RÉSOLUTION OIV-OENO 578-2017

MONOGRAPHIE DES FIBRES VÉGÉTALES SÉLECTIVES

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,

CONSIDÉRANT les travaux du groupe d'experts « Spécification des produits œnologiques »,

CONSIDÉRANT les travaux du groupe d'experts « Technologies » pour ce qui concerne la pratique œnologique « Utilisation de fibres végétales sélectives dans le vin »,

DÉCIDE de compléter le Codex Œnologique International avec la monographie suivante :

FIBRES VÉGÉTALES SÉLECTIVES

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Les fibres végétales sélectives proviennent des parties comestibles de certains végétaux, généralement d'origine céréalière. Les fibres végétales subissent une succession de traitements mécaniques et d'extractions permettant de concentrer le complexe actif sans détériorer la structure de la fibre végétale. L'objectif est d'augmenter la capacité d'adsorption.

Les fibres végétales activées fixent certains résidus de pesticides potentiellement présents dans le vin et l'ochratoxine A. Elles sont utilisées au cours d'une filtration des vins.

2. ÉTIQUETAGE

L'étiquetage indiquera les mentions suivantes :

- Le nom ou dénomination de vente
- La mention « produit destiné à un usage œnologique »
- Le numéro de lot et la date d'expiration
- Les conditions de conservation

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

© OIV 2017

- L'origine et la composition des fibre
- Le nom ou la raison sociale du fabricant
- L'adresse du fabricant
- La quantité nette

3. CARACTÈRES

Le produit est insoluble et se présente sous forme d'une poudre très fine.

4. CARACTÈRES D'IDENTITÉ

Les fibres végétales sélectives ont une teneur totale en composés pariétaux insolubles (fraction NDF) de minimum 90% (m/m), déterminée par la méthode Van Soest en annexe

5. ESSAIS

5.1. Perte à la dessiccation

Placer 5 g de produit dans un dessiccateur à 90°C pendant 15 minutes. La perte de poids ne doit pas dépasser 8 % du poids initial.

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

5.2. Cendres

Incinérer progressivement, sans dépasser 550 °C, le résidu laissé dans la détermination de la perte à la dessiccation.

Le poids de cendres doit être inférieur à 1 %.

5.3. Produits solubles en solution aqueuse

Dans un récipient de 250 mL placer 10 g de fibres végétales sélectives puis verser lentement en agitant manuellement 100 mL d'eau pour obtenir une suspension homogène. Recueillir les fibres végétales sélectives sur un filtre, rincer le récipient avec de l'eau distillée de façon à récupérer les résidus de fibres végétales sélectives. Après 48 h à une température de 45°C la perte en produits solubles ne doit pas dépasser 3 % du poids initial en matière sèche.

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

© OIV 2017

5.4. Essais d'adsorption de contaminants

5.4.1. Pesticides

La capacité d'adsorption (KF) en 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide (Boscalid) d'une fibre végétale sélective, déterminée selon la méthode décrite en annexe 2, doit être supérieure ou égale à 1 000 mg/kg à une dose de 2 g/L de fibres végétales sélectives.

5.4.2. Ochratoxine A

La capacité d'adsorption (KF) en Ochratoxine A (OTA) d'une fibre végétale sélective, déterminée selon la méthode décrite en annexe 3, doit être supérieure ou égale à 1 200 mg/kg à une dose de 2 g/L de fibres végétales sélectives.

5.5. Fer

Quantification par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite au chapitre II du Codex Œnologique international

La teneur en fer doit être inférieure à 100 mg/kg.

5.6. Cuivre

Quantification par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite au chapitre II du Codex Œnologique international

La teneur en cuivre doit être inférieure à 25 mg/kg.

5.7. Plomb

Quantification par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite au chapitre II du Codex Œnologique international

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

5.8. Mercure

Quantification par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite au chapitre II du Codex Œnologique international.

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

5.9. Arsenic

Quantification par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite au

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

© OIV 2017

chapitre II du Codex Œnologique international

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

5.10. Cadmium

Quantification par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite au chapitre II du Codex Œnologique international

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

5.11. Salmonelles

Les fibres végétales sélectives ne doivent pas contenir de salmonelles dans 25 g.

