

Principe et méthode de mesure du potentiel d'oxydoréduction dans les vins

Principle and method for measurement of oxidoreduction potential in wines

**N. VIVAS (1), Y. GLORIES (2),
A. BERTRAND (3), F. ZAMORA (4)**

(1) Tonnellerie Demptos détaché à la Faculté d'Œnologie, Université de Bordeaux II, 351, cours de la Libération, 33405 Talence, (France) ;
correspondance et tirés-à-part.

(2) Laboratoire de Chimie Appliquée, Faculté d'Œnologie, Talence, (France).

(3) Laboratoire de Chimie Analytique, Faculté d'Œnologie, Talence, (France).

(4) Departamento de bioquímica y biotecnología, Escola de Enología de Tarragona, Universitat Rovira i virgili, C/ Ramon y cjal, 70, 43005 Tarragona, (Espagne).

MOTS CLÉS : Potentiel d'oxydoréduction, électrodes de mesure, loi de Nernst, validation, praticabilité, qualification, robustesse.

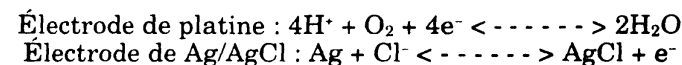
KEY WORDS: *Oxidoreduction potential, measurement electrodes, Nernst's law, validation, practicability, qualification, robustness.*

I. - DESCRIPTION DE LA MÉTHODE DE MESURE DU POTENTIEL D'OXYDORÉDUCTION DANS LES VINS

Le potentiel d'oxydoréduction (EH) est une mesure de l'état d'oxydation ou de réduction d'un milieu. En œnologie, l'oxygène et le potentiel d'oxydoréduction sont deux éléments importants pour conduire à la fois le traitement préfermentaire de la vendange, la vinification, l'élevage et la conservation des vins. Dès 1962, dans le cadre du X^e Congrès International de la Vigne et du Vin (Tbilissi ; CEI), la section œnologie a choisi d'exprimer l'état d'oxydoréduction du vin par la valeur du EH. Cette notion devient donc un critère analytique officiel d'interprétation de l'état physico-chimique des vins. On constate, dans les différents travaux antérieurs à 1991, que les démarches et les méthodes utilisées sont très variables : le matériel, le temps de stabilisation de l'électrode et le mode d'étalonnage et de nettoyage sont les principaux points de divergence. Ainsi, on propose un matériel de mesure du potentiel d'oxydoréduction dans les vins et un mode opératoire permettant de réaliser des mesures dans des conditions normalisées.

A. - Principe

Le potentiel d'oxydoréduction d'un milieu est défini comme la différence de potentiel entre une électrode inattaquable plongeant dans ce milieu et l'électrode à hydrogène de référence, couplée avec le milieu. En fait, on ne peut connaître que la différence entre les potentiels d'oxydoréduction de deux systèmes couplés. Le potentiel d'oxydoréduction de l'électrode à hydrogène est considéré comme égal à zéro ; tous les potentiels d'oxydoréduction sont évalués par rapport à celui-ci. Le potentiel d'oxydoréduction est une mesure relative à l'expression de l'état d'équilibre instantané entre les formes oxydées et réduites d'une solution. Seuls un titrage potentiométrique des couples oxydoréducteurs totaux et l'estimation du rapport [Oxydants / Réducteurs] pourraient conduire à une mesure réellement quantitative. La mesure du potentiel d'oxydoréduction, soit dans le vin, soit dans d'autres milieux, est réalisée avec des électrodes combinées. Habituellement, le système comprend une électrode de platine (l'électrode de mesure) et une électrode de référence (électrode d'argent ou au calomel). Lorsqu'on plonge ce système dans l'eau, les réactions électrochimiques qui ont lieu sont les suivantes :



Le potentiel d'oxydoréduction (EH), en accord avec les considérations thermodynamiques, est régi par l'expression :

$$\text{EH} = - \Delta\text{G}/n\text{F} \quad (1)$$

ΔG représente la variation d'enthalpie libre et indique la tendance thermodynamique d'un milieu soit à s'oxyder, soit à se réduire, n est le nombre d'électrons et F la constante de Faraday.

RÉSUMÉ

Après avoir mis au point et développé un appareillage de mesure du potentiel d'oxydoréduction adapté aux vins, on présente le dossier de validation de la méthode. L'absence de protocole de validation adapté aux mesures potentiométriques qualitatives a conduit à proposer un certain nombre de déterminations utiles pour vérifier les performances de l'appareillage et la fiabilité des résultats obtenus. Après la description, la caractérisation de la méthode comprend trois notions :

- la praticabilité : elle permet de vérifier si la méthode est facilement applicable (disponibilité du matériel et des produits) ;
- la justesse : il s'agit de vérifier que l'électrode donne des résultats en accord avec la loi de Nernst, qu'elle est fiable et fidèle (répétabilité et écarts à la valeur théorique du EH (potentiel d'oxydoréduction) en conditions normalisées) ;
- la robustesse : elle permet d'estimer le comportement de l'électrode aux perturbations.

