV-OENO 574-2017

MONOGRAPHIE SUR LES TANINS – MISE À JOUR DE LA MÉTHODE DE DÉTERMINATION DES POLYPHÉNOLS

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,

Sur proposition du Groupe d'experts « Spécification des produits œnologiques »,

DÉCIDE de remplacer le point 6.9 « Estimation des phénols totaux » de la fiche COEI-1-TANINS du *Codex œnologique international* avec le point suivant :

6.9 Estimation de la richesse en phénols totaux

La teneur en phénols totaux est estimée selon la méthode décrite en annexe.

Pour les phénols totaux, les résultats doivent être supérieurs à 65 %.

MÉTHODE POUR L'ESTIMATION DE LA TENEUR EN POLYPHÉNOLS TOTAUX

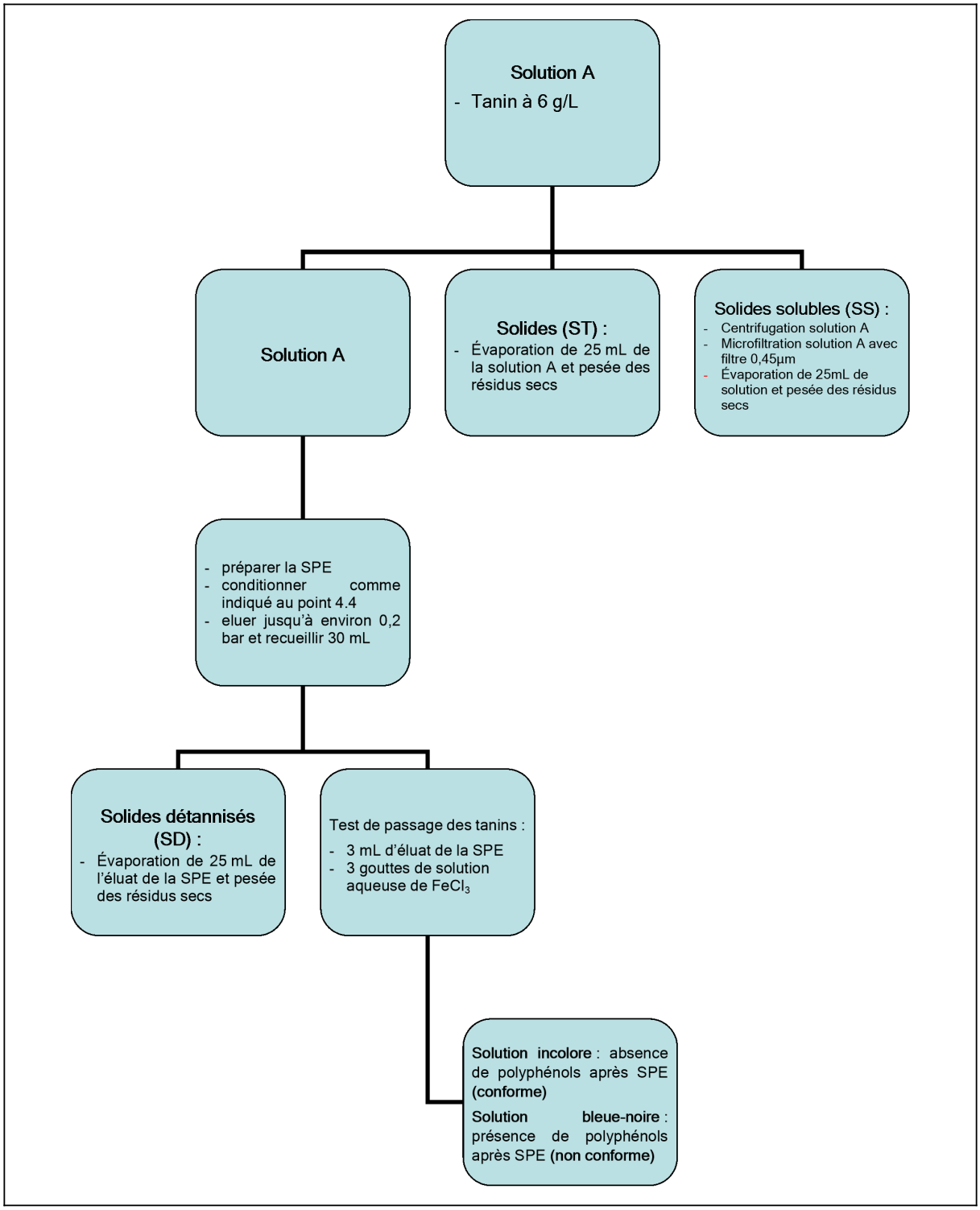
1. PRINCIPE

Cette méthode est destinée à mesurer la concentration des préparations de tanins œnologiques en polyphénols ; elle se base sur une analyse gravimétrique réalisée par l'intermédiaire d'une extraction en phase solide ou SPE. Les tanins en solution aqueuse sont adsorbés sur un polymère contenu dans une colonne SPE, en l'occurrence de la polyvinylpolypyrrolidone capable de retenir les polyphénols. Les substances non retenues par la PVPP correspondent à des composés non phénoliques qui étaient présents dans l'échantillon d'origine.

Le diagramme complet de la méthode est présenté ci-dessous :

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017



Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

2. RÉACTIFS, MATÉRIEL ET APPAREILLAGE

2.1. Réactifs

2.1.1. PVPP (polyvinylpolypyrrolidone, CAS 9003-39-8)

2.1.2. Solution aqueuse de $FeCl_3$ (1 g/L)

2.1.3. Eau bidistillée

2.1.4. Éthanol (20 % v/v)

2.2. Matériel

2.2.1. Coupelles en aluminium (70 mL)

2.2.2. Tubes jetables à fond conique avec bouchons (50 mL)

2.2.3. Colonnes SPE (réservoir 70 mL, 150*29,75 mm)

2.2.4. Frittés pour colonne SPE (Diamètre 27 mm – 20 µm PE)

2.2.5. Fiole en Pyrex de 1000 mL

2.2.6. Éprouvettes de classe A de 50 mL

2.2.7. Filtre à membrane en acétate de cellulose de 0,45 µm, Ø 47 mm

2.2.8. Seringue en plastique de 50 mL

2.2.9. Pipettes graduées en verre (2 traits) de 25 mL de classe A

