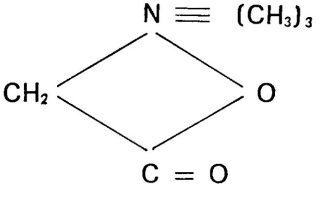
LA RECHERCHE DE LA CHAPTALISATION DES VINS PAR LA DETECTION DE LA BETAÏNE

S. CHAUVET et P. SUDRAUD
Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux
351, cours de la Libération, 33405 Talence (France)

La recherche de la chaptalisation des vendanges et des moûts par la méthode actuellement utilisée en France (examen du rapport alcool sur extrait sec réduit) n'est pas très satisfaisante car, en dehors du fait qu'un pourcentage souvent élevé de fraudes échappe à cette recherche, il est évident que l'influence de l'état sanitaire de la vendange et des techniques de vinification n'est pas négligeable. De plus l'utilisation des méthodes d'analyses internationales ou communautaires, préconisant les techniques à 70 °C sous vide ou densimétrique pour la détermination de l'extrait sec, est une source supplémentaire de discussions pour l'application des valeurs limites du rapport alcool sur extrait sec réduit.

La mise en évidence d'une addition de sucre à la vendange ou au moût par la caractérisation d'une substance présente dans ce sucre à l'état de trace qui soit absente du vin naturel et non détruite par la fermentation est extrêmement séduisante. Dans le cas du sucre de betterave, ce problème peut être résolu par la recherche de la bétaïne (ou triméthyl glycocolle) :



Des travaux récents ont signalé la possibilité de caractériser la bétaïne dans les vins soit par chromatographie en couche mince (CENCI et CREMONINI, 1969 et 1973), soit par couplage de la chromatographie en

phase gazeuse et de la sprectrométrie de masse (DUBOIS et DUPUY, 1974). Cette dernière technique quoique beaucoup plus sensible nécessite un appareillage très onéreux et il nous a semblé préférable d'étudier en détail la méthode par chromatographie en couche mince.

Bien que cette étude ne soit pas encore terminée, il nous a paru intéressant de donner les premiers résultats obtenus.

TECHNIQUE GENERALE DE RECHERCHE

Principe. — La méthode consiste à extraire la bétaïne éventuellement présente dans le vin par fixation sur colonne échangeuse de cations puis élution par l'ammoniaque, concentration et purification grâce à une colonne mixte anions-cations selon la technique utilisée pour les jus d'oranges (GRAYSSON, 1970). Ce liquide concentré est ensuite chromatographié sur couche mince de silice et révélé par l'iode et le réactif de Draggendorff modifié par Schute selon la technique utilisée pour les préparations pharmaceutiques (MASSA et **al.**, 1970).

Réactifs. — Résine cationique Dowex 50 (50 — 100 mesh)

Résine mixte comportant Amberlite IRA-400 (OH^-) (200 — 400 mesh) : 2 volumes et Amberlite CG 50 (H^+) (50 — 100 mesh) : 1 volume.

Ammoniaque à 2 p. 100.

Acétate basique de plomb solution saturée.

Sulfate de sodium solution saturée.

Silicagel H (20 g pour 40 ml d'eau).

Méthanol.

Iode à 80 g par litre.

Réactif de Draggendorff modifié par Schute.

Solution mère :	Iodure de potassium	7 g
	Eau distillée	18 ml
	Acide chlorhydrique 4 N	3 ml

Porter à ébullition et ajouter à ce moment par petites quantités 1,5 g de sous-nitrate de bismuth. Laisser refroidir. Dissoudre ensuite 1,5 g d'iode dans le mélange. Diluer avec un volume équivalent d'eau distillée.

Solution à vaporiser :	Solution mère	4 ml
	Acide chlorhydrique concentré ..	3 ml
	Eau distillée q.s.p.	125 ml

Mode opératoire. — Placer 150 ml de résine cationique dans une

allonge à chromatographie constituée par un tube de verre de 2 cm de diamètre et d'une hauteur de 60 cm, le bas de la colonne contenant un petit tampon de laine de verre (la hauteur de la résine est d'environ 50 cm). Après avoir régénéré la résine sous forme H^+ par l'acide chlorhydrique 2 N et l'avoir lavée à l'eau jusqu'à élimination des chlorures, faire passer 500 ml de vin à raison de 3 ml par minute ; puis laver abondamment jusqu'à élimination complète des sucres (ce lavage nécessite 2 litres d'eau distillée pour les vins rouges et blancs secs et jusqu'à 20 litres d'eau distillée pour les vins très liquoreux) ; l'élution de la bétaïne est assurée par de l'ammoniaque à 2 p. 100 en quantité suffisante, soit environ 2 litres, suivie d'un rinçage par un volume égal d'eau distillée ; ces liquides sont rassemblés et évaporés d'abord à la pression atmosphérique puis sous vide à une température voisine de 100 °C jusqu'à un volume de 20 ml environ ; ce liquide concentré, additionné des eaux de rinçage du ballon où l'on a effectué l'évaporation, est ensuite passé sur la colonne de résine mixte anions-cations pour éliminer certaines substances parasites ; la bétaïne n'est pas retenue par cette résine et le liquide, additionné des eaux de rinçage (environ 200 ml) est traité par 0,5 ml d'acétate basique de plomb et 0,5 ml de sulfate de sodium pour éliminer l'excès de polyphénols (cette dernière purification est utile pour les vins blancs et indispensable pour les vins rouges) ; le précipité formé est retenu sur filtre sans cendre et le liquide est à nouveau concentré sous vide jusqu'à siccité ; on reprend ensuite ce résidu sec par 1 ml d'eau distillée.

