

L'AUTOMATISATION DE L'ANALYSE CHIMIQUE EN OENOLOGIE

par Marc DUBERNET

L'automatisation de l'analyse chimique s'est considérablement développée au cours de ces vingt dernières années, trouvant son application dans les domaines de la recherche, de l'industrie et du laboratoire d'analyse.

Le coût élevé de l'équipement, la complexité de sa mise en œuvre et l'absence de méthodes de dosage ont fait que cette technique n'a gagné que très récemment le laboratoire d'œnologie.

Le texte suivant fait le point sur l'automatisation de l'analyse chimique en œnologie, décrivant tout d'abord la technique d'analyse automatique en flux continu. Un deuxième paragraphe est consacré aux méthodes de dosages actuellement applicables ; la dernière partie traite de l'intégration de la technique de dosage automatique au laboratoire d'œnologie.

1) L'ANALYSE CHIMIQUE EN FLUX CONTINU

Il existe plusieurs méthodes différentes d'automatisation de l'analyse chimique. Le flux continu est l'une d'entre elles, la plus développée actuellement et la plus polyvalente.

Son principe repose sur l'existence d'un circuit constitué de tubes de verre ou de PCV à l'intérieur desquels circule l'échantillon analysé. Dans ce circuit, l'échantillon subit tous traitements physiques et chimiques correspondant au mode opératoire de l'analyse à réaliser.

Toute chaîne d'analyse automatique est fondamentalement composée de modules séparés assurant chacun un rôle bien précis (Fig. 1).

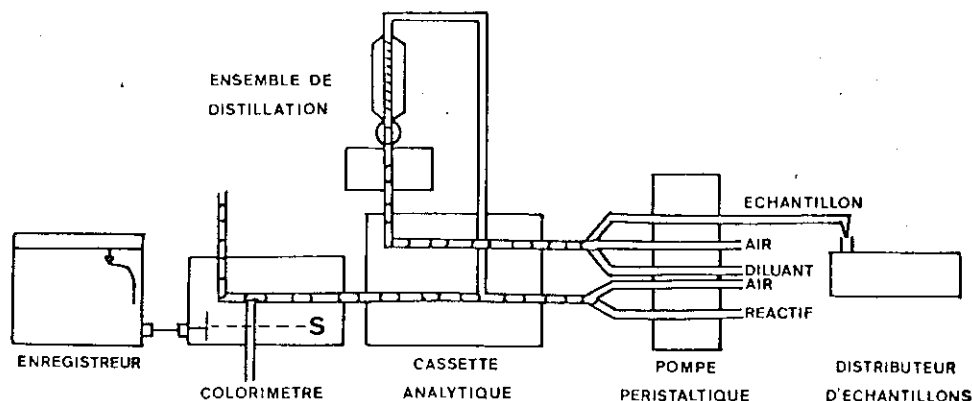


Fig. 1. — Schéma d'ensemble d'une chaîne d'analyse automatique en flux continu

a) Le distributeur d'échantillons :

Il est composé d'un plateau pouvant généralement contenir 40 godets (de 1 à 3 ml le plus souvent) dans lesquels sont placés les échantillons à analyser.

Un bras pivotant muni d'une aiguille vient prélever les échantillons les uns après les autres. Entre chaque échantillon, l'aiguille plonge dans un liquide de rinçage. L'aiguille est reliée au reste du circuit analytique par un tube en PCV. Tour à tour le liquide de rinçage, un échantillon, puis à nouveau le liquide de rinçage et un nouvel échantillon sont aspirés à travers l'aiguille vers le circuit analytique. La cadence de l'analyse est ainsi réglée au niveau du distributeur d'échantillon. Si l'aiguille prélève un échantillon pendant une minute puis le liquide de rinçage pendant une minute, la cadence sera de 30 échantillons à l'heure. Il est possible de régler à volonté cette cadence de même que le rapport du temps de rinçage et du temps de prélèvement de l'échantillon qui n'est pas forcément de 1 comme dans l'exemple ci-dessus mais de 2, 1/2, 1/3, 1/4, etc... Enfin, le distributeur d'échantillon est muni d'une alarme indiquant à l'opérateur que tous les échantillons du plateau ont été prélevés.

b) Une pompe péristaltique :

C'est le cœur de la chaîne d'analyse automatique. Tous les mouvements de liquide dans le circuit analytique sont réglés par la pompe.

