Connaissance Vigne Vin, 1986, **20**, n° 3, 175-187.

DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE DES PRINCIPAUX ACIDES ORGANIQUES DU VIN

María Carmen POLO, F. BARAHONA et Isabel CACERES

Instituto Fermentaciones Industriales, CSIC,
Juan de la Cierva, 3 - 28006 Madrid (Espagne)

INTRODUCTION

Le dosage des acides organiques des vins constitue, dans de nombreux laboratoires, une opération habituelle, tant en vue d'un contrôle de la fermentation alcoolique ou malolactique que pour connaître la composition de la fraction acide des vins. Il est pour cela indispensable de disposer d'une méthode d'analyse fiable, rapide et peu coûteuse. Actuellement, le dosage individuel des principaux acides (tartrique, malique, lactique, acétique) est réalisé en utilisant des méthodes colorimétriques ou enzymatiques, ce qui exige des temps d'analyse très longs.

Au cours de ces dernières années, parmi les nombreux travaux publiés sur le dosage de ces composés par chromatographie liquide haute performance (CLHP), un grand nombre a été consacré au vin. Toutefois, cette question demeure encore non totalement résolue.

Divers protocoles peuvent être utilisé pour la séparation chromatographique des acides. Certains auteurs utilisent la chromatographie d'échange d'ions soit avec des résines cationiques fortement acides soit avec des résines anioniques fortement ou faiblement basiques (SYMONDS, 1978 ; RAPP et ZIEGLER, 1979 ; AUGUSTE et BERTRAND, 1980 ; SHAW, et WILSON, 1983 ; YOKOTSUKA et *al.*, 1983 ; Mc CORD et *al.*, 1984 ; GOIFFON et *al.*, 1985). On fait également appel à la phase inverse avec des colonnes C8 ou C18 et, comme éluants, des solutions-tampons à pH inférieur à 3 ; la séparation est alors basée sur les différences d'hydrophobicité des acides (GONNET et MARICHY, 1982 ; SCHNEYDER et FLAK, 1982 ; SHAW et *al.*, 1983 ; ANTOLIN MATE et LUGAR ABRIL, 1984 ; GOIFFON et *al.*, 1985 ; ROUSSEAU et *al.*, 1985). On peut également utiliser la chromatographie de paires d'ions (DROZ et TANNER, 1982).

La détection peut se faire soit par réfractométrie différentielle, soit en ultra-violet, à des longueurs d'onde voisines de 210 nm. Etant donné le peu de spécificité de ces modes de détection la difficulté essentielle,

pour doser, par CLHP, les principaux acides organiques du vin, réside dans la préparation de l'échantillon ; celui-ci doit en effet être suffisamment purifié pour éviter l'interférence de composés parasites, source de résultats erronés.

En alternative des méthodes colorimétriques et enzymatiques traditionnelles, l'objet de ce travail est d'étudier une méthode de dosage par CLHP des acides organiques du vin.

MATERIELS ET METHODES

I. — CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE.

a) *Préparation de l'échantillon :* Elle est réalisée selon SCHNEYDER et FLAK (1982) avec quelques modifications. Dans une colonne de 35 cm de longueur et 1 cm de diamètre interne on place 7 ml de résine Amberlite IRA 400 (semblable à la résine Lewatit utilisée par ces auteurs) à travers laquelle on fait percoler 15 ml de NaOH 0,1 N ; on lave ensuite à l'eau jusqu'à neutralité.

On prélève 10 ml de vin qu'on neutralise à pH 7,5 et qu'on dilue avec de l'eau, à 50 ml. Dans le cas d'un vin blanc on ajoute de 0,5 à 1,5 g de charbon actif, dans le cas d'un vin rouge de 1,5 à 2,5 g. On agite pendant 30 minutes et on filtre sur papier.

