

# Une méthode usuelle pour l'estimation de l'oxydabilité des vins

NICOLAS VIVAS, NATHALIE VIVAS DE GAULEJAC, MARIE FRANÇOISE NONIER

Tonnellerie Demptos, détaché au CESAMO  
(Centre d'Etudes Structurales et d'Analyse des Molécules Organiques)  
ISM, Université Bordeaux 1  
351, cours de la libération - 33405 Talence  
[n.vivas@ism.u-bordeaux1.fr](mailto:n.vivas@ism.u-bordeaux1.fr)

---

MOTS CLES : Composés phénoliques, couples redox, titrage potentiométrique, réduction, oxydation

---

## RESUME

---

Ce travail présente une méthode de détermination de l'oxydabilité des vins et des milieux liquides riches en composés phénoliques. Il s'agit du titrage potentiométrique employant le  $TiCl_3$  comme agent de réduction et le dichlorophénolindophénol (DCPIP) comme agent d'oxydation.

Les points critiques de la méthode ont été analysés séparément : importance du pH, nécessité de la prédilution des échantillons, interaction des éléments de la solution de dilution dans le titrage, nécessité de la réduction préalable des échantillons avant analyse. Quelques paramètres de validation de la méthode ont été présentés.

Dans un deuxième temps, des expériences ont permis de faire le lien entre des travaux de la littérature ou des données de la pratique et les résultats obtenus par le titrage potentiométrique. Les conclusions montrent une bonne concordance entre les différentes données. (Bulletin de l'OIV, 2008, vol. 81, n° 929-931, p. 357-379)



www.demptos.fr  
Conférence du département R&D **DEMPOTOS**

## A convenient method for wines oxidability estimation

---

KEYWORDS: Phenolic compounds, redox couples, potentiometric titration, reduction, oxidation

---

### SUMMARY

---

This article is presenting a method for the determination of an oxidability index in wines and rich polyphenolic media. We used potentiometric titration using  $TiCl_3$  as reducing solution and dichlorophenolindophenol (DCPIP) as oxidating solution.

Main critical points of the method were discussed separately and specific influence was clarified by a serie of experiences. Particularly: importance of pH, necessity of pre-dilution samples, interaction of dilution solution's compounds with the titration of wines or polyphenol solutions, useful of samples pre-reduction before analysis.

In a second part, we conducted a comparison of oxidoreduction properties of wines from literatures and our own research with results obtained by potentiometric titration. The two origins of information gave the same conclusion and permitted to confirm the validity of this new approach in the field of oxidations.

## 1. INTRODUCTION

Au cours de l'élaboration, du travail et du traitement des vins, l'oxygène et les oxydations qu'il provoque, représente un ensemble de phénomènes spontanés et quasiment permanents. Le vin est un milieu oxydable parce qu'il renferme à la fois des catalyseurs d'oxydations et des substrats, principalement les composés phénoliques (Vivas *et al.*, 1993). Si on sait relativement bien doser l'oxygène dissous, la teneur en substances oxydables et en métaux, en revanche, la réceptivité du vin à l'égard de l'oxygène et de ces effets est difficile à cerner. La mesure du potentiel d'oxydoréduction n'est qu'une image, à un instant donné, de l'état oxydoréducteur du milieu (Vivas *et al.*, 1996). Mais il ne présume pas de l'état de ces équilibres redox présents et à venir. L'estimation, par une méthode globale, de la quantité de couple redox et de la portion des formes réduites et oxydées, peut présenter pour l'œnologie une avancée utile.

C'est à Ribéreau-Gayon et Gardrat (1957) que l'on doit les premiers travaux dans les conditions du vin. Ces auteurs ont tenté par titrage potentiométrique, avec des oxydants et des réducteurs convenablement choisis, de doser puis de suivre l'état des couples redox et leurs sensibilités à l'oxydation au cours d'expériences conduites en conditions contrôlées, en particulier, en absence d'oxygène pour ne pas interférer avec le dosage, sur des substances de nature connue et sur des vins supplémentés en différents produits (Bleu de méthylène, SO<sub>2</sub>, ac. ascorbique, tanins, anthocyanes). Dans leurs conditions analytiques, les vins et les composés phénoliques testés, se réduisent et s'oxydent à des valeurs de potentiel d'oxydoréduction correspondant aux plages d'oxydoréduction des vins dans les conditions de la pratique (0-100 mV à 300-400 mV). D'autre part, les composés phénoliques analysés forment des systèmes oxydoréducteurs autonomes qui peuvent se réduire et s'oxyder aisément. Enfin, au cours du vieillissement des vins, des modifications de l'allure des courbes de titrage apparaissent et sont probablement en relation avec des modifications de structure des tanins et de la matière colorante.

Depuis lors, peu d'avancées ont été enregistrées dans ce domaine, malgré l'emploi d'autres méthodes ou d'outils plus spécifiques. Une étude récente a permis de montrer des corrélations significatives entre la consommation d'oxygène, le niveau de certaines substances à l'origine de déviations olfactives et les résultats de titrage potentiométrique ; l'ensemble ayant été relié aux résultats de dégustation (Oliveira *et al.*, 2002 ; Silva Ferreira *et al.*, 2003). De la même façon, nous avons pu corréler des données de titration ainsi que des observations expérimentales et pratiques concernant l'oxydabilité des principales classes de composés phénoliques (Vivas, 1997), en particulier, l'oxydabilité plus élevée de la (-)-épicatechol par rapport à la (+)-catéchol (Vivas *et al.*, 2004) ; signalée par Freitas *et al.* (1996) en utilisant une tout autre démarche. D'autres résultats plus récents montrent des relations évidentes entre l'aspect des courbes de titrage et des opérations de traitement des vins en cours d'élevage, dans le cas d'essais de terrain (Vivas de Gaulejac *et al.*, 2006).