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique international.

5.12. Contrôle bactériologique

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique international.

La teneur en micro-organismes viables totaux doit être inférieure à $3x10^4$ UFC/g.

5.13. Escherichia coli

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique international.

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g.

5.14. Levures

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique international.

Teneur limite : 10^3 UFC/g de préparation

5.15. Moisissures

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique international.

Teneur limite : 10^3 UFC/g de préparation.

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

© OIV 2017

ANNEXE 1

1. Méthode d'analyse des composés pariétaux insolubles, fraction NDF, selon la méthode dite du creuset (Van Soest)

1.1. Principe

Analyse des constituants des parois des végétaux (hemicellulose, cellulose et lignine) après solubilisation des protéines, amidons par traitement au détergent neutre (ND).

1.2. Matériel

1.2.1. Balance de présicion de 0,001 g

1.2.2. Etuve

1.2.3. Four

1.2.4. Dessicateur

1.2.5. Creusets filtrants (porosité 40- 100 µm)

1.2.6. Appareil de type Fibertec (ou équivalent), qui est un appareil (semi automatique / automatique) fermé permettant de traiter jusqu'à 6 creusets en même temps incluant les réactifs, et les étapes d'extractions, la portée à ébullition, le rinçage et la filtration.

1.3. Réactifs

1.3.1. □-amylase stable à la chaleur, par exemple (Ref: A3306), Sigma Chemical Co.

1.3.2. Solution de détergent neutre (NDS): pour 5L de solution:

- Laurylsulfate de sodium ($CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$, p. m. : 288,4) – 150 g
- EDTA – di-sodium éthylènediamine tétracétate ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$, p. m. : 372,23) – 93,05 g
- Di-sodium tétraborate decahydrate ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, p. m. : 381,37) – 34,05 g
- Di-sodium hydrogén ophosphate dihydrate ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, p.m. : 177,99) – 22,8 g
- Triethylène glycol ($C_6H_{14}O_4$, p.m. : 150,17) – 50 mL

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

© OIV 2017

1.4. Mode opératoire

1.4.1. Fibres insolubles dans le détergent neutre

- Préparer les creusets

Pour chaque échantillon de fibres végétales préparer 2 creusets :

A. Creuset pour isoler les constituants insolubles (NDF)

Peser 2 g de fibres végétales dans un creuset sec et propre
Noter le poids avec une précision de 0,001g (P = poids de l'échantillon)

B. Creuset pour mesurer la teneur en cendres de l'échantillon

Peser 1 g de fibres, végétales dans un creuset sec et propre
Noter le poids avec une précision de 0,001g (P = poids de l'échantillon)

- Insérer les creusets (dans le système de type Fibertec)

Ajouter 100 mL de la solution NDS (1.3.2) à chaque échantillon à température ambiante
Ajouter 50 µl de □-amylase (1.3.1)
Porter et maintenir à ébullition de la façon suivante :
Chauffer pendant 5-10 minutes, jusqu'à ébullition. Réduire la température et ajouter de l'antimousse (à titre d'exemple acide octanoïque) dès le début de l'ébullition. Régler la température pour maintenir l'ébullition et continuer à chauffer pendant 60 minutes.
Après 1 heure d'extraction, arrêter le chauffage, retirer la solution NDS par un système d'aspiration.

- Rincer et filtrer

Ajouter 40 mL d'eau chaude (90-100°C) dans chaque creuset, agiter/mélanger les échantillons et laisser infuser 2 minutes.
Filtrer sous vide
Répéter l'opération 4 fois.
Ajouter de l'acétone dans chaque creuset, laisser infuser pendant 2 minutes. Filtrer

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

© OIV 2017

sous vide.

Répéter l'opération 2 fois.

