Connaissance Vigne Vin, 1986, **20,** n° 2, 131-136

NOTE

LE CARBAMATE D'ETHYLE DANS LES EAUX-DE-VIE DE VIN OBSERVATIONS SUR SON ORIGINE

A. BERTRAND et Rosella TRIQUET-PISSARD

Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II
351, cours de la Libération, 33405 Talence Cedex (France)

Une fois de plus le marché des vins et spiritueux est en émoi, le Canada impose pour le carbamate d'éthyle une limite par litre de 30 µg pour les vins et de 400 µg dans les eaux-de-vie. Supposé être cancérigène (mutagène) le carbamate d'éthyle ou uréthane ($NH_2COOC_2H_5$) a été signalé par OUGH (1976) comme provenant de l'éthanolyse du phosphate de carbamyle puis, également de la décomposition du carbonate de diéthyle, antiseptique (non autorisé) ajouté au vin. Diverses autres hypothèses ont également été émises quant à l'origine de cette substance (TANNER, 1986) : addition d'urée au moût ; décomposition bactérienne de l'arginine ; décomposition de l'amygdaline des fruits à noyau ; dégradation de carbamates fongicides systémiques utilisés comme produits de traitement de la vigne...

Parmi les boissons alcoolisées interdites à la vente en Ontario (Canada) figurent des vins, des vins spéciaux, des eaux-de-vie de fruits et quelques vieux armagnacs. Les professionnels nous ont donc demandé de contrôler leurs produits et de rechercher l'origine de cette substance.

DOSAGE DU CARBAMATE D'ETHYLE

a) Principe.

Le carbamate d'éthyle est plus soluble dans l'eau que dans tout solvant organique. Avant extraction, il convient donc d'éliminer l'eau des vins et des eaux-de-vie par addition d'un excès de sulfate de sodium. L'extraction est ensuite effectuée par de l'éther éthylique. L'alcool et les substances organiques passent quantitativement en solution dans l'éther, le sel est lavé à 2 reprises par l'éther ; le solvant est ensuite évaporé sous vide à froid (20°C). Le résidu alcoolique est analysé par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'une colonne capillaire de carbowax 20 M (0,3 mm x 30 m) et d'un détecteur thermoionique NP (CARLO ERBA).

Avant l'extraction, on ajoute au vin ou à l'eau-de-vie une solution de 2 étalons internes de manière à avoir, par litre de vin, 10 mg d'octanol-3

et 40 µg d'aniline et par litre d'eau-de-vie 50 mg d'octanol-1 et 200 µg d'aniline.

L'utilisation de 2 étalons internes permet de vérifier à la fois la qualité de l'extraction et le bon fonctionnement du détecteur notamment pour les composés azotés.

Dans le cas des vins l'octanol-1 est masqué par le butanediol-2,3 on utilise donc l'octanol-3, bien que plus volatil, comme étalon interne.

L'extraction de l'aniline par l'éther suppose que cette substance ne soit pas sous forme salifiée, on opère donc en milieu tamponné par Na_2HPO_4.

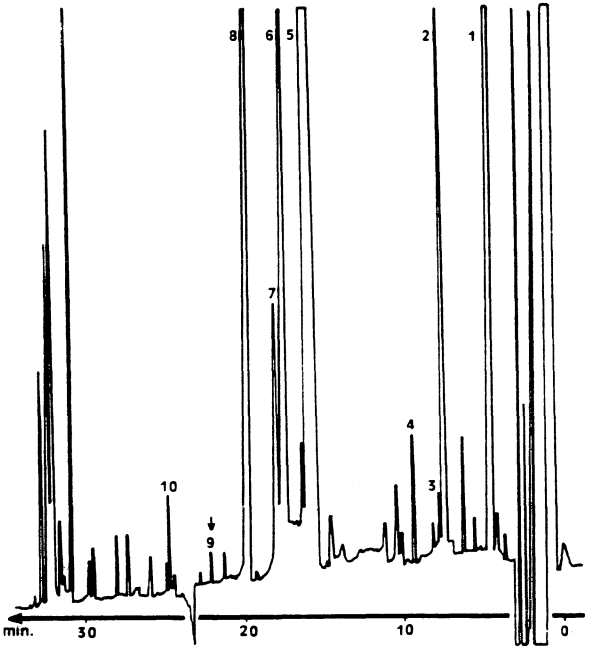


Fig. 1. — Chromatogramme de l'extrait par l'éther d'un vin rouge.
Conditions opératoires : colonne : carbowax 20 M (0,3 mm x 30 m) - programmation de la température du four : 60°C à 160°C à raison de 2°C par minute - détecteur thermoionique - injection 1 µl ; splitless 20 secondes. **Identification des principaux pics :** 1 : alcool isoamylique ; 2 : lactate d'éthyle ; 3 : hexanol-1 ; 4 : octanol-3 (étalon interne) ; 5 : butanediol-2,3 (D-) ; 6 : butanediol-2,3 (meso) ; 7 : propanediol-1,2 ; 8 : succinate de diéthyle ; 9 : carbamate d'éthyle (30 µg/l, rajouté) ; 10 : aniline (étalon interne).

b) Mode opératoire.

