

DOSAGE DE L'ACIDE SALICYLIQUE DANS LES VINS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

A. BERTRAND et C. SARRE

Institut d'Œnologie
Station Agronomique et Œnologique
Université de Bordeaux II
351, cours de la Libération, 33405 Talence (France)

INTRODUCTION

L'acide salicylique (O-hydroxybenzoïque) est un conservateur dont l'usage est interdit dans les vins. Cet acide n'a d'action antiseptique sensible qu'à partir de 50 à 100 mg par litre. D'après RIBÉREAU-GAYON et *al.* (1972), le raisin et le vin contiennent sept acides benzoïques, ces acides sont présents dans le raisin sous la forme de combinaison de type ester, ils sont libérés par hydrolyse lors de la conservation des vins. Il n'existe normalement dans les vins que 1 à 2 mg d'acide salicylique par litre (GUIMBERTEAU et PORTAL, 1961). L'addition de cet acide est, par conséquent, facile à déceler.

Les méthodes proposées pour le dosage ou la mise en évidence de ce conservateur sont relativement nombreuses.

RIBÉREAU-GAYON et *al.* (1972), préconisent l'extraction par l'éther en milieu acide, l'acide salicylique étant caractérisé par la coloration violette donnée en présence de sel ferrique. La mesure de l'intensité de la coloration est effectuée au spectrophotomètre à 530 nm.

ARCHINARD (1955), utilise l'appareil destiné au dosage de l'acidité volatile par entraînement à la vapeur d'eau. L'acide salicylique donne une coloration violette en présence d'alun de fer. La limite de sensibilité est fixée par cet auteur à 5-10 mg par litre. Mais certains composés seraient susceptibles de réagir avec le sel ferrique perturbant le résultat final.

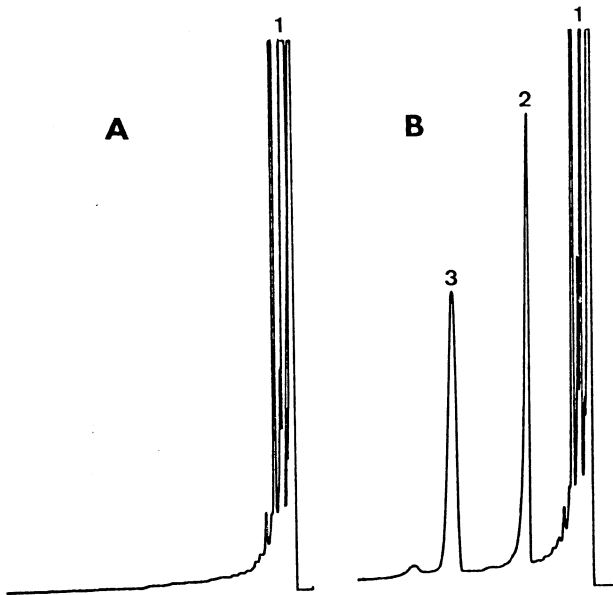
La méthode couramment utilisée pour la mise en évidence des conservateurs a été réalisée par le Laboratoire Œnologique de l'Institut Max von Pettenkofer (1970). Les conservateurs sont extraits du milieu acidifié au moyen du mélange éther diéthylique-éther de pétrole puis séparés par chromatographie en couche mince. L'acide salicylique donne une fluorescence bleu-clair sous lampe U.V. à 254 nm, la limite de sensibilité de la méthode pour cet acide est de 3 mg par litre.

METHODE DE DOSAGE

Principe : Les conditions d'extraction de l'acide salicylique sont les mêmes que celles de l'acide sorbique (BERTRAND et SARRE, 1975), ces acides sont extraits par l'éther diéthylique après acidification du vin.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse s'effectue sur la phase étherée.

Préparation des échantillons : L'obtention de résultats précis nécessite l'utilisation d'un étalon interne rajouté au vin avant extraction. Il s'agit de l'acide oléique dont le temps de rétention est plus grand que celui de l'acide salicylique. Les analyses des extraits, vins blancs et rouges, nous ont permis de constater l'absence de substance sortant au niveau du pic de l'acide oléique (figure). Cet étalon interne est utilisé à une concentration de 500 mg par litre dans une solution hydroalcoolique à 60 p. 100.



