



RÉSOLUTION OIV-OENO 572-2017

MONOGRAPHIE SUR LE POLYASPARTATE DE POTASSIUM

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,

COMPTE TENU des travaux du Groupe d'experts « Spécification des produits œnologiques »,

CONSIDÉRANT la résolution de l'OIV OENO-TECHNO 14-543, « Traitement aux polyaspartates »,

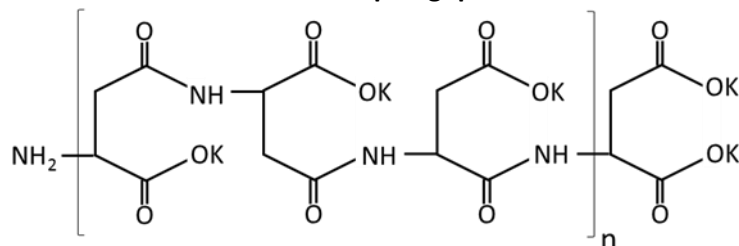
DÉCIDE de compléter le *Codex œnologique international* avec la monographie suivante :

POLYASPARTATE DE POTASSIUM

Nom chimique : Homopolymère du L-aspartate de potassium ou polyaspartate de potassium

Formule chimique : $[C_4H_5NO_3K]_n$

Formule topologique :



où $n \approx 30$

N° CAS : 64723-18-8

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Le polyaspartate de potassium œnologique est exclusivement préparé à partir d'acide L-aspartique. L'acide L-aspartique, monomère utilisé dans le procédé, est produit par fermentation. Un procédé thermique transforme le monomère d'acide L-aspartique en polysuccinimide, un composé insoluble. Le polysuccinimide est ensuite traité avec de l'hydroxyde de potassium en conditions contrôlées afin d'obtenir le polyaspartate de potassium. Ce dernier inhibe la précipitation tartrique grâce à un effet « colloïde protecteur ». Le polyaspartate de potassium est efficace pour la stabilisation tartrique des vins.

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

2. SYNONYMES

Polyaspartate de potassium, A-5D K/SD ; A-5D K SD ; A-5DK/SD ; A-5DK ; KPA.

3. ÉTIQUETAGE

Les indications suivantes doivent apparaître sur l'étiquette de l'emballage :

- le nom et la dénomination de vente,
- la mention « Produit à usage œnologique, utilisation limitée »,
- les additifs éventuels,
- les conditions d'utilisation,
- le numéro de lot et la teneur en polyaspartate de potassium (pureté) ainsi que la date limite d'utilisation et les conditions de stockage (température, humidité et aération),
- le nom ou la raison sociale et l'adresse du fabricant, du conditionneur ou du distributeur,
- la quantité nette,
- l'indication que l'acide aspartique provient d'organismes génétiquement modifiés et, le cas échéant, du caractère modifié.

4. CARACTÉRISATION

4.1 Description

Poudre brun clair inodore contenant 90 % de matière sèche. Elle est entièrement soluble dans l'eau (> 1000 g/L), mais insoluble dans les solvants organiques (< 5 g/L), avec une durée de conservation de quatre ans à température ambiante.

4.2 Formule chimique

Le polyaspartate de potassium est un polymère composé d'unités d'acide aspartique présentant la formule générale suivante : $[C_4H_5NO_3K]_n$, où n correspond au degré de polymérisation moyen ($n \approx 30$).

4.3 Degré de substitution

Le degré de substitution du sel de potassium est d'au moins 91,5 % (en termes de substance anhydre), pour garantir une solubilité optimale.

Évaluer le degré de substitution en employant la méthode décrite ci-après (annexe 1).

4.4 Masse moléculaire

Sa masse moléculaire moyenne, déterminée par chromatographie par perméation sur gel, est de 5000 g/mol, ce qui correspond à un optimum pour l'efficacité du produit.

4.5 Composition

La pureté du produit est vérifiée en procédant au dosage de l'acide aspartique après hydrolyse totale du polymère et en comparant cette valeur à la teneur théorique en monomère contenu dans le polyaspartate de potassium conformément à sa formule moléculaire. Se référer à l'annexe 2 pour la description de la méthode.

La teneur en substance anhydre du polyaspartate de potassium doit être d'au moins 98 %.