- Retirer les creusets

Le creuset (A) est rincé deux fois avec de l'eau chaude (90-100 °C) et placé 12 heures à 105°C

Le creuset (B) est placé 12 heures à 105 °C, refroidi au dessicateur et pesé soit W1

(P1= *creuset + NDF fraction+ cendres totales (TA)).*

Il est ensuite placé pendant 3 heures à 500 °C, refroidi au dessicateur et pesé soit P4

(P4 = creuset+ cendres totales (TA))

1.4.2. Déterminer la teneur en matière sèche (MS)

Peser une coupelle avec une précision de 0,001 g (P_{MS})

Peser avec une précision de 0,001 g, 2 g de fibres végétales dans une coupelle propre et sèche soit P2

(P2 = poids avant séchage)

Placer la coupelle à 105°C pendant 16 heures, laisser refroidir au dessicateur et peser soit P3

(P3= poids après séchage)

1.5. Calculs

1.5.1. Déterminer la matière sèche

$$MS(\%) = \frac{P3 - W_{MS}}{P2} \times 100$$

1.5.2. Déterminer la fraction insoluble des fibres dans le détergent neutre « neutral detergent fiber » (NDF)

$$NF(\%) = \frac{(P1 - P4)}{P \times \frac{\%MS}{100}} \times 100$$

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

© OIV 2017

ANNEXE 2

2. Mesure de la capacité d'adsorption des pesticides par les fibres végétales sélectives

2.1. Principe

Il s'agit de déterminer la capacité d'adsorption par les fibres végétales sélectives d'un fongicide utilisé pour le traitement de la vigne dont le nom commercial est : BOSCALID

Nom chimique IUPAC : 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide

Formule chimique : $C_{18}H_{12}CL_2N_2O$

N° CAS : 188425-85-6

La méthode proposée se réfère à la détermination de l'isotherme de Freundlich.

2.2. Précautions de sécurité

Les pesticides sont potentiellement toxiques et doivent donc être manipulés dans des conditions de sécurité protégeant les analystes notamment lors de la préparation des solutions mères à partir des standards analytiques purs. Les opérateurs doivent protéger leurs mains et leurs yeux et doivent manipuler sous une hotte aspirante.

2.3. Matériels

2.3.1. Verrerie courante de laboratoire : fioles jaugées, pipettes, flacons

2.3.2. Balance de précision de 0,001 g

2.3.3. Agitateur magnétique

2.3.4. Centrifugeuse

2.4. Réactifs

2.4.1. Standard analytique de 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide : sous forme poudre de pureté >99%

2.4.2. Acétone de qualité pour analyses de résidus

2.4.3. Préparation des solutions étalons de 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide :

2.4.3.1. solution mère à 1000 mg/L de 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide dans l'acétone : dissoudre précisément 50 mg de poudre pure de

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

© OIV 2017

standard analytique dans 50 ml d'acétone. La solution mère peut être conservée à -20 °C pendant un an au maximum.

2.4.3.2. solutions filles à 100, 10 et 1 mg/L de 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide dans l'acétone : par dilutions successives de la solution mère dans l'acétone. Les solutions filles peuvent être conservées à -20°C durant 6 mois au maximum.

2.5. Mode opératoire

Un résumé des conditions utilisées pour la préparation des vins témoin et des vins pour essais, est présenté dans le Tableau 1 ci-dessous.

2.*5.1. Préparation des vins témoins*

Les vins témoins sont préparés à partir d'un vin exempt de pesticide, dans lequel sont ajoutées neuf concentrations croissantes de 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide afin d'obtenir par exemple 500 mL de chaque vin supplémenté (cf. Tableau 1). Les additions sont réalisées avec des solutions étalons filles (2.4.3.2). Deux répétitions sont réalisées par concentration. Le 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide est ensuite analysé dans les neuf vins témoins, afin d'obtenir les concentrations initiales mesurées.

2.5.2. Préparation des vins pour essais

Les 9 vins enrichis en pesticide (2.5.1) sont mis en contact avec la fibre végétale sélective.

Mode opératoire :

Ajouter 0,4 g de fibres végétales sélectives dans un petit volume de vin témoin supplémenté avec 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide puis verser le mélange dans une fiole jaugée de 200 ml et compléter à 200 mL avec ce même vin (la dose de fibre végétale est de 2 g/L).