2.3. Appareillage

2.3.1. Bain thermostaté à 20 °C

2.3.2. Balances techniques d'une précision de 0,01 g

2.3.3. Balances analytiques d'une précision de 0,1 mg

2.3.4. Étuve thermostatée à 105 °C

2.3.5. Étuve thermostatée à 80 °C ou, à défaut, bain thermostatique

2.3.6. Centrifugeuse

2.3.7. Collecteur à vide

2.3.8. Verrerie volumétrique de classe A

2.3.9. Dessiccateur

3. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

La solution (ci-après, solution A) est utilisée pour mesurer les solides totaux (ST), les

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

solides solubles (SS) et les solides détannisés (SD).

Peser environ 6 g de tanins sur la balance analytique et noter le poids. Dissoudre les tanins dans environ 950 mL d'eau bidistillée chaude (60□70 °C) dans une fiole en Pyrex de 1 litre et bien agiter. Laisser reposer la fiole à température ambiante pendant 30 minutes. Refroidir la solution à 20□22 °C dans un bain thermostaté, compléter le volume avec de l'eau bidistillée et bien mélanger.

4. MODE OPÉRATOIRE

4.1. Mesure des solides totaux (ST)

- Prélever et transférer 25 mL de solution A dans une coupelle en aluminium (2.2.1),
- faire évaporer à siccité dans une étuve thermostatée à 80 °C,
- transférer dans une étuve thermostatée à 105 °C afin de procéder au séchage jusqu'à obtention d'un poids constant, puis peser les résidus (faire refroidir les coupelles dans le dessiccateur avant la pesée).

La formule à appliquer pour le calcul des solides totaux (ST) est la suivante :

$$\%ST = \frac{résidus_secs\ ST(g)}{poids_taning(g)} \cdot \frac{1000}{'mL)solA} .100$$

4.2. Mesure des solides solubles (SS)

- Centrifuger la solution A à 10 000 g pendant 5 min
- microfiltrer la solution A centrifugée au travers d'un filtre à membrane afin d'obtenir une solution claire, puis laisser évaporer à siccité 25 mL de solution dans une étuve thermostatée à 80 °C,
- transférer dans une étuve thermostatée à 105 °C afin de procéder au séchage jusqu'à obtention d'un poids constant, puis peser les résidus (faire refroidir les coupelles dans le dessiccateur avant la pesée).