C'est ainsi que la méthode de titrage potentiométrique donne en œnologie, dans une grande majorité des cas, des résultats en accord avec des conclusions, soit attendues par la pratique, soit confirmées par des analyses plus classiques.

Cependant pour l'étude plus rigoureuse et spécifique des substances oxydoréductibles, d'autres méthodes semblent être plus recommandées. Il s'agit du dosage des radicaux libres par différents protocoles (Saint-Cricq de Gaulejac *et al.*, 1999) ou du titrage par voltamétrie cyclique (Hapiot *et al.*, 1996 ; Kilmartin *et al.*, 2001) ou encore par électrodétection couplée à l'analyse par injection en flux (Mannino *et al.*, 1998).

Dans ce travail, nous proposons l'étude des points critiques du titrage potentiométrique, une validation interne de la méthode et la présentation de diverses applications.

## 2. CONDITIONS D'APPLICATION DE LA MÉTHODE

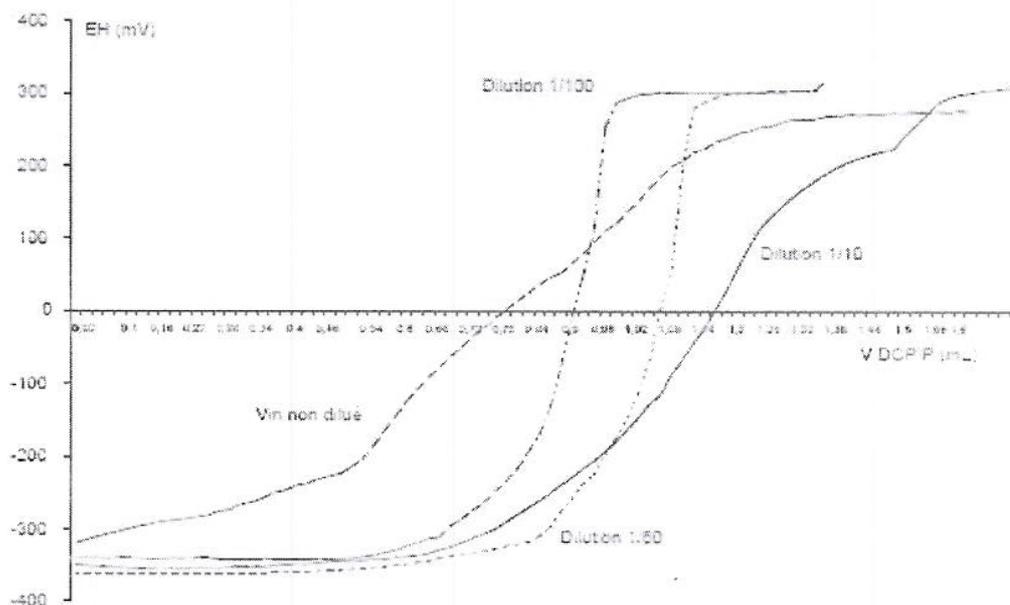
### 2.1. Étude de certains points critiques de la méthode

Les problèmes relatifs à l'étalonnage de l'électrode, à la stabilité des mesures et à la validité de la mesure ont été présentés par ailleurs et nous n'y reviendrons pas (Vivas *et al.*, 1992 ; Vivas *et al.*, 1996).

Concernant plus spécifiquement le titrage potentiométrique, le choix des conditions opératoires, les valeurs statistiques des résultats obtenus et leur adéquation avec les données théoriques ont déjà fait l'objet d'un article (Vivas *et al.*, 2004). Il reste cependant un certain nombre de points importants à considérer, en particulier la nécessité des dilutions, le rôle éventuel des composants de la solution de dilution dans le titrage, l'importance du pH et la nature des substances titrées.

