Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, **24,** 1990, N° 1, 37-41.
Connaissance de la Vigne et du Vin.

DOSAGE DE LA PROCYMIDONE DANS LES VINS

A. BERTRAND et K. BERTSCH

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

La procymidone, qui appartient à la famille chimique des dicarboximides est un fongicide largement utilisé en agriculture, et notamment en viticulture. Elle agit par contact préventivement.

Considérant que cette substance n'avait pas reçu le visa des autorités américaines, la F.D.A. a décidé, début mars 1990, de bloquer l'importation de vins ou spiritueux contenant des doses appréciables de cette substance.

Devant l'afflux massif d'échantillons pour lesquels un certificat d'analyse était requis, la Fédération des exportateurs de vins et spiritueux nous a demandé de mettre au point une méthode rapide d'analyse pouvant s'appliquer au traitement d'un grand nombre d'échantillons.

I — MÉTHODE DE DOSAGE

a) *Principe*

La procymidone est extraite quantitativement à partir du vin en milieu neutre par le mélange éther-hexane. La diphénylamine est utilisée comme étalon interne.

L'analyse est effectuée en chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'une colonne capillaire de carbowax 20 M et d'un détecteur à ionisation de flamme.

Les contrôles par couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse montrent la fiabilité de la méthode.

b) *Préparation de l'extrait*

Étalon interne : préparer une solution de diphénylamine à 500 mg/l dans de l'alcool à 80 % vol.

Dans une fiole de 100 ml prélever 50 ml de vin, ajouter 50 μl de la solution d'étalon interne. Ajouter 5 g de $Na_2 HPO_4$, 12 H_2O; ceci amène le milieu à pH 7,3-7,4, agiter 1 minute. Ajouter 10 ml du mélange éther hexane 1 : 1, V/V agiter 5 minutes avec un barreau magnétique. Le cône formé par la turbulence du liquide doit descendre jusqu'au barreau magnétique afin de réaliser parfaitement le mélange.

Décanter dans une ampoule de 100 ml. La phase organique supérieure est une émulsion qu'il est facile de casser en quelques instants à l'aide d'un barreau magnétique tournant lentement. De nouveau la phase organique et le vin sont décantés et le vin est rajouté au milieu précédent.

Cette extraction est réalisée à 3 reprises, les phases organiques sont mélangées et transvasées dans un flacon pour être évaporées à sec sous vide et à froid. (Il convient d'éviter tout passage de phase aqueuse ou résidu d'émulsion dans le flacon évaporateur).

Ajouter 1 ml d'éther pur dans un flacon évaporateur, agiter 1 minute.

Le milieu est prêt à injecter, il peut se conserver plusieurs jours au réfrigérateur.

c) *Chromatographie*

L'analyse est réalisée par chromatographie en phase gazeuse. Le Chromatographe est équipé d'un injecteur de type split splitless, d'un détecteur à ionisation de flamme et d'une colonne capillaire de carbowax 20 M (0,2 mm × 30 m). Le gaz vecteur est de l'hydrogène U (ou de l'hélium U).

Les principaux paramètres d'analyse sont les suivants :

- injection de 2μl de l'extrait,
- temps de fermeture des vannes (splitless) : 20 secondes,
- température initiale du four : 100° C,
- programmation à raison de 5° C par minute jusqu'à la température finale de 210° C.

L'analyse dure environ 1 heure.

Les pics d'étalon et procymidone sont repérés par l'injection de produits purs.

Le dosage est effectué par comparaison avec une référence effectuée à partir d'un vin rouge totalement exempt de procymidone et dans lequel il en a été rajouté 50 μg/l. Un système d'intégration des pics muni d'un dispositif grossissant (effet zoom) permet de déterminer des quantités de l'ordre de 3 μg/l.

Des échantillons dosés soit par cette méthode, soit par celle pratiquée par les Laboratoires de la Répression des Fraudes montrent une certaine cohérence dans les résultats.

Une quatrième extraction pratiquée sur le vin et traitée séparément montre que 99 % de l'étalon interne et 99,9 % de la procymidone sont extraits par les trois premières phases organiques de 10 ml.

L'évaporation sous vide à froid est réalisée en quelques minutes sans précaution préalable si on dispose d'une pompe à membrane en téflon.

d) *Étude de la répétabilité*

Six échantillons du même vin sont analysés sur trois systèmes différents : deux détecteurs à ionisation de flamme et un détecteur par spectrométrie de masse.

