RECHERCHE DES CYANURES DANS LES VINS ÉVOLUTION DE $K^{14}CN$ AJOUTÉ

O. COLAGRANDE et A.A. DEL RE

Institut des Industries Agricoles et de Chimie Agricole
Université Catholique du Sacré-Cœur, Piacenza (Italie)

Nous avons suivi l'évolution de $K^{14}CN$ ajouté dans trois vins dont un synthétique.

Il en résulte que l'activité spécifique de la fraction ferrocyanhydrique croît dans le temps. Ceci confirme que la formation du ferroycanure à partir du cyanure libre durant le vieillissement du vin est un phénomène réel et que ces deux types de cyanure sont en équilibre

On a vu que la présence du ferrocyanure ionique en solution est thermodynamiquement impossible. Donc le ferrocyanure présent dans le vin ne doit pas être sous forme « ion » mais, par exemple, de sel métallique, ou de complexe dissous non ionisé, ou en suspension colloïdale.

INTRODUCTION

Dans un précédent travail (1) nous avons montré que les vins non déferrés par traitement au ferrocyanure de potassium contiennent une petite quantité de cyanure sous trois formes : libre, organique et ferrocyanhydrique.

Nous avons également montré que la teneur totale en cyanure la plus élevée se rencontre dans les vins élaborés à partir de raisins traités par des produits antiparasitaires colorés au bleu de Prusse. Il est donc vraisemblable que l'ion cyanhydrique se trouvant dans les vins provient non seulement de substances cyanogénétiques naturelles (2,3) ou de l'activité de métabolisme des levures alcooliques (4), mais aussi des traitements antiparasitaires.

Cette présence de ferrocyanure peut être expliquée par la combinaison des ions cyanhydriques avec le fer ionique. Pour appuyer cette hypothèse nous avons suivi l'évolution de $K^{14}CN$ ajouté à cet effet dans trois vins dont un synthétique.

Après mesure de la radioactivité des différentes fractions dans lesquelles on peut séparer le cyanure, il est possible, à notre avis, de remonter aux modalités de transformation du cyanure marqué pendant le vieillissement des vins.

En outre, on peut étudier le (ou les) mécanisme (s) de formation du ferrocyanure en partant des composés inorganiques (ions ferreux et cyanhydriques) des vins.

MATERIELS ET METHODES

Pour nos expériences, nous avons préparé une solution-mère à 0,1 mg par ml de $K^{14}CN$ dont l'activité spécifique est de 0,94 mc par millimole.

Pour chacun des trois vins (dont la composition est reportée dans le tableau I) on ajoute, par litre, des volumes de solution-mère correspondant à 0,05 ; 0,1 et 0,2 mg de $K^{14}CN$.

Chaque vin ainsi traité est immédiatement réparti en 5 flacons identiques de 100 ml remplis jusqu'au trait de jauge et fermés aussitôt avec des bouchons rodés.

TABLEAU I

Données analytiques des vins utilisés

		Vin blanc	Vin rouge	Solution synthétique
Degré alcoolique		10,50	12,00	12,00
Acidité totale	g par litre	5,70	7,20	5,20
Acidité volatile	g par litre	0,63	0,71	0,58
Acidité fixe	g par litre	4,92	6,32	4,48
pH		3,20	3,10	3,20
SO_2 total	mg par litre	55,00	80,00	50,00
Glycérol	g par litre	8,00	7,30	7,00
Aldéhyde acétique	mg par litre	21,00	11,80	10,00
Azote total	mg par litre	180,00	78,00	75,00
Polyphénols totaux	g par litre	0,60	1,51	0,50
Fer	mg par litre	11,00	12,50	12,00
Cuivre	mg par litre	1,02	1,00	0,50
HCN total	µg par litre	13,80	7,10	—
HCN libre	µg par litre	6,50	20,80	—
HCN organique	µg par litre	4,00	5,20	—
HCN ferrocyanhydrique	µg par litre	3,30	8,50	—

Dans le premier flacon de chaque série, nous avons immédiatement distillé les trois formes d'acide cyanhydrique selon la méthode de ALBONICO (5).

On recueille les distillats dans 2 ml de NaOH 0,1 N. Une fraction de 0,5 ml est soumise au comptage de radioactivité.

Pour déterminer la radioactivité on utilise la technique de scintillation en phase liquide, de la façon suivante : 0,5 ml de distillat sont mis dans des containers de scintillation et additionnés de 20 ml d'un mélange 1 : 1 (v/v) d'éthanol absolu et de toluène contenant 5 g par litre de P.P.O. et 0,05 g par litre de P.O.P.O.P.

