

RESOLUTION OENO 6/2006

DOSAGE DES ACIDES SORBIQUE, BENZOÏQUE, SALICYLIQUE DANS LES VINS PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE

L'ASSEMBLEE GENERALE,

VU l'article 2 paragraphe 2 iv de l'accord du 3 avril 2001 portant création de l'organisation internationale de la vigne et du vin

SUR PROPOSITION de la Sous-commission des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins,

DECIDE de remplacer le point 2.2.2 A de la méthode AS 4-02 RECENT figurant au Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts par la référence à la méthode de type IV suivante :

TITRE	TYPE DE METHODE
Dosage des acides sorbique, benzoïque, salicylique dans les vins par chromatographie liquide à haute performance	IV

1. Introduction

L'acide sorbique et son sel de potassium est un antiseptique utilisable en œnologie mais certains pays ne tolèrent pas sa présence dans les vins y compris à l'état de trace. Ceci se justifiant en particulier en raison de l'odeur de géranium apparaissant lors de la dégradation de l'acide sorbique par les bactéries lactiques. Les acides benzoïques et salicyliques sont toujours interdits dans les vins mais ils sont utilisés dans d'autres boissons.

2. Domaine d'application

Tous les vins ou moûts de raisin en particulier ceux qui sont susceptibles de ne contenir que des traces d'acide sorbique, benzoïque ou salicylique (mise en évidence à partir de 1 mg/l).

3. Principe

Les antiseptiques sont dosés par HPLC par injection directe de l'échantillon dans une colonne fonctionnant par partage en phases inverses en isocratique avec détection dans l'ultraviolet à 235 nm.

4. Produits

4.1. Eau pure microfiltrée (par exemple de résistivité supérieure à 18,2 M Ω)

4.2. Tétrahydrofurane pur

4.3. Méthanol pur

4.4. Acide chlorhydrique 0,1 M (préparé à partir d'ampoules à diluer)

4.5. Eau à pH2 amener 650 ml d'eau (4.1) à pH2 contrôlé à l'aide du pHmètre (5.5) en versant goutte à goutte sans agitation l'acide chlorhydrique 0,1 M (4.4)

4.6. Solution d'élution. Mélanger 650 ml d'eau à pH2 (4.5), 280 ml de méthanol (4.3) et 7 ml de tétrahydrofurane (4.2).

Remarque : il est également possible d'utiliser d'autres solvants d'élution, par exemple : 80% d'une solution d'acétate d'ammonium 0,005M (0,38 g/l) ajustée à pH 4 avec de l'acide acétique pur + 20% d'acétonitrile

4.7. Acide sorbique pur

4.8. Acide benzoïque pur

4.9. Acide salicylique pur

4.10. Alcool pur

4.11. Solution hydroalcoolique à 50 % vol. Placer 500 ml d'alcool pur (4.10) dans une fiole de 1 l compléter avec de l'eau distillée (4.1)

4.12. Solution mère des acides à 500 mg/l. Dissoudre 50 mg des acides sorbique (4.7), benzoïque (4.8), salicylique (4.9) dans 100 ml de la solution hydroalcoolique à 50 % vol. (4.11)

4.13. Solution filles des acides sorbique, benzoïque, salicylique. Diluer la solution mère (4.12) dans la solution hydroalcoolique (4.11) de manière à obtenir les concentrations finales désirées par exemple pour une solution à

- 200 mg/l placer 20 ml de la solution mère (4.12) dans une fiole de 50 ml compléter au trait de jauge avec (4.11).
- 1 mg/l placer 2 ml de solution mère (4.12) dans une fiole de 50 ml. Compléter au

trait de jauge avec 4.11

Des solutions intermédiaires peuvent être réalisées de la même manière selon les nécessités de l'étalonnage

5. Appareils

- 5.1. Verrerie de laboratoire en particulier pipette et fioles jaugées
- 5.2. Bain à ultrasons
- 5.3. Dispositif de filtrations sous vide pour volume important (1 l) utilisant des membranes filtrantes de diamètre de pore inférieur à 1 μm (généralement 0,45 μm)
- 5.4. Minifiltre pour échantillon (1 à 2 ml) utilisant des membranes filtrantes de diamètre de pore inférieur à 1 μm (généralement 0,45 μm)
- 5.5. pH mètre
- 5.6. Chromatographe en phase liquide fonctionnant en mode isocratique muni d'un dispositif d'injection pour faibles volumes (par exemple) vanne à boucle de 10 ou 20 μl .
- 5.7. Détecteur pouvant fonctionner dans l'ultra violet 235 nm muni d'une cuve à circulation pour CLHP (par exemple de 8 μl pour 1 cm de trajet optique)
- 5.8. Colonne pour CLHP de phase stationnaire de 5 μm type silice greffée par des groupes octadécyles (C18) de 20 cm de long 4 mm de diamètre intérieur.
- 5.9. Système d'acquisition des données

6. Préparation des échantillons et du solvant d'élution

- 6.1. Filtrer les échantillons à analyser à l'aide du minifiltre (5.4)
- 6.2. Dégazer le solvant d'élution (4.6) durant 5 minutes à l'aide du bain à ultrasons (5.2)
- 6.3. Filtrer le solvant à l'aide du dispositif (5.4)

7. Mode opératoire

- 7.1. Conditionnement de la colonne. Avant l'injection mettre en route la pompe et rincer la colonne avec le solvant durant au minimum 30 minutes
- 7.2. Injecter une des solutions filles (4.13) afin de s'assurer de la sensibilité du système et de la bonne résolution des pics des substances à analyser.
- 7.3. Injecter l'échantillon à analyser faire éventuellement l'analyse d'un échantillon identique ayant été supplémenté par les acides à rechercher (adapter l'ajout à la quantité éventuellement décelée lors de l'analyse précédente, pour 1 mg présent

ajouter également 1 mg...)

S'assurer de la bonne résolution des pics des acides recherchés avec les pics du vins (normalement il n'en existe pas dans cette zone)

8. Calcul

Après avoir repéré les pics des acides à doser dans l'échantillon comparer l'aire des pics avec celles des acides d'une solution fille (4.13) de concentration C connue

Par exemple soit s l'aire du pic de l'acide à doser. S l'aire du pic de la solution (4.13) de concentration C

$$X_{\text{dans l'échantillon}} = C \times \frac{s}{S} \text{ en mg/l}$$

9. Caractéristiques de la méthode

	Acide sorbique	Acide benzoïque	Acide salicylique
Domaine de linéarité	0 à 200 mg/l	0 à 200 mg/l	0 à 200 mg/l
Justesse (taux de récupération)	> 90 %	> 90 %	> 90 %
Répétabilité : r*	2%	3%	8%
Reproductibilité : R*	8%	9%	12%
Limite de détection	3 mg/l	3 mg/l	3 mg/l
Limite de quantification	5 mg/l	6 mg/l	7 mg/l
Incertitude	11%	12%	13%

Bibliographie

1. Dosage de l'acide sorbique dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. et SARRE Ch., *Feuillets Verts O.I.V.*, 654-681.
2. Dosage de l'acide salicylique dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. et SARRE Ch., *Feuillets Verts Ol.V.*, 655-682.
3. Dosage de l'acide benzoïque, dans les sodas et autres produits alimentaires liquides, par chromatographie en phase gazeuse. 1978. BERTRAND A. et SARRE Ch. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 71, 761, 35-39.
4. Application de la chromatographie liquide à l'analyse des vins et des moûts. 1979. SALAGOITY-AUGUSTE M.-H. Doctorat de l'université de Bordeaux 2