Laisser ce vin en contact avec les fibres végétales dans un flacon bouché pendant 45 minutes sous agitation magnétique. Centrifuger pendant 5 minutes à 4500 tours/minute (3600 g). Séparer le surnageant du culot et procéder au dosage des résidus de 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide afin d'obtenir les concentrations résiduelles mesurées dans le surnageant. Cette opération est répétée pour les 9 vins témoins supplémentés en 2-chloro-N-(4'chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide (2.5.1). Deux répétitions sont réalisées par concentration.

Tableau 1 : résumé des conditions pour la détermination de la capacité d'adsorption en 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide

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

© OIV 2017

Temps de contact	45 minutes
Vin utilisé pour les essais	Vin exempt de pesticides (analyse préalable)
Fibres végétales sélectives	Dose 2g/L vins pour essais) Absence (vins témoins)
Molécule pesticide testée	2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide (nom commun : boscalid)
Concentrations rajoutées en 2-chloro-N-(4'chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide	5 µg/L 15 µg/L 30 µg/L 60 µg/L 120 µg/L 240 µg/L 480 µg/L 960 µg/L 1500 µg/L
Nombre de répétitions	2
Centrifugation - paramètres	Température ambiante 4500 tours /minute (environ 3600 g) pendant 5 minutes
Méthode d'analyse de résidu de 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide	Dosage de résidus de pesticides dans le vin après extraction par la méthode QuEChERS (OIV-MA-AS323-08-type II), puis analyse des extraits par UPLC/MS/MS.

2.6. Calculs

La détermination de la capacité d'adsorption en 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide est calculée d'après l'équation de Freundlich suivante :

$CAds = KF * CRes^{1/n}$

Ou sa forme linéaire : $Log\ CAds = 1/n\ Log\ CRes + Log\ KF$

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

© OIV 2017

avec KF = capacité d'adsorption de la molécule par la fibre végétale sélective en µg/g de fibre

et n = affinité de la fibre végétale sélective pour la molécule

et où :

- **CRes = concentration résiduelle en µg/mL** de 2-chloro-N-(4'chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide, mesurée dans le vin après mise en contact avec les fibres végétales sélectives
- **CAds = concentration adsorbée en µg/g** de fibre végétale sélective
    - CAds en µg/g = CAds en µg /L / 2 (car dose adsorbant = 2 g de fibre/L de vin)
    - **CAds en µg/L= concentration initiale en µg/L** mesurée dans vin témoin supplémenté avant mise en contact avec les fibres végétales sélectives) **- CRes en µg/L**

A partir des concentrations résiduelles (µg/L) mesurées, les concentrations adsorbées (µg/L) en 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide sont ainsi calculées pour chaque concentration initiale