ABSTRACT

After the presentation of new apparatus adapted for measurements of oxidoreduction potential in wines, a file on the validation of the method is proposed. Lack of validation techniques for the potentiometric qualitative measurement, induced to propose a few parameters adapted to verification of the apparatus performance and the fiability of the results. After the description of the method, the schedule of the method characterization presents three parameters:

- *practicability: for the verification of the facility to apply the method (disponibility of the material and the products);*
- *precision: for verification of the response of the electrode according to the Nernst's law, accuracy and fidelity (repeatability, accordance to the theoretical value of EH (oxidoreduction potential) in standard conditions);*
- *robustness: for estimation of the electrode sensibility towards different perturbations.*

E. - Mode opératoire

1. - Conditions générales

Avant les mesures, les électrodes doivent être étalonnées dans la solution de Michaelis, puis stabilisées 15 mn. dans un vin, si les mesures sont à faire dans des vins. Ensuite, la lecture peut être réalisée, pour des mesures sur le terrain, 5 mn après que les électrodes aient été plongées dans le milieu. On utilise comme indice de stabilité, pour des mesures au laboratoire, le rapport ΔEH (mV) / T (mn), lorsque ce dernier est $\leq 0,2$, la lecture du potentiel peut alors se pratiquer.

2. - Remplissage de la jaquette interne

En fonction du milieu de mesure du EH, la composition de la double jaquette est variable (tabl. I).

3. - Mesures au laboratoire

Les mesures sont réalisées dans un récipient thermostaté, hermétique et pourvu d'entrées pour les électrodes de mesure du EH, du pH et de l'oxygène dissous. L'homogénéisation des liquides est assurée par un agitateur magnétique. Le récipient est relié à une arrivée d'azote pour réaliser des mesures en l'absence d'oxygène. Si on a besoin de réaliser des courbes en fonction de la teneur en oxygène dissous, le récipient est alors relié à une arrivée d'air reconstitué (N_2/O_2 , 80/20, v:v). Après remplissage du récipient et, avant toute mesure, l'oxygène est chassé durant 15 mn par un courant d'azote. Lors de la mesure, on aura soin de relever pour chaque valeur de EH, le pH et la teneur en O_2 dissous correspondante ; cette dernière est mesurée avec une électrode de Clark. Les mesures sont réalisées à 20 °C.

TABLEAU I/TABLE I

Composition de la solution de remplissage
de la double jaquette de l'électrode en fonction du milieu de mesure
*Composition of filling solution for the electrode
relating to the medium of measurement*

MILIEU DE MESURE	COMPOSITION DE LA SOLUTION DE LA JAQUETTE
1 Vins secs	Éthanol 12 % vol., 5 g ac. tartrique, NaOH N qsq pH 3,5, Eau distillée qsq 1 000 ml
2 Vins doux	1 + 20 g/l de saccharose
3 Vins liquoreux	2 + 100 mg/l de SO_2
4 Eaux-de-vie	Éthanol 50 % vol., ac. acétique qsp pH 5, eau distillée qsp 1 000 ml

4. - Mesures dans les conditions de la pratique

Lors des mesures dans les chais, en barriques ou en cuves, on prendra soin de noter la température, le pH et l'oxygène dissous en même temps que le EH ; ces valeurs pouvant servir ultérieurement à l'interprétation des résultats. Pour des mesures en bouteilles, on utilisera l'électrode de la figure 1c. La mesure est pratiquée sur le vin après 2 heures d'attente dans une pièce à 20 °C, immédiatement après l'ouverture, sous un flux constant d'azote.

F. - Expression des résultats

Les résultats sont donnés en mV par rapport à l'électrode à hydrogène et rapportés aux conditions normales de température et de pression (CNTP) : 760 mm Hg, 25 °C.

II. - VALIDATION DE LA MÉTHODE DE MESURE DU POTENTIEL D'OXYDORÉDUCTION

Les protocoles de validation mis au point à ce jour sont adaptés à des méthodes de dosage et sont donc relatifs à des variables quantitatives relativement stables (AFNOR, 1993 ; J.O.C.E., 1989 ; AOAC, 1991 ; ISO 5725, ISO 78.2, AOAC, 1989 ; AOAC, 1975 ; Pereira Monteiro et Bertrand, 1994). Dans le cas du potentiel d'oxydoréduction, les difficultés sont relatives à l'aspect qualitatif de la valeur et à son caractère éminemment variable. Les différents problèmes liés à la signification et à l'interprétation de la mesure ont été regroupés par Vivas *et al.* (1992) et Vivas et Glories (1995).