Chromatogrammes de l'extrait par l'éther d'un vin :

A : vin sans étalon interne

B : vin + acide salicylique + étalon interne

Conditions de la chromatographie :

Colonne D E G S + $H_3 PO_4$ — 1/8" x 1 m

Température du four 170 °C ; volume injecté : 1 μ l

Identifications des pics :

1 — solvant + substances volatiles

2 — acide salicylique

3 — acide oléique (étalon interne)

Dans un tube à essais d'un volume de 40 ml environ, bouchant émeri, nous introduisons :

- 20 ml de vin,
- 2 ml de solution d'étalon interne,
- 1 ml d'acide sulfurique au tiers.

Après homogénéisation par retournement, nous ajoutons 10 ml d'éther diéthylique. L'extraction est effectuée par agitation douce pendant 5 minutes. Après décantation, la phase éthérée est transvasée dans un tube conique, bouchant émeri, dans lequel est effectuée une concentration au bain-marie à 30 °C. Le volume de la phase éthérée est ramené à 0,5 ml.

On prélève 1 μ l de la phase éthérée concentrée afin de l'injecter dans le chromatographe.

Techniques chromatographiques : Les analyses sont effectuées à l'aide d'un chromatographe équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

Le tube utilisé est en acier inoxydable de 1 m de long et de 3,2 mm de diamètre (1/8" de pouce). Ce tube est traité avant remplissage par le diméthylchlorosilane. La phase stationnaire est composée d'un mélange de succinate de diéthylène glycol (D.E.G.S.) et d'acide phosphorique (H_3PO_4), les proportions étant respectivement de 5 p. 100 et 1 p. 100 du poids du support (gas chrom Q 80-100 mesh).

Le débit du gaz vecteur, azote R, ayant donné le meilleur résultat est de 44 ml/minute. La température du four est réglée à 170 °C, celles du détecteur et de l'injecteur à 320 °C. La vitesse de déroulement du papier de l'enregistreur est de 0,25 cm par minute.

Expression des résultats : La solution de référence a été préparée à partir d'un vin dont l'extrait à l'éther ne présentait aucune substance sortant au niveau de l'acide salicylique (fig. 1). Nous avons ajouté à ce vin 60 mg par litre de ce conservateur. L'analyse s'effectue suivant la méthode décrite précédemment.

La concentration (C) de l'acide salicylique dans l'échantillon analysé s'exprime de la façon suivante :

$$C = 60 \times \frac{Si}{si} \times \frac{sh}{SH} \text{ en mg par litre}$$

Si : surface du pic de l'étalon interne dans le milieu de référence,

si : surface du pic de l'étalon interne dans l'échantillon de vin analysé,

sh : surface du pic de l'acide salicylique dans l'échantillon du vin analysé,

SH : surface du pic de l'acide salicylique dans le milieu de référence.

Mise au point du dosage : Dans un premier temps, afin de vérifier l'efficacité de l'extraction, nous avons pratiqué une deuxième extraction sur l'échantillon de référence déjà extrait par l'éther. Le chromatogramme de cette nouvelle phase étherée ne présentait aucune trace d'acide salicylique. Cet antiseptique a donc été extrait en totalité en une seule fois.

Pour l'étude de la reproductibilité du dosage, 10 échantillons du même vin ont été analysés suivant les conditions précédemment définies, les résultats sont reportés dans le tableau I et le tableau II.

TABLEAU I

Etude de la reproductibilité du dosage de l'acide salicylique

sh : surface du pic de l'acide salicylique,

si : surface du pic de l'étalon interne.

Moyenne du rapport des surfaces $sh/si = m$	Ecart type	Erreur type de la moyenne S_m	Coefficient de variation $Z = \frac{S_m \times t_{0,05}}{m} \times 100$
0,7182	0,02099	0,00699	2,20

La surface du pic a été calculée en effectuant le produit de la hauteur du pic par la largeur à mi-hauteur. Le coefficient de variation, exprimé en p. cent, calculé pour le facteur de Student $t_{0,05}$, donne l'intervalle $100 \pm Z$ dans lequel il existe 95 chances sur 100 de trouver le résultat.

TABLEAU II

Etude de la reproductibilité du dosage de l'acide salicylique

h : hauteur du pic de l'acide salicylique

i : hauteur du pic de l'étalon interne.