Eaux-de-vie. Dans un flacon de 20 ml, on place 2 ml d'eau-de-vie, contenant les étalons internes, 10 ml d'éther éthylique et 1 g de Na_2HPO_4 ; on agite 2 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique puis on ajoute 6 g de Na_2SO_4 et on agite à nouveau pendant 5 minutes.

On décante la phase liquide et on lave le sel à 2 reprises par 5 ml d'éther avec agitation durant 2 minutes chaque fois. On évapore l'ensemble des phases liquides sous vide à 20°C jusqu'à environ 1 ml.

Vins. Dans un flacon de 100 ml, on place 10 ml de vin contenant les étalons internes, 40 ml d'éther éthylique et 2 g de Na_2HPO_4 ; on agite 2 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique puis on ajoute 40 g de Na_2SO_4 et on agite à nouveau pendant 5 minutes. On décante la phase liquide et on lave le sel à 2 reprises par 20 ml d'éther à chaque fois.

La phase liquide est évaporée sous vide jusqu'à environ 2 ml. Pour éliminer l'eau résiduelle de l'extrait on ajoute alors dans le flacon 10 ml d'éther puis 6 g de Na_2SO_4 ; après agitation durant 5 minutes, on décante la phase liquide et on lave le sel à 2 reprises par 5 ml d'éther. Les phases organiques rassemblées sont concentrées sous vide jusqu'à environ 0,5 ml.

c) Sensibilité de la méthode.

En fonction de la quantité injectée, du mode d'injection et de la durée de fermeture des vannes de l'injecteur, on peut détecter des doses aussi faibles que 5 µg par litre dans le cas des vins (figure 1) et 20 µg par litre pour les eaux-de-vie (figure 2).

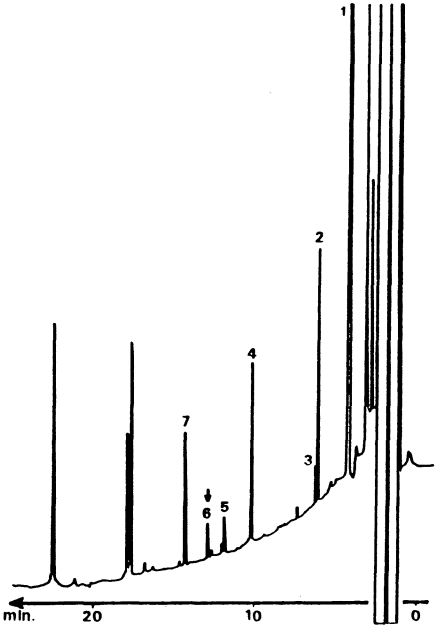


Fig. 2. — Chromatogramme de l'extrait par l'éther d'un armagnac blanc.
Conditions opératoires : programmation de la température du four : 60°C à 160°C à raison de 5°C par minute ; pour les autres paramètres voir fig. 1. **Identification des principaux pics)** 1 : alcool isoamylique ; 2 : lactate d'éthyle ; 3 : hexanol-1 ; 4 : octanol-1 (étalon interne) ; 5 : succinate de diéthyle ; 6 : carbamate d'éthyle (150 µg/l, naturel) ; 7 : aniline (étalon interne).

d) Fiabilité.

Les causes d'erreur viennent principalement de la détection. Avant de commencer les dosages, il faut obtenir un résultat constant pour la solution de référence (préparée chaque jour). Généralement 3 à 4 injections sont nécessaires après avoir allumé la flamme du détecteur. On doit également fréquemment pratiquer la méthode des « ajouts dosés » pour vérifier la méthode (30 µg par litre dans le cas des vins et 150 µg par litre pour les eaux-de-vie). La précision est ainsi de l'ordre de 10 p. 100.

RESULTATS

Nous avons analysé une cinquantaine d'eaux-de-vie d'Armagnac, dix de Cognac et une vingtaine de vins. Nous n'avons jamais trouvé plus de 8 µg par litre de carbamate d'éthyle dans les vins ; la dose maximum observée dans les cognacs a été de 50 µg par litre ; dans les eaux-de-vie d'Armagnac les résultats varient de quelques µg par litre à plus de 600 µg par litre d'eau-de-vie à 40°GL.