A. - Caractérisation de la méthode (évaluation interne)

Il existe déjà une méthode considérée comme méthode de référence et décrite dans le Recueil des méthodes d'analyse de l'O.I.V. On devrait alors réaliser « une procédure de la validation d'une méthode interne par rapport à une méthode de référence ». Cependant, on a montré que les difficultés de mesure en milieu complexe conduisent à des problèmes qui nécessitent l'adaptation des électrodes de mesure du potentiel d'oxydoréduction. Les électrodes classiques ne sont pas adaptées au vin, les résultats sont difficiles à interpréter et souvent éloignés de la valeur du potentiel d'oxydoréduction (Vivas *et al.*, 1992). D'autre part, à notre connaissance, le dispositif décrit dans le Recueil de l'O.I.V. n'est distribué par aucun fabricant.

La caractérisation interne de la mesure du potentiel d'oxydoréduction comprend l'étude d'un ensemble de paramètres visant à vérifier à la fois le fonctionnement des électrodes et la fiabilité des résultats obtenus :

- praticabilité,
- justesse,
- robustesse.

1. – *Praticabilité*

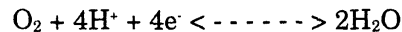
La praticabilité de la mesure est fonction de l'objectif de la méthode, elle est déterminée par des exigences telles que l'utilisation d'échantillons, d'appareillage et les coûts. Généralement, si les produits et le matériel sont disponibles sur le marché, la méthode est qualifiée de « praticable » (J.O.C.E., 1989), ce qui est le cas avec le dispositif proposé.

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 fideles.

2.1. *Loi de Nernst* : avant de réaliser toute autre vérification, il convient de vérifier que l'électrode disponible répond à la loi régissant la valeur du potentiel d'oxydoréduction. Pour plus de facilité, on prend l'eau distillée comme milieu modèle.

Pour l'eau distillée à 25 °C : $E_0 = 1,229 \text{ V}$; $R = 8,31 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ et $F = 96\,500 \text{ C}$, avec $[\text{H}_2\text{O}] = 55,55 \text{ mol.l}^{-1}$ et $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$. On pose :



En accord avec la loi de Nernst, le potentiel d'oxydoréduction de ce système est régi par l'expression (*) :

$$\text{EH} = E_0 + (RT / 4F) \times \ln ([\text{H}^+]^4 \cdot [\text{O}_2] / [\text{H}_2\text{O}]^2) \quad (2)$$

Soit :

$$\text{EH} = 1,229 + (RT / 4F) \times \ln ([\text{H}^+]^4 \cdot [\text{O}_2] / [\text{H}_2\text{O}]^2) \quad (3)$$

Le EH peut alors s'écrire :

$$\text{EH} = 1,229 + (0,05915 / 4) \times \log ([\text{H}^+]^4 \cdot [\text{O}_2] / [\text{H}_2\text{O}]^2) \quad (4)$$

$$\text{EH} = 1,229 + 0,05915 \cdot \log [\text{H}^+] - (0,05915 / 2) \cdot \log [\text{H}_2\text{O}] + (0,05915 / 4) \cdot \log [\text{O}_2] \quad (5)$$

On obtient la relation générale (EGB) utilisée dans la suite du travail :

$$\text{EH} = E_0 + A \cdot \text{pH} + B \cdot \log [\text{O}_2] \quad (\text{EGB})$$

Qui après application numérique conduit à l'équation :

$$\text{EH} = 1,177 - 0,05915 \cdot \text{pH} + 0,01479 \cdot \log [\text{O}_2] \quad (6)$$

En mV l'équation devient :

$$\text{EH} = 1177 - 59,15 \cdot \text{pH} + 14,79 \cdot \log [\text{O}_2] \quad (7)$$

Pour vérifier que l'électrode répond correctement à l'équation (7), on effectue, à pH constant dans de l'eau distillée, des mesures de EH pour des teneurs croissantes en oxygène dissous comprises entre 0 et 8 mg/l (barbotage à débit constant d'un mélange N_2 / O_2 , 80:20, v:v). On considère que les valeurs obtenues doivent être de ± 10 p. 100 pour E_0 et de ± 5 p. 100 pour A et B par rapport aux valeurs théoriques, ce qui correspond à des variations de EH acceptables par rapport à la précision de l'appareillage.

(*) Les valeurs entre crochets sont des concentrations.