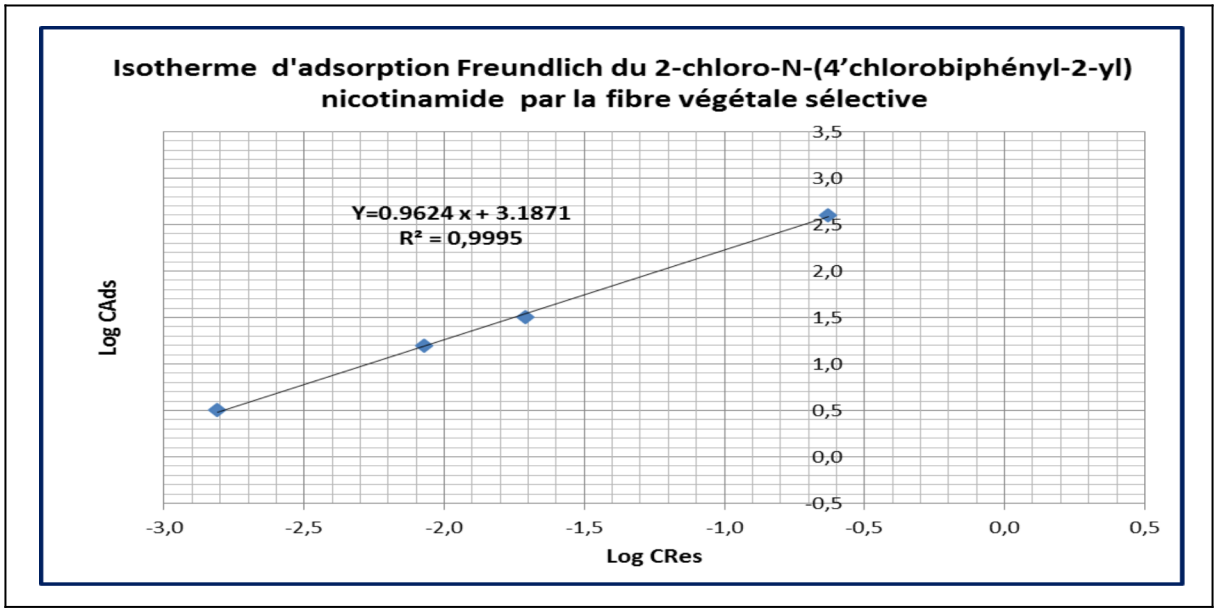
la droite de régression **Log CAds = 1/n Log CRes + Log KF** est tracée.

La régression d'adsorption Freundlich du pesticide par la fibre végétale sélective, permet ainsi de calculer les deux constantes de Freundlich : la capacité d'adsorption en µg/g (KF) et l'affinité de la fibre pour le pesticide (n). L'équation de la droite, y = ax + b nous donne la pente a =1/n et b = Log KF.

Exemple: isotherme de Freundlich pour 2-chloro-N-(4'chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide

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

© OIV 2017



Ainsi, dans l'exemple ci-dessus, on peut calculer :

b = Log KF = 3,1871 soit KF =10^b = 1538,54

Et a = 1/n= 0,9624 soit n =1 /a = 1,04

L'affinité (n) de la fibre végétale sélective pour le 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide est de 1,04 et la capacité d'adsorption (KF) du 2-chloro-N-(4'-chlorobiphényl-2-yl) nicotinamide par la fibre végétale sélective est de 1538,54 µg /g ou mg/kg de fibre.

ANNEXE 3

3. Mesure de la capacité d'adsorption de l'Ochratoxine A par les fibres végétales sélectives

3.1. Principe

Il s'agit de déterminer la capacité d'adsorption par les fibres végétales sélectives, d'une mycotoxine:

Nom commercial : Ochratoxine A (OTA)

Nom chimique IUPAC: N-{[(3*R*)-5-chloro-8-hydroxy-3-méthyl-1-oxo-3,4-dihydro-1H-isochromén-7-yl] carbonyl}-L-phenylalanine

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

© OIV 2017

Formule chimique : $C_{20}H_{18}ClNO_6$

N° CAS : 303-47-9

La méthode proposée se réfère à la détermination de l'isotherme de Freundlich.

3.2. Précautions de sécurité

L'Ochratoxine A est une toxine classée par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC), en catégorie 2B comme cancérigène possible chez l'Homme. Elle doit donc être manipulée dans des conditions de sécurité protégeant les analystes notamment lors de la préparation des solutions mères à partir des standards analytiques purs. Les opérateurs doivent protéger leurs mains et leurs yeux et doivent réaliser les manipulations sous hotte ventilée.

3.3. Matériels

3.3.1. Verrerie courante de laboratoire : fioles jaugées, pipettes, flacons

3.3.2. Balance de précision de 0,001 g

3.3.3. Agitateur magnétique

3.3.4. Centrifugeuse

3.4. Réactifs

3.4.1. Standard analytique d'Ochratoxine A (OTA) : sous forme de poudre de pureté >99%

3.4.2. Toluène, méthanol et éthanol pur (de qualité HPLC)

3.4.3. Tampon acétate de sodium pH 5,2, 0,1 mol/L : dissoudre 13,061 g d'acétate de sodium trihydraté avec 900 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à 5,2 avec de l'acide acétique puis compléter à 1 000 mL avec de l'eau distillée.