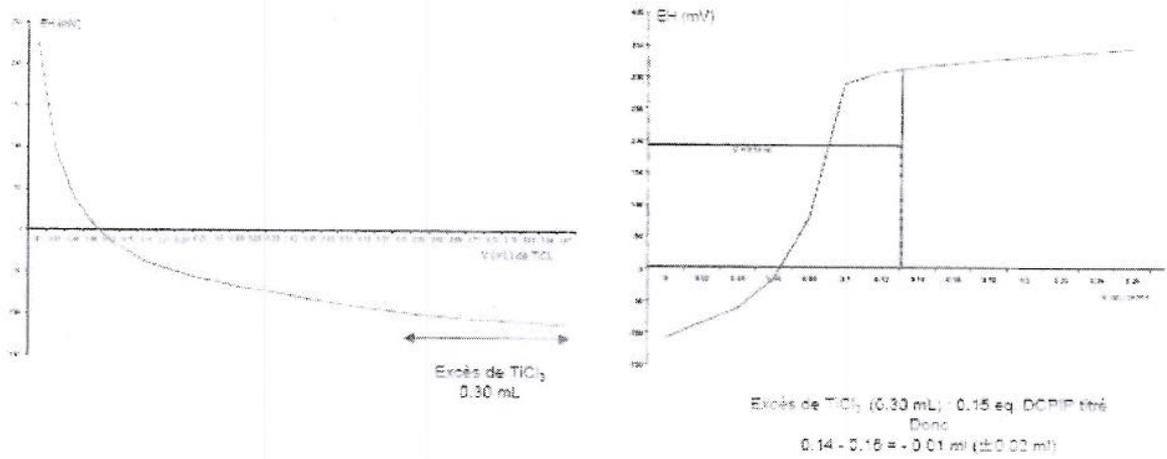
La dilution des échantillons est nécessaire pour diminuer la consommation des réactifs et le temps de titrage. Le vin rouge non dilué ou dilué au 1/10 donne des courbes de titrage qui ne sont jamais complètement terminées pour des quantités de DCPIP inférieures à 2 mL avec la présence d'épaulements accentués sur les courbes (Figure 1). En revanche, pour des dilutions plus importantes (1/50, 1/100) les courbes sont nettes et présentent un point de demi-équivalence (E0) parfaitement mesurable. Dans nos conditions expérimentales, la dilution au 1/50 semble suffisante pour obtenir dans un temps relativement court, pour un minimum de DCPIP, une courbe complète et reproductible. Pour les vins blancs, en relation avec leurs teneurs en polyphénols totaux, une dilution au 1/10 est suffisante.

**Fig. 1.** Influence du niveau de dilution d'un échantillon de vin rouge sur l'allure des courbes de titrage en oxydation. La réduction est obtenue dans tous les cas par ajout de 2.5 mL de  $TiCl_3$  N/10.

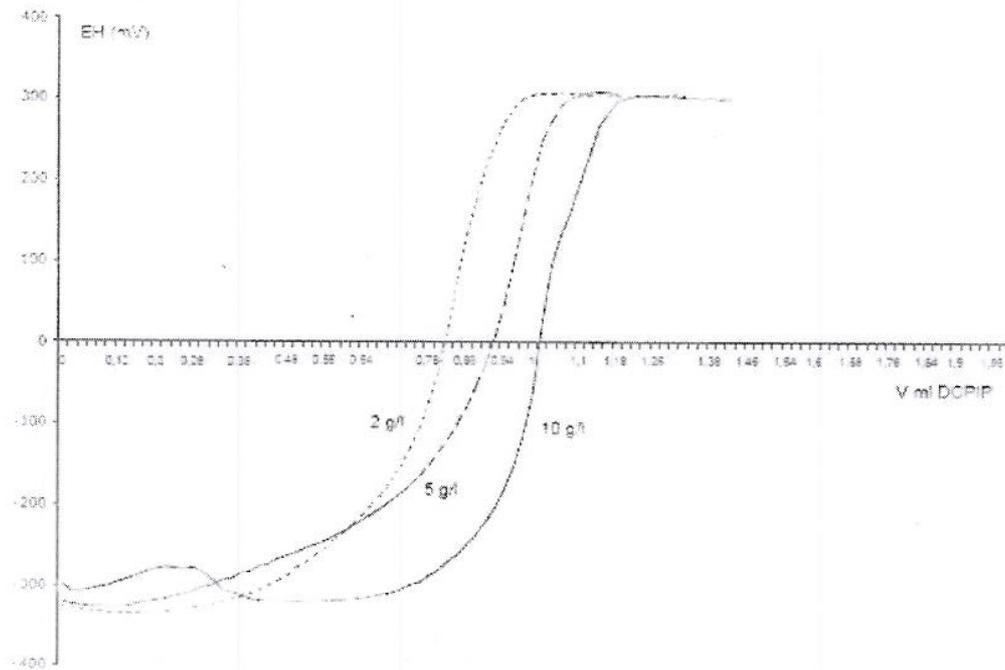


Afin de s'assurer que les constituants de la solution de dilution n'interfèrent pas de façon sensible dans le titrage des couples redox des échantillons analysés, nous avons réalisé le titrage de l'éthanol et de l'acide tartrique. Concernant l'éthanol, sur la figure 2, nous observons une courbe classique de réduction dont la fin de réaction peu lisible nous a conduits à ajouter un excédant de  $TiCl_3$  estimé à 0.3 mL. Puis, nous avons conduit la titration en oxydation qui a nécessité pour être complète 0.14 mL de DCPIP. On sait qu'une mole de  $TiCl_3$  titre  $\frac{1}{2}$  mole de DCPIP. Dans ces conditions, l'excédent de  $TiCl_3$  (0.3 mL) a été titré par le DCPIP (0.14 mL) à plus ou moins 0.01 mL. La reproduction des expériences plusieurs fois (8) montre que ce titrage est reproductible à  $\pm 0.02$  mL. Il s'avère donc que l'éthanol n'interfère pas lors des titrages en oxydation et que la consommation de DCPIP ne correspond qu'au titrage de l'excès de  $TiCl_3$ . Pour l'acide tartrique (figure 3), nous obtenons des résultats en tout point comparables à ceux de l'éthanol, avec cependant une différence notable : en effet, plus la concentration en acide tartrique est élevée et plus on consomme de DCPIP pour titrer l'excès de  $TiCl_3$ . Ceci doit être mis en relation avec une diminution du pH qui réduit l'oxydabilité des substances à titrer dans la solution. On se référera au paragraphe suivant qui illustre la dépendance de l'oxydabilité au pH.