Dans les conditions expérimentales définies ci-dessus, on a réalisé une série de mesures avec notre appareillage. L'équation obtenue est la suivante :

$$\text{EH} = 1182 - 59,6 \cdot \text{pH} + 15,2 \cdot \log [\text{O}_2]$$

En la comparant à l'équation (7), il vient : ΔE_0 , 0,42 p. 100 ; ΔA , 0,76 p. 100 et ΔB , 2,8 p. 100.

Les résultats obtenus sont tout à fait acceptables et montrent que l'appareillage répond de façon satisfaisante à la loi de Nernst.

2.2. *Fiabilité* : la fiabilité de la mesure représente l'acceptabilité de la réponse de l'électrode. Il s'agit de l'information fournie par l'électrode correspondant à une évolution normale du potentiel d'oxydoréduction en fonction de la teneur en oxygène dissous et de la valeur du pH, sur n mesures.

a) Influence du pH sur la valeur du EH

Les manipulations sont réalisées à une température constante de 20 °C dans une solution hydroalcoolique standard à 12 p. 100 vol. Elle contient 5 g/l d'acide tartrique, NaOH qsp pH_x, eau distillée ultrapure (milliQ™) qsp 1000 ml. On constitue des solutions de pH_x = 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4 ; 4,5 ; 5 ; 5,5 dans lesquelles on mesure le EH d'une part, en l'absence d'oxygène (barbotage 15 mn d'azote) et, d'autre part pour une teneur proche de la saturation (7,5 mg/l à 20 °C). Les courbes réalisées à partir des points expérimentaux correspondent à une pente constante appelée pente de Nernst (Kp), dont les valeurs pour différentes températures sont regroupées dans la figure 2. Pour 20 °C, Kp = 58 mV/unité pH.

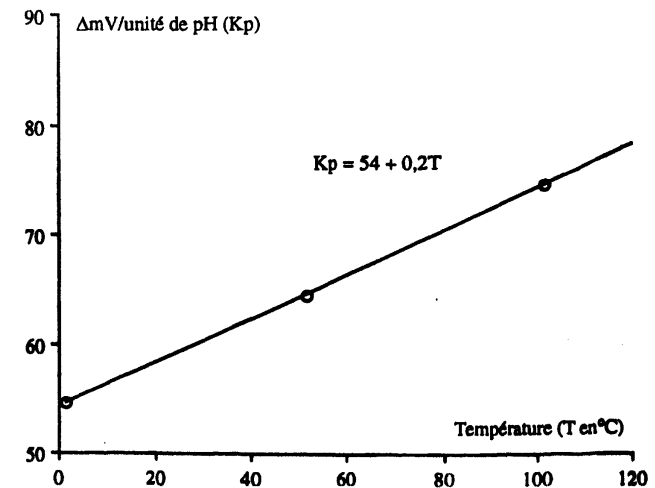


FIGURE 2

Valeurs de la pente de Nernst (Kp) en fonction de la température
Values of Kp for different temperatures

L'appareillage décrit permet d'obtenir des courbes classiques dont un exemple est donné sur la figure 3. Les pentes de Nernst (K_p) calculées sont respectivement de 51,5 et de 63,3 pour les deux courbes de la figure 3 (EH_i : courbe tracée pour des doses d'oxygène dissous de 0 mg/l et EH_s : courbe tracée pour une teneur en oxygène dissous proche de la saturation), soit un écart par rapport au K_p théorique de 11,2 p. 100 pour EH_i et 9,1 p. 100 pour EH_s. Ces valeurs sont en accord avec la précision de mesures de l'électrode (± 5 mV).

b) Influence de la teneur en oxygène dissous sur la valeur du EH

La réponse de l'électrode aux variations de la teneur en oxygène est mesurée en milieu hydroalcoolique standard, à 20 °C, sur des solutions de