3.4.4. Préparation des solutions étalons d'Ochratoxine A :

3.4.4.1. solution mère à 50 mg/L dans le mélange toluène-acide acétique : dissoudre précisément 5 mg d'ochratoxine pure (3.4.1) dans 100 mL du mélange toluène-acide acétique (99 :1 , v/v). La solution mère peut être conservée à -20 °C pendant un an au maximum.

3.4.4.2. solution de travail à 20 mg/L dans le méthanol : évaporer, en utilisant un flux d'azote, une portion aliquote (20 ml) de solution mère, puis re-dissoudre dans 50 ml de méthanol pur. La solution de travail peut être conservée à -20 °C pendant six mois au maximum.

3.4.4.3. solutions de rajout à 10, 5 et 2 mg/L dans l'éthanol : effectuer des dilutions successives de la solution de travail dans l'éthanol absolu. Les solutions de rajout

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

© OIV 2017

peuvent être conservées à -20 °C pendant deux mois au maximum.

3.5. Mode opératoire

Un résumé des conditions utilisées pour la préparation des solutions témoins et des solutions pour essais est présenté dans le Tableau 2.

3.5.1. Préparation des solutions témoins

Les solutions témoins sont préparées à partir d'une solution tampon d'acétate de sodium à pH 5.2 (3.4.3), dans laquelle sont ajoutées neuf concentrations croissantes d'Ochratoxine A afin d'obtenir par exemple 50 mL de chaque solution témoin supplémentée (cf. Tableau 2). Les additions sont réalisées avec les solutions de rajout (3.4.4.3). Deux répétitions sont réalisées par concentration. L'Ochratoxine A est ensuite analysée dans les neuf solutions témoins afin d'obtenir les concentrations initiales mesurées.

3.5.2. Préparation des solutions pour essais

Les 9 solutions enrichies en OTA (3.5.1) sont mises en contact avec la fibre végétale sélective.

Mode opératoire :

Ajouter 0,05 g de fibres végétales sélectives dans un petit volume de solution tampon d'acétate de sodium à pH 5.2 supplémentée par de l'OTA puis verser le mélange dans une fiole jaugée de 25 ml et compléter à 25 mL avec cette même solution tampon (la dose de fibre végétale est de 2 g/L). Après 45 minutes de contact avec les fibres végatales sélectives sous agitation, centrifuger les suspensions et séparer le surnageant du culot de fibres. Cette opération est répétée pour les 9 solutions témoins supplémentées par de l'ochratoxine A (3.5.1). L'ochratoxine A est alors dosée par HPLC, afin d'obtenir les concentrations résiduelles mesurées dans le surnageant. Deux répétitions sont réalisées par concentration.

Tableau 2 - Résumé des conditions pour la détermination de la capacité d'adsorption de l'OTA

Temps de contact	45 minutes
Tampon utilisé pour les essais	Acétate de sodium (pH 5.2)
Fibres végétales sélectives	Dose 2g/L (solutions pour essais) Absence (solutions témoins)

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

© OIV 2017

Concentrations rajoutées en Ochratoxine A	2 µg/L 5 µg/L 20 µg/L 125 µg/L 450 µg/L 900 µg/L 2 000 µg/L 5 000 µg/L 10 000 µg/L
Nombre de répétitions	2
Centrifugation - paramètres	Température ambiante 10000 tours /minute (environ 13000 g) pendant 2.3 minutes
Méthode d'analyse de l'Ochratoxine A	Dosage de l'Ochratoxine A dans le vin après passage sur colonne d'immunoaffinité (OIV-MA-AS315-10), puis analyse par HPLC avec detection fluorimetrique

3.6. Calculs

La détermination de la capacité d'adsorption en Ochratoxine A est calculée d'après l'équation de Freundlich suivante :

$CAds = KF * CRes^{1/n}$

Ou sa forme linéaire : $Log\ CAds = 1/n\ Log\ CRes + Log\ KF$

avec KF = capacité d'adsorption de la molécule par la fibre végétale sélective en µg/g de fibre

et n = affinité de la fibre végétale sélective pour la molécule

et où :