**Fig. 2.** Titration en réduction puis en oxydation d'une solution éthanolique à 12% vol.  
Estimation de la part éventuelle de l'éthanol dans la consommation de DCPIP

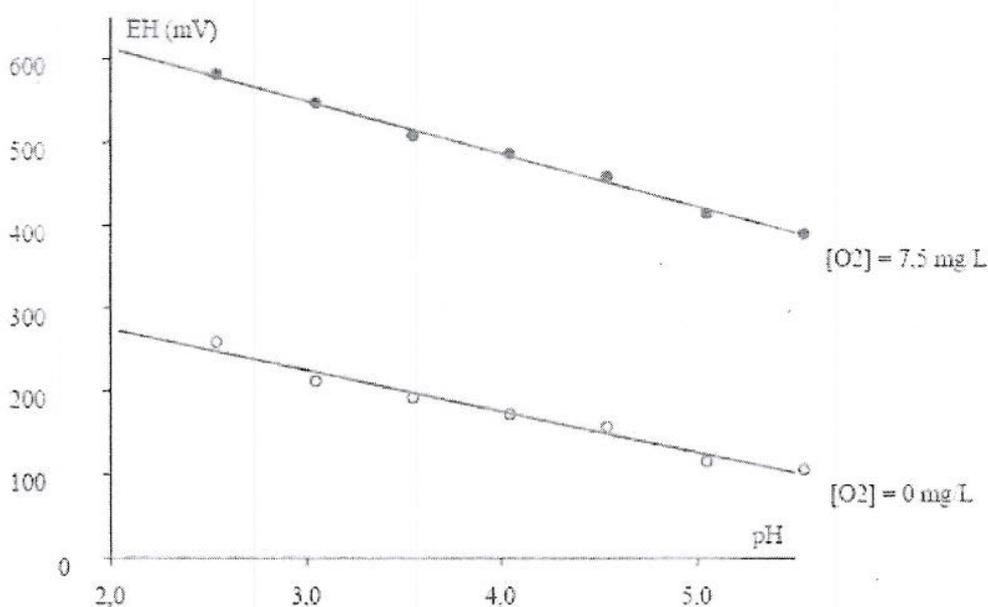


**Fig. 3.** Titration en oxydation d'une solution hydroalcoolique (12% vol.) contenant 2, 5 et 10 g/L d'acide tartrique. Au préalable l'étape de réduction est pratiquée avant titrage en oxydation par  $TiCl_3$  1/10.

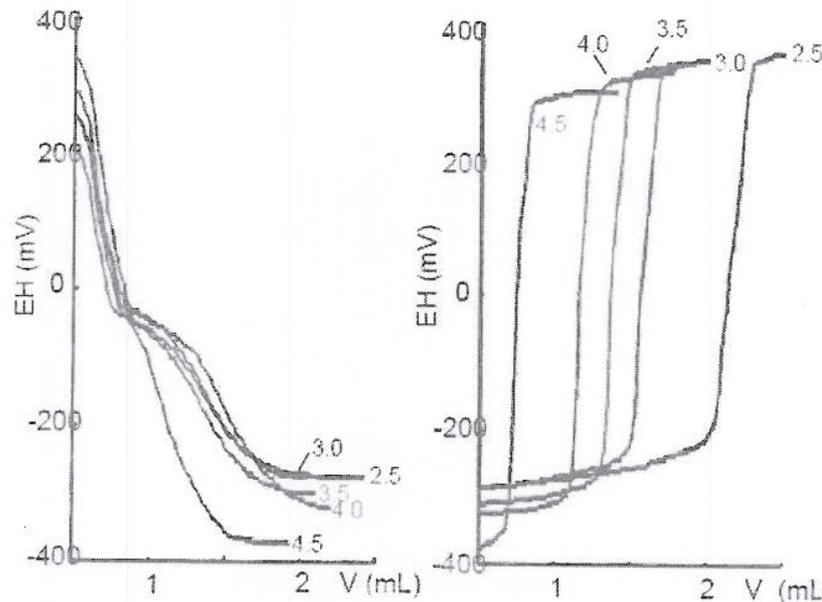


En accord avec la loi de Nernst, nous observons au laboratoire, quelle que soit la dose d'oxygène considérée, que l'augmentation du pH favorise la diminution du potentiel d'oxydoréduction (Figure 4). Ceci conduit à l'élévation de la proportion de formes réduites des couples redox, à l'origine d'une plus grande oxydabilité. On comprend, dans ces conditions, que le pH a une influence déterminante sur l'allure de la courbe de titrage. En effet, l'augmentation du pH facilite l'oxydation du milieu (figure 5). Pour cela, lors de la préparation des échantillons par dilution dans un milieu hydroalcoolique, il convient de prendre soin d'ajuster la valeur du pH de la solution de dilution au pH du vin ou de l'échantillon à analyser.

**Fig. 4.** Influence du pH sur la valeur du potentiel d'oxydoréduction, pour une solution hydroalcoolique (12% vol. EtOH, 5 g/L ac. tartrique, NaOH N/10 qsp pH) sans oxygène dissous (EH<sub>i</sub>) et pour une teneur proche de la saturation (EH<sub>s</sub>).

