REMPLACEMENT 2016
Métropole

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR AGRICOLE
E7-1 ANALYSES ET CONTRÔLES

Option : ANABIOTEC

Durée : 180 minutes

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Calculatrice**

Le sujet comporte 15 pages

SUJET

Conformité d'un vin blanc doux au cahier des charges d'un groupement de viticulteurs

Vous êtes technicien dans un laboratoire d'analyse et de conseil œnologique. Ce laboratoire appartient à un groupement de viticulteurs produisant du vin blanc doux. Un nouveau viticulteur veut intégrer ce groupement. Il doit donc se conformer à leur cahier des charges et pour cela respecter les critères suivants, selon la norme INAO du 11/09/2014 :

- Titre alcoométrique en pourcentage volumique compris entre 10,5 et 13,4 %. (tolérance à+/- 0,5 %).
- Taux de sucres résiduels (glucose + fructose) compris entre 5 et 60 g/L.

Ainsi que :
- Taux de sulfites maximal à 260 mg/L.
- Absence de *Brettanomyces bruxellensis* en cours de fabrication et dans le vin en bouteille.

Vous êtes chargé de réaliser :

- les prélèvements et l'analyse des moûts et des vins pour la recherche de *Brettanomyces bruxellensis,* ainsi que les analyses physico-chimiques et biochimiques correspondant au cahier des charges ;

- vos résultats permettront d'intégrer ou non ce nouveau viticulteur dans le groupement.

1. Plan qualité : détection de *Brettanomyces* dans le moût et dans le vin *(8 points)*

Brettanomyces bruxellensis est une levure indésirable et contaminante dans le moût et le vin produisant des phénols volatils (4-éthylphénol et du 4-éthylgaïacol) responsables d'odeurs désagréables détectées lors de la dégustation.
Cette levure se développe en cours de fabrication du vin et dans la bouteille si le vin ou le moût n'est pas suffisamment protégé par l'apport de soufre (SO_2), **document 1**, ou s'il contient du sucre. On la retrouve suite à une contamination du chai* et au non-respect des conditions élémentaires d'hygiène.

* Chai : endroit où l'on entrepose le vin en tonneaux et où se déroule la vinification.

A l'aide du schéma de production du vin blanc doux, présenté en **document 1** et de l'arbre de décision de la méthode HACCP, présenté dans le **document 2 :**

1.1 Identifier les CCP dans le cadre du danger « *Brettanomyces bruxellensis*», en justifiant votre réponse.

1.2 A l'aide d'une méthode adaptée, déterminer les causes possibles de la contamination.

1.3 Proposer les actions correctives à apporter en cas de présence de cette levure.

Vous réalisez la recherche et l'identification de *Brettanomyces bruxellensis* sur des échantillons prélevés dans le moût en fermentation et dans le vin embouteillé selon le protocole fourni dans le **document 3**.

1.4 *Brettanomyces bruxellensis, en* culture sur milieu YPD forme des colonies plates, sèches, blanches, d'un diamètre d'environ 1mm. Mais d'autres levures peuvent pousser sur ce milieu et créer des confusions de lecture. Après avoir recherché cette levure sur milieu gélosé YPD, justifier l'intérêt de la méthode PCR en vous appuyant sur son principe.

1.5 Pour mettre en œuvre cette méthode PCR, on doit réaliser une extraction d'ADN, justifier cette étape.

1.6 Interpréter les résultats présentés dans le **document 4**.

2. Dosage des sucres résiduels et des sulfites dans le vin *(9 points)*

2.1 Dosage des sucres résiduels

Pour vérifier la conformité au cahier des charges, vous devez réaliser le dosage des sucres résiduels (glucose et fructose) dans le vin par kit enzymatique. Pour cela, vous disposez de la notice du kit disponible (**document 5**) et d'un spectrophotomètre UV-visible multicuves régulièrement utilisé.

2.1.1 En vous appuyant sur le principe du kit de dosage, expliquer le rôle des différents réactifs contenus dans les flacons numérotés de 1 à 6.

2.1.2 Expliquer les étapes de préparation de l'échantillon nécessaires pour ce dosage.

2.1.3 Proposer un mode opératoire sous forme de tableau pour réaliser le dosage du glucose et du fructose et de la solution de référence.

2.2 Dosage des sulfites

Vous effectuez le dosage des sulfites sur un échantillon de vin en suivant le protocole du **document 6**.

2.2.1 A partir du principe du dosage, justifier l'intérêt de chacune des étapes.

2.2.2 Justifier l'utilisation de l'empois d'amidon.

2.2.3 Le laboratoire souhaite augmenter sa capacité d'analyses. Proposer des techniques et des équipements plus adaptés pour réaliser ce dosage.

3. Application de la réglementation *(3 points)*

La réglementation fixe une teneur en sulfites maximale à 260 mg/L. Le laboratoire souhaite vérifier cette condition. On prélève un échantillon de 200 bouteilles à la sortie de la chaîne d'embouteillage.

