



HAL
open science

Développement d'un procédé de réduction des sulfites dans les vins

Marie-France Bakaï

► **To cite this version:**

Marie-France Bakaï. Développement d'un procédé de réduction des sulfites dans les vins. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0374 . tel-01359189

HAL Id: tel-01359189

<https://theses.hal.science/tel-01359189>

Submitted on 2 Sep 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ECOLE DOCTORALE DE SCIENCES CHIMIQUES
SPÉCIALITÉ : CHIMIE ORGANIQUE

Par Marie-France BAKAÏ

**Développement d'un procédé de réduction des sulfites dans les
vins**

Sous la direction de : Hervé DELEUZE

Soutenue le 11 Décembre 2015

Membres du jury :

M. POUYSÉGU Laurent	Professeur à l'Université de Bordeaux	Président
M. MOIO Luigi	Professeur à l'Université de Naples Frédéric II	Rapporteur
Mme. BRANGER Catherine	Maître de Conférences à l'Université de Toulon	Rapporteur
M. DELEUZE Hervé	Maître de Conférences à l'Université de Bordeaux	Directeur de thèse

Membre invité :

M. BARBE Jean-Christophe, Maître de Conférences à Bordeaux Sciences Agro

A ma famille,

A Franck,

Aux êtres qui me sont chers et qui sont partis trop tôt...

Remerciements

Cette thèse a été réalisée au sein de l'Institut des Sciences Moléculaires (ISM) dans le groupe Chimie Moléculaire et Matériaux (C2M) à l'Université de Bordeaux sous la direction de Monsieur Hervé Deleuze, Maître de Conférences à l'Université de Bordeaux. Je tiens, par ces quelques mots, à le remercier de m'avoir accueillie dans son équipe et de m'avoir offert l'opportunité d'effectuer cette thèse sur un sujet passionnant. Grâce à son encadrement, son aide et ses précieux conseils, j'ai pu mener à bien ce travail qui m'a été confié.

Je remercie également Madame Virginie Moine, Directrice Scientifique chez Laffort Œnologie qui m'a accompagnée et encouragée durant ces trois années de thèse. Merci pour vos conseils et votre gentillesse.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur Jean-Christophe Barbe, Maître de Conférences à Bordeaux Sciences Agro pour sa participation à ce projet et pour l'aide qu'il m'a apportée afin de développer mes connaissances en œnologie.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur Laurent Pouységu, Professeur à l'Université de Bordeaux, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse.

J'adresse mes vifs remerciements à Madame Catherine Branger, Maître de Conférences à l'Université de Toulon et à Monsieur Luigi Moio, Professeur à l'Université de Naples, pour avoir accepté d'examiner ce travail en tant que rapporteurs et membres du jury.

Ce travail de recherche a été soutenu financièrement par la société Laffort Œnologie à laquelle j'exprime toute ma gratitude.

Mes plus sincères remerciements vont également à Monsieur Marc Birot et à Madame Odile Babot (C2M) pour les analyses et mesures réalisées sur les supports préparés.

Un grand merci à Monsieur Philippe Louazil (Laffort Œnologie) pour son implication dans ce projet, pour les nombreux dosages effectués et pour ses conseils. Ces résultats n'auraient pas pu être obtenus sans votre aide à tous.

J'exprime également ma reconnaissance à Néréa Iturmendi pour son implication dans ce projet, ses conseils et sa bonne humeur.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude à Monsieur Thierry Toupance, Professeur à l'Université de Bordeaux et chef du groupe C2M, qui m'a accueillie au sein de son groupe de recherche.

J'adresse mes remerciements à tous les membres permanents du groupe C2M : Thierry, Luc, Bernard, Odile, Marie, Céline, Yohann, Marc, Karine, Anne, Svitlana, Laurent. Je remercie également tous les doctorants et post-doctorants que j'ai côtoyés tout au long de ma thèse et que j'ai vus partir les uns après les autres : Julien, Christophe, Liuba, Anaëlle, Matthieu. J'exprime toute mon amitié à Amandine, ma très chère collègue de bureau (tes petites chansons vont me manquer), à Guillaume (alias Guigui) et à Elise, nous avons débuté ensemble et nous y sommes tous arrivés (ouf!!). Je souhaite une bonne continuation aux futurs docteurs, Yannick et Imane (la thèse ça passe vite). Un grand merci à vous tous pour votre accueil, pour la bonne ambiance et les rigolades autour d'une bonne tasse de café (ou de thé). Travailler à vos côtés a été un réel plaisir.

Je tiens à saluer l'ensemble du personnel de l'Institut des Sciences Moléculaires et de Laffort Œnologie qui, de près ou de loin, a contribué à la concrétisation de ce travail.

Mes dernières pensées vont à toutes les personnes de mon entourage qui m'ont motivée et soutenue tout au long de cette thèse. Merci à Béné, pour les heures passées au téléphone malgré le décalage horaire. Merci à Franck de m'avoir supportée tout au long de cette thèse (et surtout au moment de la rédaction), cela n'a pas été facile mais tu as tenu le coup. Je remercie également mes frères qui ont été d'un grand soutien.