Les eaux-de-vie les plus riches en carbamate d'éthyle proviennent généralement : 1) de vin issu du cépage Baco 22 A ; 2) d'alambic à triple chaudière ; 3) de non tirage de queues au cours de la distillation ; 4) de vins ayant subi la fermentation malolactique (FML).

Cette dernière observation, pour une eau-de-vie à 40°GL, peut se résumer de la façon suivante :

	LACTATE D'ETHYLE	CARBAMATE D'ETHYLE
	(mg/l)	(µg/l)
Sans FML	20	0 - 40
FML juste commencée	100	40 - 60
FML terminée	250	120 - 600

Toutefois : 1) nous avons rencontré une eau-de-vie de vin de Baco 22 A ayant achevé sa fermentation malolactique et qui ne contenait pas de carbamate d'éthyle. 2) Les vins soumis à la distillation, que nous avons analysés, ne contenaient pas de carbamate d'éthyle en quantité dosable, que la fermentation malolactique ait eu lieu ou non. 3) La clarification des moûts avant fermentation se traduit généralement par une diminution du taux de carbamate d'éthyle ; les bourbes pourraient donc jouer un rôle dans la formation de ce produit, notamment par l'apport de composés azotés en plus grande quantité.

DISCUSSION - CONCLUSION

Le Baco 22 A ne contient probablement pas plus de précurseur de carbamate d'éthyle que les autres cépages. Mais l'extraction des jus est

plus difficile et il faut presser d'avantage ce qui peut justifier l'emploi de pressoirs continus — du moins d'un point de vue technologique — mais ceux-ci sont réputés donner davantage de bourbes donc de composés azotés.

Les bactéries lactiques synthétisent certains produits secondaires, le lactate d'éthyle, l'acétoïne, le diacétyle, des acides volatils, des amines biogènes, également dont on dit qu'elles libèrent le cation ammonium à partir des acides aminés (RIBÉREAU-GAYON et *al.,* 1975). Il se pourrait donc qu'au cours de la distillation, à température élevée, certaines réactions chimiques aient lieu, notamment à partir du groupe guanidyle de l'arginine libéré par les bactéries, dont on sait qu'il peut conduire au carbamate d'éthyle. Le carbamate d'éthyle est une molécule facile à synthétiser chimiquement ; il suffit de chauffer de l'urée en présence d'éthanol ; nous en avons même produit 20 µg par litre en chauffant une solution hydroalcoolique d'acide formique à 50 mg par litre et d'ammoniaque à 40 mg par litre ; de même, le chauffage des vins durant quelques heures à 90°C conduit à une formation de carbamate d'éthyle pouvant dépasser 1 mg par litre.

Le carbamate d'éthyle est un produit de « queue », son point d'ébullition est de 183-184°C, mais la distillation continue s'apparente en quelque sorte à une entraînement à la vapeur et même dans le cas des alambics armagnacais donnant une eau-de-vie à fort degré on peut encore trouver des doses importantes de carbamate d'éthyle à moins de pratiquer des tirages de queues importants. En revanche, selon le procédé dit à double chauffe il faut « volatiliser » le carbamate d'éthyle du brouillis lors de la deuxième distillation ; il y a peu d'entraînement mécanique des substances à haut point d'ébullition même en fin de distillation. Nous n'avons trouvé dans les secondes d'un cognac, que 70 µg de carbamate d'éthyle par litre. D'ailleurs les armagnacs, de façon générale, contiennent plus de produits de queue que les cognacs. On trouve quelque fois 20 à 30 mg de butanediol-2,3 par litre dans les premiers et dix fois moins dans les derniers.

Le carbamate d'éthyle ne semble pas être un produit secondaire de la fermentation alcoolique ni même de la fermentation malolactique. En revanche cette dernière pourrait bien être responsable indirectement de l'apparition de ce composé au cours de la distillation. Le taux de bourbes des moûts, pourrait également jouer un rôle probablement en raison directe du taux des composés azotés. Le procédé de distillation en continu, par le fait qu'il ne permet pas une épuration importante des produits de queue, donne des eaux-de-vie plus riches en carbamate d'éthyle que le procédé dit à double chauffe.

Remerciements.

Nous tenons à remercier le Bureau National Interprofessionnel de l'Armagnac, les producteurs et les négociants qui nous ont fourni à la fois les échantillons et les renseignements concernant ces produits et plus particulièrement M. VIGNEAU, Directeur du Laboratoire départemental agricole et viticole du Gers.

Note reçue le 15 juillet 1986.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

OUGH C.S., 1976. Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, N° 2, 323-328.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBÉREAU-GAYON P. et SUDRAUD P., 1975. Sciences et techniques du vin, tome 2. Dunod éd., Paris.

TANNER M.H., 1986. C.R. 26e session de la sous-commission des méthodes d'analyse des vins. O.I.V., Paris.