Connaissance Vigne Vin 1976, **10**, N° 3, 311-322.

DOSAGE DE L'AZOTHYDRATE DE SODIUM DANS LES VINS

Solange CLERMONT et Danielle CHRETIEN

Station Agronomique et Œnologique
351, cours de la Libération, 33405 Talence (France)

INTRODUCTION

L'azothydrate de sodium — NaN_3 — (parfois improprement dénommé « nitrure » de sodium) est un poison protoplasmique violent ; il bloque en particulier, à dose très faible, le métabolisme des levures. Selon RIBEREAU-GAYON et **al.** (1975), les doses actives sur le moût de raisin seraient de 5 à 10 mg par litre et sur le vin de 1 à 2 mg par litre. En raison de sa toxicité, cet antiseptique n'est pas autorisé pour la conservation des denrées alimentaires.

Diverses techniques de recherche qualitative de ce produit ont été proposées par LAMBION (1973), VERHEYDEN (1974), ASTEGIANO (1975) ; celles-ci sont basées sur la séparation de l'acide azothydrique par distillation et la formation d'un complexe coloré rouge avec les sels ferriques (PASCAL, 1932).

En vue d'une détermination quantitative de l'azothydrate de sodium dans les vins, nous avons adapté la technique d'ASTEGIANO après avoir étudié l'influence de divers constituants des vins, et recherché un procédé permettant leur élimination.

RECHERCHE DE L'AZOTHYDRATE DE SODIUM

Principe de la méthode d'ASTEGIANO

200 ml de vin alcalinisés par de l'hydroxyde de sodium sont concentrés au demi par ébullition pour chasser l'éthanol ; après refroidissement, ils sont réacidifiés par de l'acide sulfurique, additionnés de peroxyde d'hydrogène pour oxyder l'anhydride sulfureux, et distillés. On recueille 1 ml de distillat dans un tube à essais contenant 1 ml d'eau ; l'acide azothydrique est ensuite caractérisé par le complexe rouge qu'il donne par addition de chlorure ferrique.

Modifications apportées à cette méthode

La méthode décrite ci-dessus est spécifique si l'on se contente de recueillir 1 à 2 ml de distillat. Elle ne l'est plus lorsque, pour une détermination quantitative, ce volume est nettement plus élevé, 50 ml par exemple. D'autre part, dans ces conditions, le taux de récupération de l'azothydrate ajouté est faible et irrégulier (45 à 75 p. 100).

Aussi avons-nous modifié la méthode en effectuant une première distillation du vin sans aucune addition, l'élimination de l'éthanol et l'oxydation de l'anhydride sulfureux étant réalisées sur ce distillat ; on procède ensuite à une deuxième distillation pour séparer l'acide azothydrique. Dans ces conditions, la spécificité est bonne, c'est-à-dire que l'on obtient toujours des résultats négatifs sur des vins ne contenant pas d'azothydrate ; d'autre part, le pourcentage d'azothydrate retrouvé est nettement amélioré.

ETUDE DE LA METHODE
INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS

Distillation de l'acide azothydrique. Etude du volume à recueillir

Cet acide est très volatil (température d'ébullition : 37 °C).

TABLEAU I

Distillation de l'acide azothydrique
Influence du volume du distillat sur l'intensité de la réaction colorée

Volume de distillat (ml pour 200 ml de solution)	Absorbance à 465 nm
30	0,42
45	0,42
70	0,42

On effectue l'essai suivant : on distille 3 prises de 200 ml de solution aqueuse d'azothydrate de sodium, préalablement acidifiées par 5 ml d'acide sulfurique 2N ; les distillats, de volumes croissants, sont recueillis dans des fioles jaugées de 100 ml contenant chacune 5 ml d'eau distillée et immergées dans un bain glacé. Après distillation, les volumes sont complétés à 100 ml au moyen d'eau distillée et l'acide azothydrique est mis en évidence par addition de 1 ml de solution de chlorure ferrique (solution à 20 g par litre, concentration exprimée en

fer), homogénéisation et mesure de l'absorbance à 465 nm. La coloration rouge présente un maximum à cette longueur d'onde et suit la loi de Beer-Lambert ; mais elle est instable ; il est donc indispensable d'effectuer sa mesure dans les 5 minutes suivant l'addition de sel ferrique. Les résultats du tableau I indiquent qu'il suffit de recueillir un faible volume de distillat pour obtenir la totalité de l'acide azothydrique (nous adopterons 45 ml pour 200 ml de vin).