On fait percoler 10 ml de filtrat à travers la colonne d'amberlite précédemment préparée, suivis de 20 ml d'eau et de 6 ml de HCl 1N. Les éluats sont éliminés jusqu'à ce que le volume de HCl arrive à 1 cm environ au-dessus de la limite inférieure de la résine (on le remarque grâce au changement de couleur) ; on recueille alors l'éluat dans une fiole jaugée de 50 ml. On lave enfin à l'eau jusqu'au trait de jauge.

b) *Chromatographie :* Tous les dosages ont été réalisés au moyen d'un appareillage Waters constitué d'une valve d'injection UGK, d'une pompe M 6 000 A, d'un détecteur en ultra-violet à longueur d'onde variable M 421 et d'un module d'intégration M 730. La colonne est une C^{PTM} Spher C 18 (Chrompack) de 250 x 4,6 mm. La détection est faite à 215 nm, 0,1 UA pleine échelle. Volume injecté 20 µl.

II. — DOSAGES COLORIMÉTRIQUES EN ENZYMATIQUES.

Acide tartrique : méthode usuelle de l'Office International de la Vigne et du Vin (OIV).

Acide L (-) malique : méthode usuelle de l'OIV et méthode enzymatique (BOEHRINGER MANNHEIM, 1975).

Acides D (-) et L (+) lactique : méthode usuelle de l'OIV et méthode enzymatique (BOEHRINGER MANNHEIM, 1975).

Acide acétique : méthode enzymatique (BOEHRINGER MANNHEIM, 1977).

RESULTATS ET DISCUSSION

I. — SÉPARATION CHROMATOGRAPHIQUE.

En raison de la complexité de la fraction acide des vins, il est impossible d'obtenir, avec les colonnes actuellement disponibles sur le marché, une séparation toale de tous les acides présents. Dans le tableau I sont résumés quelques uns des travaux dans lesquels est utilisé la CLHP pour l'analyse des acides des vins. Jusqu'à maintenant on observe que les meilleures séparations sont obtenues en utilisant des colonnes cationiques fortement acides. Toutefois, si l'on tient compte de leur prix élevé et de leur champ d'application limité, les colonnes C 18, habituelles dans tout laboratoire, sont plus pratiques à utiliser. Selon les spécifications du fabricant, les colonnes C^{PTM} C 18 (Chrompack) de 250 x 4,6 mm, avec des particules sphériques de 10 µm, ont une efficacité de 15 000 à 17 000 plateaux par colonne. La colonne que nous avons utilisée avait une efficacité de 15 000 plateaux mesurés pour le benzène, avec un mélange acétonitrile-eau (75 : 25) comme éluant et 4 244 plateaux effectifs mesurés pour l'acide lactique, avec du phosphate monopotassique 0,2 M, pH 2,4 comme éluant. On a calculé, pour cette colonne, les paramètres chromatographiques de tous les acides facilement détectables dans le vin (Tableau II). Avec les principaux acides sont inclus les autres acides minoritaires présentant une forte absorption à 214 nm ; il peut en résulter une erreur dans le dosage des premiers. On a également calculé le facteur de réponse par rapport à l'acide tartrique auquel on attribue arbitrairement la valeur 1. On a aussi introduit une information sur les concentrations auxquelles ces acides sont habituellement présents dans les vins. Les quatorze acides fractionnés (Tableau II) sont élués avec des valeurs k' peu différentes les unes des autres, comprises entre 0,5 et 3,64, ce qui dans certains cas entraîne une mauvaise résolution.

L'acide tartrique apparaît suffisamment bien séparé des autres acides et son dosage ne présente donc pas de difficultés. L'acide malique, présent à des concentrations pouvant aller jusqu'à 4 g par litre possède un taux de rétention proche de celui de l'acide pyruvique, dont la concentration ne dépasse généralement pas 0,5 g par litre, ce dernier, toutefois, possède un facteur de réponse plus élevé. Ce fait est important à souligner car, dans les vins rouges ayant subi la fermentation malolactique, les valeurs des teneurs en acide malique pourraient se trouver entâchées d'une erreur par excès. Ceci est moins important pour les vins blancs puisque leurs teneurs en acide malique sont plus élevées.

Quoique l'acide shikimique soit, habituellement, présent dans les vins à faible concentration, il offre un intérêt particulier en raison de son

TABLEAU I

Éléments bibliographiques récents sur les condition d'analyse des acides organiques des vins par chromatographie liquide haute performance.