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

5. ESSAIS

5.1 Teneur en acide aspartique libre dans le polyaspartate de potassium

La teneur en acide aspartique libre doit être $\leq 2,0$ %.

Le dosage est réalisé selon la méthode décrite en annexe 3.

5.2 Humidité – Perte à la déshydratation

Déterminer la perte de masse d'un gramme de produit sec conservé en étuve à 105 ± 2 °C pendant 12 à 24 heures. La masse doit être constante et la perte de masse doit être inférieure à 10 %.

5.3 Teneur en métaux

Avant de doser les métaux, soumettre l'échantillon à une minéralisation par digestion acide (HNO_3 , H_2O_2 et HCl). La minéralisation s'effectue dans un four à micro-ondes. L'échantillon ne doit pas avoir été broyé ni déshydraté avant la minéralisation.

Les réactifs utilisés pour la minéralisation sont les suivants : HNO_3 (65 %) (Suprapur ou similaire), HCl (37 %) (Suprapur ou similaire) et H_2O_2 (35 %).

L'échantillon de polyaspartate (entre 0,5 et 2 g) est introduit dans une fiole jaugée de 100 mL, auquel on ajoute 25 mL de HNO_3 , 2 mL de HCl et 3 mL de H_2O_2 . À ce stade, le tout est soumis à une digestion dans un four à micro-ondes avec une puissance maximale de 1200 W : puissance à 60 % pendant 1 min, à 30 % pendant 10 min, à 15 % pendant 3 min et à 40 % pendant 15 min. Ensuite, la fiole jaugée est complétée avec de l'eau bidistillée. Le dosage des métaux est pratiqué sur cette solution ainsi obtenue.

5.3.1. Fer

Doser le fer en suivant la méthode décrite au chapitre II du *Codex œnologique international*. La teneur en fer doit être inférieure à 10 mg/kg.

5.3.2. Arsenic

Doser l'arsenic en suivant la méthode décrite au chapitre II du *Codex œnologique international*. La teneur en arsenic doit être inférieure à 3 mg/kg.

5.3.3. Plomb

Doser le plomb en suivant la méthode décrite au chapitre II du *Codex œnologique international*. La teneur en plomb doit être inférieure à 2 mg/kg.

5.3.4. Mercure

Doser le mercure en suivant la méthode décrite au chapitre II du *Codex œnologique international*. La teneur en mercure doit être inférieure à 1 mg/kg.

5.3.5. Cadmium

Doser le cadmium en suivant la méthode décrite au chapitre II du *Codex œnologique international*. La teneur en cadmium doit être inférieure à 1 mg/kg.

Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale

Jean-Marie AURAND

ANNEXE 1

1. Détermination du degré de substitution

1.1 Principe

Le degré de substitution du polyaspartate de potassium commercial est déterminé par l'analyse de la teneur en potassium par la méthode ICP-OES.

Le dosage du potassium est réalisé par l'intermédiaire d'une courbe d'étalonnage obtenue en injectant une solution étalon de référence à cinq concentrations différentes.

Pour calculer le degré de substitution, la concentration en potassium mesurée est comparée à la teneur théorique à 100 % de substitution.

1.2 Matériel

- 1.2.1 Fioles jaugées de 100 mL (classe A)
- 1.2.2 Chambre d'atomisation cyclonique, torche quartz standard
- 1.2.3 Bain à ultrasons
- 1.2.4 Dispositif de filtration à membrane de porosité 0,45 µm

1.3 Réactifs

- 1.3.1 Acide nitrique (HNO₃) à 65 %
- 1.3.2 Solution étalon de potassium (K) à 10 000 mg/L (solution étalon de potassium ICP/DCP à 10 000 µg/mL d'HNO₃ à 5 %)
- 1.3.3 Eau bidistillée de résistivité supérieure à 10 MΩ.cm
- 1.3.4 Solution aqueuse acidifiée à 0,5 % d'HNO₃ (blanc d'étalonnage) à utiliser comme diluant pour la préparation des solutions d'étalonnage
- 1.3.5 Solutions d'étalonnage préparées par dilution de la solution mère (point 1.3.2) ; les valeurs de référence sont indiquées ci-après :

	ÉT 1	ÉT 2	ÉT 3	ÉT 4	ÉT 5
Potassium (mg/L)	200	400	600	1000	2000

1.4 Mode opératoire

La préparation à analyser (KPA) est dissoute dans de l'eau bidistillée.