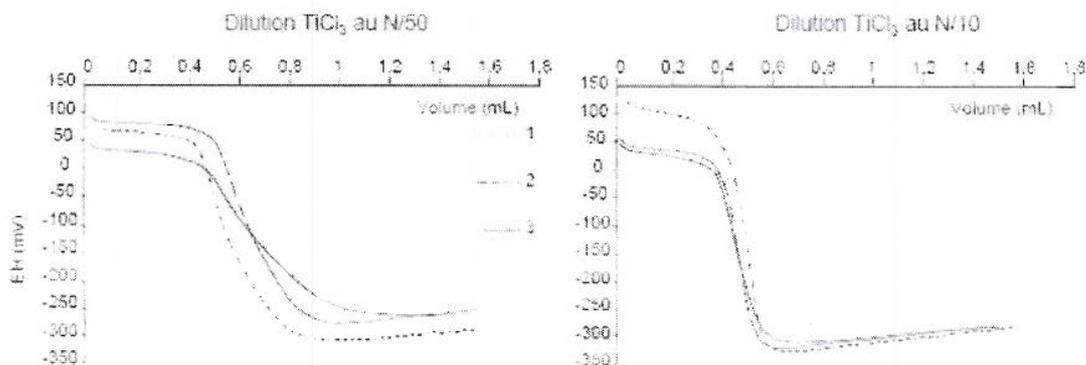


**Fig. 5.** Influence du pH sur les courbes de titration en réduction et en oxydation d'une solution de (+)-catéchol (1 g/L) en solution hydroalcoolique (12% vol. EtOH, 5 g/L ac. tartrique). Les différentes valeurs de pH de 2.5 à 4.5 sont obtenues par ajustement du pH de la solution hydroalcoolique par NaOH N avant analyse. V, volume de titrateur en mL (TiCl<sub>3</sub> N/10 en réduction, DCPIP N/20 en oxydation).



L'étape de réduction préalable est importante puisqu'elle permet de fixer un point de départ commun à tous les échantillons. En effet, les vins ou les solutions présentent un mélange de couples redox en équilibre dont on ne connaît pas a priori la valeur. Ainsi, par convention, nous amenons le milieu à un état de réduction complet qui représente le point de départ de l'expérience de titrage. Ensuite, nous procédons au titrage complet des couples redox du milieu dans le sens réduction/oxydation par un oxydant convenablement choisi, ici le dichlorophénolindophénol. Sur la figure 6, nous avons reporté une expérience réalisée avec un vin rouge réduit par une solution de TiCl<sub>3</sub> à N/10 ou à N/50, le titrage est répété 3 fois. On note que l'inflexion des courbes de réduction, marquant le début de la chute brutale du EH et l'évolution rapide des couples redox vers les formes réduites, s'opère pour les deux solutions (N/10, N/50) au voisinage de 0.4 à 0.5 mL de TiCl<sub>3</sub>. Pour la dilution à N/10 la diminution du EH vers son niveau minimum est très rapide et la réduction est totale à 0.5 mL de TiCl<sub>3</sub>. Pour la solution au N/50, la baisse du EH est plus longue et nécessite pour atteindre le plateau de réduction 0.8 à 0.9 mL. Sur un échantillonnage de vins supérieur à 500 échantillons, de vins rouges comme de vins blancs, la dose standard de TiCl<sub>3</sub> nécessaire à la réduction totale des couples redox n'est jamais supérieure à 1.5 mL dans 95% des cas et à 2 mL dans 5% des cas. Par précaution, nous avons retenu une valeur de 2.5 mL de TiCl<sub>3</sub> à N/10, préalable au titrage en oxydation des échantillons par le DCPIP.

**Fig. 6.** Titration en réduction d'un vin rouge dilué au 1/50 (3 répétitions). Influence du titre de la solution de  $TiCl_3$  (facteur de dilution N/50 et N/10).



## 2.2. Détermination d'un protocole standard de titrage

### 2.2.1. Principe de la méthode

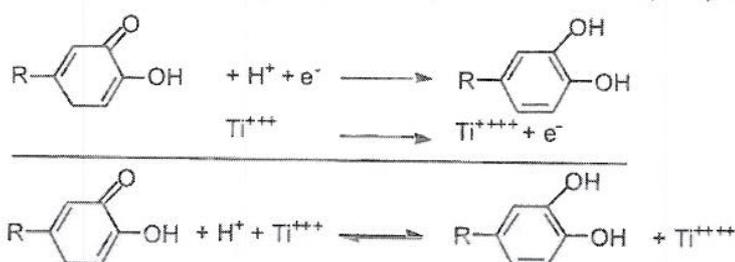
Le titrage potentiométrique se réalise en deux étapes ; car, dans un milieu, les couples redox sont en équilibre dont on ne connaît pas le niveau. Il s'agit donc, dans une première phase, de réduire totalement le milieu pour avoir un point de début de titrage connu. À ce stade, tous les couples redox sont sous une forme réduite. Dans une seconde phase, le même échantillon est oxydé par un agent oxydant spécifique. On obtient une deuxième courbe complète de titration des couples redox du milieu en débutant par 100% des couples redox sous forme réduite et finissant par 100% des couples redox sous forme oxydée.