Colonne	Eluant	Détection	Acides	Préparation de l'échantillon	Observations	Références
Aminex A-25	Formiate Na 0,9N pH 7,5	IR UV 254	galacturonique lactique malique tartrique succinique shikimique	Vins : Passage sur Dowex 50W x 8	Étude quantitative en utilisant des étalons.	Symonds, 1978
Aminex A-6 Aminex A-8 M-72	Eau-méthanol (80 : 20)	IR	succinique malique tartrique citrique lactique acétique	Vins passage sur Dowex 1 x 8		Rapp et Ziegler, 1979
Aminex A-5	Eau : ac. acétique : HCl (99,8:0,1:0,1)	UV 212	citrique tartrique malique lactique + succinique	Moûts et Vins blancs : injection directe. Vins rouges : décoloration par le charbon.	Compare les résultats avec ceux que l'on obtient par CPV.	Auguste et Bertrand, 1980
µ Bondapak C_{18} + precolonne Aminex Q 15S	H_3PO_4, 0,1%	IR	tartrique malique lactique acétique citrique succinique fumarique	Vins : passage sur Lewatit - M 5020	Comparaison avec les méthodes d'analyse autrichiennes pour les acides tartrique, malique, lactique et acétique.	Schneyder et Flak,1982
Ultrasphère ODS 5 µm	0.01M KH_2PO_4 + 5,5 x 10^{-4}MTBA phosphate, pH 2,5	UV 225	quinique shikimique lactique malique tartrique succinique citrique fumarique	Jus de fruits et Vins : passage sur Dowex 50W x 4	Compare les résultats des acides malique et isocitrique avec ceux de la méthode enzymatique.	Droz et Tanner, 1982
R-SIL C-18, HL-5 R-SIL C-18, LL-5 LiChrosorb RP-8 Nucleosil C-18 Nucleosil C-8	Na ClO_4 0,2M pH 1 MeoH;H_2,LiC1 0,1M	UV 220 UV 254	galacturonique tartrique malique lactique citrique	Vins : passage sur échangeur d'anions et sur échangeur de cations + décoloration par le charbon.	Formation de dérivés avec bromure de p-bromophénacyle.	Gonnet et Marichy, 1982

Hamilton PRP-1 Propil-NH_2 (Du Pont Zorbax NH_2	$HClO_4$ 0,03N NaH_2PO_4 0,075 M	UV 206 nm IR	malique citrique succinique	Vins : Passage sur échangeur d'anions et sur échangeur de cations.		Shaw et Wilson, 1983
Compression Radiale C_{18}	$NH_4H_2PO_4$ 2% pH 2,7	UV 206 nm IR	citrique	Jus de fruits : Passage sur échangeur d'anions et sur échangeur de cations.		Shaw et *al.*, 1983
Shimadzu Gel SCR 101H	H_3PO_4 0,1%	UV 210 nm	citrique tartrique malique acétique succinique	décoloration par le charbon		Yokotsuka et *al.*, 1983
Aminex HPX-87H	H_2SO_4 0,05N	IR	citrique tartrique malique succinique lactique acétique	Moûts et Vins : Passage sur échangeur d'anions + passage sur Sep-Pak C_{18}	Etude de récupération en ajoutant des étalons.	Mc Cord et *al.*, 1984
Lichrosorb RP-18 5 µm	KH_2PO_4 2% pH 2,2	UV 220 nm UV 220 nm	tartrique malique citrique fumarique	Vins blancs : injection directe Vins rouges : passage sur Sep-Pak C_{18}	Etude de récupération en ajoutant	Antolin-Mate et Lugar-Abril, 1984
HIBAR RT 250-4 RP18 HIBAR RT 250-4 RP 8 µ-Bondapak C_{18}	Eau : méthanol (65 : 35)	UV 254 nm UV 254 nm	lactique acétique tartrique malique succinique citrique	Vins et Jus de fruits : dérivatisation avec p-bromophenacyle.	Comparent le résultat de l'acide acétique avec l'acidité volatile et celui de l'acide tartrique avec celui de la méthode Blouin-Rebelein.	Mentasti et *al.*, 1985
LiChroma C_{18}	KH_2PO_4 0.2M pH 2,4	UV 214 nm	tartrique malique shikimique lactique acétique citrique	Vins : passage sur Sep-Pak C_{18}	Etude de récupération en ajoutant des étalons.	Rousseau et *al.*, 1985
Brownlee C_{18} (3 colonnes) Aminex HPX-87	H_3PO_4 0,1% H_2SO_4 0, 0075 M	UV 210nm IR	galacturonique tartrique malique shikimique lactique acétique citrique succinique citramalique	Vins : passage sur échangeur d'anions	Comparent le résultat avec celui de la méthode de Rebelein et avec les méthodes enzymatiques.	Goiffon et *al.*, 1985