Influence de l'éthanol

Comme le montre la figure 1, représentant les spectres d'absorption de l'acide azothydrique en solution aqueuse et en solution hydroalcoolique à 7°6, après addition de chlorure ferrique, l'éthanol augmente l'absorbance à 465 nm et fait disparaître le maximum à cette longueur d'onde.

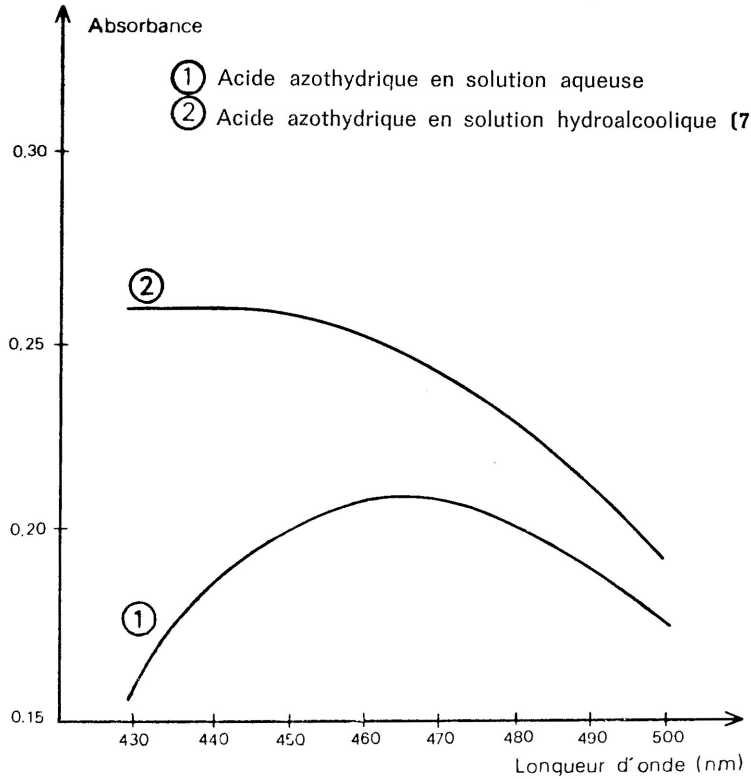


Fig. 1. — Influence de l'éthanol sur le spectre d'absorption du complexe acide azothydrique - chlorure ferrique.

Influence de l'anhydride sulfureux

En présence d'anhydride sulfureux, la coloration rouge avec les sels ferriques est très fugace et très atténuée, même en présence de traces. Il doit donc être totalement éliminé. Pour cela on l'oxyde

par du peroxyde d'hydrogène dont un excès ne gêne pas, ainsi que le montre l'essai suivant : 3 prises de 50 ml d'un même vin dont l'éthanol a été éliminé par ébullition en milieu alcalin sont acidifiées par de l'acide sulfurique en solution 2N, puis additionnées de volumes croissants de peroxyde d'hydrogène à 3 p. 100 ; sur chaque prise on dose ensuite l'acide azothydrique par distillation, addition de chlorure ferrique et mesure de l'absorbance à 465 nm.

Les résultats du tableau II montrent qu'un grand excès de peroxyde d'hydrogène ne modifie pas la valeur de l'absorbance.

TABLEAU II

Influence du volume de peroxyde d'hydrogène utilisé pour l'oxydation de l'anhydride sulfureux

Volume de solution de peroxyde d'hydrogène (ml)	Absorbance à 465 nm
0,4 *	0,29
1,5	0,29
3,0	0,29

* Ce volume correspond exactement à la teneur en anhydride sulfureux de la prise d'essai.

Influence de l'acide acétique

L'acide acétique diminue légèrement l'absorbance à 465 nm, mais dans le mode opératoire que nous avons adopté son influence est éliminée. En effet, si l'on distille 200 ml de solution acétique en recueillant 45 ml de distillat, celui-ci ne contient plus que le dixième de l'acide acétique, et une deuxième distillation effectuée dans les mêmes conditions réduira sa teneur au centième de celle de l'échantillon initial, ce qui est tout à fait négligeable et sans influence sur le résultat du dosage, même dans le cas de fortes teneurs en acide acétique de l'ordre de 2 g par litre.

