# RESOLUTION OENO 5/94

# MONO ET DIGLYCÉRIDES ANTIMOUSSE

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 LA PROPOSITION de la Sous-Commission conventionnelle d'unification des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins,

DECIDE :

DE COMPLETER le Codex oenologique international par la monographie "Mono et diglycérides antimousse".

On appelle mono et diglycérides le mélange de mono et diesters du glycérol - avec une petite quantité de triesters - et d'acides gras des huiles et graisses alimentaires. Le mélange de mono et diglycérides utilisé comme antimousse est essentiellement constitué d'esters de l'acide oléique.

Le produit ainsi défini peut contenir de faibles quantités d'acides gras et de glycérol libre. Son utilisation dans des conditions technologiques convenables ne laisse pas de traces mesurables dans le vin après filtration.

## Caractères.

1. Le produit se présente sous forme soit d'un liquide huileux de couleur jaune paille, soit d'un produit pâteux de couleur ivoire, soit d'un solide cireux dur de couleur blanc ou blanc cassé, d'odeur et de goût agréables. La forme solide peut être présentée en flocons, poudre ou petits grains.

Le produit utilisé comme antimousse est liquide à la température ordinaire mais peut se troubler à basse température.

2. Solubilité : insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol, le chloroforme et le benzène.
3. Identification des acides gras et du glycérol après hydrolyse.

Traiter à reflux 1 g d'échantillon par une solution 0,5 M d'hydroxyde de potassium pendant 1 h. Ajouter 15 ml d'eau, acidifier avec de l'acide chlorhydrique dilué à 30 p.



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

100 (v/v) (R) (environ 4 à 5 ml). Il se forme des gouttes huileuses ou un précipité blanc à blanc jaunâtre. Extraire par 5 ml d'hexane les acides gras libérés, séparer le solvant. Répéter l'extraction avec 5 ml d'hexane et réunir les deux extraits.

Réserver la phase aqueuse.

3.1. Caractériser les acides gras dans l'extrait hexanique par chromatographie en phase gazeuse.

3.2. Caractérisation du glycérol.

Introduire 5 ml de la phase aqueuse dans un tube à essai. Ajouter un excès d'hydroxyde de calcium en poudre et placer le tube dans l'eau bouillante pendant 5 min. en agitant de temps en temps, refroidir et filtrer.

Mettre une goutte de filtrat dans un tube à essai et ajouter environ 50 mg d'hydrogénosulfate de potassium. Placer à l'extrémité du tube un papier filtre imbibé de réactif obtenu en mélangeant extemporanément volume à volume une solution de nitrosopentacyanoferrate de sodium (R') et de pipéridine (F'). Chauffer à l'aide d'une petite flamme. Une coloration bleue du papier réactif indique la présence d'acroléine.

La coloration vire au rouge par addition d'hydroxyde de sodium en solution 1 M.

## Essais.

Perte à l'étuve à 100 °C

Peser exactement un poids voisin de 5 g de produit à analyser dans un cristallisoir en verre de 70 mm de diamètre, préalablement séché à l'étuve, refroidi dans un dessiccateur et taré. Introduire le cristallisoir contenant le corps gras dans l'étuve réglée à 103°C, l'y maintenir pendant 30 min., sortir le cristallisoir, le laisser refroidir dans le dessiccateur et peser. Mettre à nouveau l'échantillon 30 min. dans l'étuve et le peser après refroidissement. La perte à l'étuve est terminée quand la diminution de poids ne dépasse pas 0,05 % par demi-heure de chauffage.

$$\%\ eau\ et\ matières\ volatiles = \frac{Perte\ de\ poids \times 100}{Poids\ de\ la\ prise\ d'essai}$$

*La perte à l'étuve à 100°C doit être inférieure à 2 %.*

## Cendres sulfuriques.

Déterminé comme il est indiqué à la p. 121, sur une prise d'essai de 5 g, *le poids des*



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

*cendres sulfuriques doit être inférieur à 0,5 p. 100 (m/m).*

### Arsenic

Déterminé comme il est indiqué à la p 126, sur une prise d'essai de 5 g, *l'arsenic doit être inférieur à 3 mg/kg.*

### Métaux lourds

Procéder à la recherche des métaux lourds:

- Soit après minéralisation à 450 + 5°C du résidu laissé par la détermination de la perte à la dessiccation; reprendre les cendres par 1 ml d'acide chlorhydrique dilué (R) et une goutte d'acide nitrique (R), en chauffant quelques instants sur un bain-marie pour activer la dissolution et transvaser dans un ballon jaugé de 25 ml en rinçant la capsule avec de l'eau distillée et en complétant au trait de jauge.