### 2.2.2. Appareillage

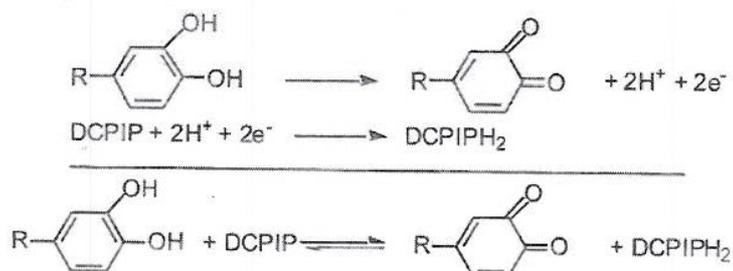
Nous utilisons un titrateur (dans notre cas, il s'agit du DL50™ Metler Toledo) composé de burettes interchangeables de 10 mL (DV910™). L'échantillon de vin se place au niveau de la tête de titrage. La burette, contenant l'agent oxydant, intervient après la réduction complète de l'échantillon. Le potentiel redox est mesuré par une électrode potentiométrique (DM140-SC™) combinée avec une électrode à anneau de platine pour la titration entre 0-70°C, avec KCl 3M saturé d'AgCl comme électrolyte de référence. L'électrode est calibrée avec une solution tampon redox, nettoyée une nuit complète dans du peroxyde d'hydrogène (33% vol.) et débarrassée de ses impuretés par sonication de quelques secondes dans l'eau. L'ensemble de l'équipement est contrôlé par un ordinateur.

### 2.2.3. Choix de l'agent de titration

Les agents d'oxydation et de réduction ne doivent pas affecter la structure des polyphénols et doivent permettre une titration en retour sans modification. Différents agents ont été testés : l'hydrosulfite de sodium pour la réduction est instable en solution ; pour l'oxydation, le peroxyde d'hydrogène est très instable ; le permanganate de potassium est un oxydant trop puissant qui détruit les polyphénols et l'iode forme des complexes irréversibles avec les polyphénols. Finalement, nous avons retenu deux agents : le chlorure de titane III ( $\text{TiCl}_3$ ) comme réducteur et le dichlorophénolindophénol (DCPIP) comme oxydant. Pour  $\text{TiCl}_3$ , la solution est préparée à N/10 dans HCl N. En accord avec les équations suivantes, 1 mole de  $\text{TiCl}_3$  réduit une fonction quinone en hydroxyle d'un noyau phénol :



Pour le DCPIP, pour rester en accord avec la stœchiométrie du titrage, une solution N/20 dans l'eau est retenue. Dans ces conditions, le titrage de solution de catéchol à 1 g/L est opéré en 25 min. En accord avec l'équation suivante, 1 mole de DCPIP oxyde 2 OH phénoliques :



### 2.2.4. Préparation des échantillons

On mesure le pH du vin, pour permettre la préparation de la solution hydroalcoolique de dilution (5 g/L acide tartrique, 12% vol. EtOH, pH ajusté par NaOH N en fonction du pH du vin). Le vin est dilué au 1/50 dans la solution de même pH et subit une réduction au  $\text{TiCl}_3$  par un ajout de 2.5 mL du réducteur. Après 15 minutes d'attente, pour s'assurer d'une complète réduction, le titrage en oxydation peut être pratiqué.

### **2.2.5. Conditions de titration**

La courbe d'oxydation est obtenue par mesure du potentiel d'oxydoréduction pour un rythme de titrage de 0.02 mL de DCPIP N/20 toutes les 30 secondes. L'ensemble du titrage se pratique sous atmosphère d'azote. La température est de  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Si, pour diverses raisons, on veut pratiquer une courbe réduction, on procède à un rythme de 0.03 mL de  $\text{TiCl}_3$  N/10 toutes les 20 secondes.

### **2.2.6. Durée de conservation des solutions de titration**

En solution diluée, les agents de titration perdent leur pouvoir oxydant et réducteur. Pour déterminer le temps de conservation des solutions nous avons titré une solution de catéchol à 1 g/L au cours du temps. Pour le  $\text{TiCl}_3$  et le DCPIP, la durée maximale de conservation, sans perte de capacité, est de 24 heures. Les meilleures conditions de conservation sont l'obscurité et la température ambiante ( $18\text{-}25^{\circ}\text{C}$ ). Après 24 heures, des cristaux se forment dans la solution aqueuse de DCPIP. Après 10 jours, toutes les solutions sont détitrées.

## **3. VALIDITÉ DE LA MÉTHODE**

### **3.1. Réduction et oxydation de composés modèles**

Les deux premiers critères de validité de la méthode de titrage potentiométrique sont, d'une part, l'obtention de E0 expérimentaux en accord avec ceux de la littérature pour différents produits purs, et d'autre part, la capacité de réduire et d'oxyder des substances phénoliques sans en affecter la structure et de s'assurer de la réversibilité des réactions.