L'efficacité moyenne du comptage est de 45 p. 100; la récupération de la radioactivité, au moyen du procédé utilisé, est comprise entre 50 et 60 p. 100.

D'autres fractions des mêmes distillats sont utilisées pour la détermination colorimétrique des cyanures (6).

Les trois formes d'acide cyanhydrique des autres échantillons sont distillées et analysées comme pour les premiers suivant le schéma suivant :

— après 1 jour on analyse les seconds échantillons de chaque série;

— après 3 jours on analyse les troisièmes échantillons de chaque série;

— après 9 jours on analyse les quatrièmes échantillons de chaque série;

— après 27 jours on analyse les derniers échantillons de chaque série.

Jusqu'à l'analyse, les flacons sont conservés à 0 ° C.

L'analyse statistique des résultats est réalisée au moyen d'un ordinateur I.B.M. 1620 avec un programme établi à cet effet.

Le plan expérimental est factoriel. Les facteurs considérés sont les suivants :

—H : type de vin (trois types : vin blanc, vin rouge et solution hydroalcoolique).

—K : quantité de $K^{14}CN$ ajoutée (trois doses : 0,05; 0,1; 0,2 mg par ml)

—J : temps écoulé entre le traitement et l'analyse (cinq valeurs : 0; 1; 3; 9; 27 jours); le temps 0 correspond à environ 60 minutes;

—I : type de cyanure déterminé (trois sortes : libre, organique, ferrocyanhydrique).

On analyse la variance avec quatre paramètres, sans répétition, en prenant l'homogénéité de la variance et l'indépendance entre les facteurs; la variance totale de chaque facteur et chaque interaction a été décomposée en termes relatifs aux coefficients de régression de tous ordres possibles.

Ceci a été obtenu par la méthode des coefficients orthogonaux.

Supposons S_i les valeurs à comparer et $c_j = \sum_i \lambda_{ij} S_i$ une relation entre eux.

Si $\sum_i \lambda_{ij} = 0$, c_j est une comparaison entre les S_i ; $T_j = \dfrac{c^2_j}{n \sum_i \lambda^2_{ij}}$ (où n est le nombre des données dont on a fait la moyenne pour calculer chaque S_i) est alors la fraction de somme de carré associée à la comparaison c_j ; mais T_j a un seul degré de liberté et est de ce fait la variance (carré moyen) associée à la comparaison c_j

On peu faire $J = I - 1$ comparaison indépendante entre les valeurs S_i , soumises aux conditions d'orthogonalité : $\sum_i \lambda_{ij} \lambda_{ij'} = 0$

où : $O < J \leqslant J'$, $O < J' \leqslant J$ et $J \neq J'$

Dans ce cas, $\sum_i T_j = D$, où D est la somme des carrés totale associé aux valeurs S_i , avec J degré de liberté. Avec ce procédé de calcul on obtient les sommes des carrés associées aux traitements et à leurs interactions en un plan factoriel en additionnant les sommes des carrés associés à chaque comparaison où peuvent se décomposer traitements et interactions. Ceci permet d'éviter les erreurs d'approximation du calcul par différence.

Nous avons utilisé des coefficients orthogonaux calculés pour des valeurs équidistantes des variables (7), pour les variables suivantes :

H (type de vin), I (type de cyanure déterminé), J (logarithme du temps). H et I sont des variables factices (dummy variables).

Pour le facteur K (dose de cyanure ajoutée) nous avons utilisé des coefficients orthogonaux calculés pour des valeurs non équidistantes de la variable (8). Les comparaisons du premier degré sont donc équivalentes à des comparaisons entre le premier et le troisième terme (respectivement vin blanc et solution synthétique, cyanure libre et ferrocyanhydrique).

Les comparaisons du second degré sont équivalentes à des comparaisons entre le second terme (vin rouge et cyanure organique) et la moyenne du premier et du troisième terme.

Pour le facteur temps (J) les régressions sont exprimées par les logarithmes de base 3 (Log_3) du nombre de jours.

Pour le facteur teneur de cyanure ajouté (I), les coefficients du premier et du second degré correspondent aux coefficients de régression.

Le nombre des variances et des indices F calculés par le programme sont de l'ordre de 10^2. Par conséquent, nous avons arbitrairement considéré comme significatifs seuls les cas où $P < 0{,}005$.

Les cas où $F \geqslant 10 \times F_{0{,}005}$ sont indiqués par $P \ll 0{,}005$.