- 1.4.1 Solution de KPA à 5000 mg/L (a) : peser directement environ 500 g (noter le poids exact) dans une fiole jaugée de 100 mL, compléter avec de l'eau bidistillée (1.3.3) et mélanger dans le bain à ultrasons (1.2.3) pendant au moins 10 minutes. Filtrer sur membranes de porosité 0,45 µm.
- 1.4.2 Préparer la courbe d'étalonnage à 5 points avec les solutions étalons comme indiqué au point 1.3.5.

Les résultats doivent être calculés sur la moyenne de trois mesures.

Si la concentration se trouve au-delà de la courbe d'étalonnage, l'échantillon doit être dilué pour que sa concentration se trouve dans la courbe d'étalonnage.

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

Pour calculer le degré de substitution, comparer la concentration en potassium mesurée à la teneur théorique établie à 100 % de substitution (voir point 1.5).

1.5 Calculs

La teneur en potassium est calculée par le processeur du logiciel d'acquisition. Le calcul à effectuer est le suivant :

$$A = A' \times n \quad (a)$$

où :

A : concentration en mg/L de l'échantillon,

A' : concentration en mg/L de l'échantillon dilué,

n : facteur de dilution.

Le pourcentage de potassium dans l'échantillon de KPA, exprimé en poids sec, est calculé avec la formule (b) :

$$\% K_{(poidssec)} = A \cdot \frac{100}{w} \cdot \frac{100}{(100 - h\%)} \quad (b)$$

où :

A : résultat de l'équation (a),

w : mg/L de polyaspartate de potassium

h% : humidité de l'échantillon (pourcentage d'humidité).

Le degré de substitution (DS_K) est calculé avec l'équation (c) :

$$\% DS_K = \frac{\% K_{(poidssec)}}{\frac{MA_K}{MM_{monomèreKPA}} \cdot 100} \quad (c)$$

où :

MA_K : masse atomique du potassium,

$MM_{monomèreKPA}$: masse moléculaire calculée du monomère de polyaspartate.

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

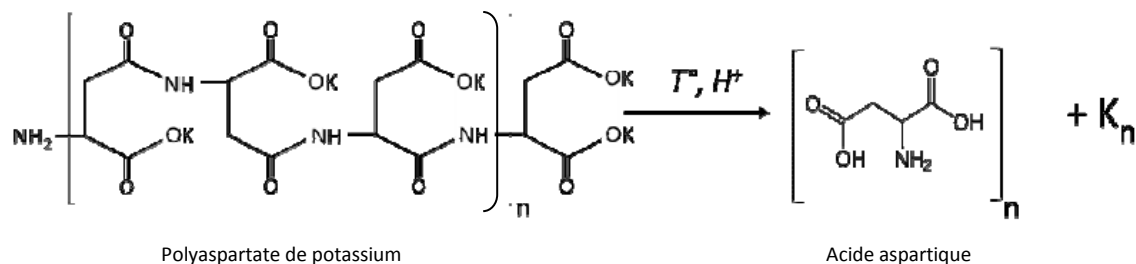
ANNEXE 2

2. Détermination de la pureté du polyaspartate de potassium

2.1 PRINCIPE

Analyse par CLHP-FLD de la teneur en acide aspartique libre après hydrolyse acide.

Le principe consiste à doser par CLHP l'acide aspartique libre après hydrolyse acide du KPA. Cette hydrolyse acide se déroule dans des conditions permettant la dépolymérisation complète du KPA :



2.2 MATÉRIEL / APPAREILLAGE

- 2.2.1 Plaque chauffante pour l'hydrolyse acide
- 2.2.2 Flacons en verre teinté de 4 mL avec bouchon à vis
- 2.2.3 Balance de précision à 0,1 mg
- 2.2.4 Fioles jaugées
- 2.2.5 Système CLHP incluant une pompe quaternaire, un échantillonneur automatique, un thermostat et un détecteur FLD
- 2.2.6 Colonne C18 (par exemple Synchronis aQ C18, 4,6 x 250 mm ; 5 μ m (Thermo))
- 2.2.7 Dispositif de filtration à membranes de porosité 0,2 μ m.