DOSAGE DE L'AZOTHYDRATE DE SODIUM METHODE PAR DOUBLE DISTILLATION

Principe

L'acide azothydrique, très volatil, est séparé par distillation dans des conditions permettant l'élimination de l'éthanol, de l'acide acétique et de

l'anhydride sulfureux, puis dosé colorimétriquement après formation d'un complexe coloré avec le chlorure ferrique (absorbance maximum à 465 nm).

Réactifs

— Hydroxyde de sodium en solution N ;

— Acide sulfurique 2N ;

— Peroxyde d'hydrogène à 3 p. 100 en volume ;

— Solution de $FeCl_3$ à 20 g par litre en Fe^{+++} : (peser 96,6 g de $FeCl_3$, $6H_2O$, ou davantage car ce sel est très hygroscopique, contrôler la teneur en Fe^{+++} de la solution et l'ajuster si nécessaire à 20 g par litre ± 0,5 g) ;

— Solution mère d'azothydrate de sodium à 1 g par litre dans l'eau distillée ;

— Solution d'azothydrate de sodium à 200 mg par litre préparée extemporanément par dilution de la solution à 1 g par litre.

Appareillage

— Appareil à distiller simple composé d'un ballon de 500 ml à col rodé et d'un réfrigérant de West terminé par un tube effilé ;

— Fioles jaugées de 50 et 200 ml ;

— Spectrophotomètre et cuves verre de 1 cm de trajet optique.

Mode opératoire

1° Dans un ballon de 500 ml à col rodé placer 200 ml de vin, distiller, recueillir le distillat dans une fiole jaugée de 50 ml contenant 5 ml d'eau et immergée dans un bain glacé. Arrêter la distillation lorsque le volume total est de 50 ml environ.

2° Transvaser quantitativement le distillat dans un autre ballon rodé de 500 ml en rinçant la fiole de 50 avec 2 fois 20 ml d'eau.

Neutraliser au moyen de la solution d'hydroxyde de sodium N (utiliser un papier indicateur de pH), alcaliniser par 10 ml de cette même solution et ajouter 50 ml d'eau distillée pour amener le volume à 150 ml environ.

Pour chasser l'éthanol, atteler le ballon à l'appareil à distiller et éliminer 80 à 90 ml de distillat (réduction du volume au demi).

3° Refroidir complètement le ballon.

Transvaser son contenu dans une fiole jaugée de 200 ml, rincer sommairement le ballon (qui sera conservé) en recueillant les eaux de lavage dans la fiole de 200 ml. Acidifier par 10 ml d'acide sulfurique 2N, agiter, puis oxyder le SO_2 par addition d'un excès de peroxyde d'hydrogène à 3 p. 100.

Pour cela, contrôler le titre du peroxyde d'hydrogène par une solution de permanganate de potassium 0,1 N en milieu sulfurique :

Si p ml est le volume nécessaire pour oxyder 1 ml de H_2O_2 et si le vin contient S mg par litre d'anhydride sulfureux, il faut utiliser pour 200 ml de vin :

$$\frac{S}{5 \times 3{,}2\,p} = \frac{S}{16\,p} \text{ ml de solution de } H_2O_2$$

En réalité ce volume est en excès car la totalité du SO_2 ne se retrouve pas dans le distillat.

Compléter le volume à 200 ml et refaire passer le liquide dans le ballon rodé, quantitativement mais sans rincer.

Distiller, recueillir le distillat dans une fiole jaugée de 50 ml contenant 5 ml d'eau distillée et immergée dans un bain glacé ; arrêter la distillation juste avant le trait de jauge, ramener à la température ambiante et ajuster le volume à 50 ml.

4° Ajouter 0,5 ml (exactement mesuré) de solution de $FeCl_3$, homogénéiser et mesurer aussitôt (délai maximum 5 minutes) l'absorbance à 465 nm dans des cuves de 1 cm de trajet optique, le zéro de l'appareil étant réglé sur un essai à blanc de 50 ml d'eau additionnés de 0,5 ml de solution ferrique.

5° Etablissement de la courbe étalon.