Elle comprend en général de 20 à 30 canaux. Chacun est constitué par un tube, généralement en PCV, qui est écrasé contre un support par une série de rouleaux. L'avancement de ces rouleaux

fait circuler le liquide à l'intérieur du tube de pompe. Le débit de chacun des tubes est fonction de son diamètre intérieur. Ainsi, en utilisant des tubes de diamètres différents (0,005 à 0,110 cm) et bien que la vitesse d'avancement des rouleaux de la pompe soit rigoureusement constante, il existe une gamme très large de débits.

Cela permet de régler de façon précise les débits d'admission de l'échantillon et des différents réactifs dans le circuit analytique.

c) Une cassette analytique :

Elle comprend tous les éléments du circuit analytique. C'est à son niveau que l'échantillon peut être soumis à différents traitements en fonction de l'analyse à réaliser :

- dilution
- dialyse
- addition de réactif
- mélange
- distillation
- passage au bain-marie (température et durée variables).

Une partie du circuit peut être thermorégulée.

Tous les flux liquides circulant dans le circuit analytique sont, dès la sortie de la pompe, segmentés régulièrement par des bulles d'air tous les 1 à 2 centimètres. Ces bulles d'air, grâce aux forces de tension superficielle, interdisent la diffusion d'un composé en solution d'une section de colonne liquide prise entre deux bulles vers celle qui la précède ou celle qui la suit. En outre, la bulle d'air ressuit la paroi du tube de verre ou de PCV dans lequel elle circule.

De cette façon, toute contamination d'un échantillon à l'autre et toute dilution d'un échantillon par le liquide de rinçage qui le précède et qui le suit sont éliminés.

Ce principe fondamental de la séparation des liquides par une bulle d'air est utilisé dès le distributeur d'échantillon. En effet, au niveau de l'aiguille de prélèvement l'aspiration est constante ; lorsque l'aiguille passe du bain de rinçage au godet d'échantillon, une petite quantité d'air est prélevée, donnant naissance à une bulle qui, dans le tube de prélèvement, sépare le liquide de rinçage de l'échantillon.

d) Un détecteur :

La détection la plus courante est la colorimétrie. La majorité des analyses chimiques automatisées reposent sur une méthode colorimétrique en particulier dans le domaine œnologique. Cependant, d'autres détecteurs peuvent être utilisés :

- spectrophotomètre U.V.
- photomètre à flamme
- fluorescimètre
- néphélomètre
- compteur de cellules

- réfractomètre
- électrodes spécifiques
- plus récemment analyseur thermométrique.

e) Un enregistreur :

La présence du composé recherché dans l'échantillon prélevé se traduit au niveau du détecteur par un signal d'intensité proportionnelle à la concentration de ce composé. Ce signal est enregistré sous forme de pics dont la hauteur est proportionnelle à cette concentration (Fig. 2).