2.3 RÉACTIFS ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Pour l'hydrolyse acide

- 2.3.1 Solution de métabisulfite de potassium ($Na_2S_2O_2$) (n° Cas 16731-55-8) à une concentration de 10 g/L
- 2.3.2 Acide chlorhydrique (HCl) 6 M
- 2.3.3 Hydroxyde de sodium (NaOH) 5 M
- 2.3.4 Eau bidistillée de résistivité supérieure à 10 m Ω .cm
- 2.3.5 Polyaspartate de potassium

Pour la préparation de l'échantillon

- 2.3.6 Acide aminocaproïque ($C_6H_{13}NO_2$, n° CAS : 60-32-2)

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

2.4 MODE OPÉRATOIRE

Le mode opératoire comporte trois étapes :

- hydrolyse acide à chaud de l'échantillon de polyaspartate de potassium,
- préparation des échantillons pour l'analyse par CLHP-FLD des solutions étalons qui détermineront la concentration en acide aspartique,
- analyse de l'acide aspartique libre après hydrolyse par CLHP (voir annexe 3).

2.4.1 Phase 1 : hydrolyse acide

2.4.1.1 Transférer dans un flacon de 4 mL (2.2.2) :

0,2 mL de solution de métabisulfite de sodium à 10 g/L (2.3.1),

0,5 g de polyaspartate de potassium pesé au mg près,

2 mL d'HCl 6 N (2.3.2).

2.4.1.2 Chauffer à 108 ± 2 °C pendant 72 heures (2.2.1).

2.4.1.3 Transférer dans une fiole jaugée de 10 mL, ajouter 2,4 mL de NaOH 5 M (2.3.3) et compléter avec de l'eau bidistillée (2.3.4).

2.4.2 Phase 2 : préparation de l'échantillon pour analyse CLHP

2.4.2.1 Microfiltrer 5 mL de média (2.4.1.3) à 0,20 µm (2.2.7) dans une fiole jaugée de 20 mL

2.4.2.2 Ajouter 0,2 mL d'étalon interne (acide aminocaproïque) (2.3.6)

2.4.2.3 Compléter avec de l'eau bidistillée.

2.4.3 Phase 3 : Analyse des échantillons par CLHP (voir annexe 3)

CALCULS

La concentration en polyaspartate (KPA) est calculée de la manière suivante :

$KPA \text{ (mg/L)} = (\text{acide aspartique hydrolysé} - \text{acide aspartique libre avant l'hydrolyse}) \times f_{KPA}$

où $f_{KAP} = 1,15$ est le facteur de conversion du KPA en acide aspartique, calculé à partir du rapport entre la masse moléculaire du monomère de KPA (MM moyenne des monomères de KPA ASDK SD = 154) et la masse moléculaire de l'acide aspartique (133,1), conformément à l'équation :

$$f_{KPA} = \frac{MM_{\text{monomère_KPA}}}{MM_{\text{acide_aspartique}}} = 1,15$$

où l'acide aspartique libre est déterminé selon l'annexe 3.

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

ANNEXE 3

3. Dosage de l'acide aspartique libre

3.1 PRINCIPE

Le dosage de l'acide aspartique dans le polyaspartate de potassium tel qu'il a été produit est réalisé par CLHP couplée à une détection fluorimétrique (FLD), après dérivation de l'acide aspartique avec l'ortho-phthalaldéhyde (OPA). Le dosage du potassium est réalisé par l'intermédiaire d'une courbe d'étalonnage obtenue en injectant les solutions étalons de référence.

3.2 MATÉRIEL / APPAREILLAGE

3.2.1 Fioles jaugées

3.2.2 Système CLHP incluant une pompe quaternaire, un échantillonneur automatique, un thermostat et un détecteur FLD

3.2.3 Colonne C18, par exemple Synchronis aQ C18 4,6 x 250 mm ; 5 µm.

3.3 RÉACTIFS

3.3.1 Acide aspartique (acide D,L-aspartique, $C_4H_7NO_4 \geq 99\%$, n° CAS : 617-45-8)

3.3.2 Solution 1 : acide aspartique à 8000 mg/L dans de l'eau bidistillée

3.3.3 Solution 2 : acide aspartique à 200 mg/L dans de l'eau bidistillée

3.3.4 Acide aminocaproïque ($C_6H_{13}NO_2$, n° CAS : 60-32-2)

3.3.5 Solution mère d'acide aminocaproïque à 1000 mg/L dans de l'eau bidistillée

3.3.6 Solutions d'étalonnage préparées par dilution de la solution 1 (point 3.3.2) et de la solution 2 (3.3.3), dont les valeurs de référence sont indiquées ci-après :