Dans des fioles jaugées de 50 ml introduire 1-2-3-4-5 ml de solution d'azothydrate de sodium à 200 mg par litre, compléter le volume à 50 ml

par de l'eau distillée, ajouter 0,5 ml de solution ferrique et mesurer l'absorbance.

Ces solutions contiennent 4-8-12-16-20 mg d'azothydrate de sodium par litre. Les teneurs correspondantes par litre de vin sont : 1-2-3-4-5 mg.

Les absorbances sont consignées dans le tableau III.

TABLEAU III

Dosage de l'azothydrate de sodium

Etablissement de la courbe étalon

Teneur en azothydrate de sodium		Absorbance à 465 nm
mg par litre de solution aqueuse	mg par litre de vin	
4	1	0,10
8	2	0,19
12	3	0,28
16	4	0,37
20	5	0,46

Remarque. — L'acidité de la solution de chlorure ferrique est suffisante pour libérer l'acide azothydrique. En effet, la courbe étalon obtenue en distillant des prises de 1-2-3-4-5 ml de solution d'azothydrate, acidifiées par 5 ml d'acide sulfurique 2N et portées à 200 ml, le distillat étant recueilli dans des fioles jaugées de 50 ml, se superpose avec celle obtenue sans distillation.

RESULTATS

Reproductibilité de la méthode

Sur un même vin additionné d'azothydrate de sodium nous avons effectué 8 dosages successifs. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau IV.

TABLEAU IV

Reproductibilité de la méthode de dosage

Dosage	Absorbance à 465 nm	Teneur correspondante en NaN_3 (mg par litre)
1	0,385	4,2
2	0,380	4,1
3	0,370	4,0
4	0,375	4,0
5	0,385	4,2
6	0,370	4,0
7	0,380	4,1
8	0,375	4,0

Dosage de l'azothydrate de sodium ajouté aux vins : récupération des doses ajoutées

Nous avons ajouté des doses connues de N_3Na à 4 vins rouges et blancs, secs et liquoreux ; les résultats sont consignés dans le tableau V.

TABLEAU V

Dosage de l'azothydrate de sodium dans les vins

Etude des taux de récupération

	Dose de N_3Na ajoutée (mg par litre)	Dose de N_3Na trouvée (mg par litre)	Taux de récupération (p. 100)
Vin rouge n° 1	0	0	—
	2,5	2,4	96
	5	4,5	90
Vin blanc n° 2 (sec)	0	0	—
	5	4,6	92
Vin blanc n° 3 (doux)	0	0	—
	5	4,6	92
Vin blanc n° 4 (liquoreux)	0	0	—
	2,5	2,2	88
	3,5	3,1	88
	5	4,4	88

Les résultats montrent que :

— la méthode de dosage par double distillation est spécifique : dans les vins témoins le résultat est toujours nul ;

— les taux de récupération, de l'ordre de 90 p. 100, sont suffisants pour s'assurer de la présence d'azothydrate de sodium, même à faible dose et permettent d'évaluer avec une bonne approximation la teneur en ce produit.

Etude de la stabilité de l'azothydrate de sodium dans les vins

Quelques dosages, au moyen de la méthode par double distillation, indiquent un lent abaissement du taux de N_3Na au cours des mois suivant son introduction dans le vin (tableau VI).

TABLEAU VI

Stabilité de l'azothydrate de sodium dans les vins : taux N_3Na retrouvé en fonction du temps de vieillissement

	N_3Na ajouté (mg par litre)	N_3Na trouvé (mg par litre)		
		après 1 jour	après 40 jours	après 60 jours
Vin rouge n° 1	2,5	2,4	—	0,3
	5,0	4,5	—	1,8
Vin blanc n° 3 (doux)	5	4,6	4,1	—
Vin blanc n° 4 (liquoreux)	2,5	2,2	—	1,6
	5,0	4,4	—	3,4

Il semble que la vitesse de dégradation soit plus grande dans les vins rouges, conservés avec de très faibles taux d'anhydride sulfureux, mais nous ne disposons encore pour le moment que de rares résultats quantitatifs.

Comparaison de la méthode par double distillation avec une technique comportant une seule distillation

Nous avons comparé cette méthode par double distillation avec une technique comportant une seule distillation selon le principe de la méthode d'ASTEGIANO précédemment décrite, mais en recueillant 45 ml de distillat comme dans la méthode par double distillation.