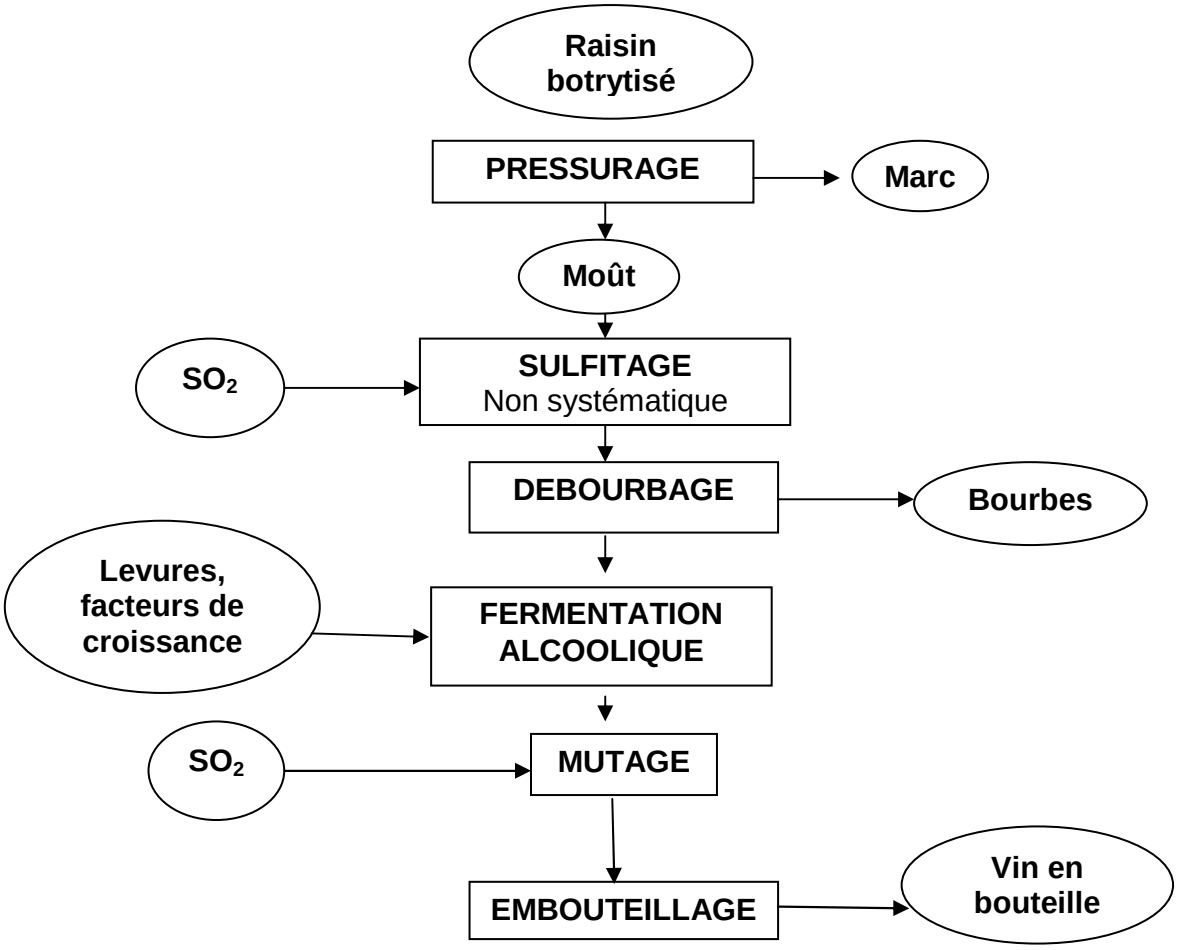
La production est considérée comme conforme si au plus 3 % des bouteilles ont une teneur en sulfites supérieures à 260 mg/L.

La taille de la production est supposée suffisamment grande pour que ce prélèvement puisse être assimilé à 200 tirages successifs avec remise. Sur cet échantillon, ont été dénombrées 7 bouteilles ayant une teneur en sulfites supérieure à 260 mg/L.

3.1 Au seuil de risque de 5 %, ce contrôle remet-il en question l'intégration de ce nouveau viticulteur dans le groupement ? **(document 7).**

DOCUMENT 1

VINIFICATION DES VINS BLANCS



Raisin botrytisé : raisin surmûri, avec des baies très riches en sucres.
Pressurage : opération mécanique consistant à presser le raisin pour en extraire le moût.
Marc : Résidu solide du pressurage.
Moût : Jus de raisin non fermenté.
Sulfitage : Ajout de SO_2.