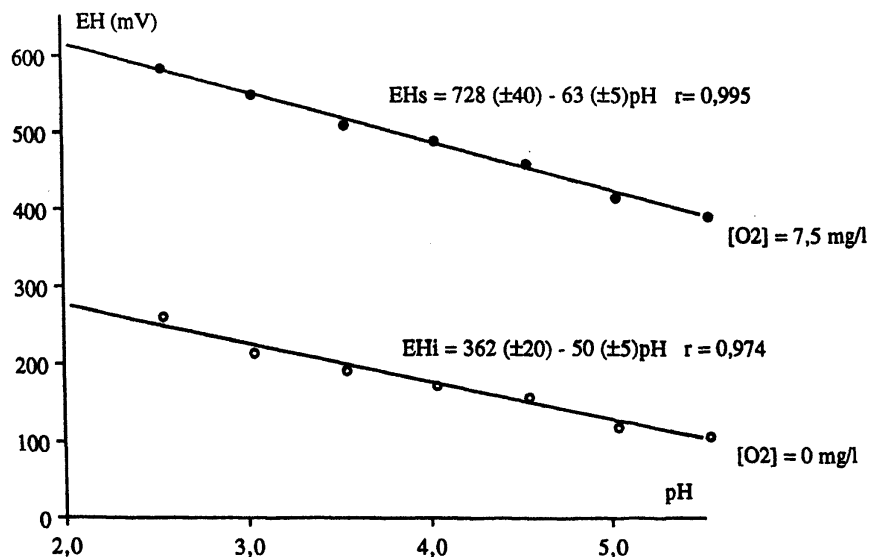


FIGURE 3

Influence du pH sur la valeur du potentiel d'oxydoréduction pour une solution hydroalcoolique sans oxygène dissous (EH_i) et pour une teneur proche de la saturation (EH_s)

Incidence of pH on the oxidoreduction potential value in an hydroalcoholic solution (EH_i) without oxygen, EH_s with 7,5 mg/l of oxygen

pH variable et pour des quantités d'oxygène dissous de 0 à 7,5 mg/l (0 à 235 μ M). Les courbes obtenues ont une allure logarithmique (fig. 4). Les équations calculées à partir des points expérimentaux sont :

$$\begin{aligned} \text{EH}_{\text{pH}3,5} &= 183,8 (\pm 15,5) + 133,3 (\pm 8,1) \cdot \log[\text{O}_2] \quad r = 0,9907 (\pm 0,0069) \\ \text{EH}_{\text{pH}5} &= 108,8 (\pm 5,91) + 125,7 (\pm 3,93) \cdot \log[\text{O}_2] \quad r = 0,9827 (\pm 0,0042) \\ \text{EH}_{\text{pH}6,1} &= 84,06 (\pm 4,94) + 124,6 (\pm 1,38) \cdot \log[\text{O}_2] \quad r = 0,9667 (\pm 0,0115) \\ \text{EH}_{\text{pH}7} &= 70,2 (\pm 2,98) + 118,6 (\pm 1,07) \cdot \log[\text{O}_2] \quad r = 0,9576 (\pm 0,0149) \end{aligned}$$

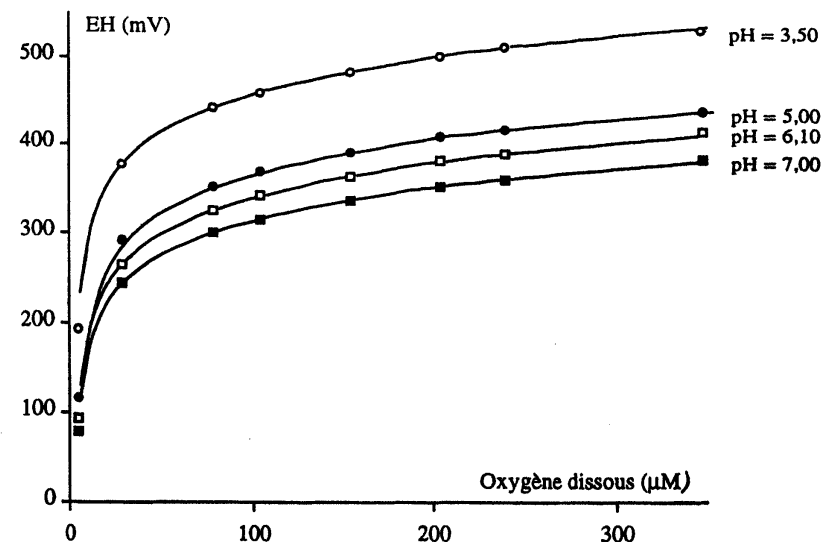


FIGURE 4

Influence du pH et de la concentration en oxygène sur la valeur du EH. (Mesure en milieu hydroalcoolique standard à 20 °C)

Incidence of pH and the oxygen concentration on the EH (Measurement performed on hydroalcoholic medium at 20 °C)

La différence de valeur des coefficients par rapport à la dernière équation du point 2.1. s'explique par le fait qu'il s'agit ici d'un milieu hydroalcoolique.

c) Détermination des coefficients E₀, A et B de l'équation EGB en milieu hydroalcoolique