Comme le montrent les résultats du tableau VII, la méthode par simple distillation d'ASTEGIANO — établie en vue de la recherche qualitative de l'azothydrate de sodium sur un volume de distillat de 1 à 2 ml seulement — ne peut être étendue sans modification au dosage de ce corps sur un distillat de 50 ml, car dans ces conditions elle n'est plus spécifique : dans trois cas sur quatre nous trouvons des traces d'azothydrate dans des vins n'en ayant pas reçu et, d'autre part, le taux de récupération est faible et irrégulier.

TABLEAU VII

Comparaison des méthodes de dosage de l'azothydrate de sodium par simple et double distillation

		Distillation simple		Distillation double	
	NaN_3 ajouté (mg par litre	NaN_3 retrouvé (mg par litre	Taux de récupération (p. 100 par rapport au témoin)	NaN_3 retrouvé (mg par litre	Taux de récupération (p. 100 par rapport au témoin)
Vin rouge n° 1	0	0,3	—	0	—
	2,5	2,0	68	2,4	96
	5,0	3,6	66	4,5	90
Vin blanc n° 2 (sec)	0	0	—	0	—
	5,0	3,7	74	4,6	92
Vin blanc n° 3 (doux)	0	0,5	—	0	—
	5,0	3,7	64	4,6	92
Vin blanc n° 4 (liquoreux)	0	0,4	—	0	—
	2,5	1,5	44	2,2	88
	3,5	2,1	49	3,1	88
	5,0	2,9	50	4,1	88

Par contre, en effectuant deux distillations, ce qui permet d'oxyder l'anhydride sulfureux sur un milieu beaucoup moins complexe que le vin, le dosage est spécifique ; on élimine vraisemblablement des substances réagissant sur le chlorure ferrique, et le taux de récupération, très nettement amélioré, passe à une valeur moyenne d'environ 90 p. 100.

CONCLUSION

La méthode de dosage par double distillation de l'azothydrate de sodium étudiée au cours de ce travail est spécifique, reproductible et sensible. Elle permet une recherche de cet antiseptique dans les vins, même à l'état de traces. Le taux de récupération de l'azothydrate éventuellement ajouté atteint une valeur minimum voisine de 90 p. 100 ce qui permet une bonne évaluation.

L'acide azothydrique paraît moins instable que ne le laisserait supposer sa constitution. De nouveaux essais sont en cours pour étudier sa dégradation dans le vin en fonction du temps.

Manuscrit reçu le 20 septembre 1976.

RESUME

Méthode de dosage de l'azothydrate de sodium comportant une séparation de l'acide azothydrique par double distillation suivie d'un dosage colorimétrique du complexe ferrique de cet acide.

SUMMARY

Method of quantitative determination of sodium azothydrate comprising a separation of azothydric acid by double distillation followed by a colorimetric determination of the ferric complex of this acid.

ZUSAMMENFASSUNG

Methode der Dosierung von Natrium-Stickstoffhydroxyd mit Trennung der Stickstoff-Wasserstoffsäure durch zweifache Distillierung gefolgt von einer Dosierung mittels Kolorimeter des Eisenkomplexes dieser Säure.

RESUMEN

Metodo de dosificación del azothidrato de sodio admitiendo una separación del ácido azothidrico por doble destilación seguida de una dosificación colorimétrica del complejo férrico de este ácido.

RIASSUNTO

Metodo di dosaggio dell'azotidrato di sodio comportante una separazione dell'azotidrato per doppia distillazione seguita da un dosaggio colorimetrico del complesso ferrico di questo acido.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ASTEGIANO V., 1975. Recherche de l'acide azothydrique dans les moûts et dans les vins. **O.I.V., F.V.** N° 557.

LAMBION M., 1973. Recherche de l'azoture de sodium. **O.I.V. F.V.** N° 462.

PASCAL P., 1932. **Traité de chimie minérale,** tome III, p. 326-335, Masson éditeur, Paris.

RIBEREAU-GAYON et **al.,** 1975. **Traité d'Œnologie,** tome 2, 358, Dunod éditeur, Paris.

VERHEYDEN F., 1974. L'antiseptique acide azothydrique et sa recherche dans le vin. **Ann. Falsif. Exp. chim.,** n° 714, 33-37.