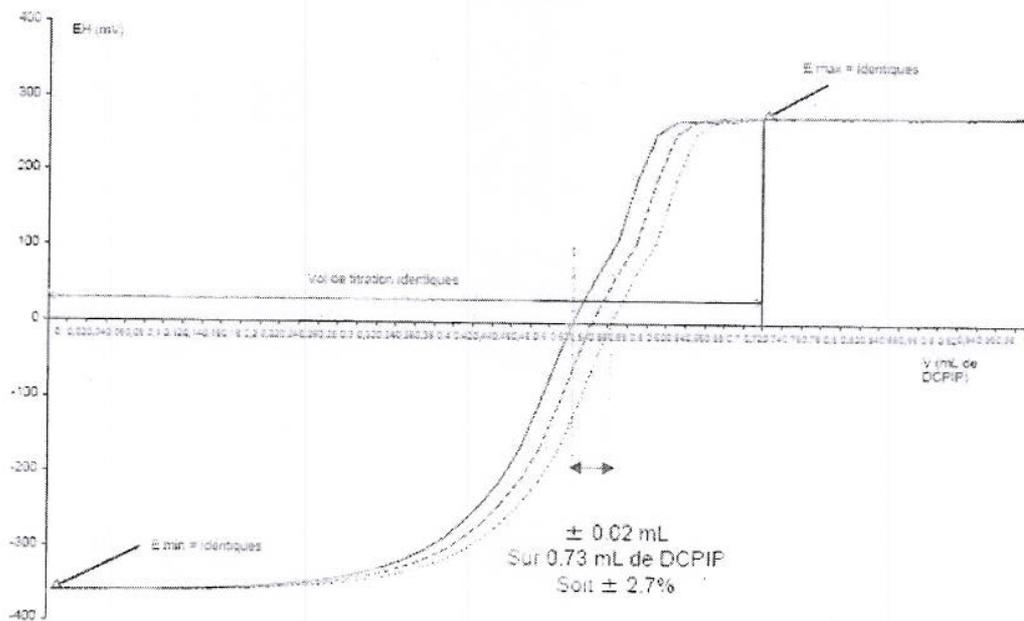
Sur le tableau 1, nous avons reporté les E0 de différents composés : deux cations métalliques courants ( $\text{Fe}^{++}/\text{Fe}^{+++}$ ,  $\text{Cu}^{+}/\text{Cu}^{++}$ ) et une substance phénolique, la quinhydrone. Pour chaque composé, nous avons comparé la valeur du potentiel normal théorique, que l'on retrouve dans la littérature, et la valeur expérimentale tirée de notre méthode de titrage. Il est clair que les deux séries de valeurs sont en bonne concordance, avec un niveau de répétabilité satisfaisant pour la mesure expérimentale.

**Tableau 1.** Valeurs calculées (théorique) et mesurées par titrage potentiométrique (expérimentale) du potentiel normal (E0) de quelques substances

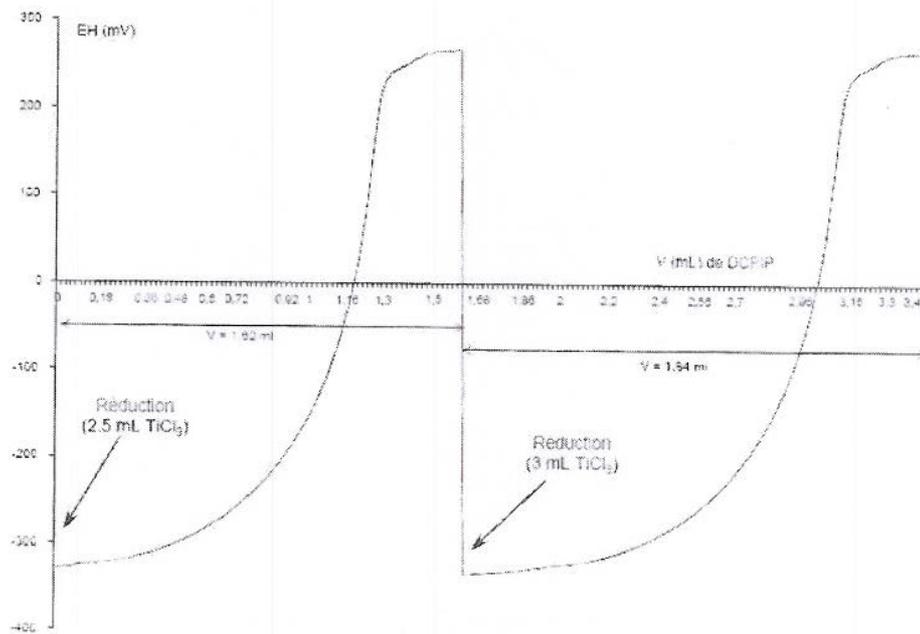
	E0 (mV)		Variation %
	Théorique	Expérimentale	
Fe <sup>2+</sup> / Fe <sup>3+</sup>	770	710±15	7.8
Cu <sup>+</sup> / Cu <sup>2+</sup>	150	160±5	6.7
Quinhydrone/ Hydroquinone	699.5	713±24	1.9

Dans un second temps, nous avons pratiqué une expérience pour vérifier la reproductibilité du titrage en oxydation d'une solution de (+)-catéchol à 1 g/L (figure 7). Sur trois répétitions, nous obtenons une reproductibilité inférieure à 3%. Enfin, nous avons tenté d'illustrer la réversibilité de la réaction. Nous avons utilisé une solution de (+)-catéchol qui a subi un ajout de 2.5 mL de TiCl<sub>3</sub>, puis un titrage en oxydation immédiatement suivi d'un nouvel ajout de TiCl<sub>3</sub> (3 mL) et d'un second titrage en oxydation (fig. 8). Lors de la seconde réduction, nous utilisons 0.5 mL de TiCl<sub>3</sub> de plus pour tenir compte de l'excès de DCPIP lors de la première oxydation. On note, en tenant compte de la dilution occasionnée par les ajouts de TiCl<sub>3</sub> et de DCPIP et la légère variation du pH, que les deux courbes d'oxydation sont quasiment identiques. Le volume de DCPIP de la seconde titration est de 13.5% supérieur à la première, mais, dans le même temps, le facteur de dilution a été de 8.8% (1.62 mL de DCPIP + 3 mL de TiCl<sub>3</sub> = 4.62 mL pour un volume total de départ de 50 mL de solution diluée et 2.5 mL de TiCl<sub>3</sub> soit 52.5 mL ou 8.8% de dilution), ce qui correspond au final à une erreur de ±4.7%.