Ce liquide est alors déposé sur une plaque de silicagel H de 0,55 mm d'épaisseur en appliquant à l'aide d'une micro-seringue de 100 µl, 30 µl en un point. La plaque est placée dans la cuve contenant comme solvant le mélange méthanol, ammoniaque concentré (10 : 1) et on laisse le chromatogramme se développer pendant 1 heure 1/2 à 2 heures, ce qui correspond à un déplacement du solvant de 12 à 14 cm. La plaque est séchée soigneusement sous courant d'air chaud puis exposée, dans un récipient étanche, aux vapeurs d'iode pendant 2 heures. Après avoir laissé la plaque à l'air libre sous ventilation pendant une dizaine de minutes on pulvérise le plus régulièrement possible le réactif de Draggendorff-Schute. Après séchage la bétaïne se révèle sous forme d'une tache orangé brune de Rf voisin de 0,30. Il peut être utile de répéter l'opération, exposition aux vapeurs d'iode et pulvérisation du réactif. (Figure).

Il est bon bien entendu de déposer sur la plaque, à côté du liquide à étudier, des spots d'une solution synthétique de bétaïne de concentration connue généralement à 2, 3, 4 et 5 g par litre. Dans ces conditions

on peut estimer la quantité de bétaïne contenue dans le vin à analyser en tenant compte évidemment du coefficient de concentration (généralement 500).

JUSTIFICATION DE LA METHODE

Ces modifications apportées à la technique préconisée par les auteurs italiens se justifient par les observations suivantes :

— la défécation au charbon qui fixe une quantité non négligeable de bétaïne a été remplacée par une défécation au sous-acétate de plomb effectuée non pas sur le vin lui-même mais après passage sur les deux types de résine afin d'utiliser le minimum d'agent défécant ;



Chromatogramme en couche mince comportant de gauche à droite les spots de solutions étalon de bétaïne à 2, 3, 4 et 5 g par litre, un vin blanc sans bétaïne et un vin rouge avec bétaïne

— le solvant à base de butanol a été remplacé par du méthanol à 10 p. 100 d'ammoniaque qui donne un meilleur déplacement de la bétaïne et une meilleure séparation ;

— le révélateur à l'éosine a été remplacé par l'ensemble vapeur d'iode plus réactif de Draggendorff-Schute car le premier s'est montré moins spécifique donnant des artefacts avec certains constituants du vin et par suite de l'examen sous ultra-violet il se prête moins à une photographie de la plaque.

D'autre part, il était bon de vérifier si les vins naturels ne contenaient pas de bétaïne et si cette dernière n'était par modifiée ou éliminée par la fermentation.

L'examen d'une vingtaine de vins blancs et rouges, dont nous étions sûrs qu'ils n'avaient pas été chaptalisés nous a toujours donné un résultat négatif (ou tout au moins très inférieur à la limite de sensibilité de la

méthode) ; bien qu'il soit nécessaire de vérifier un nombre plus important de vins non chaptalisés, il paraît très improbable que la bétaïne soit présente dans des moûts ou des vins naturels à une teneur décelable par cette technique.

Par contre, si l'on ajoute de la bétaïne à du moût non enrichi avant fermentation et que l'on fasse fermenter comparativement à un témoin, on retrouve la dose initiale de bétaïne ajoutée ; il est donc certain que la fermentation alcoolique ne permet pas d'éliminer cette substance.

APPLICATIONS

Nous avons essayé sur quelques vins rouges et blancs de la récolte 1974 de comparer les recherches de chaptalisation par la méthode du

Rapport alcool sur extrait et teneur en Bétaïne

	Rapport alcool sur extrait		Bétaïne	
	(1)	(2)	Test qualitatif	estimation mg par l
Vins blancs secs				
1	5,85	4,6	positif	6
2	5,1	4,2	positif	6
3	5,8	4,5	positif	7
Vins blancs liquoreux				
1	5,5		positif	4
2	5,0	4,3	positif	8
Vins rouges				
1	3,3	2,8	négatif	0
2	4,2	3,65	négatif	0
3	4,6	3,8	positif	4
4	5,1	4,0	positif	8
5	4,4	3,7	positif	3
6	5,3	4,1	positif	8
7	4,4	3,7	positif	6

(1) Titre alcoométrique 15 °C et extrait sec à 100 °C.