Ne pouvant évaluer l'écart-type, nous avons pris comme valeur de σ^2 celle de la variance résiduelle qui comprend l'interaction de troisième ordre entre les quatre facteurs.

En d'autres termes on a :

$\sigma^2 \simeq \sigma^2_{HKIJ} + \sigma^2$ en considérant $\sigma^2_{HKIJ} \simeq 0$

Nous avons fait à nouveau l'analyse après transformation logarithmique des résultats parce que nous craignions que la distribution de la variance ne soit pas normale, surtout en ce qui concerne les résultats des mesures de radioactivité.

Cependant le coefficient de variation (calculé au moyen de la variance résiduelle) n'est pas mineur de façon significative pour l'élaboration des logarithmes des résultats.

Les facteurs : quantité de $K^{14}CN$ (K), temps (J) et type de cyanure déterminé (I) ont été considérés comme des facteurs fixes, pour lesquels on utilise la détection et l'estimation des différences entre moyennes.

Au contraire il a été retenu que pour le facteur type de vin (H) les paramètres d'intérêt sont les composants de la variance dus à des sources de variation différentes agissant sur une même population.

Les conclusions qui en découlent pour les autres facteurs peuvent être étendues à la population plus générale en l'occurence pour les vins.

Donc, pour le facteur H (type de vin) une élaboration de type II (9) semble plus appropriée. Selon ce type mixte, pour l'estimation des F. les variances de K, I, J sont comparées avec celles des interactions HK, HI, HJ ; celles des interactions K/I, K/J et I/J avec les interactions de second ordre H/K/I, H/K/J et H/I/J ; l'interaction K/I/J avec l'interaction de troisième ordre H/K/I/J.

Donc, pour le facteur H et les interactions H/K, H/I, H/J, H/K/I, H/K/J, et H/I/J, l'hypothèse σ^2 peu différent de zéro comporte une sous-estimation du nombre des F significatifs alors que dans tous les autres cas on obtient une estimation exacte. Il est évident qu'aucune estimation de l'interaction de troisième ordre n'est possible.

RESULTATS

L'analyse des mesures de la radioactivité montre que, seule l'interaction de second ordre KIJ (fig. 1) est significative. Tous les autres effets pour lesquels P est inférieur à 0,005 sont compris dans cette interaction ; nous ne les discuterons donc pas.

La radioactivité globale des trois types de cyanure varie dans le temps de façon différente suivant les trois quantités de cyanure ajouté. En considérant globalement la différence entre les doses et les types de cyanure, la variation dans le temps est de second degré par rapport au logarithme de base 3 du temps ; les coefficients du premier et du second degré sont significatifs.

Pour les deux coefficients, la différence entre le cyanure organique et la moyenne des cyanures libre et ferrocyanhydrique n'est pas significative ; au contraire, la différence entre cyanures libre et ferrocyanhydrique est significative. En outre, ces dernièrs effets dépendent linéairement de la dose de cyanure ajouté.

Les différences globales entre les temps et les types de cyanure varient également linéairement suivant la dose ; la variation dans le temps est carrée.

Les différences globales entre temps et doses varient linéairement avec les types de cyanure, c'est-à-dire qu'elles sont dues à la différence entre ferrocyanure et cyanure libre ; cet effet est lui aussi linéaire en ce qui concerne les doses.

Tous les effets discutés ont $P < 0{,}005$. Les résultats de l'analyse colorimétrique montrent que les interactions de second ordre HKI, KIJ, IJH, ainsi que la régression de l'interaction JHK sont significatives, (les effets de l'interaction de premier ordre et des divers facteurs sont compris dans les interactions de second ordre et, de ce fait, nous ne les discuterons pas).

Pour l'interaction HKI ($P < 0{,}005$) la récupération des différents types de cyanure semble dépendre aussi bien des doses de $K^{14}CN$ ajouté que du type de vin. Tous les coefficients de régression ont $P < 0{,}005$ ou $P \leqslant 0{,}005$ à l'exception des coefficients du second degré de la teneur de $K^{14}CN$ ajouté.

Pour l'interaction KIJ ($P < 0{,}005$), l'allure dans le temps de la récupération des différents types de cyanure varie suivant les trois teneurs de $K^{14}CN$ additionné.

En considérant globalement la différence entre les types de cyanure et les teneurs de $K^{14}CN$ ajouté, la régression vers le Log_3 temps est du second degré : les coefficients de premier et second degré sont significatifs ($P < 0{,}005$).

