ISVV

L'EMPLOI DES FLOTTEURS DE PARAFFINE IMPREGNES D'ISOTHIOCYANATE D'ALLYLE EN ŒNOLOGIE

O. COLAGRANDE et V. MAZZOLENI

Institut des Industries Agricoles
Université Catholique du Sacré-Cœur
Piacenza (Italie)

INTRODUCTION

L'action exercée par l'isothiocyanate d'allyle ou essence de moutarde en tant qu'antiseptique vis-à-vis des levures et des bactéries est bien connue (DROBNICA et ZEMANOVA, 1958 ; DROBNICA et **al.**, 1962). Etant données ses propriétés, l'emploi de l'isothiocyanate d'allyle a été proposé pour stabiliser biologiquement les vins à des doses maximales de 1 à 1,5 mg par litre (DELAGE, 1923). Cependant, les essais réalisés n'ont pas donné de résultats satisfaisants ; au contraire, ils ont même abouti à déconseiller l'addition directe de cet antiseptique aux vins (ROOS et HUGUES, 1924 ; VINCENS, 1924 ; FERRE, 1925).

Plus récemment, plusieurs chercheurs russes ont obtenu des résultats satisfaisants en ajoutant au vin, avant la mise en bouteilles, des doses d'isothiocyanate d'allyle variant de 0,9 à 0,12 µl par litre (GERASIMOV et **al.**, 1969). En Italie, depuis environ vingt ans, on utilise l'isothiocyanate d'allyle comme agent actif des disques de paraffine employés comme flotteurs pour la conservation du vin. Cette substance, soluble dans la paraffine et très peu soluble dans l'eau, est très volatile ; son action se fait sentir dans l'atmosphère située au-dessus du vin et le protège de la fleur et des autres altérations aérobies.

L'utilisation des flotteurs imprégnés d'isothiocyanate d'allyle est réglementé, en Italie, par un décret ministériel en date du 12 mars 1968. Dans d'autres pays de la Communauté Européenne cet emploi n'est pas autorisé par suite de la crainte d'une diffusion possible dans le vin de faibles quantités d'isothiocyanate d'allyle. A ce sujet, les résultats expérimentaux demeurent insuffisants ; nous avons donc estimé opportun de réaliser

des essais en vue de rechercher la présence d'isothiocyanate d'allyle dans les vins conservés au moyen de ce procédé.

Cette recherche a été menée en utilisant les techniques de chromatographie en phase gazeuse.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. — **Matériels et méthodes.**

Chromatographe = Fractovap Carlo Erba modèle C équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

Colonne en acier inoxydable de 2 m le long, 2 mm de diamètre intérieur.

Phase stationnaire = Chromosorb G, 80-100 mesh, lavé aux acides, à 20 p. 100 d'Apiezon M.

Conditions expérimentales :

Gaz vecteur = Azote, débit 35 ml par min.
Température de l'injecteur = 200 °C
Température du four = 120 °C.
Sensibilité = 1 x 8.

La courbe étalon est réalisée avec une solution d'isothiocyanate d'allyle (BDH) de titre connu (solution à 0,1 p. 100 dans l'éthanol à 95 p. 100). Les volumes des échantillons injectés varient de 0,1 à 0,5 µl.

2. — **Résultats.**

Les résultats du tableau I montrent une bonne corrélation entre l'augmentation des volumes de solutions témoins injectées et l'importance des pics d'isothiocyanate d'allyle correspondants.

Dans les mêmes conditions, on étudie des solutions hydroalcooliques (tableau II) et des vins additionnés de diverses doses d'isothiocyanate d'allyle (tableau III). Parallèlement, on compare les dosages chromatographiques à ceux réalisés au moyen de la méthode argentimétrique (GAROGLIO, 1963).

TABLEAU I

Etablissement de la courbe étalon pour le dosage de l'isothiocyanate d'allyle par chromatographie en phase gazeuse.

Volume de solution témoin injecté (µl)	Largeur de base du pic correspondant (cm)	Hauteur du pic correspondant (cm)	Surface du pic correspondant (cm)
0,1	0,44	1,10	0,242
0,2	0,45	1,60	0,360
0,3	0,52	3,20	0,832
0,4	0,54	4,70	1,269
0,5	0,55	5,95	1,636

Les résultats obtenus permettent de faire les remarques suivantes :

1. — La difficulté principale, dans le dosage de l'isothiocyanate d'allyle consiste en sa haute volatilité ; ceci est susceptible d'expliquer les faibles taux de récupération obtenus au moyen des deux méthodes de dosage utilisées.

2. — Les chiffres du tableau II montrent que le taux de récupération, dans le cas de la méthode chromatographique, est supérieur — ou au moins égal — à celui obtenu avec la méthode argentimétrique (sauf pour la dernière teneur, très élevée, en isothiocyanate d'allyle) ; ceci prouve que la méthode chromatographique possède une plus forte sensibilité dans le cas des teneurs faibles ou moyennes ; ceci peut également provenir du fait que, avec cette méthode, on extrait un volume de vin plus important que celui utilisé dans la méthode argentimétrique.

3. — Dans le tableau III, on constate que le taux de récupération de l'isothiocyanate d'allyle est plus élevé dans le cas de la méthode argentimétrique ; ceci provient peut-être du fait que, au cours de ce dosage, certaines substances viennent interférer, ce qui n'est pas le cas avec la méthode chromatographique.