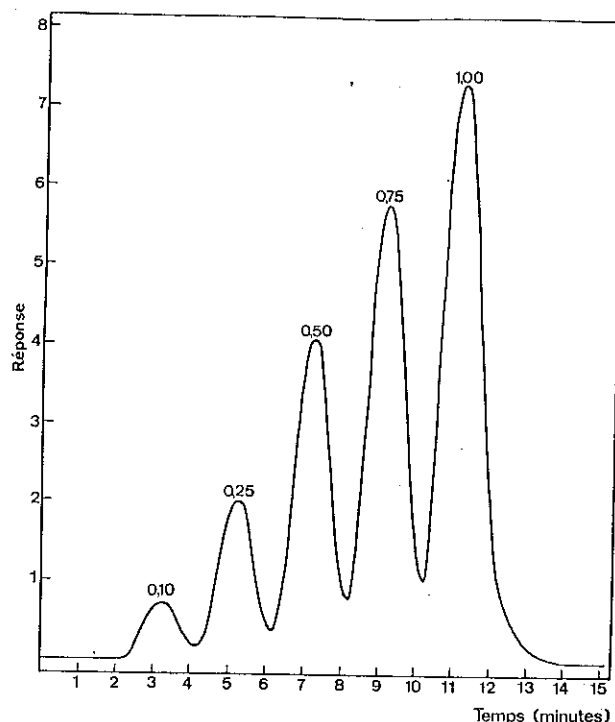


Fig. 2. — Modèle d'enregistrement obtenu dans le cas du dosage de l'acidité volatile dans les vins pour une cadence de 30 échantillons par heure (les valeurs indiquées sont exprimées en g/l d'acide sulfurique)

Entre chaque pic, le retour vers la ligne de base correspond au prélèvement du liquide de rinçage.

La fiabilité de la méthode d'analyse à flux continu repose sur la lecture de l'enregistreur grâce aux principes suivants :

1°) La création d'un état d'équilibre dans le circuit analytique tel que le retour à la ligne de base est toujours obtenu par prélèvement du liquide de rinçage et qu'une concentration donnée dans l'échantillon du composé analysé donne un pic d'une hauteur constante.

2°) La méthode de dosage est une méthode comparative. Toutes les mesures sont faites par rapport à une gamme étalon dont les concentrations sont parfaitement connues.

Grâce à ces principes, tout mauvais fonctionnement du circuit se traduit par une perturbation de l'enregistrement (dérive de la ligne de base, variation de la forme des pics, variation de la hauteur des pics d'étalonnage, etc...) rendant pratiquement impossible toute erreur d'analyse.

f) Une imprimante numérique :

L'adjonction, facultative, à la chaîne d'analyse d'une imprimante numérique, qui n'exclue pas l'obligation d'utiliser un enregistreur permet d'obtenir sur une bande, en face du numéro de l'échantillon, le signal de l'enregistreur converti en expression digitale (nombre) pour chaque dosage.

Les résultats sont exprimés directement en concentration du composé dosé.

Le module comporte, en outre, une sortie vers ordinateur.

II) DOSAGES REALISES EN OENOLOGIE

Le nombre de publication portant sur l'automatisation des dosages utilisés en œnologie reste très réduit. Le récent développement de ces techniques en est certainement la cause. Nous donnons ci-dessous quelques détails sur les dosages qui ont fait l'objet, à notre connaissance, d'une automatisation appliquée. Cette liste n'est pas restrictive et il est fort probable que, rapidement, de nouveaux dosages seront automatisés.

1°) Alcool :

Le dosage du titre alcoométrique des vins reste l'un des principaux réalisés par les laboratoires d'œnologie dans la mesure où il préside aux échanges commerciaux d'une grande majorité des vins. A ce titre, son automatisation a fait l'objet de plusieurs recherches.

En 1969 Sarris et al. publient une méthode de base pour la détermination automatique du degré alcoolique du vin, réalisant une distillation à 110°C puis une oxydation chromique.

Les inconvénients de cette première méthode résidaient dans une cadence faible (10 échantillons à l'heure) et une précision insuffisante de l'ordre du dixième de degré. Ces auteurs ont poursuivi leurs travaux en affinant leur technique de distillation. Ils ont ainsi amélioré la cadence et la précision de l'analyse. D'autres chercheurs ont remplacé l'oxydation chromique aboutissant à une lecture colorimétrique par une lecture directe grâce à un réfractomètre différentiel à cuve de circulation directement relié à l'enregistreur.

Dans tous les cas, la précision obtenue reste encore insuffisante (entre un dixième et un demi-dixième de degré) à cause de la nature même de la distillation à flux continu qui reste, malgré les progrès réalisés, soumise à des variations en fonction de la composition des vins.

Par contre, de bons résultats sont obtenus sur des séries de vins de constitution semblable.