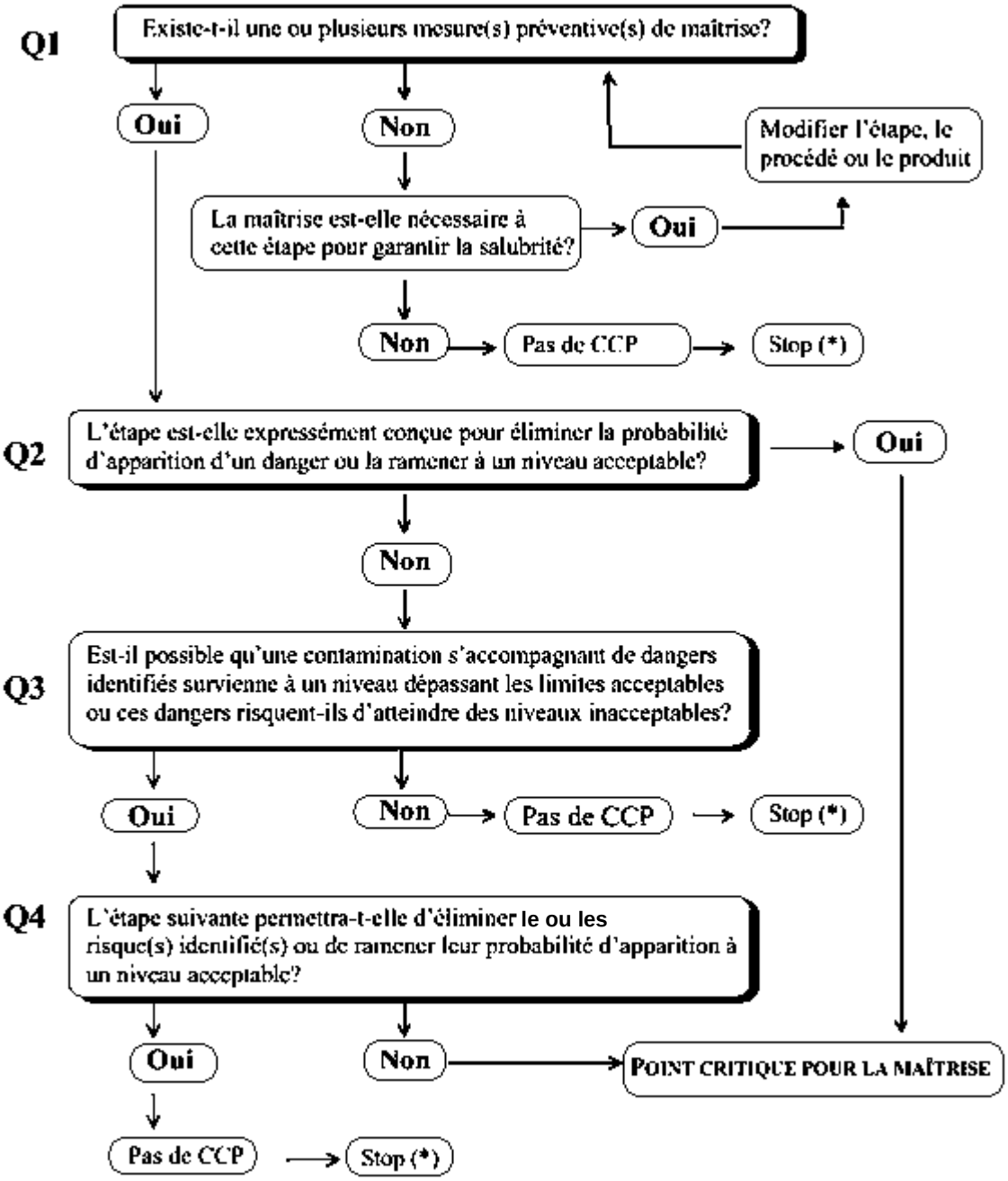
Le SO_2 possède les propriétés suivantes :

Propriété antiseptique : contre le développement des bactéries et contre les levures indésirables (comme les *Brettanomyces*). Il peut servir à bloquer la fermentation alcoolique (mutage au soufre). Il est utilisé pour le nettoyage des barriques et du matériel.
Propriété antifongique : contre champignons et moisissures.
Propriété stabilisante : le SO_2 agit comme un sélectionneur de levures, détruisant les levures les plus faibles et laissant les plus efficaces pour la fermentation alcoolique.

Débourbage : décantation statique des moûts afin de les rendre clairs.
Fermentation alcoolique : transformation des sucres en éthanol.
Mutage : opération qui consiste à stopper la fermentation alcoolique.

DOCUMENT 2

Arbre de décision des CCP



(*) Passer au prochain danger identifié dans le processus décrit.

DOCUMENT 3

DETECTION DE *Brettanomyces bruxellensis* dans un moût ou dans un vin

I - Mode opératoire pour la recherche en milieu gélosé YPD.

Prélever et filtrer sur membrane stérilement un échantillon de 100 mL de moût ou de vin.
Déposer la membrane de filtration sur un milieu de culture YPD (glucose, peptone, extrait de levures, biphényl, cycloheximide, agar et chloramphenicol; pH 4,8 acide), c'est un milieu sélectif des levures. Incuber 6 jours à 30°C.