4. — Pour comparer les deux méthodes utilisées les coefficients de corrélation ont été calculés ; on a également établi les équations des droites de régression ; en ce qui concerne la comparaison des dosages en solution simple (tableau II) la valeur du coefficient de

corrélation est de 0,97, l'équation de la droite de régression $y = 1838205{,}3\ x + 77989{,}7$; dans la comparaison des dosages après addition au vin (tableau III) la valeur du coefficient de corrélation est 0,95, l'équation de la droite de régression $y = 1745564{,}9\ x + 168087$. Les corrélations obtenues sont donc très significatives.

TABLEAU II

Dosage de l'isothiocyanate d'allyle en solution simple : comparaison des méthodes de dosage.

Teneur de la solution hydroalcoolique témoin en isothiocyanate d'allyle (µg par l)	Teneurs obtenues par dosage par chromatographie (µg par l)	Taux de récupération (p. 100)	Teneurs obtenues par dosage argentimétrique (µg par l)	Taux de récupération (p. 100)
1000	656	65,6	594	59,4
2000	1080	54	1090	54,5
4000	1632	40,8	1496	37,4
6000	2132	35,5	2478	41,3

5. — L'étude des pourcentages d'erreur montrent une bonne reproductibilité des dosages : 2 p. 100 dans le cas de la méthode chromatographique, 3 p. 100 dans le cas de la méthode argentimétrique ; les chiffres rassemblés dans les tableaux II et III sont les moyennes des valeurs obtenues après trois répétitions.

Enfin, on recherche la présence éventuelle d'isothiocyanate d'allyle dans quelques vins de la région de Piacenza, conservés sous disques flottants à l'isothiocyanate d'allyle. Pour cela, on extrait cette substance au moyen de la technique de BERTRAND (1967). 500 ml de vin contenant une certaine quantité d'isothiocyanate d'allyle sont placés à 33 °C ; on y fait barboter un courant d'azote ; les substances volatiles présentes dans le courant gazeux traversent deux pièges réfrigérés, le premier à 0 °C, le second à — 80 °C dans lequel on recueille la plus grande partie de l'isothiocyanate d'allyle du vin ; un troisième piège à — 180 °C ne permet de recueillir que des traces supplémentaires de produit. L'extraction dure 15 minutes, ce qui est suffisant, la substance recherchée risquant, au-delà, d'être diluée par l'eau et par l'alcool.

L'extrait ainsi obtenu, amené à 1 ml par addition d'alcool absolu, est soumis à la chromatographie. Parallèlement, on réalise une extraction témoin sur 500 ml de solution synthétique contenant une quantité connue d'isothiocyanate d'allyle.

L'analyse de vins blancs conservés en cuves de 30 hectolitres au moyen de cette technique selon les normes italiennes, (les prélèvements ayant été réalisés à la fois en surface et à 15 cm de profondeur) n'ont pas permis de mettre en évidence la présence d'isothiocyanate d'allyle ; il en a été de même pour les vins rouges.

TABLEAU III

Dosage de l'isothiocyanate d'allyle ajouté à un vin : comparaison des méthodes de dosage.

Addition, au vin, de teneurs croissantes en isothiocyanate d'allyle (µg par l)	Teneurs obtenues par dosage par chromatographie µg par l)	Taux de récupération (p. 100)	Teneurs obtenues par dosage argentimétrique (µg par l)	Taux de récupération (p. 100)
+ 1000	550	694	55,5	69,4
+ 2000	1080	1090	54	54,5
+ 4000	1610	2080	40,2	52
+ 6000	2466	2380	41,1	39,7

CONCLUSIONS

Dans les conditions décrites précédemment il est parfaitement possible de doser, simplement, rapidement et de façon reproductible jusqu'à 0,1 µl d'isothiocyanate d'allyle. La méthode a été appliquée à des vins conservés en présence de disques de paraffine imprégnée de ce produit.

On peut affirmer que, avec les méthodes de dosage utilisées, les vins ne contiennent pas d'isothiocyanate d'allyle ; enfin, à la dégustation, effectuée par une commission d'experts, on n'a pas pu constater de modification d'arôme ni de goût.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERTRAND A., BOIDRON J.N. et RIBÉREAU-GAYON P., 1967. Méthode d'extraction des constituants volatils des fruits et de leurs dérivés en vue d'une étude par chromatographie en phase gazeuse. **Bull. Soc. Chim., 9,** 3149-3151.

DELAGE J.C., 1923. Farine et essence de moutarde en œnologie, **Ann. Falsif. Fraudes,** 413.

DROBNICA L. et ZEMANOVA M., 1958. Effect of isothiocyanates on bacteria dehydrogenases. **Biologia, 13,** 740-760.

DROBNICA L., NEMEC P., ANTOS K., KRISTIAN P. et HULKA A., 1962. Reactions of isothiocyanates at molecular and cellular level, Nat. **Occuring goitrogens thyroïd fonction Symposium,** Smolenize, Czechoslovensko, 61-69.

FERRE L., 1925. Action de l'essence de moutarde dans la conservation des moûts et des vins. **Ann. Falsif. Fraudes, 34.**

GAROGLIO P.G., 1963. La nuova enologia. Istituto di Industrie Agrarie ed., Florence.

GERASIMOV M.A., TANASIENKO F.S., PERSIDSKAYA K.G., MITINA A.V., NAVROTSKAYA M.A., LEGCHAEVA A.F., 1969 ; from Otkrytya, Izobert, **Prom. Obratsy Tovarnye Naki.**

ROOS L. et HUGUES E., 1924. L'essence de moutarde en œnologie. **Ann. Falsif. Fraudes,** 413.

VINCENS, 1924. Essais de l'emploi de l'essence de moutarde en œnologie. **Ann. Falsif. Fraudes, 34,** 541.