Pour les deux coefficients, la différence entre le cyanure libre et ferrocyanhydrique correspond à 95 à 98 p. 100 de la somme totale des carrés (SQ) ; en plus ces différences sont en corrélation linéaire ($P<0{,}005$) avec le taux de $K^{14}CN$ ajouté.

En considérant globalement les différences entre les types de cyanure le phénomène est une fonction linéaire ($P < 0{,}005$) du niveau de $K^{14}CN$ ajouté ; en plus il est de second degré par rapport au temps.

Si nous examinons en bloc l'allure dans le temps, la récupération entre le cyanure libre et ferrocyanhydrique dépend linéairement du niveau de $K^{14}CN$ ajouté.

Pour l'interaction IJH, on observe que la récupération des trois types de cyanure varie dans le temps de façon différente pour les trois types

de vin ($P < 0,005$). De ce fait, la différence de récupération de trois types de cyanure entre un vin blanc et une solution synthétique correspond à 60 p. 100 de la SQ attribuée à l'interaction ($P < 0,005$, alors que la comparaison entre le vin rouge et la moyenne du vin blanc et de la solution synthétique n'est pas significative ($P < 0,025$).

L'allure dans le temps est parabolique ($P < 0,005$ seulement pour le coefficient du terme de second degré) ; la différence entre la fraction ferrocyanhydrique et la fraction libre ($P < 0,005$) rend compte de 69 p. 100 de la SQ attribuée au coefficient ($P < 0,025$) pour la différence entre le cyanure organique et la moyenne du cyanure libre et ferrocyanhydrique.

En effet, le coefficient de second degré de la régression vers le Log_3 (temps) est le seul significatif ($P < 0,005$) même en considérant globalement le type de vin et le type de cyanure.

A ce phénomène contribuent aussi bien la différence entre le cyanure libre et ferrocyanhydrique ($P < 0,005$) que la différence entre le cyanure organique et la moyenne du cyanure libre et ferrocyanhydrique ($P < 0,005$).

En outre, si l'on considère globalement dans le temps les allures et les différences entre les types de vin, la différence entre cyanure libre et ferrocyanhydrique est significative ($P < 0,005$). Pour la comparaison du second degré on a $P < 0,005$. Cette différence est particulièrement significative ($P < 0,005$) seulement entre le vin blanc et la solution synthétique.

L'interaction JHK n'est pas significative, elle n'est donc pas représentée. Cependant, on peut déterminer un coefficient de régression significatif ($P < 0,005$) linéaire en ce qui concerne le temps et la teneur de cyanure ajouté dans le cas de l'ensemble des trois vins.

DISCUSSION

Les résultats exposés sont en accord avec l'hypothèse que dans les vins il puisse exister du cyanure ferrocyanhydrique en équilibre avec le cyanure libre.

Il est à écarter cependant que le ferrocyanure s'y trouve sous forme ionique. En effet, d'après la somme des réactions (1) et (2)

(1) $HCN \overset{K_1}{\Longleftrightarrow} H^+ + CN^-$ $\qquad K_1 = \dfrac{[H^+]\ [CN^-]}{[HCN]}$

(2) $6\ CN^- + Fe^{++} \underset{K_2}{\Longleftrightarrow} Fe(CN)_6^{==}$ $\qquad K_2 = \dfrac{[CN^-]^6\ [Fe^{++}]}{[Fe(CN)_6^{==}]}$

il apparaît que la formation de l'ion ferrocyanhydrique peut être représentée par l'équation :

(3) $6\ HCN + Fe^{++} \overset{K}{\Longleftrightarrow} 6\ H^+ + Fe(CN)_6^{==}$

Les constantes des équilibres 1, 2, 3 sont connues : (10, 11)

$K_1 = 13 \cdot 10^{-10}$
$K_2 = 5 \cdot 10^{-35}$

$$K = \frac{[Fe(CN)_6^{==}]\ [H^+]^6}{[HCN]^6\ [Fe^{++}]} = \frac{[Fe(CN)_6^{==}]\ [H^+]^6\ [CN^-]^6}{[Fe^{++}]\ [CN^-]^6\ [HCN]^6} = \frac{K_1^6}{K_2} = 1.10^{-19}$$

(4) $$[Fe(CN)_6^{==}] = \frac{[HCN]^6\ [Fe^{++}]}{[H^+]^6} K$$

En remplaçant l'activité, dans l'expression 4 dérivant de l'équilibre 3 par les valeurs expérimentales des concentrations :