Prélever un volume v ml de solution correspondant à 2 g d'échantillon à analyser et procéder à la recherche des métaux lourds comme il est indiqué à la p. 130,

- Soit après minéralisation d'une prise d'essai exactement pesée voisine de 5 g par voie liquide au moyen d'acide nitrique (R) et de perhydrol en utilisant éventuellement un digesteur à micro-ondes pour accélérer l'opération.

Transvaser le liquide obtenu dans une fiole jaugée de 25 ml et porter au trait avec les eaux de rinçage. Continuer comme indiqué ci-dessus l'essai des métaux lourds.

*Les métaux lourds, exprimés en plomb, doivent être inférieurs à 10 mg/kg.*

## Acides gras libres.

Préparer 125 ml d'un mélange volume à volume d'alcool isopropylique et de toluène; ajouter 2 ml d'une solution de phénolphtaléine à 1 p. 100 dans l'alcool isopropylique et neutraliser par une solution alcaline jusqu'à coloration rose faible mais persistante.

Dans une fiole conique de 500 ml, peser exactement un poids voisin de 5 g de l'échantillon à analyser; ajouter le mélange solvant neutralisé et dissoudre la prise d'essai en chauffant si nécessaire; en agitant vigoureusement, verser la solution d'hydroxyde de potassium 0,1 M jusqu'à obtention d'une coloration rose identique à celle obtenue lors de la neutralisation du solvant. Soit n ml le volume versé.

Teneur en acides gras libres exprimée en g d'acide oléique p. 100 (m/m):



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

$$\frac{n \times 2.8}{prise\ d,essai\ en\ g}$$

*La teneur en acides gras libres, exprimée en acide oléique, doit être inférieur à 3 p. 100 (m/m).*

### Savons

Dans une fiole conique de 250 ml, peser exactement un poids du produit à analyser voisin de 10 g. Ajouter un mélange de 60 ml d'acétone et de 0,15 ml d'une solution de bleu de bromophénol à 0,5 p. 100 dans l'alcool à 95 % vol. préalablement neutralisé avec une solution d'acide chlorhydrique 0,1 M ou une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M. Chauffer doucement au bain-marie et titrer avec la solution 0,1 M d'acide chlorhydrique jusqu'à disparition de la coloration bleue. Laisser reposer 20 mn.: chauffer jusqu'à ce qu'un éventuel précipité soit redissous et, si la coloration bleue réapparaît, continuer la titration.

1 ml d'acide chlorhydrique en solution 0,1 M correspond à 0,0304 g d'oléate de sodium ($NaC_{18}H_{33}O_2$).

Teneur en savons, exprimée en g d'oléate de sodium p. 100(m/m) :

$$\frac{n \times 3.04}{prise\ d,essai\ en\ g}$$

*La teneur en savons, exprimée en g d'oléate de sodium, doit être inférieure à 6 p. 100 (m/m).*

## a- Monoglycérides.

Préparation de l'échantillon

Faire fondre l'échantillon s'il est solide en le chauffant à une température inférieure de 10 ° à son point de fusion; chauffer également un échantillon liquide qui présenterait un trouble ou des particules. Mélanger vigoureusement.

## Mode opératoire.

Peser exactement, dans un vase cylindrique de 100 ml, une prise d'essai Q de l'échantillon à doser voisine de 1 g; la dissoudre par 25 ml de chloroforme. Transférer



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

cette solution dans une ampoule à décantation, rincer le vase cylindrique avec 25 ml de chloroforme, puis avec 25 ml d'eau et joindre ces liquides au contenu de l'ampoule à décantation.