Il reste permis de penser que, compte tenu de l'intérêt du dosage du degré alcoolique et du nombre de chercheurs travaillant sur son automatisation, une méthode précise et rapide sera prochainement mise au point.

2°) Acidité volatile :

C'est le dosage le plus courant dans les laboratoires d'œnologie.

Sarris et al. proposent en 1970 : a) une première méthode reposant sur une distillation à 110°C puis le déplacement par le distillat du pH d'une solution tamponnée contenant un indicateur coloré. Les résultats sont lus au colorimètre.

La cadence d'analyse est de 20 échantillons à l'heure.

Nous nous sommes inspirés très largement de ce travail (Dubernet 1976) et avons dans notre laboratoire, amélioré les performances de ce dosage sur les points suivants :

— Augmentation de la cadence : 30 échantillons par heure.

— Amélioration de la correction automatique du SO_2 , du CO_2 et de la rectification de l'acide lactique.

— Amélioration de la précision et de la régularité des résultats (0,01 g/l exprimées en H^2SO_4).

Actuellement, le dosage automatique de l'acidité volatile réalisé à notre connaissance dans au moins une douzaine de laboratoires peut être considéré comme parfaitement au point.

3°) Sucres réducteurs :

L'automatisation de ce dosage, si utile en période de vendange pour l'œnologue vinificateur n'a fait l'objet d'aucune publication.

La Société Technicon propose une méthode dérivée directement du dosage des sucres dans les urines et le sang utilisée dans les laboratoires d'analyses médicales. Cette méthode donne entière satisfaction dans le cas du dosage des sucres résiduels dans une gamme de 0 à 15 gr. de sucres par litre. La précision obtenue est alors celle d'un dosage par la méthode de Bertrand.

Il est possible aussi de doser les sucres des moûts frais ou en fermentation dans une gamme de 0 à 250 g/l grâce à une dilution automatique réalisée au niveau de la cassette analytique. Ce dosage manque cependant de précision, vraisemblablement à cause d'une irrégularité de la circulation des échantillons dans les tubes, conséquence de la viscosité importante des moûts riches en sucres.

Quoiqu'il en soit, de très bons résultats sont alors obtenus par dilution préalable des échantillons, de façon à retomber dans la gamme de 0 à 15 gr. de sucres réducteurs par litre.

4°) SO_2 libre :

Deux méthodes ont été décrites par Morfaux et Sarris en 1971, l'une, seulement applicable aux vins blancs, est fondée sur le dosage iodométrique direct, l'autre, plus précise et juste, sépare au préalable le SO_2 libre du vin par entraînement par l'azote.

Le SO_2 ainsi extrait est dosé par iodométrie. La cadence obtenue est de 30 échantillons par heure. Nous avons récemment mis au point une méthode de routine précise et rapide (cadence 60 échantillons à l'heure) qui utilise la dialyse. Le SO_2 est dosé par colorimétrie grâce à la coloration par le SO_2 du chlorhydrate de p-rosaniline en présence de formaldéhyde.

5°) SO_2 total :

Sarris et al. (1970) (b) ont décrit une méthode de dosage du SO_2 total fondée sur une distillation à 112°C , la reprise du SO_2 en milieu alcalin et une réaction iodométrique. La cadence est de 20 échantillons à l'heure.

Le remplacement de la réaction iodométrique par la méthode colorimétrique utilisant la coloration par le SO_2 du chlorhydrate de p-rosaniline et quelques modifications du circuit de distillation permettent de porter la cadence à 30 échantillons à l'heure. La méthode est fiable. Nous avons cependant rencontré quelques difficultés dans son application à cause d'un encrassement assez rapide du circuit de distillation par dépôt de matière colorante. Récemment, la Société Technicon a proposé une nouvelle méthode de distillation à froid avec déplacement des combinaisons du SO_2 en milieu alcalin fort. La méthode colorimétrique à la rosaniline reste utilisée. Cette méthode nettement plus simple que la précédente permet une cadence de 30 échantillons par heure et donne des résultats très satisfaisants jusqu'à 250 à 300 mg de SO_2 par litre.