coefficient d'absorption molaire élevé (21,24 fois plus que celui de l'acide tartrique); ceci peut entraîner une interférence dans l'analyse des acides dont les temps de rétention sont voisins si la résolution n'est pas bonne. Nous avons expérimentalement vérifié que lorsque la colonne possède moins de 11 000 plateaux théoriques on doit l'éliminer car l'acide shikimique et l'acide lactique se trouvent superposés. La présence des acides malonique, ascorbique et α-cétoglutarique n'offre pas d'inconvénients graves parce que habituellement ils ne sont présents qu'à faibles concentrations. La quantification de l'acide shikimique n'est pas possible dans les vins auxquels on a ajouté de l'acide ascorbique.

TABLEAU II

Facteur de capacité, résolution et facteur de réponse relatif à l'acide tartrique, des acides organiques.

Acides	Facteur de capacité (k')	Résolution*	Fr_i/Fr ac. tart.	Concentration dans les vins**
Oxalique	0,50	—	4,52	0-60 mg/l
Galacturonique	0,55	0,53	0,23	0,04-1 g/l
Tartrique	0,74	2,12	1,00	0,8-6,3 g/l
Pyruvique	1,07	2,10	4,78	0-500 mg/l
Malique	1,18	0,60	0,51	0-4 g/l
Malonique	1,34	1,27	0,68	—
Shikimique	1,44	0,53	21,34	—
Ascorbique	1,49	0,25	9,31	0
Lactique	1,65	0,87	0,36	0,2-3,5 g/l
α Cétoglutarique	1,75	0,34	4,33	0-200 mg/l
Acétique	1,89	0,43	0,34	< 0,5 g/l
citrique	3,04	4,97	0,72	0-500 mg/l
Succinique	3,43	1,31	0,37	0,5-1,5 g/l
Citramalique	3,64	0,37	0,38	100-250 mg/l

* Résolution entre chaque composé et celui qui le précède dans l'ordre d'élution.

** D'après Ribéreau-Gayon et *al.*, 1972.

La figure 1 montre la séparation des acides d'une solution synthétique, d'un vin blanc et d'un vin rouge.

Une meilleure résolution de tous les acides mentionnés dans le tableau II serait souhaitable, mais pour l'instant avec ce type de colonne ces résultats ne peuvent être améliorés. Ceci pourrait se faire en diminuant le pH de l'éluant et en augmentant le nombre de plateaux de la colonne. On sait que le pH optimum pour la séparation de ces acides est compris entre 1 et 1,5 (GONNET et MARICHY, 1982) ; mais on sait aussi qu'à pH 2 le greffage silice-C 18 disparaît ce qui rend la colonne inutilisable. On pourrait certes mettre plusieurs colonnes en série (GOIFFON et *al.*, 1985) mais cela entraîne des problèmes d'augmentation de pression et des durées d'analyses prolongées qui, pour le moment, ne nous semblent pas justifiés.

