

Dosage de l'acide sorbique dans les vins par électrophorèse capillaire

Serge CHAUVET

Laboratoire DGCCRF, 33405 TALENCE - FRANCE

Marc DUBERNET et Matthieu DUBERNET

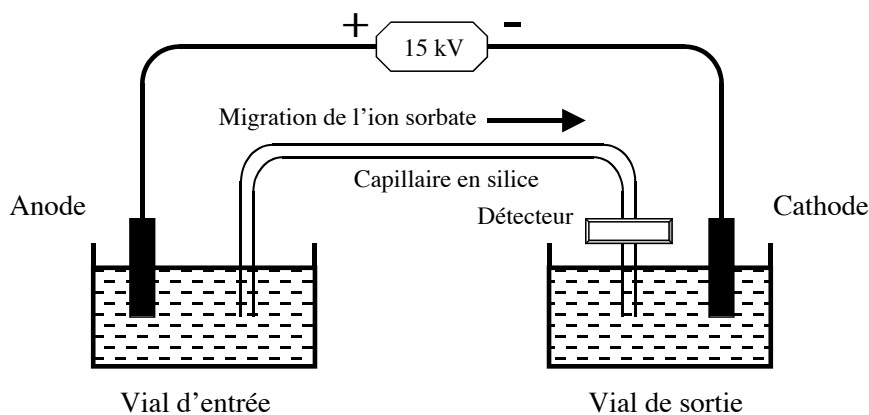
Laboratoire DUBERNET – 11100 NARBONNE - FRANCE

1 Domaine d'application

La présente méthode permet de doser l'acide sorbique dans les vins dans une gamme de 0 à 300 mg/l.

2 Principe

Avant analyse, la colonne de migration est conditionnée par des solutions de soude de concentrations diverses, puis mise en équilibre avec le tampon de migration. Quelques nanolitres de vin sont injectés par l'appareil dans le capillaire. Sous l'effet de la différence de potentiel appliquée à ses extrémités, il est créé un flux électro-osmotique. L'ion sorbate chargé négativement tend naturellement à migrer vers l'anode. Cependant, sous l'effet du flux, la migration globale de l'ion sorbate se fait vers la cathode. C'est la résultante des deux forces migratoires qui permet une bonne séparation de l'ion sorbate. A la sortie du capillaire, la détection est effectuée dans l'ultraviolet à 254 nm.



3 Réactifs et produits

3.1 Solution tampon de migration

Le tampon de migration est constitué de la façon suivante :

Dihydrogénophosphate de sodium :	5 mM
Hydrogénophosphate de sodium	5 mM
PH ajusté à 6.5 par de la soude N.	

3.2 Standard interne

Le standard interne est l'acide hippurique (Benzoylaminoacetic acid), en solution aqueuse à 0.5 g.L⁻¹.

4 Préparation des échantillons

Les échantillons de vin sont préparés selon le schéma suivant qui entraîne une dilution au 1/20 :

Vin à analyser :	0.5 ml
NaOH /10 :	0.5 ml
Standard interne à 0.5 g/l :	0.5 ml
qsp 10 ml avec de l'eau déminéralisée	

5 Conditions opératoires

5.1 Conditionnement du capillaire

Avant sa première utilisation, et dès que les temps de migration augmentent, le capillaire doit être conditionné selon le processus suivant :

1. Rinçage à la soude 1N sous 20 psi pendant 10 mn.
2. Rinçage à la soude 0.1 N sous 20 psi pendant 25 mn
3. Rinçage à l'eau sous 20 psi pendant 15 mn
4. Rinçage au tampon sous 20 psi pendant 40 mn

5.2 Conditions de migration

Ces conditions peuvent éventuellement être sujettes à de légères modifications en fonction de l'appareillage utilisé.

Le capillaire en silice fondue est de 31 cm de longueur, avec un diamètre de 50 microns.

Température de migration : 15 °C

Longueur d'onde de lecture : 254 nm.

Lecture du signal en mode direct (l'acide sorbique absorbe dans l'UV).

1° Prérinçage sous pression (20 PSI) à la soude N pendant 30 secondes

2° Prérinçage sous pression (30 PSI) au tampon pendant 1 mn

L'injection se fait sous pression de 0,3 PSI pendant 10 secondes.

Le rinçage à la soude concentrée est important pour le bon fonctionnement de l'analyse.