6°) Acidité totale, pH :

Paradoxalement l'analyse simple de l'acidité totale reste difficile à automatiser. Il semble que des résultats satisfaisants aient été obtenus très récemment par la Société Technicon utilisant, à partir de vins préalablement décarbonisés, une technique de dialyse et de déplacement du pH d'une solution faiblement tamponnée contenant un indicateur coloré.

Le pH qui, à notre connaissance n'est pas automatisé à ce jour en routine peut l'être facilement par utilisation d'une micro électrode. Les techniques utilisées dans d'autres domaines (sang, eau, produits industriels) pour cette mesure peuvent être appliquées directement au vin.

7° Composés phénoliques :

a) Composés phénoliques totaux :

Aubert et Ferry (1972) décrivent une méthode de détermination des polyphénols totaux dans les vins fondée sur la formation d'un complexe jaune entre les composés phénoliques orthohydroxylés et le molybdate de sodium. Cette méthode permet une cadence de 30 échantillons par heure et donne satisfaction.

Il est par ailleurs facile d'automatiser la méthode manuelle décrite par P. Ribéreau-Gayon (1970) utilisant le réactif de Folin-Denis pour une cadence de 30 à 40 échantillons par heure.

Enfin, le dosage des noyaux aromatiques totaux par simple lecture de Do à 280 nm peut être facilement automatisé en utilisant un spectrophotomètre U.V. comme détecteur.

b) Intensité colorante :

La mesure d'intensité colorante d'un vin décrite par Sudraud (1958) consiste en la somme des densités optiques d'un vin sous 1 mm d'épaisseur à 520 et 420 nm.

Cette lecture a été automatisée sans difficulté dans de nombreux laboratoires. La mise en place d'un programmeur de longueur d'onde permet au cours d'un seul passage de l'échantillon d'enregistrer successivement les deux mesures.

8°) Acides organiques :

Divers acides du vin peuvent être dosés par voie automatique. Mme Colomb (INRA de Narbonne) a réalisé le dosage de l'acide tartrique par une adaptation de la méthode de Rebelein (Lipka et Tanner, 1974) et des acides malique et lactique par dosage enzymatique.

9°) Autres dosages :

L'automatisation de l'analyse des métaux, du glucose, du fructose, du saccharose, du glycérol, des composés azotés, de la densité des vins a fait l'objet de quelques recherches. Cependant, l'application de telles méthodes reste limitée pour des analyses qui restent exceptionnelles ou peu nombreuses dans la plupart des laboratoires d'œnologie.

III) LE LABORATOIRE D'ŒNOLOGIE ET L'ANALYSE AUTOMATIQUE EN FLUX CONTINU

a) Le choix des dosages :

L'analyse automatique en flux continu a ses contraintes. Il est indispensable de bien les connaître avant de mettre en place une chaîne de dosage.

— La surveillance d'un opérateur est indispensable pendant la marche de l'appareil. Ce dernier doit en vérifier le bon fonctionnement environ toutes les demi-heures et recharger le plateau d'échantillons lorsque le signal d'épuisement retentit. Bien entendu, l'opérateur garde disponible la majorité de son temps pour effectuer d'autres travaux dans le laboratoire.

La durée maximum d'absence peut être fixée à 1 heure ou 1 heure et demie suivant la cadence de l'analyse. Il est ainsi possible de laisser fonctionner la chaîne pendant la pose de la demi-journée.

— Le matériel, très logique dans sa construction et son fonctionnement reste cependant assez complexe. Sa mise en œuvre demande de la part de l'opérateur compétence et habitude.

Il est prudent dans tous les cas de prévoir une période de rodage de un mois environ.

— La mise en route de la chaîne demande de 30 à 60 minutes avant l'analyse du premier échantillon.

L'arrêt de l'appareil après passage du dernier échantillon comprenant nettoyage et rinçage du circuit réclame en moyenne 30 minutes.