	ÉT 1	ÉT 2	ÉT 3	ÉT 4	ÉT 5	ÉT 6
mL H ₂ O	18,8	19,0	15,0	19,750	19,375	18,750
mL Solution 1	-	-	-	0,250	0,625	1,250
mL Solution 2	0,2	1,0	5,0	-	-	-
Acide aspartique (mg/L)	2	10	50	100	250	500

3.3.7 Méthanol pour CLHP

3.3.8 Tétrahydrofurane pour CLHP

3.3.9 Acétate de sodium anhydre (n° CAS : 127-09-3)

3.3.10 Acétonitrile (CH₃CN) pour CLHP

3.3.11 Tétraborate de sodium décahydraté (Na₂B₄O₇·10H₂O, n° CAS : 1303-96-4)

3.3.12 O-phthalaldéhyde (OPA) : ($C_8H_6O_2 \geq 99\%$, n° CAS : 643-79-8)

3.3.13 Mercaptoéthanol : ($C_2H_6OS \geq 99\%$, n° CAS : 60-24-2)

3.3.14 Eau bidistillée de résistivité supérieure à 10 MΩ.cm

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

3.3.15 Solution de dérivation : dans une fiole jaugée de 10 mL, introduire 100 mg d'OPA, 200 µL de mercaptoéthanol, 1 mL de méthanol et compléter avec une solution tampon à pH 10,5 de tétraborate de sodium décahydraté 0,1 M.

La solution doit être préparée juste avant utilisation car elle se dégrade dans la journée suivant sa préparation.

3.4 PHASES MOBILES

3.4.1 [canal A] : eau ultra-pure

3.4.2 [canal B] : tampon acétate de sodium 0,05 M/tétrahydrofurane (96:4 ; v/v)

3.4.3 [canal C] : méthanol

3.4.4 [canal D] : acétonitrile

3.5 MODE OPÉRATOIRE

La méthode comporte une réaction de dérivation de l'acide aspartique avec l'o-phthalaldéhyde (OPA) ; le taux de recouvrement pour ce processus est de 100 %.

Les paramètres instrumentaux sont indiqués ci-après :

- température de la colonne : 40° C,
- longueur d'onde (λ) : FLD Ex 340 nm, Em 450 nm,
- la séparation est réalisée en mode gradient (voir le point 3.4, Phases mobiles) :

Temps (min)	% B	% C	% D	Débit (mL/min)
0,00	100,0	0,0	0,0	1,1
3,00	100,0	0,0	0,0	1,1
15,00	50,0	25,0	25,0	1,1
17,00	84,0	8,0	8,0	1,1
18,00	100,0	0,0	0,0	1,1
Temps d'exécution : 21 min + 2 min de temps d'arrêt				

3.5.1 Préparer les solutions d'étalonnage en mélangeant 5,0 mL de la solution étalon (3.3.6) et 0,2 mL de la solution d'étalon interne (3.3.5) dans une fiole jaugée de 20 mL, puis compléter avec de l'eau bidistillée et agiter.

3.5.2 Diluer 5,0 µL d'échantillon (annexe 2, point 2.4.2) avec 20 µL de méthanol, puis dériver avec 0,5 µL d'OPA. Mélanger dix fois 10,0 µL de la solution obtenue dans l'injecteur, puis injecter après 0,5 min.

3.5.3 Si les résultats excèdent la limite supérieure de la courbe d'étalonnage, diluer l'échantillon et répéter la procédure analytique.

3.6 CALCULS

La concentration de l'acide aspartique dans l'échantillon, exprimée en mg/L, est obtenue en appliquant la formule suivante :

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND

$$Y = A \cdot f \cdot d$$

où :

Y : concentration en acide aspartique dans l'échantillon, en mg/L,
A : aire du pic du chromatogramme,
f : facteur de réponse du pic du chromatogramme,
d : facteur de dilution.

*Exemplaire certifié conforme
Sofia, le 2 juin 2017
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale*

Jean-Marie AURAND