**Fig. 7.** Répétabilité du titrage d'une solution de (+)-catéchol pratiqué immédiatement après la préparation des échantillons (titrage en milieu hydroalcoolique). Catéchol à 1 g/L et réduction par 2.5 mL de  $TiCl_3$  1/10.



**Fig. 8.** Répétabilité et réversibilité du titrage d'une solution de (+)-catéchol (1 g/L) pratiqué dans le même pot de titration à deux reprises dans l'eau (réduction/oxydation/réduction/oxydation). L'étape de réduction est pratiquée avant titrage en oxydation par  $TiCl_3$  1/10.



### 3.2. Validation interne de la méthode

La caractérisation interne de la méthode de titrage potentiométrique nécessite la réponse à trois paramètres essentiels : la praticabilité, la justesse et la robustesse.

#### 3.2.1. Praticabilité

La praticabilité de la méthode est fonction de l'objectif fixé ; elle est déterminée par des exigences comme l'utilisation d'échantillons spécifiques, d'appareillage précis, ainsi que le coût des mesures. Généralement, si les produits et le matériel sont disponibles sur le marché, la méthode est qualifiée de praticable<sup>1</sup>, ce qui est bien le cas de la méthode proposée.

#### 3.2.2. Justesse

Il s'agit d'un ensemble de critères permettant de s'assurer que la mesure réalisée avec tel ou tel appareil donne des résultats en accord avec la loi de Nernst, fiables et fidèles. Ces différents éléments de contrôle sont directement en relation avec la réponse de l'électrode de mesure et non pas du titrage potentiométrique. Par conséquent, concernant la réponse à la loi de Nernst et la fiabilité des mesures, pour ne pas alourdir l'article d'informations déjà publiées par ailleurs, nous renvoyons au travail s'y référant : Vivas *et al.*, 1996.

Enfin, pour la fidélité, selon le texte de la norme ISO 5725 (1986), "*la fidélité est un terme général s'appliquant à la variabilité entre des essais répétés. Il a été constaté que deux mesures extrêmes de la variabilité, désignées par répétabilité et reproductibilité, sont suffisantes pour convenir à la plupart des cas courants. La répétabilité se rapporte à des essais effectués dans des conditions aussi stables que possible et à de courts intervalles de temps dans un même laboratoire, par un même opérateur employant le même équipement, tandis que la reproductibilité a trait à des essais réalisés dans des conditions fortement variables...*".

---

<sup>1</sup> Le protocole de validation de la méthode a été établi en s'inspirant des travaux suivants :

- Protocole d'évaluation des méthodes alternatives d'analyse quantitative par rapport à une méthode de référence ; AFNOR, 1993.
- Application de la statistique. Fidélité des méthodes d'essais. Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essais normalisée par essais intralaboratoires ; AFNOR, 1987 ; ISO 5725, 1986.
- Plans de normes, partie normes d'analyse chimique ; ISO 78.2.
- Guidelines for collaborative study procedure to validate. Characteristics of a method of analysis ; AOAC, 1989.

Nous avons, d'une part, déterminé la déviation standard et l'intervalle de confiance pour le titrage d'une solution de catéchol (Tableau 2) et vérifié, d'autre part, les écarts entre E0 mesurés par titrage et E0 donnés dans la littérature pour différents couples redox modèles (Tableau 1).

**Tableau 2.** Fidélité de la titration d'une solution de (+)-catéchol

	Réduction <sup>a</sup>		Oxydation <sup>b</sup>	
	EHmin (mV)	Vmax (ml)	EHmax (mV)	Vmax (ml)
Moyenne (n = 6)	-328	0.825	348	1.02
Déviatiion standard	5.01	0.04	2.38	0.08
Intervalle de confiance (pour $\alpha$ 5 %)	4.01	0.03	1.9	0.06

EHmin, EH minimum en fin de réduction ;

EHmax, EH maximum en fin d'oxydation ;

Vmax, Volume total d'agent de titration pour une titration complète.

<sup>a</sup> TICl3, <sup>b</sup> DCPIP

### 3.2.3. Robustesse

Les paramètres susceptibles de perturber la courbe de titrage potentiométrique sont les mêmes que ceux affectant la valeur du potentiel d'oxydoréduction, c'est-à-dire l'oxygène dissous et la valeur du pH. Ce facteur a déjà été étudié lors du travail de validation de la mesure du EH (Vivas *et al.*, 1996). En complément, nous avons testé l'influence de la température (15, 20, 25°C) et du manipulateur sur la variation de l'allure des courbes de titrage : les courbes présentent des écarts inférieurs à 5% pour toutes les conditions testées.