Ainsi l'opérateur doit disposer en permanence d'un volant d'échantillons à analyser. En effet, compte tenu de ces temps de mise en route et d'arrêt de la chaîne, il est impossible de la démarrer et de l'arrêter plusieurs fois par jour. Il est permis cependant de laisser tourner la chaîne sans échantillons mais, dans ce cas, la consommation de réactifs se poursuit.

Le nombre journalier d'échantillons sur lequel porte l'analyse doit être régulier et suffisant. Le chiffre de base doit se situer autour de 50 à 60 échantillons par jour. On peut cependant passer facilement de 40 échantillons par jour en période creuse à 250 échantillons par jour en période d'utilisation maximum avec une moyenne de 100 échantillons par jour en période normale. Ces chiffres sont valables pour une cadence de 30 échantillons à l'heure, ils sont augmentés si la cadence l'est aussi.

Compte tenu de ces contraintes et des dosages dont la mise au point est actuellement satisfaisante, nous donnons ci-dessous un exemple du choix qui peut être fait dans le cas d'un laboratoire spécialisé dans le contrôle de la vinification et de la conservation des vins.

La chaîne d'analyse choisie comprend deux canaux.

En période de vendange, un canal est équipé pour le dosage de l'acidité volatile, l'autre pour le dosage des sucres dans une gamme de 0 à 15 g. On peut ainsi doser indifféremment les sucres résiduels en fin de fermentation ou les sucres dans les moûts mais après dilution préalable de ces derniers. Ces analyses sont, en effet, celles dont la fréquence est la plus élevée en période de vendange dans l'activité du laboratoire défini ci-dessus.

La cadence pour ces deux analyses étant de 30 échantillons par heure, il est possible d'analyser sans grande difficulté jusqu'à 250 échantillons par jour.

En période de conservation, le dosage des sucres devenu inutile est remplacé par celui du SO^2 total.

Par ailleurs, le nombre journalier d'échantillons étant de l'ordre de 80 à 100 et, une grande partie du circuit analytique du SO^2 libre étant identique à celui du SO^2 total, il est possible, grâce à une transformation simple de réaliser les deux dosages l'un après l'autre, sur le même canal. L'organisation devient la suivante :

L'appareil mis en route vers 8 heures 30 est monté pour le dosage du SO^2 libre à une cadence de 60 échantillons par heure. Le second canal n'est pas utilisé.

Vers 11 heures, tous les échantillons étant analysés, l'appareil est nettoyé, rincé puis mis en route avec les dosages de l'acidité volatile et du SO^2 total à une cadence de 30 échantillons par heure. La chaîne est maintenue en route pendant le repas de midi. Tous les échantillons sont analysés pour 16 heures, ce qui permet d'exploiter les résultats le jour même.

b) Mise en place d'une chaîne d'analyse automatique :

La mise en place d'une chaîne d'analyse automatique ne nécessite aucun équipement de laboratoire exceptionnel. La surface de paillasse occupée par une chaîne à 2 canaux est environ de 300 x 60 cm. Une source d'électricité et une sortie à l'évier sont les seuls aménagements nécessaires pour la majorité des analyses. Une arrivée d'azote, à une pression de 1 à 3 bars, est nécessaire pour certaines analyses (acidité volatile, SO^2 total). Une nette amélioration à l'accès des appareils, en particulier pour le dépannage et l'entretien, est obtenue par utilisation d'une paillasse centrale.

c) Analyse économique :

Il est difficile d'évaluer précisément le coût d'amortissement et de fonctionnement d'une chaîne d'analyse automatique. D'importantes différences existent en fonction du type de matériel et du ou des dosages choisis. Nous donnons ci-dessous, à titre indicatif, les chiffres obtenus pour l'année 1976 pour une chaîne dont les caractéristiques sont les suivantes :

Marque :

TECHNICON AUTOANALYSER II livré prêt à fonctionner.

Nombre de canaux : Deux.

Dosages : Acidité volatile — SO^2 total.

Cadence : 30 échantillons par heure.

Prix (H.T.) : 100.000 F (1973).

Mode de financement : Leasing sur une période de 5 ans.