II – Mode opératoire d'extraction de l'ADN à partir de colonies prélevées sur milieu nutritif gélosé YPD

1°) Préparation

- à partir de la boite de milieu YPD contenant les colonies de levures, suspendre chaque colonie dans 40 µl d'eau stérile dans un tube eppendorf , bien homogénéiser (vortex)
- déposer dans l'ordre sur une carte FTA® (carte de papier Whatman contenant des enzymes de lyse des protéines et libérant les acides nucléiques) :
  - un témoin positif
  - un témoin négatif
  - 5 µl de chaque suspension
- laisser sécher 1 h à côté de la flamme
- découper à l'emporte-pièce une pastille de chaque dépôt
- Introduire chaque pastille dans un tube PCR différent
- rajouter 200 µl de réactif de purification (tampon FTA®) dans chaque tube PCR et laisser agir 5 min
- prélever le liquide à l'aide d'une pipette sans toucher la pastille, répéter deux fois l'opération
- puis faire un dernier lavage de 5min dans 200 µl d'eau pure 5 min
- la pastille est ainsi prête à être utilisée comme **matrice pour la PCR**

2°) PCR DB1/DB2

- déposer chaque matrice PCR dans un tube PCR
- ajouter les réactifs nécessaires pour la réaction d'amplification :
  - amorce DB1 0,2 µl : agaagttgaacggccggcatttgac
  - amorce DB2 0,2 µl : aggattgttgacactctcgcggagg
  - MIX PCR contenant taq polymérase (2,5U), dNTPS(200 µl), Mg Cl_2 ; représenté par une bille unidose (0,6 µl)
  - eau pure ou stérile 24µl
- Centrifuger les tubes à 2 000 tours /min pendant 1 min.

3°) Amplification

Mettre tous les tubes PCR dans le thermocycleur et régler le programme suivant :

10 min à 95°
30 cycles de 30 sec à 95°
30 cycles de 30 sec à 55°
30 cycles d'1 min à 72°
10 min à 72°

DOCUMENT 3 (suite)

4°) Identification

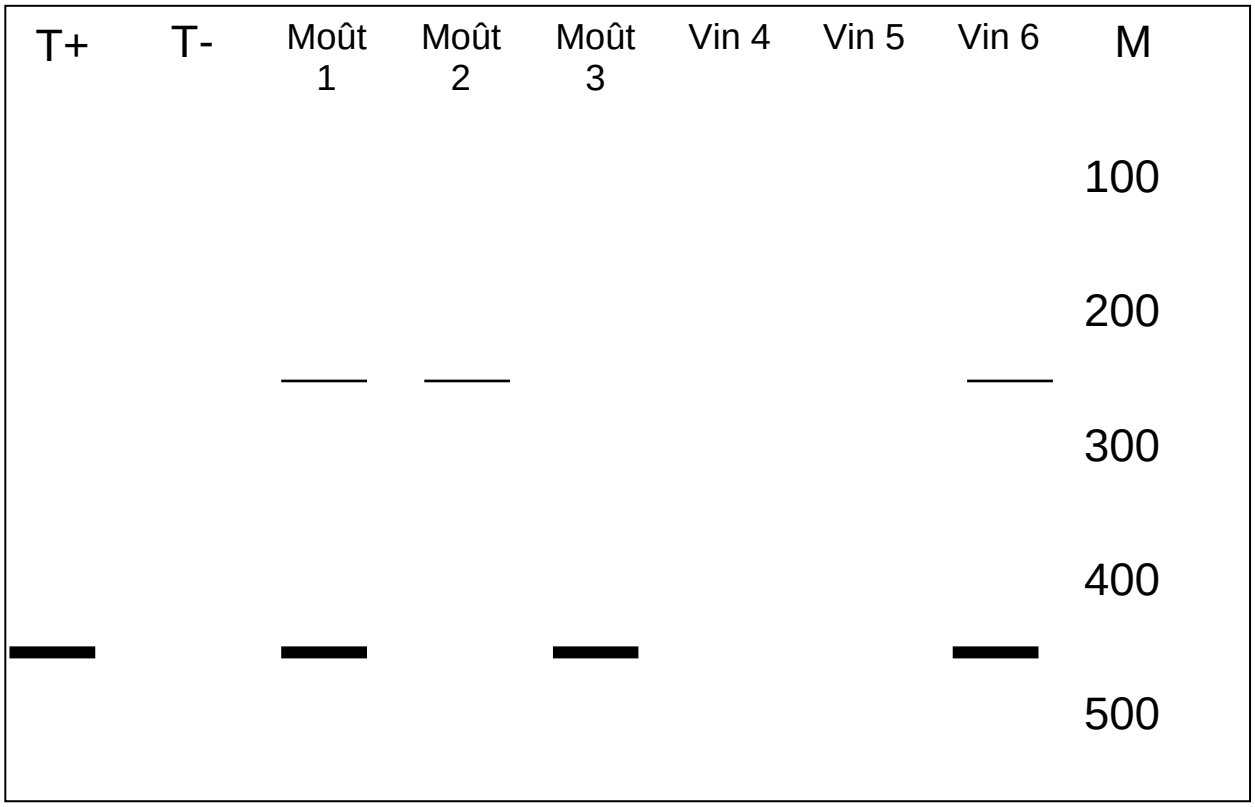
- Déposer 10µl de chaque tube PCR sur gel d'agarose en vue d'une migration des fragments d'ADN par électrophorèse et du marqueur de taille.
- La taille de l'ADN de *Brettanomyces bruxellensis* est de 471 pb.