$[HCN] \sim 10^{-6}M$
$[Fe^{++}] \sim 4.10^{-4}N$
$[H^+] = 10^{-3}M$ (à pH = 3)

On constate que la valeur de la concentration maximum du ferrocyanure ionique qui peut coexister en équilibre est la suivante :

$[Fe(CN)_6^{==}] \simeq 4.10^{-11}$

Cette valeur est très inférieure aux valeurs expérimentales qui sont environ de l'ordre de 3 x 10^{-7} N en ferrocyanure dosé. On peut donc en conclure que le ferrocyanure dosé n'est pratiquement pas présent à l'état ionique. En outre, si le ferrocyanure était sous forme ionique, le produit ionique $[Fe^{++}]^4\ [Fe\ (CN)_6^{==}]^3$, calculé égal à 3.5 x 10^{-37} en considérant $[Fe^{++}] \sim 6 \times 10^{-5}$N et la valeur expérimentale $[Fe^{++}] = 3{,}10^{-7}$ N, ne devrait pas être supérieur au produit de solubilité qui est

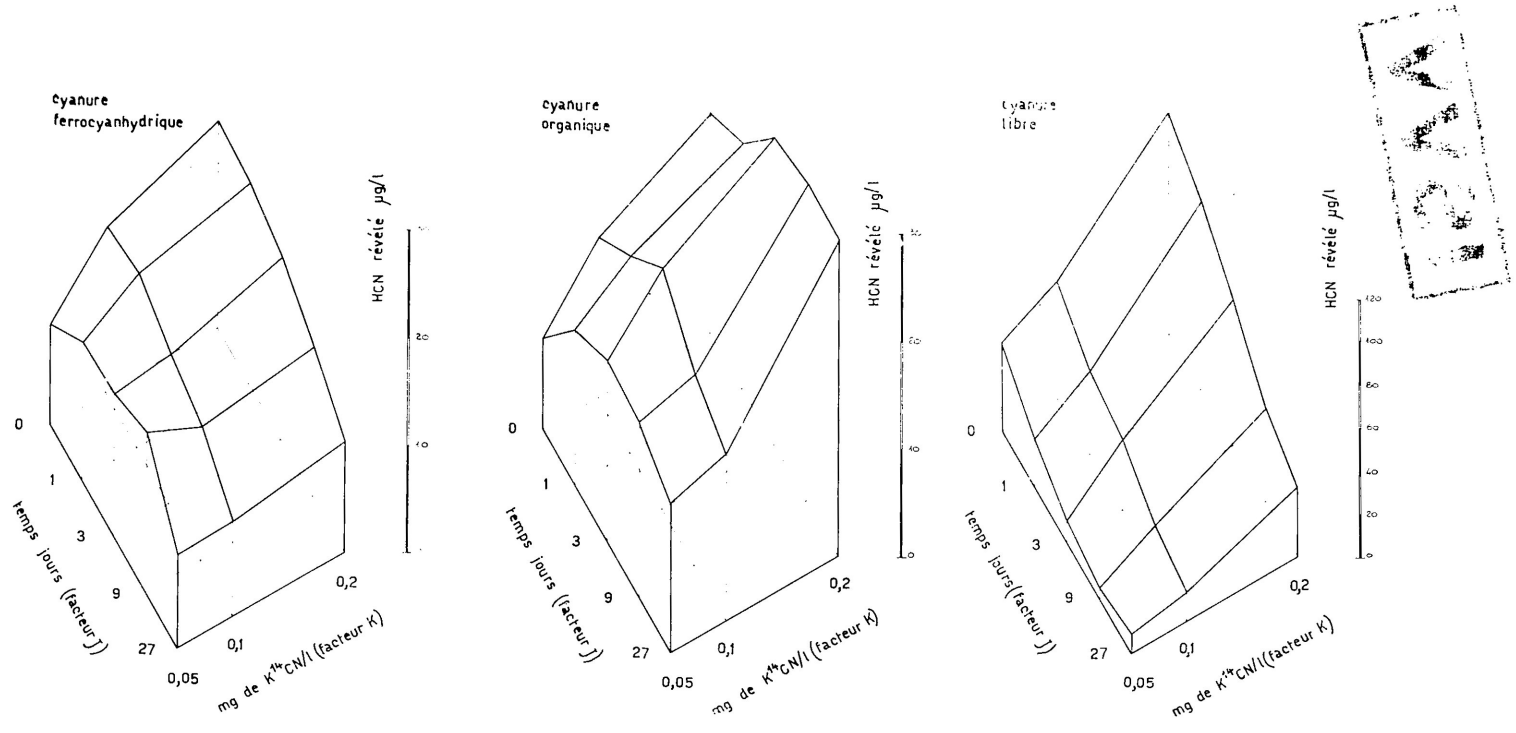


Fig. 1 — Interaction niveau de cyanure ajouté — type de cyanure révélé — temps (K/I/J). Données colorimétriques exprimées en µ. g par litre de vin (moyenne entre les trois types de vin).