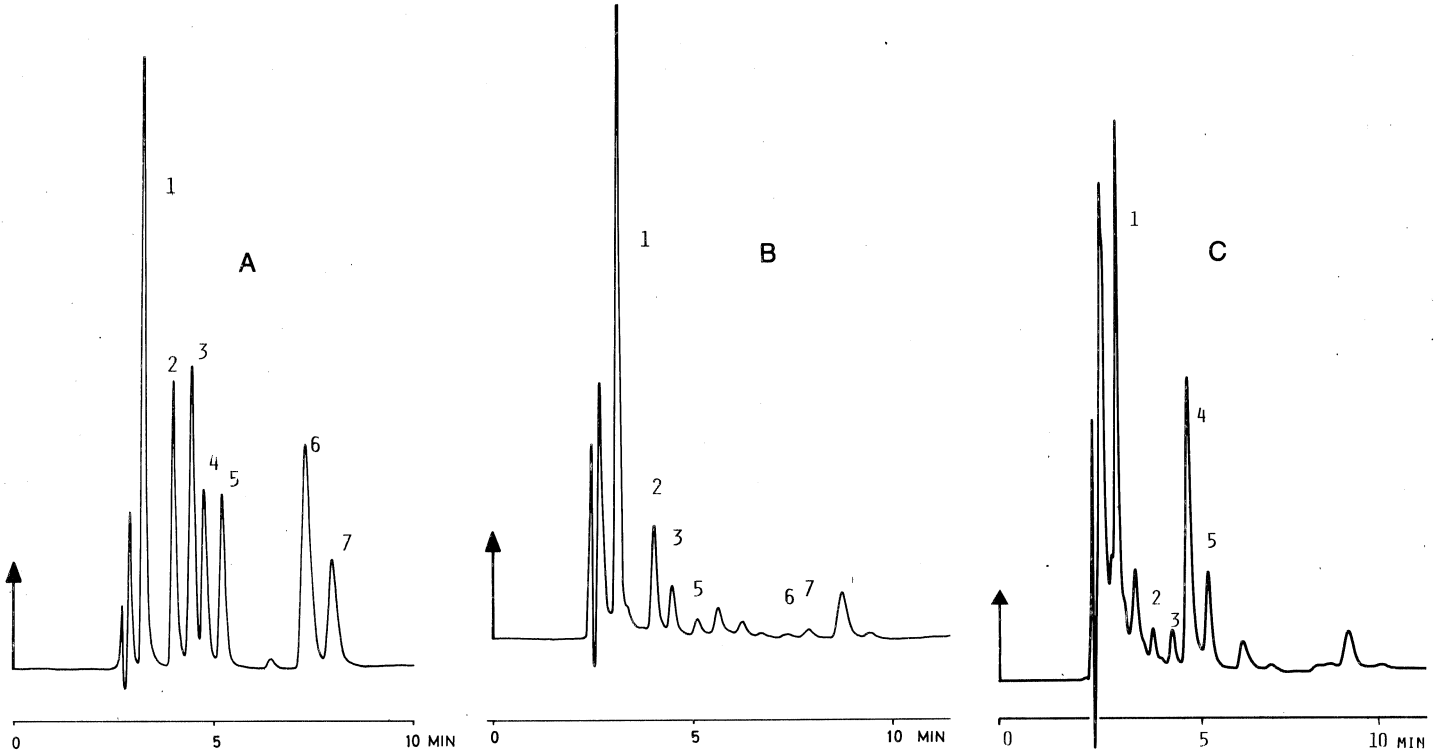


Fig. 1. — Séparation des acides organiques d'une solution synthétique (A), d'un vin blanc (B) et d'un vin rouge (C).
1 : acide tartrique ; 2 : acide malique ; 3 : acide shikimique ; 4 : acide lactique ; 5 : acide acétique ; 6 : acide citrique ; 7 : acide succinique.

II. — PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON.

Divers critères peuvent être pris en compte pour purifier l'échantillon avant l'analyse proprement dite (Tableau I). Certains auteurs proposent l'injection directe pour les vins blancs et un traitement préalable au charbon pour les vins rouges (AUGUSTE et BERTRAND, 1980). D'autres recommandent avant injection le passage du vin sur des cartouches Sep Pak C 18 (ANTOLIN MATE et LUGAR ABRIL, 1984 ; ROUSSEAU et *al.*, 1985) ou bien sur résine échangeuse d'anions (GOIFFON et *al.*, 1985 ; SCHNEYDER et FLAK, 1982) ou de cations (SYMONDS, 1978 ; RAPP et ZIEGLER, 1979 ; ROUSSEAU et *al.*, 1985). Certains, enfin, conseillent des procédés mixtes (GONNET et MARICHY, 1982 ; SHAW et *al.*, 1983 ; SHAW et WILSON, 1983 ; Mc CORD et *al.*, 1984). Nous avons testé plusieurs de ces possibilités, en comparant nos résultats avec ceux obtenus soit avec les méthodes habituelles de l'OIV soit avec les méthodes enzymatiques. Les meilleurs résultats sont obtenus après purification des vins sur résine anionique. Nous avons apporté quelques modifications à la méthode de SCHNEYDER et FLAK (1982) pour l'adapter à l'analyse quantitative : neutralisation du vin à environ pH 7,5 avant passage sur résine, décoloration au charbon actif et augmentation du volume d'élution.