5°) Révélation

- Visualisation du gel : s'effectue après migration complète en déposant le gel sur le transilluminateur U. V.
- Repérer la taille des échantillons par comparaison avec les témoins négatif et positif.
- Révéler la présence de *Brettanomyces bruxellensis*.

DOCUMENT 4

Résultats du gel d'agarose suite aux 6 prélèvements effectués dans le moût et dans le vin



T+ : témoin positif
T- : témoin négatif
M : marqueur de taille

DOCUMENT 5

INTRODUCTION:

Le saccharose, le D-glucose et le D-fructose sont présents dans la plupart des produits végétaux et alimentaires. Dans les matières d'origine végétale, le D-glucose et le D-fructose se trouvent sous la forme de sucres libres, dans le saccharose et dans divers oligosaccharides (oligosaccharides de galactosyl-saccharose et fructo-oligosaccharides) et polysaccharides tels que les fructanes (inulines), l'amidon, les 1,3:1,4-β-D-glucanes et la cellulose. Dans les aliments, ils existent en quantité significative dans le miel, le vin et la bière, ainsi que dans divers produits alimentaires solides tels que le pain et les pâtisseries, le chocolat et les bonbons. Dans l'industrie du vin, l'ajout de saccharose n'est autorisé que dans certains cas de figure, par exemple pour la production de champagne.

PRINCIPE :

La concentration du D-glucose est déterminée avant et après hydrolyse du saccharose par la β-fructosidase (invertase). La teneur en D-fructose de l'échantillon est déterminée après le dosage du D-glucose, après isomérisation par la phosphoglucose isomérase (PGI).

Dosage du D-glucose:

À pH 7,6, l'hexokinase (HK) catalyse la phosphorylation du D-glucose par l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) en glucose-6-phosphate (G-6-P), avec formation simultanée d'adénosine-5'-diphosphate (ADP) (1).

$$(1)\ \text{D-Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{(HK)} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

En présence de l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH), le G-6-P est oxydé par le nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate ($NADP^+$) en gluconate-6-phosphate, avec formation de nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) (2).

$$(2)\ \text{G-6-P} + NADP^+ \xrightarrow{(G6P\text{-}DH)} \text{gluconate-6-phosphate} + \text{NADPH} + H^+$$

La quantité de NADPH formée au cours de cette réaction est stœchiométrique avec la quantité de D-glucose. C'est le NADPH qui est mesuré par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

DOCUMENT 5 (suite)

Dosage du D-fructose:

L'hexokinase catalyse également la phosphorylation du D-fructose en fructose-6-phosphate (F6-P) par l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) (3).

$$(3)\ \text{D-Fructose} + \text{ATP} \xrightarrow{(HK)} \text{F-6-P} + \text{ADP}$$

Le F-6-P est ensuite converti en G-6-P par la PGI (4).

$$(4)\ \text{F-6-P} \xrightarrow{(PGI)} \text{G-6-P}$$

Le G-6-P réagit à son tour avec le $NADP^+$ pour former du gluconate-6-phosphate et du NADPH, ce qui conduit à une nouvelle augmentation de l'absorbance, stœchiométrique avec la quantité de D-fructose.

Hydrolyse du saccharose:

À pH 4,6, le saccharose est hydrolysé par la β-fructosidase en D-glucose et D-fructose.

$$(5)\ \text{Saccharose} + H_2O \xrightarrow{(\beta\text{-fructosidase})} \text{D-glucose} + \text{D-fructose}$$

Le D-glucose de l'échantillon, après hydrolyse du saccharose (D-glucose total), est dosé comme décrit ci-dessus.

La teneur en saccharose est calculée à partir de la différence des concentrations de D-glucose avant et après hydrolyse par la β-fructosidase.

DOCUMENT 5 (suite)

COMPOSITION DES KITS:

Des kits permettant la réalisation de 50 dosages de chaque composant, du saccharose, du D-glucose et du D-fructose sont disponibles. Les kits contiennent la notice technique complète de dosage, plus:

Flacon 1:	Tampon I (25 mL, 2 M, pH 7,6) plus azoture de sodium 0,02 % (m/v) jouant un rôle de conservateur. Stable pendant > 2 ans à 4°C.
Flacon 2:	$NADP^+$ plus ATP. Stable pendant > 5 ans à -20°C.
Flacon 3:	Suspension d'hexokinase plus glucose-6-phosphate déshydrogénase, (4,1 mL). Stable pendant > 2 ans à 4°C.
Flacon 4:	Suspension de phosphoglucose isomérase (2,25 mL). Stable pendant > 2 ans à 4°C.
Flacon 5:	Solution de référence de D-glucose plus D-fructose (5 mL, 0,2 mg/mL de chaque sucre). Stable pendant > 2 ans à 4°C.
Flacon 6:	β-Fructosidase (pH 4,6), poudre lyophilisée. Stable pendant > 2 ans à -20°C.