ISVV

TABLEAU II

Mesures radiométriques

	$K^{14}CN$ ajouté mg par litre	cpm par 20 ml					Type de cyanure déterminé
Vin blanc	0,05	1442.180	1493.660	429.140	365.320	80.000	L
		74.840	195.660	207.140	121.420	333.000	O
		17.980	66.660	95.140	89.070	177.250	F
	0,1	4257.360	3082.500	1528.020	436.460	145.750	L
		157.020	350.600	471.180	589.460	591.750	O
		40.020	29.660	134.850	64.960	160.750	F
	0,2	8081.100	5570.060	5131.180	1439.210	512.130	L
		106.600	818.810	107.680	1059.460	1636.210	O
		21.100	164.060	12.680	256.780	178.380	F
Vin rouge	0,05	1152.330	1316.330	899.960	560.400	314.000	L
		164.580	170.330	278.710	476.900	818.000	O
		— 4.170	26.000	33.710	89.650	64.500	F
	0,1	2768.580	2608.960	2417.380	1318.360	665.000	L
		78.330	328.460	348.380	944.860	1332.000	O
		— 0.170	27.460	46.540	176.360	107.250	F
	0,2	5101.300	5255.850	5719.500	2499.140	1294.625	L
		1370.800	1534.850	290.685	2129.640	1284.625	O
		321.170	156.100	205.160	182.970	394.125	F
Solution synthétique	0,05	1843.330	1629.500	1447.000	1476.900	1313.170	L
		42.250	79.750	112.500	110.000	183.670	O
		— 3.500	— 8.500	65.500	71.400	70.000	F
	0,1	2817.400	3909.500	3672.900	1796.830	1674.000	L
		105.400	155.000	172.400	166.830	275.500	O
		65.400	51.330	81.400	223.830	94.000	F
	0,2	8661.500	6901.390	6912.670	2114.640	438.000	L
		125.300	875.390	2357.670	4880.140	1200.000	O
		116.375	164.550	451.670	707.970	801.000	F
	JOURS	0	1	3	9	21	

L = CN^- libre; O = CN^- organique;
F = CN^- ferrocyanhydrique.

$8{,}5 \times 10^{-41}$ (12). On doit donc supposer que le ferrocyanure se trouve dans le vin sous forme non ionisée, par exemple comme sel non soluble en suspension colloïdale ou sous forme d'un autre complexe non ionisé.

La capacité de peptisation des substances organiques, surtout des substances azotées, ainsi que des tanins présents dans le vin, même artificiel, justifient la présence de tels composés en suspension colloïdale.

D'après le tableau II et la figure1, il apparaît que la radioactivité de la fraction ferrocyanhydrique augmente dans le temps même si la concentration déterminée selon EPSTEIN (tableau III) diminue ; évidemment l'activité spécifique augmente à cause de la reversibilité de la formation du ferrocyanure :

$$(5) \quad Me^{++}Fe(CN)_6^{==} \Longleftrightarrow Fe^{++} + 6\ (CN^-) + 2Me^{++}$$

La fraction d'acide cyanhydrique libre que l'on peut distiller représente initialement la plus grande partie de la radioactivité ; sa rapide diminution dans le temps peut être due à la disparition par évaporation, par réaction chimique ou par précipitation. D'après nos expériences, en laissant en attente des solutions de concentration connue en acide cyanhydrique (pH 3) nous avons pu conclure que l'évaporation de l'acide cyanhydrique n'entrait pas en jeu.

Certains auteurs (13) ont émis l'hypothèse que l'acide cyanhydrique se transforme pendant le vieillissement du vin en acide thiocyanique. Nous faisons remarquer que ces auteurs déterminent l'acide thiocyanique par oxydation au moyen du chromate et acide sulfurique. Cependant, la température de réaction n'est pas précisée ni la concentration en acide utilisé. Il n'est donc pas possible de savoir si, dans ces conditions expérimentales, il y a uniquement oxydation du thiocyanate en cyanure ou s'il y a aussi hydrolyse du ferrocyanure en cyanure.