Boucher celle-ci hermétiquement; agir pendant 30 à 60 s; laisser les deux phases se séparer (ajouter 1 à 2 ml d'acide acétique cristallisable pour briser l'émulsion). Recueillir la phase aqueuse dans une fiole conique de 500 ml à bouchage émeri. Extraire deux fois par 25 ml d'eau la phase chloroformique restant dans l'ampoule à décanter. Séparer la phase aqueuse et la placer dans la fiole conique de 500 ml. Ces extraits aqueux seront utilisés pour le dosage du glycérol libre.

Le chloroforme est transféré de l'ampoule à décanter dans une fiole conique à bouchage émeri de 500 ml. Ajouter 50 ml de solution acétique d'acide périodique (R') en agitant.

Dans 2 autres fioles coniques de 500 ml à bouchage émeri destinées à servir de "blancs" placer 50 ml de chloroforme et 10 ml d'eau. Ajouter 50 ml de solution d'acide périodique acétique (R') en agitant dans chacune des deux fioles. Laisser reposer au moins pendant 30 mn., mais pas plus de 90 min., les 3 fioles ainsi préparées.

A chacun de ces récipients, ajouter en agitant doucement 20 ml de solution d'iodure de potassium (R). Laisser au repos au moins 1 min. mais moins de 5 min. avant le titrage.

Ajouter alors 100 ml d'eau et titrer avec une solution 0,05 M de thiosulfate de sodium en s'aidant d'un agitateur magnétique jusqu'à disparition de la couleur brune de la phase aqueuse; ajouter alors 2 ml de solution d'empois d'amidon (R) et continuer l'addition de réactif jusqu'à disparition de l'iode de la couche chloroformique et disparition de la coloration bleue de la phase aqueuse.

Calculer le pourcentage d'_-monolycérides par la formule :

$$\frac{(B-S)\times M\times 17.927}{W}$$

B est la moyenne du nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium utilisés pour la détermination des blancs contenant le chloroforme.

S est le nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium utilisés pour titrer l'échantillon.

M est la molarité exacte de la solution de thiosulfate de sodium.

P est le poids d'échantillon à analyser contenu dans le volume de chloroforme utilisé pour le dosage.



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

17,927 est le poids moléculaire du monostearate de glycéryle divisé par 20.

*La teneur en _ monoglycérides, exprimée en monostearate de glycéryle, doit être supérieure à 30 p. 100 (m/m).*

### Glycérol libre

Les extraits aqueux obtenus lors du dosage des _-monoglycérides sont additionnés de 50 ml de solution acétique d'acide périodique (R'). Préparer simultanément un blanc en ajoutant à 75 ml d'eau placés dans une fiole conique de 500 ml, 50 ml de solution acétique d'acide périodique (R'). Continuer le dosage comme il est indiqué dans le mode opératoire décrit pour le dosage des _-monoglycérides.

Calculer le pourcentage de glycérol libre par la formule :

$$\frac{(b-S)\times M\times 2.30}{Q}$$

b est le nombre de millilitres de thiosulfate de sodium utilisé pour le dosage du blanc contenant 75 ml d'eau.

S est le nombre de millilitres de thiosulfate de sodium utilisé pour le dosage des extraits aqueux.

M est la molarité de la solution de thiosulfate de sodium.

Q est le poids de la prise d'essai initiale de l'échantillon à doser (voir dosage a monoglycérides).

*Le glycérol libre doit être inférieur à 7 % (m/m).*

## REACTIFS (R)

- Sodium (nitrosopentacyanoferrate) en solution à 5 p. 100 (m/v). Solution aqueuse contenant 5 g de nitrosopentacyanoferrate de sodium (Na2NO Fe(CN)5, 2H2O) pour 100 ml. A préparer extemporanément.

Pipéridine en solution à 20 p. 100 (v/v).

Solution contenant 20 ml de pipéridine (C5 H11N) pour 100 ml.

