RÉSOLUTION OIV-OENO 385-2012

DOSAGE DU LYSOZYME DANS LE VIN PAR ELECTROPHORESE CAPILLAIRE HAUTE PERFORMANCE

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 de la Sous-Commission des méthodes d'analyse,

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

Dosage du lysozyme dans le vin par électrophorèse capillaire haute performance

Type de méthode : IV

1. Introduction

Le dosage du lysozyme résiduel dans des vins traités est effectué par électrophorèse capillaire haute performance (ECHP).

2. Domaine d'application

Cette méthode permet de détecter une addition du lysozyme dans le vin mais n'est pas apte à la détection ou la détermination du lysozyme en tant que composé allergénique. Cette méthode s'applique au dosage du lysozyme dans les vins blancs dans une gamme de concentration de 9 mg/L à 100 mg/L et par dilution au delà.

3. Principe

Les échantillons de vin sont directement injectés dans l'appareil d'électrophorèse capillaire après filtration et dilution si nécessaire. La quantification du lysozyme est effectuée par rapport à un étalon externe.

Exemplaire certifié conforme Izmir, 22 juin 2012
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2012

4. Réactifs

Lysozyme extrait de blanc d'œuf de poule [N°CAS 12650-88-3]

Acide phosphorique 85% [N°CAS 7664-38-2]

Hydroxy-Propyl-Méthyl-Cellulose (HPMC) [N°CAS 9004-65-3]Eau purifiée pour laboratoire, par exemple de qualité EN ISO 3696 (eau pour utilisation en laboratoire de chimie analytique - spécification et méthode d'essai [ISO 3696 :1987]).

5. Matériel

Matériel courant de laboratoire

Appareil d'électrophorèse capillaire muni d'un détecteur spectrophotométrique UV

6. Préparation des échantillons

Le vin à analyser est dilué au quart dans de l'eau distillée pour l'analyse en électrophorèse capillaire de façon à se situer dans le domaine de linéarité de la méthode (teneur en lysozyme inférieure à 100 mg/L).

7. Conditions analytiques(données à titre d'exemple)

Capillaire : silice fondue (longueur 37 cm, diamètre 75 µm)

Tampon : Acide Phosphorique (75 mM) HPMC (0,1 %), pH 1,68

Temps d'Injection : 15 sec

Mode d'injection : procédé hydrostatique (pression 3447,38 Pa)

Température : 25°C

Voltage appliqué : 7 kV

Détection : UV 214 nm

8. Calcul

Une courbe d'étalonnage est établie à partir de solutions de lysozyme dans l'eau à 10, 20, 50, et 100 mg/L. Selon la méthode de l'étalonnage externe, la quantification du lysozyme est réalisée en mesurant la surface du pic de lysozyme dans le vin et la comparant à la concentration correspondante sur la courbe d'étalonnage.

Exemplaire certifié conforme Izmir, 22 juin 2012
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2012

9. Caractéristiques de la méthode

9.1. Linéarité de la réponse

L'ajout maximal de lysozyme autorisé dans les vins étant de 500 mg/L, une gamme étalon contenant de 5 à 500 mg/L de lysozyme en solution aqueuse a été préparée. Chaque solution a été analysée cinq fois.

Au-delà de 100 mg/L, la réponse n'est plus linéaire. Le domaine de linéarité de la méthode est compris entre 5 et 100 mg/L comme le montre la droite d'étalonnage de la figure 1.

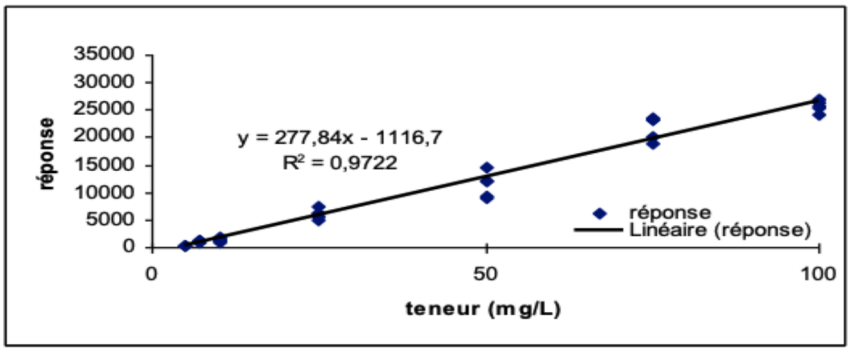


Figure 1 : Linéarité du dosage du lysozyme par ECHP

9.2. Répétabilité

La répétabilité du dosage du lysozyme dans les vins blancs a été déterminée à partir des résultats obtenus sur 20 échantillons de vins additionnés de lysozyme analysés 2 fois de suite de façon à être dans des conditions identiques. Les résultats sont donnés dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Répétabilité du dosage du lysozyme par ECHP

	Valeurs calculées
Répétabilité	
Écart-type en mg/L	**2,63**

Exemplaire certifié conforme Izmir, 22 juin 2012
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2012

CV en %	**1,4%**
Limite r en mg/L	**7,35**
Limite r en %	**4%**

9.3. Reproductibilité

La reproductibilité du dosage du lysozyme dans les vins blancs a été déterminée en analysant le même vin blanc additionné 8 fois de lysozyme à 200 mg/L, à différentes dates. Les résultats sont donnés dans le tableau 2.

Tableau 2 - Reproductibilité du dosage du lysozyme par ECHP

	Valeurs calculées
Reproductibilité	
Écart-type en mg/L	**11,75**
CV en %	**5,8%**
Limite R en mg/L	**32,90**
Limite R en %	**16%**

9.4. Limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) sont déterminées à partir du bruit de fond mesuré à proximité du pic du lysozyme correspondant au premier point d'étalonnage, à savoir 5 mg/L. Les résultats obtenus sont les suivants :

LD = 3 x bruit de fond (en mg/L) = 3 mg/L

LQ = 10 x bruit de fond (en mg/L) = 9 mg/L

9.5. Incertitude

L'incertitude a été évaluée à partir de l'ecart-type de reproductibilité intralaboratoire, elle est de 12%.

Exemplaire certifié conforme Izmir, 22 juin 2012
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2012

10. Bibliographie

1. S. Chauvet, C. Lagrèze, A. Domec, M-H Salagoïty, B. Médina : Dosage du lysozyme dans le vin par électrophorèse capillaire haute performance OIV FV 1274
2. ME. Barbeito, C Coria, C.Chiconofri : Influencia del filtrado de vinos para la determinacion de lisozima segun oeno 8/2007 OIV FV1306

Exemplaire certifié conforme Izmir, 22 juin 2012
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Frederico CASTELLUCCI

© OIV 2012