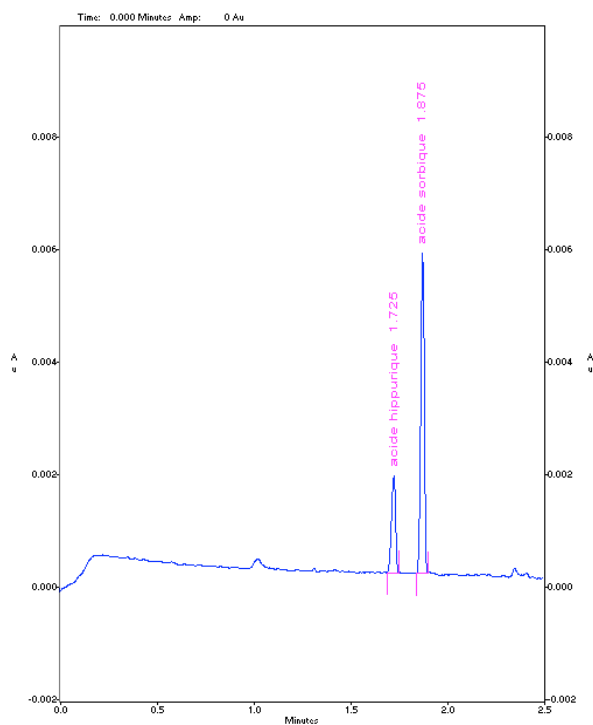
La migration dure environ 1.5 à 2 minutes sous une différence de potentiel de + 15 kV, en polarité normale (cathode à la sortie).

Certains appareils d'électrophorèse capillaire proposent des vials de grande contenance pour les solutions tampon de migration. Ceci est préférable lorsque plusieurs analyses sont réalisées à la suite, car les propriétés électrolytes se conservent plus longtemps.

5.3 Lecture des résultats

Les pics d'absorption du standard interne et de l'acide sorbique sont obtenus en moyenne 1.5 à 2 minutes après le début de la phase de migration sous tension. Le temps de migration est assez constant, mais peut légèrement varier en fonction de l'état du capillaire. En cas de dégradation du temps de migration, un reconditionnement du capillaire est nécessaire, et si les conditions nominales ne sont pas rétablies, le capillaire doit être remplacé.

L'électrophorégramme obtenu est le suivant :



6 Validation de la méthode

Les performances de l'analyse et la validation ont été effectuées selon le protocole de validation d'une méthode usuelle par rapport à une méthode de référence OIV (annexe A, recueil OIV des méthodes d'analyse).

6.1 Répétabilité intralaboratoire

6.1.1 Protocole de mesure

60 échantillons ont été analysés en double dans des conditions de répétabilité. La gamme de concentration des échantillons variait de 0 à 200mg/l.

6.1.2 Résultats

Écart type de répétabilité Sr	3,7 mg/l
Répétabilité r	10,5 mg/l

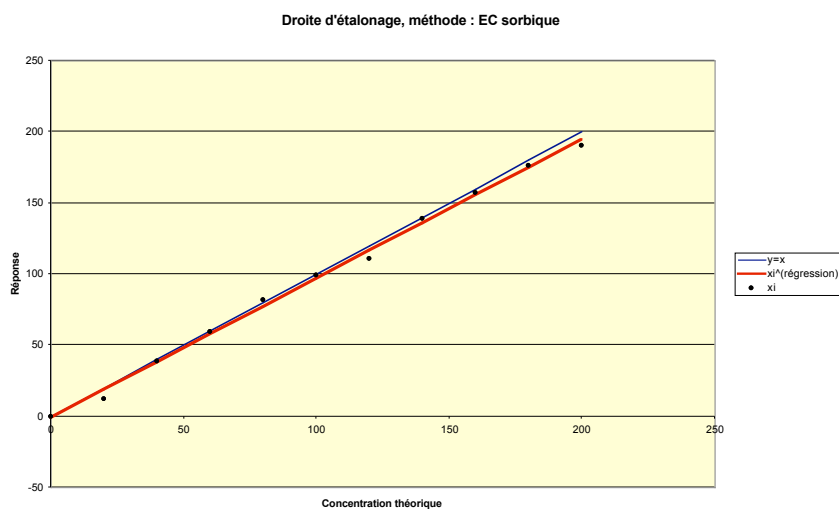
6.2 Linéarité

6.2.1 Protocole de mesure

Des ajouts dosés de sorbate de potassium ont été réalisés sur un même vin, naturellement dépourvu d'acide sorbique afin d'obtenir des échantillons couvrant une gamme de concentration allant de 0 à 200 mg/l. 11 échantillons ainsi constitués ont été analysés en double.

6.2.2 Résultats

La droite d'étalonnage suivante a été obtenue :



Droite de régression	$Y = 0,97633 X - 0,90948$
Coefficient de corrélation r	0,99837
Écart type résiduel Sxy	3,91
Écart type pente Sb	0,019

La linéarité de la méthode est bonne dans la gamme étudiée.

6.3 Reproductibilité intralaboratoire

6.3.1 Protocole de mesure

Un vin conservé dans de bonnes conditions a été analysé une ou deux fois par jour pendant une période de 1 mois. 24 analyses en double de ce vin ont ainsi été effectuées. La valeur T utilisée est la moyenne de l'ensemble de ces 24 résultats obtenus sur la période.

6.3.2 Résultats

Valeur moyenne T	121 mg/l
Écart type de reproductibilité SR	5,81
Reproductibilité R	16,28

Ces résultats permettent d'affirmer que, avec une probabilité de 95%, les résultats obtenus par le dosage de l'acide sorbique par électrophorèse capillaire auront une reproductibilité inférieure ou égale à 16,2 mg/l.