Lorsqu'on fait directement percoler le vin ou une solution synthétique l'échange n'est pas quantitatif. Il faut, au préalable, neutraliser le vin pour favoriser la dissociation des acides. Pour vérifier ce phénomène nous avons préparé une solution synthétique contenant les acides tartrique, malique, lactique et acétique qu'on a amenée à pH 7,5 et traitée au charbon. Deux parties aliquotes de cette solution ont été passées sur colonne de résine anionique (Amberlite IRA 400) dans les conditions précédemment décrites dans « Matériels et méthodes ». L'analyse a fait l'objet de quatre répétitions. L'ANOVA a montré qu'il n'existait pas de différences significatives entre les éluats ni entre ceux-ci et la solution d'origine, ce qui montre que la récupération des acides est quantitative. Inversement, lorsque la solution est passée directement sur résine sans neutralisation préalable du vin des différences significatives apparaissent.

III. — COMPARAISON DES RÉSULTATS OBTENUS PAR CLHP ET PAR D'AUTRES MÉTHODES.

On a comparé (Tableau III) les résultats des dosages des principaux acides organiques du vin (tartrique, malique, lactique, acétique) par CLHP telle qu'elle proposée ici et par les méthodes usuelles de l'Office International de la Vigne et du Vin. Dans le cas où cela était possible grâce à la commercialisation des enzymes nécessaires, on a également procédé à des doses enzymatiques (acides malique L (+) et D (—) lactiques, acétique) ; étant donné la spécificité des méthodes enzymatiques celles-ci ont été considérées comme méthodes de références.

TABLEAU III

Comparaison des résultats obtenus avec les méthodes usuelles de l'O.I.V., les méthodes enzymatiques et la chromatographie liquide haute performance (CLHP)

	Méthode utilisée	Vins blancs					Vins rouges				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Acide tartrique	O.I.V.	2,60	1,25	2,88	1,90	2,22	1,57	1,90	2,10	1,86	1,91
	CLHP	2,34	1,18	2,16	1,73	2,21	1,56	1,75	1,77	1,52	1,91
Acide malique	O.I.V.	2,20	3,00	1,49	3,25	2,17	1,00	1,40	0,85	0,42	0,72
	Enzymatique	1,41	2,02	0,94	2,29	1,36	0,35	0,33	0,25	0,26	0,42
	CLHP	1,35	1,62	0,87	1,77	1,21	0,41	0,36	0,27	0,29	0,48
Acide L (+) + D (-) lactique	O.I.V.	0,48	0,43	0,43	0,58	0,38	2,49	3,16	4,60	2,47	2,89
	Enzymatique	0,08	0,18	0,15	0,28	0,22	1,70	2,21	1,95	1,26	2,72
	CLHP	0,17	0,21	0,20	0,30	0,24	1,29	1,67	2,53	1,26	2,27
Acide acétique	Enzymatique	0,36	0,29	0,33	0,37	0,36	0,74	1,02	0,47	0,45	0,39
	CLHP	0,66	0,37	0,53	0,47	0,43	0,69	1,05	0,45	0,56	0,43

Les résultats rassemblés dans le tableau III montrent que dans tous les cas les valeurs obtenues par CLHP sont plus proches de celles obtenues par les méthodes enzymatiques que de celles obtenues par les méthodes usuelles de l'OIV.

Dans le tableau IV on a rassemblé les résultats relatifs aux dosages CLHP dans 72 vins blancs, 63 vins rouges et 43 vins rosés espagnols.