Ces prix sont indiqués hors taxes.

1° Amortissement :

Leasing F 31.047,00

2° Fonctionnement :

— Consommables :	
— tubes pompe	800,00
— tubes liaison petite ver- rierie	250,00
— encre	70,00
— papier enregistreur	400,00
— azote	400,00
— eau distillée	250,00
— produits chimiques	500,00
— électricité, eau	300,00
— entretien, réparation	1.000,00
TOTAL	3.970,00
TOTAL GENERAL	35.017,00

Le tableau suivant donne le prix unitaire de l'analyse sur une base de 250 jours de fonctionnement par an et pour une fourchette de 80 à 120 échantillons journaliers. Les dépenses de consommables et d'entretien restent à peu près constantes dans cette fourchette.

Nombre d'échantillons		Nombre d'analyses annuel	Coût de l'analyse		
Journalier	Annuel		Amortissement	Fonctionnement	Total
80	20.000	40.000	0,776	0,099	0,875
100	25.000	50.000	0,621	0,079	0,700
120	30.000	60.000	0,518	0,066	0,584

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUBERT S. et FERRY P., 1972.
Détermination automatique des polyphénols totaux dans les vins. *Ind. Alim. Agr.*, 1723-1730.
Colomb. Communication personnelle.
- DUBERNET M., 1976.
Dosage automatique de l'acidité volatile dans les vins. *Connaissance Vigne Vin*, 10, 3, 297-309.
- LIPKA Z. et TANNER H., 1974.
Une nouvelle méthode de dosage rapide de l'acide tartrique dans les moûts, les vins et autres boissons (selon Rebelein). *Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture*, 5-10.
- MORFAUX J.N. et SARRIS J., 1971.
Détermination automatique de l'anhydride sulfureux dans les vins. *Connaissance Vigne Vin*, 4, 505-516.
- SARRIS J., MORFAUX J.N., DUPUY P. et HERTZOG D., 1969.
Détermination automatique du degré alcoolique du vin. *Ind. Alim. Agric.*, 86, 9-10, 1241-1246.
- SARRIS J., MORFAUX J.N., DUPUY P. et HERTZOG D., 1970 (a).

La lecture de ce tableau indique clairement que pendant les 5 premières années, la majeure partie du coût porte sur l'amortissement. En conséquence, le coût par analyse devient très lourd en dessous d'un nombre minimum d'analyses journalières.

CONCLUSION

De nombreux laboratoires d'œnologie se sont équipés avec un matériel d'analyse automatique au cours de ces deux dernières années.

En effet, la technologie moderne s'appuie de plus en plus sur l'analyse et les enseignements qu'elle apporte. Les pouvoirs publics et les instances professionnelles y trouvent le moyen d'un contrôle plus strict de la qualité. La conséquence en est une augmentation constante du nombre d'analyses nécessaires sur un vin donné entre son élaboration et sa consommation.

L'automatisation permet de répondre à ces besoins en apportant des avantages de reproductibilité, de fiabilité, de rapidité des mesures. De même, un coût dégressif en fonction du nombre d'analyse permet, au-dessus d'un nombre journalier minimum, de diminuer sensiblement le prix unitaire par rapport à l'analyse manuelle.

- Détermination automatique de l'acidité volatile du vin. *Ind. Alim. Agric.*, 87, 115-121.
- SARRIS J., MORFAUX J.N. et DERUIN L., 1970 (b).
Détermination automatique de l'anhydride sulfureux total dans les vins. *Connaissance Vigne Vin*, 4, 431-438.
- RIBEREAU-GAYON P., 1970.
Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chimie Analytique*, 52, 6, 627-631.
- SUDRAUD P., 1958.
Ann. Technol. Agric., 7, 203.

NOTE DE LA REDACTION

Au cours de son étude, l'Auteur cite la marque du matériel qu'il a utilisé, ceci étant indispensable à la détermination des prix de revient.

Il nous paraît cependant nécessaire et honnête de préciser qu'il existe d'autres constructeurs de matériel pouvant être adapté à l'analyse œnologique.