DOCUMENT 5 (suite)

PROCEDURE :

Longueur d'onde:	340 nm
Cuve:	trajet optique 1 cm (verre ou plastique)
Température:	~ 25°C
Volume final:	2,42 mL (D-glucose) 2,44 mL (D-fructose)
Solution échantillon:	4-80 µg de saccharose + D-glucose + D-fructose par cuve (dans un volume d'échantillon de 0,10 à 1,00 mL)

Effectuer la lecture par rapport à l'air (sans cuve dans le trajet optique) ou par rapport à l'eau.

Pipeter dans les cuves	Blanc échantillon de saccharose	échantillon de saccharose	Blanc échantillon de D-glucose / D-fructose	échantillon de D-glucose / D-fructose
solution 6* (β-fructosidase) solution échantillon	0,20 mL -	0,20 mL 0,10 mL	- -	- 0,10 mL
Mélanger**, mettre en incubation pendant 5 min (REMARQUE: avant de pipeter la solution 6, commencer par la chauffer à 25-30°C). Puis ajouter:				
eau distillée (à ~ 25°C) solution 1 (tampon) solution 2 ($NADP^+$/ATP)	2,00 mL 0,10 mL 0,10 mL	1,90 mL 0,10 mL 0,10 mL	2,20 mL 0,10 mL 0,10 mL	2,10 mL 0,10 mL 0,10 mL
Mélanger**, lire les absorbances des solutions (A_1) après environ 3 min et démarrer les réactions par addition de:				
suspension 3 (HK/G6P-DH)	0,02 mL	0,02 mL	0,02 mL	0,02 mL
Mélanger**, lire les absorbances des solutions (A_2) à la fin de la réaction (environ 5 min). Si la réaction n'est pas terminée au bout de 5 min, continuer à lire les absorbances toutes les 2 min jusqu'à ce que les absorbances restent identiques sur 2 min***. Puis ajouter:				
suspension 4 (PGI)	-	-	0,02 mL	0,02 mL
Mélanger**, lire les absorbances des solutions (A_3) après environ 10 min.				

* pipeter la solution 6 et la solution échantillon dans le fond de la cuve et mélanger délicatement par rotations.

** par exemple avec une spatule en plastique ou par délicate inversion après avoir scellé la cuve au moyen d'un bouchon spécial ou de Parafilm®.

*** si l'absorbance continue à augmenter, cela peut être dû aux effets des composés colorés ou des enzymes présents dans l'échantillon. Ces substances interférant peuvent être éliminées durant la préparation des échantillons.

DOCUMENT 5 (suite et fin)

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS:

1. Dilution de l'échantillon.

La quantité de sucres (D-glucose plus D-fructose plus saccharose) présent dans la cuve (c.-à-d. dans les 0,1 mL d'échantillon analysé) doit être comprise entre 4 et 80 µg. La solution échantillon doit par conséquent être suffisamment diluée pour conduire à une concentration de sucres située entre 0,04 et 0,8 g/L.

Tableau de dilution

Concentration estimée du D-glucose plus D-fructose plus saccharose (g/L)	Dilution dans l'eau	Facteur de dilution (F)
< 0,8	Aucune dilution requise	1
0,8-8,0	1 + 9	10
8,0-80	1 + 99	100
> 80	1 + 999	1000

Si la valeur de $\Delta A_{D\text{-glucose}}$, $\Delta A_{saccharose}$ ou $\Delta A_{D\text{-fructose}}$ est trop faible (par exemple, < 0,100), utiliser une quantité d'échantillon plus importante ou une dilution plus faible de l'échantillon. Le volume d'échantillon pipeté dans la cuve peut également être augmenté à 1,00 mL, en s'assurant que la somme des composants échantillon, eau distillée et solution 6 dans la réaction est de 2,20 mL et en utilisant le nouveau volume d'échantillon dans l'équation.

2. Clarification de l'échantillon.

a. Solutions:

Solution de Carrez I. Dissoudre 3,60 g d'hexacyanoferrate de potassium (II) $\{K_4[Fe(CN)_6].3H_2O\}$ (Réf. Sigma P-9387) dans 100 mL d'eau distillée. Conserver à température ambiante.

Solution de Carrez II. Dissoudre 7,20 g de sulfate de zinc ($ZnSO_4.7H_2O$) (Réf. Sigma Z-4750) dans 100 mL d'eau distillée. Conserver à température ambiante.

Hydroxyde de sodium (NaOH, 100 mM). Dissoudre 4 g de NaOH dans 1 L d'eau distillée. Conserver à température ambiante.

b. Procédure:

Pipeter l'échantillon liquide dans une fiole jaugée de 100 mL contenant environ 60 mL d'eau distillée, ou peser une quantité suffisante de l'échantillon dans une fiole jaugée de 100 mL et ajouter 60 mL d'eau distillée. Ajouter délicatement 5 mL de solution de Carrez I, 5 mL de solution de Carrez II et 10 mL de solution de NaOH (100 mM). Mélanger après chaque addition. Compléter la fiole jaugée jusqu'à la marque, **mélanger et filtrer.**

DOCUMENT 6

DOSAGE DES SULFITES DANS LE VIN
Méthode de Ripper

Les sulfites, SO_2 sont ajoutés dans certains produits alimentaires dont le vin pour leurs propriétés antioxydantes et antiseptiques, permettant une meilleure conservation de ces produits.