Une fraction considérable de la radioactivité se trouve sous forme de cyanure organique ; l'irrégularité de l'allure dans le temps de cette forme de cyanure fait supposer que la formation des complexes organiques peut être suivie d'une polymérisation et d'une précipitation.

En solution synthétique — interaction K/I/K —, la formation de cyanure organique s'arrête au-dessus de la teneur 0,1 ; au contraire, pour les vins blancs et rouges, l'augmentation entre les teneurs 0,1 et 0,2 est plus que proportionnelle à l'augmentation entre les tneurs inférieures. Il est probable que, dans la solution synthétique, le processus soit limité par la disponibilité et par la nature des composants organiques.

TABLEAU III

Mesures colorimétriques (Epstein)

	$K^{14}CN$ ajouté mg par litre	HCN µg par litre					Type de cyanure
Vin blanc	0,05	52.0	24.0	8.3	2,4	6,2	L
		5.8	14.5	21.0	19.8	20.3	O
		12.2	19.8	18.7	18.1	9.4	F
	0,1	54.0	27.4	24.3	13.2	6.2	L
		13.5	18.2	21.3	13.5	13.9	O
		17.6	16.8	13.4	12.8	11.0	F
	0,2	82.7	55.3	37.6	22.6	16.1	L
		15.1	16.1	23.2	31.2	35.4	O
		27.2	25.8	21.3	17.5	14.1	F
Vin rouge	0,05	44.5	21.0	3.9	1.8	11.4	L
		12.0	18.3	19.3	19.3	12.8	O
		11.5	11.8	13.2	12.7	7.5	F
	0,1	58.1	39.5	34.0	20.3	15.8	L
		17.3	21.3	24.7	19.9	15.2	O
		18.3	19.2	18.7	15.5	8.0	F
	0,2	95.1	76.8	39.2	32.9	28.1	L
		25.8	31.9	43.3	38.7	35.1	O
		19.2	19.0	18.7	15.8	10.7	F
Solution synthétique	0,05	28.6	18.7	17.1	9.9	9.8	L
		7.3	10.0	10.0	9.4	8.9	O
		4.1	6.2	7.3	13.5	9.4	F
	0,1	51.4	47.4	39.5	22.4	18.5	L
		13.5	15.1	20.8	19.9	17.2	O
		10.0	12.5	9.4	9.0	7.4	F
	0,2	130.1	127.9	125.8	72.6	53.2	L
		19.8	20.1	18.7	18.2	18.0	O
		11.3	11.1	10.9	8.3	6.1	F
	JOURS	0	1	3	9	21	

L = CN⁻ libre; O = CN⁻ organique;
F = CN⁻ ferrocyanhydrique.

Le même phénomène s'observe pour la fraction ferrocyanhydrique : dans ce cas, le vin blanc subit les augmentations les plus fortes entre les niveaux 0,1 et 0,2, probablement à cause de la présence d'une quantité importante de métaux faiblement liés.

La concentration du ferrocyanure diminue généralement dans le temps (interaction I/J/H) ; ceci peut être dû au fait que le ferrocyanure est aussi bien en équilibre avec le fer et les autres ions métalliques (qui diminuent dans le temps, (14) qu'avec le cyanure libre (qui diminue régulièrement dans le temps).

L'augmentation de ferrocyanure limitée aux premières vingt-quatre heures pour la teneur 0,1 et étendue jusqu'au neuvième jour pour la teneur 0,05, est probablement contrôlée par la vitesse de réaction qui est sans doute très lente dans un système d'extrême dilution.

Le cyanure organique augmente pour toutes les teneurs de cyanure ajouté et diminue aux teneurs inférieures.

Les transformations du cyanure organique semblent, en grande partie, difficilement réversibles : ceci est démontré par le fait que l'activité spécifique de la fraction organique augmente dans le temps beaucoup moins que celle de la fraction ferrocyanhydrique, pour laquelle on suppose l'équilibre réalisé.

La fraction ferrocyanhydrique (interaction K/I/J) est la plus importante dans les vins blancs et rouges et la plus faible dans la solution hydroalcoolique puisque dans les vins blancs et rouges, avant d'ajouter $K^{14}CN$, il y avait respectivement 3,3 et 8,5 µg par litre de HCN de ferrocyanhydrique.

Le ferrocyanure diminue parallèlement dans les vins blancs et rouges, alors qu'il demeure pratiquement constant dans la solution hydroalcoolique. Ceci est certainement dû à la précipitation du ferrocyanure avec les substances organiques (15). Le phénomène se vérifie, en effet, de façon moins marquée dans la solution hydroalcoolique.