Le reproductibilité R peut par ailleurs être confondue avec l'incertitude de la méthode dans les conditions de l'étude (conditions de routine).

6.4 Limites de détection et de quantification

6.4.1 Protocole de mesure

20 échantillons « blancs », c'est à dire ne contenant pas d'acide sorbique sont analysés en double.

6.4.2 Résultat

Limite de détection Ld	3,72
Limite de quantification Lq	10,9

6.5 Robustesse

6.5.1 Détermination

L'étude des paramètres influençant l'analyse ont été réalisés lors du développement de la méthode.

La méthode étant relative, les éventuelles légères variations des conditions d'analyse n'auront pas d'influence sur le résultat final, mais auront essentiellement des influences sur le temps de migration.

6.6 Spécificité de la méthode

6.6.1 Protocole de détermination

Une étude de spécificité a été menée afin de mesurer dans certaines conditions la spécificité de la méthode.

Sur deux vins ayant des concentrations différentes d'acide sorbique, un vin à 0 mg/l d'acide sorbique, et un second à 107 mg/l d'acide sorbique, ont été ajoutés, aux doses normalement employées, des produits œnologiques pouvant se trouver dans le vin au moment du dosage de l'acide sorbique.

Les analyses ont été effectuées en double, et a été calculé l'écart moyen entre l'analyse des échantillons témoins, et des échantillons enrichis.

Spécificité

électrophorèse capillaire

Écarts par rapport au témoin

	Sorbique	T+ gomme arabique	T+ acide citrique	T+ acide ascorbique	T+ acide salicyllique	T + acide métatartique
Dose		25 g/hl	20 g/hl	10 g/hl	1 g/hl	10 g/hl
écart		-1,72	2,32	0,36	0,76	-2,88

Dans tous les cas, les écarts observés sont inférieurs à la valeur de la répétabilité de la méthode.

6.7 Raccordement de la méthode à la méthode de référence OIV

La méthode de référence OIV est le dosage par spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet. L'acide sorbique, extrait par entraînement à la vapeur d'eau, est dosé dans le distillat du vin par spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet à 256 nm.

6.7.1 Comparaison des répétabilités

6.7.1.1 Protocole de mesure

60 échantillons ont été analysés en double dans les conditions de mesure de la répétabilité par la méthode usuelle, et la méthode de référence

6.7.1.2 Résultats

	Électrophorèse capillaire	Méthode de référence OIV
Écart type de répétabilité SR	3,75 mg/l	3,62 mg/l
Répétabilité R	10,50 mg/l	10,14 mg/l

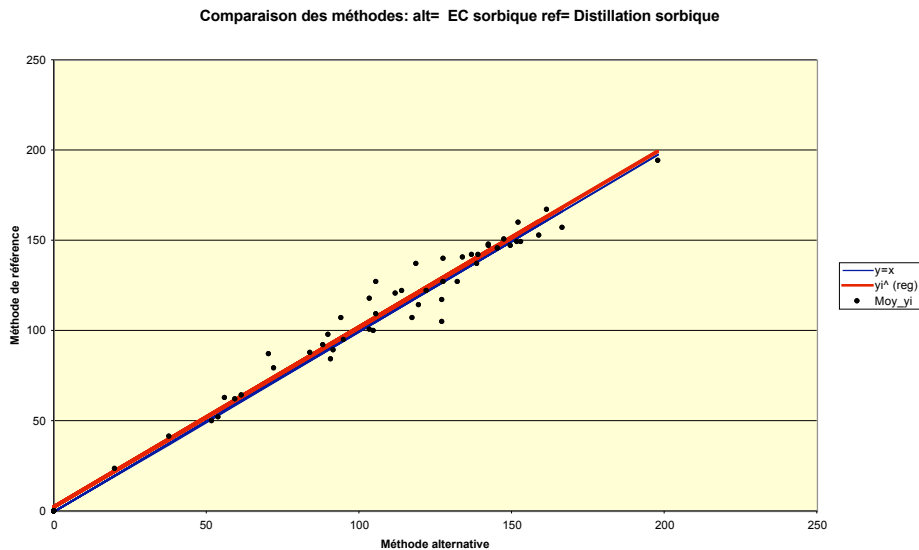
Les répétabilités des méthodes sont donc tout à fait comparables.

6.7.2 Justesse de la méthode usuelle par rapport à la méthode de référence

6.7.2.1 Protocole de détermination

60 échantillons ont été analysés en double, par les deux méthodes, dans des conditions de répétabilité.

6.7.2.2 Résultats



Droite de régression	Y = 0,9954 X - 2,1349
Coefficient de corrélation r	0,9918
Biais moyen Md	-1,72
Écart type biais moyen Sd	7,23
Écart type résiduel Sxy	3,91
Écart type pente Sb	0,019

6.7.2.3 *Interprétation*

La droite de régression $y = x$, n'est donc pas significativement différente de la droite théorique $y = x$, avec un risque d'erreur α de 5%.