Toutefois, les sulfites peuvent être à l'origine d'allergies. C'est pourquoi la réglementation a évolué afin de protéger le consommateur. Ainsi :

- La limite maximale de SO_2 total (toutes formes confondues) dans un vin blanc doux est de 260 mg/L.
- La mention « Contient des sulfites » est obligatoire dès lors que la concentration est supérieure à 10 mg/L.

I - PRINCIPE DU DOSAGE

Dans le vin, le dioxyde de soufre se présente sous deux formes : libre et combinée.

Il s'agit d'un dosage iodométrique en présence d'amidon.

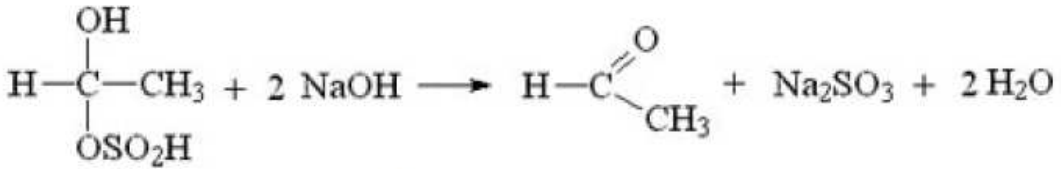
- **Dosage du SO_2 libre** : Equation de la réaction

$$SO_2 + I_2 + 2H_2O \longrightarrow 2\,I^- + SO_4^{\,2-} + 4\,H^+$$

L'indicateur de fin de réaction est l'amidon. Lorsque tout le SO_2 a réagi, le diiode va former un complexe bleu typique avec l'amidon.

- **Dosage du SO_2 total**

1ère étape : Dosage du SO_2 libre + SO_2 combiné à l'éthanal
Consiste à libérer sous l'action de la soude, le SO_2 combiné à l'éthanal selon l'équation suivante :



Ensuite, le dosage s'opère comme précédemment avec le diiode en milieu acide

$$Na_2SO_3 + H_2SO_4 \longrightarrow H_2SO_3 + Na_2SO_4$$

et $H_2SO_3 \longrightarrow H_2O + SO_2$

Puis : $SO_2 + I_2 + 2H_2O \longrightarrow 2\,I^- + SO_4^{\,2-} + 4\,H^+$

2ème étape : Dosage du SO_2 combiné aux autres constituants (plus difficile à libérer).
On procède avec un nouvel ajout de soude pour libérer le SO_2 fixé sur les autres composés présents dans le vin puis à nouveau dosage au diiode en milieu acide.

DOCUMENT 6 (suite et fin)

II - PROTOCOLE

2.1 Titrage de la solution de diiode

La solution de diiode I_2 est titrée par une solution de thiosulfate de sodium $Na_2S_2O_3$ selon l'équation :

$$I_2 + 2\,S_2O_3^{\,2-} \longrightarrow 2\,I^- + S_4O_6^{\,2-}$$

Introduire dans un erlen de 100 mL :
- 10 mL de solution de diiode I_2.

Remplir une burette avec une solution de thiosulfate de sodium à 0,010 M.
Titrer la solution de diiode par ajout de thiosulfate de sodium.
Le virage coïncide avec la décoloration de la solution.

2.2 Dosage du SO_2 libre

Dans un erlen de 100 mL introduire :
- 20 mL de vin
- 2 mL H_2SO_4 au 1/3
- 2 mL empois d'amidon

Remplir une burette avec la solution de diiode I_2 titrée précédemment.
Titrer par addition de cette solution goutte à goutte jusqu'à apparition d'une couleur bleue persistante (10 seconde au moins). Noter V, le volume versé.

2.3 Dosage du SO_2 total

1ère étape :
Dans un erlen de 200 mL introduire :
- 20 mL de vin
- 10 mL NaOH 1 M

Boucher, agiter et attendre 5 minutes. Puis ajouter :
- 2 mL H_2SO_4 au 1/3
- 2 mL empois d'amidon

Titrer avec la solution de diiode jusqu'à coloration bleue persistante. Noter le volume V2.

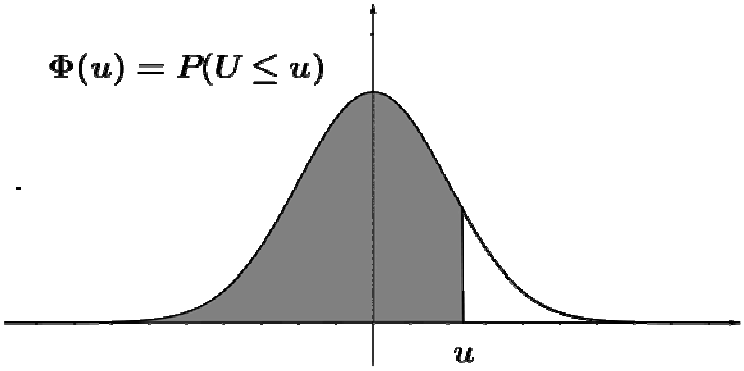
2ème étape :
Dans le même erlen ajouter 40 mL de NaOH 1 M. Boucher et attendre 5 minutes.
Ajouter alors 5 mL de H_2SO_4 au 1/3 puis 3 mL empois d'amidon.
Titrer avec la solution de diiode jusqu'à coloration bleue persistante. Noter le volume V3.