Le dernier point consiste à vérifier le comportement de l'électrode en milieu hydroalcoolique. Pour cela, on détermine les coefficients E₀, A et B de l'équation EGB. On trace d'abord la droite de type EH = f(pH) pour deux teneurs en oxygène dissous (0 mg/l et 7,5 mg/l). On obtient deux droites :

$$\text{EH}_1 = Z_1 - A_1 \cdot \text{pH}$$

$$\text{EH}_2 = Z_2 - A_2 \cdot \text{pH}$$

ce qui permet de calculer un A moyen. Dans l'équation de Nernst, Z₁ et Z₂ représentent :

$$Z_1 = E_0 + B \log [\text{O}_2]$$

$$Z_2 = E_0 + B \log [\text{O}_2]$$

On a un système de deux équations à deux inconnues E₀ et B qui permet d'obtenir les deux derniers éléments de l'équation EGB. Dans ces conditions, les équations obtenues sont proches de :

$$\text{EH} = 1215 - 59,72 \cdot \text{pH} + 126,2 \cdot \log[\text{O}_2] \quad (8)$$

On considère que des écarts de 10 p. 100 sur Eo, 5 p. 100 sur A et 20 p. 100 sur B sont acceptables. En effet, ce dernier paramètre (B) est plus variable que les deux autres ; des interférences liées à la production de peroxydes en milieu hydroalcoolique sont avancées pour expliquer cela.

On suit ensuite cette même démarche en l'appliquant à notre appareillage et on obtient :

$$EH1 = 358,5 - 57,83.pH$$

$$EH2 = 716,67 - 61,93.pH$$

ce qui nous conduit à l'équation :

$$EH = 1264 - 59,88.pH + 150,8.log[O_2]$$

Les écarts enregistrés par rapport à l'équation moyenne (8) sont de : ΔEo , 4 p. 100 ; ΔA , 0,3 p. 100 et ΔB , 19,5 p. 100.

2.3. *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... ».

a) Détermination du coefficient de variation des mesures

La détermination du coefficient de variation est réalisée sur des solutions hydroalcooliques standards de pH différents et pour des quantités croissantes d'oxygène dissous. La mesure des valeurs obtenues en renouvelant 3 fois l'expérience donne des écarts acceptables inférieurs à 10 p. 100 (tabl. II).

TABLEAU II/TABLE II

Estimation du coefficient de variation de la mesure en milieu hydroalcoolique
Standard deviation of the measure in hydroalcoholic medium

pH	MOYENNE		CV (%)	
	Eo#	B§	Eo	B
3,5	183,8	133,3	8,5	6,1
5,0	108,8	125,7	5,5	3,1
6,14	84	124,6	5,8	0,3
7,0	70,2	118,6	4,2	0,9

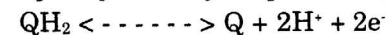
#, potentiel normal (mV).

§, coefficient de dépendance de l'oxygène dans l'équation EGB.

b) Écart de la valeur mesurée du EH par rapport à la valeur théorique

L'estimation de l'écart à la valeur théorique doit être réalisée sur un même échantillon présentant pour des conditions de pH, d'oxygène, de température, une valeur théorique du EH constant. Pour des raisons de commodité, la mesure du EH est réalisée sur une solution contenant un couple oxydoréducteur à l'état pur. La variation du pH assure un changement du EH que l'on peut comparer avec celui obtenu par calcul. La teneur en oxygène dissous étant nulle, la réalisation et la conservation d'étalons de EH sont plus aisées.

On choisit le couple quinhydrone/hydroquinone (QH_2/Q ; $Eo = 699,5$ mV) :



$$EH = Eo_{(QH_2/Q)} + 0,05915/2 \times \log ([Q] \cdot [H^+]^2 / [QH_2])$$

quand $[Q] = [QH_2]$ alors $\log ([Q] \cdot [H^+]^2 / [QH_2]) = 0$

On écrit donc :

$$EH = 699,5 - 59,15.pH \quad (9)$$

Des solutions de quinhydrone et d'hydroquinone équimolaires (10 mM) sont ajustées à différents pH (2 à 10) et conditionnées sous azote. Avant les mesures, une période de repos de 2 heures, à l'obscurité est nécessaire afin d'équilibrer le couple redox formé et de stabiliser la température à 20 °C. Les mesures sont alors faites pour obtenir une droite du type $EH = f(pH)$. Les résultats sont comparés à l'équation théorique (9). Les courbes obtenues dans les différentes conditions ne doivent pas s'écarter de ± 10 p. 100 pour Eo et ± 5 p. 100 pour le coefficient A de l'équation (9).

Sur la figure 5, on a reporté la valeur théorique du EH en fonction du pH (droite) et les mesures expérimentales, répétées 4 fois (points). La comparaison des valeurs mesurées avec les valeurs théoriques montre que dans les conditions du vin ($2,8 < pH < 4,2$) les résultats de l'électrode ne s'écarteront pas de ± 5 p. 100 par rapport à la valeur théorique (tabl. III).