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

La formule à appliquer pour le calcul des solides solubles (SS) est la suivante :

$$\%SS=\frac{résidus_secs\ SS\ (g)}{poids_tanins(g)}\cdot\frac{1000}{(mL)solA}.100$$

4.3. Mesure des solides insolubles (SI)

Calculer la différence entre les solides totaux et les solides solubles :

$$\%SI = \%ST - \%SS$$

4.4. Mesure des solides détannisés (SD)

- Préparer les colonnes SPE : introduire le premier fritté, 7,0 ± 0,1 g de PVPP préalablement réhydraté avec une solution hydroalcoolique à 20 % pendant 15 minutes, ainsi que le second fritté, puis bien tasser la phase stationnaire,
- placer la colonne SPE dans le collecteur à vide (exemple en figure 1),
- conditionner la colonne avec trois rinçages (ne pas sécher la PVPP et appliquer un vide d'environ 0,2 bar afin d'éviter le compactage du polymère) : un premier rinçage avec 50 mL d'éthanol (20 % v/v), un deuxième rinçage avec 50 mL d'eau bidistillée, et un troisième rinçage avec 20 mL de solution A afin d'éliminer les résidus d'eau de la PVPP,
- ajouter 30 mL de solution A dans la colonne et recueillir les 30 mL d'éluat (SD, solides détannisés) dans un tube à fond conique Falcon de 50 mL, interrompre l'élution lorsque le liquide atteint le niveau du fritté supérieur,
- prélever 25 mL d'éluat et les transférer dans une coupelle en aluminium,
- laisser évaporer à siccité dans une étuve thermostatée à 80 °C,
- transférer dans une étuve thermostatée à 105 °C afin de procéder au séchage jusqu'à obtention d'un poids constant, puis peser les résidus (faire refroidir les coupelles dans le dessiccateur avant la pesée).

La formule à appliquer pour le calcul des solides détannisés (SD) est la suivante :

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

$$\%SD = \frac{résidus_secs\ SD(g) - BC(g)}{poids_tanins\ (g)} \cdot \frac{1000}{(mL)solA} .100$$

où *BC* est la valeur du blanc mesurée après SPE (voir 4.5).



Figure 1 – Exemple d'extraction SPE

Afin de garantir l'absence de polyphénols dans l'éluat après passage dans la colonne, additionner 3 gouttes d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ dans 3 mL de solides détannisés (DD) en solution. Si la solution développe une teinte bleue-noire, cela signifie que des polyphénols sont passés au travers du polymère ; il convient alors de répéter l'analyse en réduisant la quantité de produit initiale. Si la solution se maintient incolore après ce traitement, procéder à l'analyse gravimétrique.

4.5. Mesure du blanc (BC)

Un essai à blanc doit être effectué avant de réaliser l'élution SPE, et cela afin d'évaluer toute interférence causée par le processus analytique. Procéder de la manière suivante :

- Préparer les colonnes SPE : introduire le premier fritté, 7,0 ± 0,1 g de PVPP préalablement réhydraté avec une solution hydroalcoolique à 20 % pendant 15 minutes, ainsi que le second fritté, puis bien tasser,

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017

- Placer la colonne SPE dans le collecteur à vide (exemple en figure 1),
- Conditionner la colonne avec deux rinçages (ne pas sécher le PVPP et appliquer un vide d'environ 0,2 bar afin d'éviter le compactage du polymère) : un premier rinçage avec 50 mL d'éthanol (20 % v/v) et un second rinçage avec 70 mL d'eau bidistillée,
- Ajouter 30 mL d'eau bidistillée dans la colonne et recueillir les 30 mL d'éluat (blanc pour solides détannisés) dans un tube à fond conique Falcon de 50 mL, interrompre l'élution lorsque le liquide atteint le niveau du fritté supérieur,
- Prélever 25 mL d'éluat et les transférer dans une coupelle en aluminium, puis laisser évaporer à siccité dans une étuve thermostatée à 80 °C,
- Transférer dans une étuve thermostatée à 105 °C afin de procéder au séchage jusqu'à obtention d'un poids constant, puis peser les résidus (faire refroidir les coupelles dans le dessiccateur avant la pesée).

5. EXPRESSION DES RÉSULTATS

Mesure du pourcentage de polyphénols totaux (%polyphénols) :

La formule à appliquer pour le calcul du pourcentage de tanins est la suivante :

$$\%polyphénols = \frac{\%SS - \%SD}{\%ST}.100$$

- Détermination de l'adéquation de la PVPP : SE RÉFÉRER À OENO 11-2002 - COEI-1-PVPP : 2007, § 6.

Exemplaire certifié conforme Sofia, 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2017