L'allure du cyanure organique est étroitement parallèle à celle du ferrocyanure dans la solution synthétique : ceci suggère que le mécanisme de disparition des deux fractions de cyanure est identique et comprend la formation de cyanhydrine et de complexes non solubles qui précipitent.

CONCLUSIONS

L'activité spécifique de la fraction ferrocyanhydrique croît dans le temps. Ceci confirme que la formation du ferrocyanure à partir du cyanure libre durant le vieillissement du vin est un phénomène réel et que ces deux types de cyanure sont en équilibre.

D'autre part, on a vu que la présence de ferrocyanure ionique en solution est thermodynamiquement impossible.

Donc, le ferrocyanure présent dans le vin ne doit pas être sous forme « ion » mais soit sous forme de sel métallique ou de complexes dissous non ionisés, ou de suspension colloïdale. Au contraire, il semble probable que la formation de composés organiques (cyanhydrines) est irréversible et suivie d'autres réactions qui mènent à la disparition de cyanure organique (cyanhydrique) très probablement avec la formation de produits d'hydrolyse (amides, acides), et (ou) de condensation et polymérisation.

La solution synthétique donne des résultats que l'on peut mieux interpréter du fait de sa composition simple ; le cyanure organique mis en évidence et le ferrocyanure disparaissent parallèlement durant les processus supposés précédemment ; ceci fait supposer un mécanisme unique, c'est-à-dire la coprécipitation des polymères organiques avec les ferrocyanures colloïdaux.

On peut donc affirmer que le ferrocyanure est un composé naturel du vin.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. — COLAGRANDE O. et DEL RE A., Ricerca dei cianuri nei vini, **Ind. Agr.,** (Florence), 1969, **7,** 251-258.

2 — DEIBNER L., Sur la présence des substances cyanophores dans certains organes de la vigne. Isolement et dosage spectrophotométrique de l'acide cyanhydrique libéré, **Chim. Anal.,** Paris, 1967, **49,** 90-104.

3 — KAWASHIRO I., KAWADA K., HOSAGAI Y. et KAWAI S., Spectrophotometric determination of hydrocyanic acid in various canned fruits and fruits juice, **Eisei Shikenjo Hôkoku,** 1961, 79, 255-256.

4 — MESTRES R., Note sur la recherche du traitement des vins au ferrocyanure de potassium. Extraction d'acide cyanhydrique à partir de vins normaux, **Ann. Fals. Expert. Chim.,** 1961, **54,** 284-289.

5 — ALBONICO F., Ricerche sul trattamento dei vini con ferrocianuro di potassio, **Riv. vitic. enol.,** 1958, II, 352-362 et 387-391.

6 — EPSTEIN J., Detection of microquantities of cyanide, **Anal. Chem.,** 1947, **19,** 272-274.

7 — FISHER R.A., **Statistical Methods for Research Workers** Xa Ed. UTET, Torino, 1948.

8 — ROBSON D.S., A simple method for constructing orthogonal polynomials when the independent variable is unequally spaced, **Biometrics,** 1959, **15,** 187-191.

9 — EINSENHART C., The assumptions underlying the analysis of variance, **Biometrics,** 1947, **3,** 1-121.

10 — BEILSTEINS HANDBUCH **der organischen chemie,** Hauptwerk, 2,35. Springer, Berlin, 1920.

11 — EGOROV A.M., et ODINETS Z.K., Temperature dependence of the instability constants of several complex ions, **Sb. Nauchn. Tr., Gos. Nauchn., Issled. Int.Tsvetn ; Metal. No,** 1965, 23, 247-251 (Chem. Ab., 1966, 64, 7425 f).

12 — TANANAEV I.V. et DZHAPARIDZE E.S., The reaction between bivalent manganese ions and $K_4Fe(CN)_6$, **J. Gen. Chem. U.S.S.R.,** 1951, **21, 1097-1106. (Chem. Ab.,** 1954, **48,** 1871 h).

13 — FONTANELLI G., Il ferrocianuro di potassio come chiarificante dei vini soggetti a « casse ferrica », **Ann. Fac. Agr.,** Pisa, 1947, **8,** 108-117.

14 — RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., **Traité d'œnologie,** Tome II, Librairie Polytechnique, Ch. Béranger, Paris, 1961.

15 — JOSLYN M.A. et LUKTON A., Prevention of copper and iron turbidities in wine, **Hilgardia,** 1953, **22,** 451-533.