TABLEAU IV

Teneur en acides organiques des vins provenant de quelques cépages espagnols.

Les teneurs sont exprimés en g par litre.

		Acide tartrique	Acide malique	Acide lactique
Vins blancs (72)	Max	6,32	3,39	1,66
	Min.	1,13	0,01	0,00
	$\bar{X}$	3,20	1,20	0,44
	S	1,12	0,78	0,46
	n	72	72	72
Vins rouges (63)	Max	4,40	2,69	2,71
	Min.	0,88	0,01	0,00
	$\bar{X}$	2,27	0,99	0,77
	S	0,75	0,71	0,79
	n	63	63	63
Vins rosés (43)	Max	4,06	1,94	1,00
	Min.	1,84	0,09	0,01
	$\bar{X}$	2,92	0,80	0,19
	S	0,57	0,36	0,23
	n	43	43	43

CONCLUSIONS

A la suite de ce travail, on peut affirmer que le dosage des principaux acides organiques du vin par chromatographie liquide haute performance est particulièrement intéressant. En utilisant les conditions expérimentales décrites les résultats obtenus pour doser les acides tartrique, malique, lactique et acétique sont nettement meilleurs que ceux obtenus en utilisant les méthodes usuelles de l'OIV. D'autre part, la CLHP, par

rapport aux méthodes enzymatiques, offre l'avantage de permettre en une seule fois le dosage de la fraction acide du vin.

Manuscrit reçu le 12 juillet 1986 ; accepté pour publication le 26 octobre 1986.

RÉSUMÉ

Les travaux dans lesquels la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) a été appliquée à l'analyse des acides organiques des vins sont répertoriés. Une méthode de CLHP en phase inverse, avec détection en UV à 214 nm est étudiée. En raison de la complexité de la composition du vin, il faut purifier les échantillons en les décolorant au charbon avant le passage à travers une colonne échangeuse d'anions. Les résultats obtenus par cette méthode pour les acides tartrtique, malique et lactique sont plus proches de ceux des méthodes enzymatiques que de ceux que l'on obtient par les méthodes usuelles de l'OIV. La teneur en acides tartrique, malique, lactique et acétique de 72 vins blancs, 63 vins rouges et 43 vins rosés provenant de cépages espagnols est rapportée.

SUMMARY

The works in which the HPLC has been applicated to the analysis of the organic acids of wines are given. A method of HPLC in inverse phase, with detection in UV at 214 nm is studied. In reason of the complexity of the wine composition samples must be purified. For tartaric, malic, lactic acids the results got by HPLC and enzymatic method are little different contrary to OIV usual methods.

Tte content in tartaric, malic, lactic and acetic acids of 72 white wines, 63 red wines and 43 rose wines issue from Spanish variety is related.

RIASSUNTO

I lavori nei quali, la cromatografia liquida ata prova (CLHP) é stata appicata all'analisi degli acidi organici dei vini, sono regisrati. Un metodo di (CLHP) in fasi inversa, con rivelazione in UV à 214 nm é studiata. A causa della complessità della composizione del vino, bisogna purificare i campioni, scolorendoli al carbone prima del passaggio attraverso una colonna scambiatore di anioni.

I risultati ottenuti con questo metodo di CLHP sono più prossimi di quelli dei metodi enzimatici che di quelli ottenuti da metodi usuali dell'OIV per gli acidi tartarici, malici e lattici. Il tenore in acido tartarico, malico, lattico ed acetico di 72 vini bianchi, 63 vini rossi e 43 vini rosati che provengono da varietà d'uva spagnola, é riferita.

RESUMEN

Se hace una revisión de los trabajos en los que la Cromatografía de Liquidos de Alta Eficacia (CLAE) se ha aplicado al análisis de los ácidos orgánicos de los vinos. Se estudia un método de CLAE en fase inversa con detección en UV a 214 nm. Debido a la complejidad de la composición del vino, es necesario purificar las muestras decolorandolas con carbón activo antes de pasarlas a traves de una columna cambiadora aniónica. Los resultados obtenidos por este método de CLAE son más próximos a los métodos enzimáticos que los que se

obtienen por los métodos usuales de la O.I.V. para los ácidos tartárico, málico y láctico. Se dan datos de concentración en ácidos tartárico, málico y láctico de vinos varietales españoles, 72 de ellos blancos, 63 tintos y 43 rosados.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANTOLIN-MATE M. et LUGAR-ABRIL L., 1984. Analisis de acidos organicos en zumos de frutas y vinos por CCF et HPLC. *Alimentaria,* nº 155, 27-31.