III - EXPLOITATION DES RESULTATS

- Pour le calcul de SO_2 libre on prendra le volume V.
- Pour le calcul du SO_2 total on prendra la somme (V2 +V3).

DOCUMENT 7

Fonction de répartition de la variable normale centrée réduite



u	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,0	0,5000	0,5040	0,5080	0,5120	0,5160	0,5199	0,5239	0,5279	0,5319	0,5359
0,1	0,5398	0,5438	0,5478	0,5517	0,5557	0,5596	0,5636	0,5675	0,5714	0,5753
0,2	0,5793	0,5832	0,5871	0,5910	0,5948	0,5987	0,6026	0,6064	0,6103	0,6141
0,3	0,6179	0,6217	0,6255	0,6293	0,6331	0,6368	0,6406	0,6443	0,6480	0,6517
0,4	0,6554	0,6591	0,6628	0,6664	0,6700	0,6736	0,6772	0,6808	0,6844	0,6879
0,5	0,6915	0,6950	0,6985	0,7019	0,7054	0,7088	0,7123	0,7157	0,7190	0,7224
0,6	0,7257	0,7291	0,7324	0,7357	0,7389	0,7422	0,7454	0,7486	0,7517	0,7549
0,7	0,7580	0,7611	0,7642	0,7673	0,7704	0,7734	0,7764	0,7794	0,7823	0,7852
0,8	0,7881	0,7910	0,7939	0,7967	0,7995	0,8023	0,8051	0,8078	0,8106	0,8133
0,9	0,8159	0,8186	0,8212	0,8238	0,8264	0,8289	0,8315	0,8340	0,8365	0,8389
1,0	0,8413	0,8438	0,8461	0,8485	0,8508	0,8531	0,8554	0,8577	0,8599	0,8621
1,1	0,8643	0,8665	0,8686	0,8708	0,8729	0,8749	0,8770	0,8790	0,8810	0,8830
1,2	0,8849	0,8869	0,8888	0,8907	0,8925	0,8944	0,8962	0,8980	0,8997	0,9015
1,3	0,9032	0,9049	0,9066	0,9082	0,9099	0,9115	0,9131	0,9147	0,9162	0,9177
1,4	0,9192	0,9207	0,9222	0,9236	0,9251	0,9265	0,9279	0,9292	0,9306	0,9319
1,5	0,9332	0,9345	0,9357	0,9370	0,9382	0,9394	0,9406	0,9418	0,9429	0,9441
1,6	0,9452	0,9463	0,9474	0,9484	0,9495	0,9505	0,9515	0,9525	0,9535	0,9545
1,7	0,9554	0,9564	0,9573	0,9582	0,9591	0,9599	0,9608	0,9616	0,9625	0,9633
1,8	0,9641	0,9649	0,9656	0,9664	0,9671	0,9678	0,9686	0,9693	0,9699	0,9706
1,9	0,9713	0,9719	0,9726	0,9732	0,9738	0,9744	0,9750	0,9756	0,9761	0,9767
2,0	0,9772	0,9778	0,9783	0,9788	0,9793	0,9798	0,9803	0,9808	0,9812	0,9817
2,1	0,9821	0,9826	0,9830	0,9834	0,9838	0,9842	0,9846	0,9850	0,9854	0,9857
2,2	0,9861	0,9864	0,9868	0,9871	0,9875	0,9878	0,9881	0,9884	0,9887	0,9890
2,3	0,9893	0,9896	0,9898	0,9901	0,9904	0,9906	0,9909	0,9911	0,9913	0,9916
2,4	0,9918	0,9920	0,9922	0,9925	0,9927	0,9929	0,9931	0,9932	0,9934	0,9936
2,5	0,9938	0,9940	0,9941	0,9943	0,9945	0,9946	0,9948	0,9949	0,9951	0,9952
2,6	0,9953	0,9955	0,9956	0,9957	0,9959	0,9960	0,9961	0,9962	0,9963	0,9964
2,7	0,9965	0,9966	0,9967	0,9968	0,9969	0,9970	0,9971	0,9972	0,9973	0,9974
2,8	0,9974	0,9975	0,9976	0,9977	0,9977	0,9978	0,9979	0,9979	0,9980	0,9981
2,9	0,9981	0,9982	0,9982	0,9983	0,9984	0,9984	0,9985	0,9985	0,9986	0,9986
3,0	0,9987	0,9987	0,9987	0,9988	0,9988	0,9989	0,9989	0,9989	0,9990	0,9990