3. - Robustesse

La robustesse est en relation avec la sensibilité de l'électrode aux perturbations. Elle peut être évaluée par un plan d'expérience de Youden (Youden et Steinen, 1975) à 5 paramètres, choisis pour leur susceptibilité à modifier la valeur du EH : la température, le pH, la teneur en oxygène, la durée avant la mesure et le manipulateur. Le mode de calcul de la variation induite par chaque paramètre (RZ) est décrit par Pereira Monteiro et Bertrand (1994). Pour évaluer la robustesse de la méthode, on compare la valeur du EH pour les différents paramètres sélectionnés (tabl. IV) à deux niveaux (conditions normales de mesure, niveau 1 et avec variation d'un des paramètres de mesure, niveau 0). Puis, on calcule les RZ par l'équation suivante :

$$RZ = EH_{YZ} - EH_{Yz} \quad (10)$$

où EH_{YZ} : valeur du EH en mV au niveau 1 ;

et EH_{Yz} : valeur du EH en mV au niveau 0.

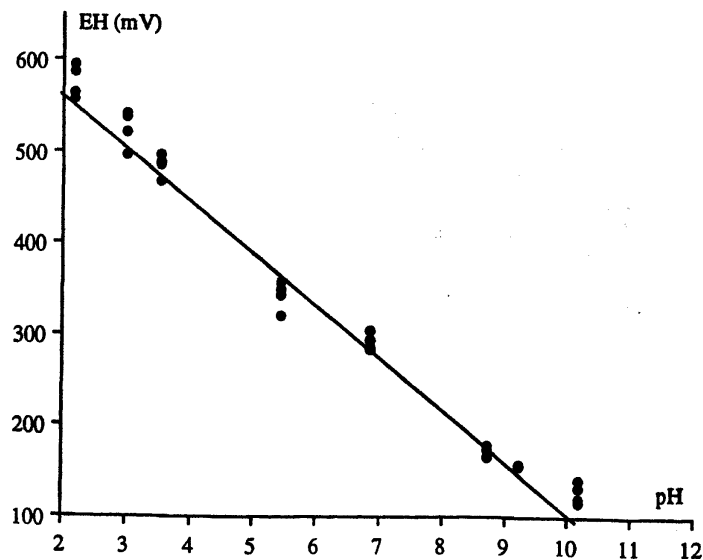


FIGURE 5

Influence du pH sur la valeur du potentiel d'oxydoréduction du couple hydroquinone/quinhydrone (mesures réalisées en l'absence d'oxygène)
La droite représente la courbe théorique et les points les valeurs expérimentales (n = 4)

Incidence of pH on the EH value of hydroquinone/quinhydrone solution (without oxygen) Straight line represents the theoretical results and the points of experimental values (n = 4)

TABLEAU III/TABLE III
Estimation de l'écart à la valeur théorique de la mesure du potentiel d'oxydoréduction (Mesures réalisées en milieu hydroalcoolique standard sur des solutions équimolaires de quinhydrone et d'hydroquinone)

Discrepancy between the theoretical value and measured value of oxidoreduction potential (Measures were performed in hydroalcoholic medium containing equimolar solutions of quinhydrone and hydroquinone)

pH	VALEURS DU EH							ÉCARTS (% [a/b])
	Théoriques (a)	Mesurées (b)						
		1	2	3	4	x	CV (%)	
2,07	577	586	549	578	556	567	3	1,7
2,9	527,9	528	488	532	512	515	4,5	2,4
3,41	497,7	486	459	478	477	475	1,7	4,5
5,3	386	349	313	340	335	334	3,2	13,4
6,74	300	295	275	278	286	283,5	0,6	5,5
8,6	190,8	166,5	157	158	171	163	3,4	14,5
9,1	161,2	150	148	147	147	148	0,7	8,1
10,04	105,3	109	133	112	124	119,5	7,5	13,4

TABLEAU IV/TABLE IV

Présentation du plan de Youden à 5 paramètres utilisé pour l'estimation de la robustesse de l'appareillage de mesure du potentiel d'oxydoréduction

Youden scheme presentation used for study the ruggedness of oxidoreduction apparatus

PARAMÈTRES SÉLECTIONNÉS	NIVEAU 1	NIVEAU 0
A. * Température	20 °C	15 °C
B. ** pH	3,5	3
C. *** Teneur en oxygène dissous	0 mg/l	7,5 mg/l
D. **** Temps de stabilisation de l'électrode avant la mesure	5 mn	10 mn
E. **** Manipulateur	NV	FZ

* : pour 0 mg/l d'oxygène et pH 3,5.