Les résultats (tableau I) peuvent être considérés comme bons, même très bons, compte-tenu des très faibles teneurs dosées.

La précision de la méthode, pour 20 µg/l dosé, est de l'ordre de ± 15 % quelle que soit la méthode de détection utilisée.

TABLEAU I

Etude de la répétabilité.

Teneurs en procymidone en µg/l

SYSTEME DE DETECTION			
Echantillons	Flamme 1	Flamme 2	Masse
1	17,3	18,3	18,3
2	18,4	17,2	19,2
3	16,9	18,1	18,5
4	18,6	18,0	20,2
5	18,9	16,9	18,0
6	17,8	16,1	19,9
Moyenne	18,0	17,4	19,0
Ecart type	0,78	0,85	0,90
Coefficient de variation	4,3 %	4,9 %	4,7 %

Moyenne générale : 18,1 Ecart type global : 1,04 Coefficient de variation : 5,76 %.

e) *Étude de la linéarité*

L'analyse de solutions présentant des concentrations croissantes de procymidone montre que les teneurs trouvées sont conformes à celles attendues (tableau II).

TABLEAU II

Etude de la linéarité.

Teneur trouvée en µg/l.

Teneur de la solution analysée	SYSTEME DE DETECTION		
	Flamme 1	Flamme 2	Masse
10	8,9	13	10,6
20	20,3	17	20,0
50	51,1	50	48,5
100	104,1	108	95,9
200	206	—	—
400	416	—	—
600	612	—	—

II — TENEURS EN PROCYMIDONE DE QUELQUES VINS

a) *Statistiques concernant la teneur en procymidone de 320 vins destinés à l'exportation de toutes origines*

Teneurs trouvées en μg/l :

nulle	5-20,	20-50,	50-100,	100-200	200-400,	> 400
39 %	25 %	13 %	9 %	7 %	5 %	2 %

b) *Statistique en fonction des années*

Teneurs en procymidone en (μg/l)

	1989	1988	1987	1986	1985
Blancs					
Nombre	25	10	4		
Moyenne	88	46	32		
Écart-Type	75	31	32		
Rouges					
Nombre	45	24	15	24	8
Moyenne	142	116	88	51	33
Écart-Type	166	116	132	77	35

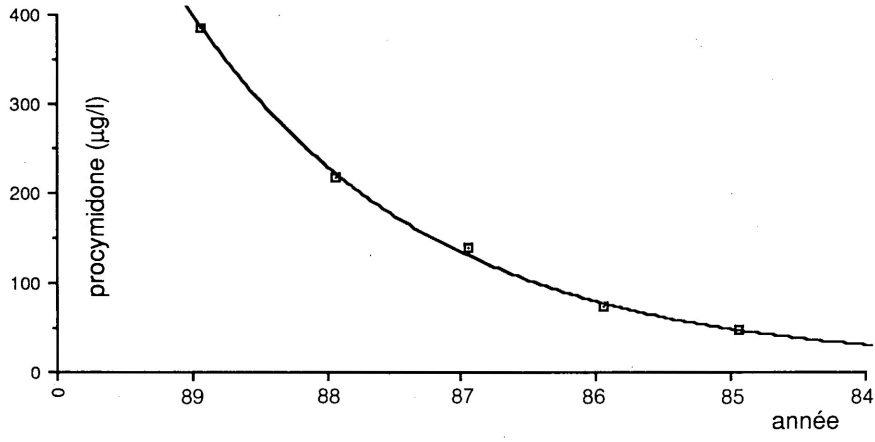
En fait la diminution du taux de procymidone dans les vins est probablement plus rapide que ne l'indiquent les statistiques puisque chaque année des valeurs nulles ou très faibles viennent modifier les résultats.

Une étude plus restreinte portant sur 7 vins provenant de Vignes traitées de manière similaire durant les 5 dernières années montre qu'en moyenne, 43 % de la procymidone résiduelle disparaît chaque année.

c) *Évolution de la procymidone au cours du vieillissement (étude sur 7 vins)*

Teneurs en procymidone (en μg/l)

	1989	1988	1987	1986	1985
Moyenne	377	209	131	65	39
Taux de diminution relatif		44 %	32 %	50 %	40 %



Evolution au cours de la conservation

$y = 671{,}2485 * 10^{(-0{,}2478x)}$ $R = 1{,}00$

Toutefois on observe des différences notables d'évolution entre les crus ; il est possible que des différences microclimatiques ou bien encore des traitements des vins aient pu jouer.

Note reçue le 23 avril 1990.