- **CRes = concentration résiduelle en µg/mL** d'Ochratoxine A, mesurée dans la solution d'essais après mise en contact avec les fibres végétales sélectives
- **CAds = la concentration adsorbée en µg/g** de fibres végétales sélectives
    - CAds en µg/g = CAds en µg /L / 2 (car dose adsorbant = 2 g de fibre/L de

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

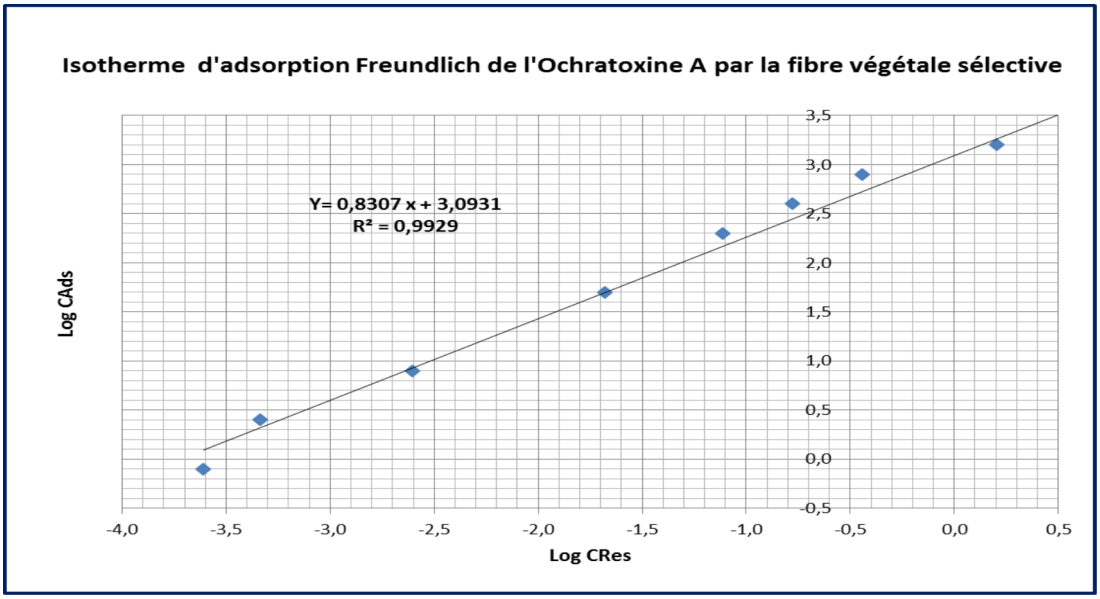
© OIV 2017

solution tampon)

- CAds en µg/L= concentration initiale en µg/L mesurée dans la solution témoin (avant mise en contact avec les fibres végétales sélectives) – Cres en µg/L

A partir des concentrations résiduelles (µg/L) mesurées, les concentrations adsorbées (µg/L) en Ochratoxine A sont ainsi calculées pour chaque concentration initiale et la droite de régression **Log CAds = 1/n Log CRes + Log KF** est tracée. La régression d'adsorption Freundlich de l'Ochratoxine A par la fibre végétale sélective, permet ainsi de calculer les deux constantes de Freundlich : la capacité d'adsorption en µg/g (KF) et l'affinité de la fibre pour l'Ochratoxine A (n). L'équation de la droite, y = ax + b nous donne la pente a =1/n et b = Log KF.

Exemple: isotherme de Freundlich pour l'Ochatoxine A



Ainsi, dans l'exemple ci-dessus, on peut calculer :

b = Log KF = 3,0931 soit KF =10^b = 1239,21

Et a = 1/n= 0,8307 soit n = 1 /a = 1,2

L'affinité (n) de la fibre végétale sélective pour l'Ochratoxine A est de 1,2 et

la capacité d'adsorption (KF) de l'Ochratoxine A par la fibre végétale sélective est de

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

© OIV 2017

1239,21 µg /g ou mg/kg de fibre.

© OIV 2017

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