- Solution acétique d'acide périodique :



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

Dissoudre 5,4 g d'acide périodique (H5 I O6) dans 100 ml d'eau ; ajouter 1900 ml d'acide acétique cristallisable. Mélanger. Conserver dans un flacon brun à bouchage émeri.

- Chloroforme.

Il doit répondre au test suivant : dans deux fioles coniques de 500 ml, placer 50 ml de solution acétique d'acide périodique. Ajouter 50 ml de chloroforme et 10 ml d'eau à l'une et 50 ml d'eau à l'autre. Ajouter à chaque fiole 20 ml de solution d'iodure de potassium (R). Mélanger doucement. Laisser au repos au moins 1 mn. mais moins de 5 min. avant le titrage. Ajouter alors 100 ml d'eau et titrer avec une solution 0,05 M de thiosulfate de sodium en s'aidant d'un agitateur magnétique jusqu'à disparition de la couleur brune de la phase aqueuse; ajouter alors 2 ml de solution d'empois d'amidon (R) et continuer l'addition de réactif jusqu'à disparition de l'iode de la couche chloroformique et disparition de la coloration bleue de la phase aqueuse.

La différence entre les volumes de thiosulfate versés dans les deux titrages ne doit pas excéder 0,5 ml.

## COMMENTAIRES

1. Nous avons comparé les spécifications données par le JECFA (1978), par les USA (21CFR, paragraphes 184-1505 et le Food Chemical Codex) et par la CEE. Voir tableau 1.

Nous avons retenu les spécifications du JECFA en supprimant le spectre IR et en ajoutant les cendres sulfuriques.

2. Les mono et diglycérides peuvent, en fonction de leur teneur en acides gras insaturés, se présenter sous des formes liquide à solide

Les mono et diglycérides utilisés comme antimousses sont des dérivés de l'acide oléique et donc essentiellement liquides, ce sont des surfactants.

3. Le mode opératoire pour le dosage des paramètres retenu est celui figurant dans le JECFA en tenant compte, lorsqu'elle existe, de la description faite dans le Food Chemical Codex ou encore les Official Methods of Analysis of the AOAC.
4. Les réactifs marqués (R) figurent parmi les réactifs décrits dans l'édition 1978 du



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

Codex Oenologique International.

Les réactifs marqués (R') sont nouveaux et décrits dans le document joint à la monographie.

**Tableau 1**

**Comparaison des monographies pour mono et diglycérides**

| Définitions | 1<br>JECFA-1978 | 2<br>21 CFR IUSA | 3<br>EEC |
|---|---|---|---|
| | a-monoglycerides<br><30% | Identiques<br>90% m/m de glycerides | |
| Caractères<br>Présentation<br>Solubilité<br>Spectre IR<br>Caractérisation:<br>• Acides gras<br>• Glycérol | Liquide à solide<br>+<br>+<br>+<br>+ | Liquide à solide<br>+<br>-<br>-<br>- | Liquide ) solide<br>-<br>-<br>-<br>- |
| Essais<br>Teneur en eau<br>Cendres sulfuriques<br>Arsenic mg/kg<br>Métaux lourds mg/kg<br>Plomb mg/kg<br>Indice d'acide | <2% (K. Fischer)<br>-<br>3<br>10<br>-<br>6 | -<br><0.5%<br>3<br>10<br>-<br>6 | <2% (K. Fischer)<br><0.5%<br>3<br>Pas de teneur dangereuse<br>10<br>3% acide oléique (equivalent à indice d'acide de 6) |



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994

| | | | |
|---|---|---|---|
| Savons<br>Glycérol libre<br>Mono and diesters<br>Polyglycérols<br>a-Monoglycerides<br>Total<br>Monoglycerides<br>Indice d'iode<br>Indice d'hydroxyde<br>Indice de saponification | <6% en oleate de sodium<br><7%<br>-<br><30% | -<br><7%<br>-<br>Ces spécifications doivent être conformes aux caractéristiques fournies par le vendeur) | -<br><7%<br>>70%<br><4% du glycérol total<br>-<br>-<br>-<br>-<br>-<br>- |



Exemplaire certifié conforme Paris, 10 juin 1994
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Robert TINLOT

© OIV 1994