(1) Titre alcoométrique 20 °C et extrait sec densimétrique 20/20.

rapport alcool sur extrait et par la recherche de bétaïne. Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau ci-dessous.

On peut constater que dans tous les cas ces vins ne présentaient pas les caractères d'un vin chaptalisé par l'examen du rapport alcool sur extrait. Au contraire, le test de la bétaïne montre que dans 10 cas sur 12, ces vins avaient été chaptalisés par addition de sucre de betterave. Ces observations confirment s'il en était besoin que le rapport alcool sur extrait ne permet pas de retrouver à coup sûr une chaptalisation surtout dans le cas des vins blancs.

CRITIQUE DE LA METHODE

Cette méthode de recherche de la bétaïne peut être l'objet de critiques que nous allons exposer ci-dessous :

1°) la méhode est longue et nécessite la manipulation de volumes importants de liquide et d'eau distillée en particulier ; des études actuellement en cours permettront peut être de limiter le volume de la solution d'élution pour extraire la bétaïne ainsi que celui de l'eau distillée utilisée pour le rinçage après cette élution, ce qui diminuerait notamment le volume de liquide à concentrer. Par contre, il ne paraît pas possible de limiter le volume de lavage à l'eau distillée après passage du vin sur la première colonne, car il faut absolument éliminer toutes traces de sucre et de même il paraît impossible de se passer de la seconde colonne mixte qui enlève des substances gênant le développement du chromatogramme ;

2°) la méthode n'est bien sûr valable que pour les additions de sucre de betterave puisque les autres sucres, et en particulier le sucre de canne, ne contiennent pas de bétaïne ; il n'est toutefois pas exclu que des impuretés caractéristiques d'autres sucres ne soient pas susceptibles d'être mis en évidence ;

3°) il n'est pas possible de chiffrer l'enrichissement apporté à un vin à partir de la recherche de la bétaïne ; en effet, même si une détermination plus précise de cette substance est possible par photodensimétrie ou par élution de la tache présente sur la plaque suivie d'une mesure spectrophotométrique, on ne peut pas, avec précision, déduire d'une teneur connue en bétaïne la quantité de sucre utilisée, à cause de l'irrégularité de la richesse en bétaïne des sucres, teneurs variant de 50 à 250 mg par kilogramme. Toutefois, étant donné que la chaptalisation est limitée dans nos régions à 3,4 kg de sucre par hectolitre de moût, soit 2° d'enrichissement, il est bien évident qu'une teneur en bétaïne supérieure à 8,5 mg par litre rend le vin très supect d'une surchaptalisation. A ce sujet il serait peut être bon de fixer une valeur limite à la teneur

en bétaïne des sucres, afin de réduire sensiblement la « fourchette » existant entre le minimum et le maximum, par exemple de 100 à 150 mg par kilogramme.

CONCLUSIONS

Dans ce travail nous avons donné une technique de détection de la bétaïne dans les vins ; le mode opératoire est susceptible d'être par la suite légèrement modifié mais son principe restera vraisemblablement le même. Avec cette technique on peut déceler la présence de 3 mg de bétaïne par litre de vin ce qui paraît être une sensibilité suffisante. On est certain que cette substance n'est pas détruite par la fermentation et il y a de très fortes probabilités qu'elle n'existe pas naturellement dans les vins non chaptalisés à des doses détectables par cette méthode qui est certainement beaucoup plus exacte que l'examen du rapport alcool sur extrait pour rechercher la chaptalisation.

Si les vins chaptalisés avec du sucre de canne ne sont pas détectés par cette technique et si l'on ne peut pas fixer un degré d'enrichissement, il est certain que cette méthode peut rendre de grands services soit dans les régions où la chaptalisation est interdite, soit pour déceler une chaptalisation non déclarée.

Manuscrit reçu le 14 Mars 1975.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CENCI P. et CREMONINI B., 1969 et 1973. Lo Zuccheraggio del Vino, **B. Riv. Vit. En.** (Conegliano), XXII, **8,** 323, XXVI, **5,** 194.

DUBOIS P. et DUPUY P., 1974. Recherche Analytique de la Bétaïne dans un jus de raisin. **C.R. Acad. Agric., 60**, 1, 62.

GRAYSON R.R., 1970. Collaborative study of Bétaïne in orange juice. **Journal of the A.O. A.C.,** 53, **3,** 568.

MASSA V., PELLECUER J. et ANDARY C., 1970. Dosage photodensitométrique de la Bétaïne et de la Choline après chromatographie sur couche mince. **Travaux Soc. Pharm.,** Montpellier, 30, **2,** 113.