AUGUSTE M.-H. et BERTRAND A., 1980. Dosage des acides tartrique, malique et citrique dans les moûts et les vins par chromatographie en phase liquide à haute pression. F.V. OIV, 721, 1-4.

BOEHRINGER MANNHEIM S.-A., 1975. *Analisis de la alimentacion.*

BOEHRINGER MANNHEIN S.-A., 1977. *Analisis de la alimentacion.*

DROZ C. et TANNER H., 1982. Uber die Trennung und quantitative Bestimmung der organischen Säuren in Fruchtsäftetn un Weinen mittels HPLC. *Schweiz. z. Obst.-Weinbau, 118,* 434-438.

GOIFFON J.-P., BLACHERE A. et REMINIAC C., 1985. Dosage des acides organiques du vin par chromatographie en phase liquide. *Analusis,* 13, 218-225.

GONNET C. et MARICHY M., 1982. High Performance Liquid Chromatotgraphic analysis of short-chain carboxilic acids. Proc. Euro. Conf. Food Chem. 1st verland Chem., 4, 47-52.

Mc CORD J.-D., TROUSDALE E. et RYU D.-Y., 1984. A improved sample preparation procedure for the analysis of major organic components in grape must and wine by high performance liquid chromatography. *Am. J. Enol. Vitic.,* 35, 28-29.

MENTASTI E., GENNARO M.-C., SARZANINI C., BAIOCCHI C. et SAVIGLIANO M., 1985. Derivatization, identification and separation of carboxilic acides in wines and beverages by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.,* 322, 177-189.

RAPP A. et ZIEGLER A., 1979. Bestimmung von Zuckern, Glycerin, Athanol und Carbosäuren im Trauber most und Wein mit Hilfe der Hochdruch-Flüssigkeistchromatographie. *Dtsch. Lebensmittetl-Rdsch,* 75, 396-398.

Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins. Annexe 12 h, OIV. Paris.

Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins. Annexe A 27 d. OIV. Paris.

Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins. Annexe A 33 f. OIV. Paris.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1972. Sciences et Techniques du Vin. Tome 1. Analyse et contrôle des vins. Éd. Dunod. Paris.

ROUSSEAU D., BIJL J., OOGHE W., MAJ J. et VAN PETTEGHEM C., 1985. Optimization of the HPLC determination of organic acids in wines. Dans: Strategies in food quality assurance: Analytical, industrial and legal aspects. Volume 2. Éd. Baltes W., Czedik-Eysenberg P.-B., Dlustra H., Dirinck P., Ooghe W. et Pfannahauser W., Uitgeverij De Sikkele n.v. Belgique (pages III 230-III 235).

SCHNEYDER J. et FLAK W., 1982. Détermination quantitative des principaux composants acides du vin par chromatographie liquide haute pression. F.V. OIV 749, 1-5.

SHAW Ph.-E. et WILSON III Ch.-W., 1983. Total citrate content of orange and grapefruit juices. J. Agric. Food Chem. 31, 182-184.

SHAW Ph.-E. et WILSON III Ch.-W., 1983. Organic acids in orange, grapefruit and cherry juices quatified by High Performance Liquid Chromatography using neutral resin on propilamine columns. *J. Sci. Food Agric.*, 34, 1285-1288.

SYMONDS P., 1978. Application de la chromatographie liquide haute performance au dosage de quelques acides organiques du vin. *Ann. Nutr. Alim.*, 32, 957-968.

YOKOSUKA K., MATSUDO T. et KUSHIDA T., 1983. Pretreatment of wines with charcoal for determination of organic acids by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Inst. Enol. Vitic.*, Yamanashi Univ., 18, 7-13.