Moyenne du rapport des hauteurs $h/i = m$	Ecart type	Erreur type de la moyenne : S_m	Coefficient de variation $Z = \frac{S_m \times t_{0,05}}{m} \times 100$
1,456	0,06048	0,02016	3,13

Nous constatons que la précision obtenue en utilisant les hauteurs de pics, est légèrement moins bonne. En effet, le pic de l'acide salicylique présente une traînée faussant légèrement les résultats surtout pour les faibles teneurs en acide salicylique.

Afin de vérifier la proportionnalité entre la surface (hauteur) du pic d'acide salicylique et sa concentration, des solutions contenant des teneurs croissantes d'acide ont été préparées à partir d'un vin exempt de ce conservateur. Les résultats (tableau III) sont satisfaisants.

TABLEAU III

Proportionnalité entre la concentration et la surface du pic de l'acide salicylique

sh : surface du pic d'acide salicylique,
i : hauteur du pic de l'étalon interne.

Quantité rajoutée d'acide salicylique (mg par litre)	$\frac{sh}{i}$ mesuré	$\frac{sh}{i}$ théorique
15	0,51	0,54
30	1,09	1,09
60	2,18	2,19
100	3,77	3,64
150	5,71	5,46

CONCLUSION

La technique chromatographique permet d'isoler l'acide salicylique et d'en effectuer un dosage rapide et précis. Par ailleurs, d'autres acides benzoïques utilisés parfois comme conservateurs, par exemple, l'acide parachlorobenzoïque, peuvent être mis en évidence par cette méthode.

D'autre part, cette technique est applicable à d'autres boissons (jus de fruits, sodas, sirops...).

Le dosage de l'acide sorbique peut être effectué en utilisant le même extrait à condition de rajouter dans le vin, avant extraction, l'étalon interne spécifique de ce dosage.

Manuscrit reçu le 18 novembre 1977.

RESUMÉ

La recherche et le dosage de l'acide salicylique, éventuellement ajouté dans des vins, peuvent être effectués par chromatographie en phase gazeuse de l'extrait par l'éther du vin acidifié.

Il est possible de doser l'acide sorbique en utilisant le même extrait.

SUMMARY

The search for and measurement of salicylic acid, possibly added to wines, can be carried out by chromatography during the gaseous phase of the extract by ether of the acidified wine.

It is possible to measure the sorbic acid using the same extract.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Nachweis und die quantitative Bestimmung von Salicylsäure, die dem Wein eventuell zugesetzt worden ist, kann durch gaschromatographische Auftrennung eines Aetherextraktes von angesäuertem Wein erfolgen. Der gleiche Extrakt gestattet auch den Nachweis von Sorbinsäure.

RESUMEN

La investigación y la dosificación del ácido salicílico, eventualmente agregado a los vinos, pueden ser efectuados por cromatografía en fase gaseosa, a partir de una extracción por éter del vino acidificado.

Es posible también, dosificar el ácido sórbico utilizando el mismo extracto del vino.

RIASSUNTO

La ricerca e il dosaggio dell'acido salicilico, eventualmente riaggiunto nei vini, possono essere effettuati per cromatografia in fase gassosa dell'estratto per l'etere del vino acidificato.

È possibile dosare l'acido sorbico utilizzando lo stesso estratto.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARCHINARD M.P., 1955. Recherche de l'acide salicylique et de l'acide benzoïque dans les vins par extraction à la vapeur, *Ann. Fals. Exp. Chim.*, **557**, 213-217.
- BERTRAND A. et SARRE Ch., 1975. Dosage de l'acide sorbique par chromatographie, en phase gazeuse, *Connaissance Vigne Vin*, **4**, 267-272.
- GUIMBERTEAU G. et PORTAL E., 1961. Contribution à la recherche de l'acide benzoïque et des acides phénols dans les vins, *Ann. Fals. Exp. Chim.*, **631-632**, 330-337.
- Laboratoire Œnologique de l'Institut Max von Pettenkofer, Office fédéral de la Santé, Berlin 1970. *Recherche de produits conservateurs par chromatographie en couche mince*, F.V. O.I.V., 350.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1972. Les composés phénoliques, 471-484. Dans *Sciences et Techniques du vin*, tome 1, Ed. Dunod, Paris.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1972. Acide salicylique, 655-656. Dans *Sciences et Techniques du vin*, tome 1, Ed. Dunod, Paris.