** : pour 0 mg/l d'oxygène et 20 °C.

*** : pour pH 3,5 et 20 °C.

**** : pour 0 mg/l d'oxygène, pH 3,5 et 20 °C.

Les valeurs des RZ calculés sont reportées dans le tableau V. On observe que la valeur du EH est très fortement affectée par la concentration en oxygène dissous. En revanche, pour des écarts normaux de température et de pH, l'appareillage donne des résultats relativement homogènes. La méthode retenue et le système d'électrodes employé sont pratiquement insensibles au temps de stabilisation (au-delà du temps recommandé dans le protocole) et aux manipulateurs. Mis à part le paramètre C du tableau V (teneur en oxygène dissous), les écarts enregistrés entre les valeurs du niveau 1 et 0 sont de l'ordre de ceux de la reproductibilité de la mesure.

TABLEAU V/TABLE V
Valeur des RZ du plan de Youden (tableau IV)
RZ values of Youden scheme (table IV)

PARAMÈTRES	EH (mV)		RZ	
	Niveau 1	Niveau 0	mV	%
A.	314	322	- 8	- 2,5
B.	314	342	- 28	- 8,9
C.	314	558	- 244	- 77,7
D.	314	309	5	1,6
E.	314	317	3	0,9

B. - Évaluation externe de la méthode

La méthode pour être acceptable au niveau international doit donner des résultats précis et fiables dans tous les laboratoires où elle est pratiquée. Pour cela, un même échantillon doit donner des résultats très homogènes dans différents endroits. C'est l'étude collaborative qui conduit à l'estimation de la variabilité interlaboratoire. Pour la mesure du potentiel d'oxydoréduction, ce type d'analyse est relativement délicat pour plusieurs raisons :

- le potentiel d'oxydoréduction, noté EH en mV, représente une photographie instantanée de l'état d'oxydation ou de réduction d'une solution à un instant « t ». Le EH se mesure à l'aide d'électrodes et donne des résultats qualitatifs. Cependant, la seule valeur du EH est insuffisante, elle nécessite une mesure complémentaire de nature quantitative de la teneur en oxygène dissous ;
- le EH varie en fonction de la température, du pH, de la teneur en oxygène, de la lumière, de la pression, de l'environnement général, mais elle est également fonction de la composition du milieu (Vivas *et al.* 1993) et

particulièrement de l'état d'équilibre des couples oxydoréducteurs qu'il contient ;

- lors de la consommation d'oxygène, des couples oxydoréducteurs peuvent subir des modifications irréversibles, ce qui conduit alors au changement de la nature chimique des éléments du couple oxydoréducteur et de son E₀.

Le fait que le EH soit en équilibre et qu'il varie spontanément au cours du temps rend l'analyse collaborative très difficile. En revanche, on peut réaliser une vérification interlaboratoire du respect de l'électrode de mesure à l'égard de la loi de Nernst et de sa réponse pour un couple oxydoréducteur connu mis en solution de façon extemporanée, dans les conditions normalisées définies pour l'estimation de la reproductibilité.

Cet aspect de la validation de la méthode constituera la deuxième étape du travail.

CONCLUSION

Un nouvel appareillage de mesure du potentiel d'oxydoréduction, adapté aux conditions du vin, a été proposé (Vivas *et al.*, 1992). La méthode retenue pour son utilisation est validée dans ce travail. Plusieurs tests ont été mis au point et développés pour répondre aux contraintes bien spécifiques de la validation de la mesure du EH. Le système d'électrodes proposé donne des résultats très satisfaisants dans les conditions décrites.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) Validation
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).
- PEREIRA MONTEIRO (M.J.) & BERTRAND (A.), 1994. - Validation d'une méthode de dosage. Application à l'analyse des amines biogènes du vin ; *Bull. OIV*, 765-766, 917-962.
- FREDERICK (M.G.), 1991. - Quality insurance principal for analytical laboratories ; AOAC.
- YOU DEN (W.J.) & STEINEN (E.H.), 1975. - Statistical manual of the AOAC ; AOAC.
- 2) Références
- MICHAELIS (L.), 1953. - Oxidation and reduction potentials, Berlin.
- VIVAS (N.), ZAMORA (F.) & GLORIES (Y.), 1992. - Étude des phénomènes d'oxydoréduction dans les vins. Mise au point d'une méthode rapide de mesure du potentiel d'oxydoréduction ; *J. Int. Sci. Vigne vin*, 26, (4), 271-285.
- VIVAS (N.), ZAMORA (F.) & GLORIES (Y.), 1993. - Incidence de certains facteurs sur la consommation de l'oxygène et sur le potentiel d'oxydoréduction dans les vins ; *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 27, 1, 23-34.
- VIVAS (N.) & GLORIES (Y.), 1995. - Vinification et élevage des vins. Potentiel d'oxydoréduction en œnologie ; *Rev. Œnol.*, 21, 76, 10-14.