Enfin, merci à mon père et à ma mère, mes premiers supporters qui ont tout donné pour que j'en arrive là. Vous avez cru en moi et je vous en remercie du fond cœur. Ce travail vous est dédié.

Table des matières

Liste des abréviations.....	1
Introduction	2
Partie A : Bibliographie générale	
I. Généralités sur le dioxyde de soufre	4
I. 1. Propriétés œnologiques du dioxyde de soufre.....	4
I. 1. 1. Activité antiseptique.....	4
I. 1. 2. Activité antioxydasique.....	5
I. 1. 3. Activité antioxydante.....	6
I. 1. 4. Effets organoleptiques.....	6
I. 2. La chimie du dioxyde de soufre.....	7
I. 2. 1. Propriétés physico-chimiques.....	7
I. 2. 2. Chimie du SO ₂ en phase aqueuse : notion de SO ₂ libre	8
I. 2. 3. Etat du dioxyde de soufre dans les vins.....	11
I. 3. Méthodes de dosage du dioxyde de soufre.....	13
I. 3. 2. Méthode de Ripper	14
I. 3. 3. Méthode en flux continu.....	14
I.4. Toxicité du dioxyde de soufre et législation.....	16
I. 4. 1. Toxicité par inhalation.....	16
I. 4. 2. Toxicité par ingestion	17
I. 4. 3. La législation actuelle concernant le SO ₂ dans les vins	18
II- Les dérivés carbonylés.....	20
II. 1. L'éthanal ou acétaldéhyde.....	21
II. 2. L'acide pyruvique ou acide 2-oxopropanoïque	22
II. 3. L'acide 2-oxoglutarique ou acide 2-oxo-pentan-1,5-dioïque	23
II. 4. Réactivité des dérivés carbonylés	24
II. 4. 1. Généralités sur la réactivité des dérivés carbonylés.....	24
II. 4. 2. Quelques exemples d'additions nucléophiles	26
II. 5. Dosages enzymatiques.....	28
II. 5. 1. Intérêt des dosages enzymatiques	28
II. 5. 2. Dosages enzymatiques utilisés.....	31

III. Chimie de l'hydrazine	35
III. 1- Propriétés physico-chimiques	35
III. 1. 1. Comportement acido-basique	35
III. 1. 2. Comportement oxydo-réducteur	36
III. 2. Utilisation en chimie de l'hydrazine	37
III. 2. 1. L'hydrazine utilisée en tant que composé nucléophile	37
III. 2. 2. L'hydrazine utilisée en tant qu'agent réducteur	39
III. 3. Toxicité de l'hydrazine.....	40
IV. L'extraction en phase solide.....	42
IV. 1. Principe de l'extraction en phase solide.....	42
IV. 2. Les supports solides pour l'extraction en phase solide.....	44
IV. 2. 1. Propriétés physiques	44
IV. 2. 2. Propriétés chimiques.....	45
IV. 2. 3. Choix du support solide : les polymères organiques	45
IV. 3. Fonctionnalisation du support.....	47
IV. 3. 1. Les supports commerciaux à base de styrène/DVB	47
IV. 3. 2. Polymérisation de monomères fonctionnalisés	49
Objectifs de l'étude.....	57

Partie B: Résultats expérimentaux

Chapitre 1 : Fonctionnalisation de résines sulfoniques et utilisation comme support d'extraction

I- Fonctionnalisation de résines sulfoniques commerciales.....	59
I. 1. Les résines échangeuses d'ions	59
I. 1. 1. Structure	59
I. 1. 2. Synthèse.....	60
I. 1. 3. Propriétés des résines sulfoniques	62
I. 2. Voies de greffage de la fonction sulfonylhydrazine	63
I. 2. 1. Voie de greffage utilisant l'acide chlorosulfonique	64
I. 2. 2. Voie de greffage utilisant le chlorure de thionyle	65
I. 2. 3. Voie directe de greffage	66
I. 2. 4. Analyse des supports	69
I. 3. Optimisation des conditions opératoires de la fonctionnalisation.....	70

II- Cinétiques d'extraction des dérivés carbonylés en solution modèle	75
II. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂	76
II. 1. 1. Extraction de l'éthanal seul	76
II. 1. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul.....	77
II. 1. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul	78
II. 1. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution.....	78
II. 1. 5. Bilan des extractions	79
II. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂.....	80
II. 2. 1. Extraction de l'éthanal seul.....	80
II. 2. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul.....	81
II. 2. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul	81
II. 2. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution.....	82
II. 2. 5. Bilan des extractions	83
III- Influence du rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés] et du mode d'extraction choisi	84
III. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂.....	84
III. 1. 1. Extraction en mode statique.....	84
III. 1. 2. Extraction en mode dynamique	86
III. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂	87
III. 2. 1. Extraction en mode statique.....	88
III. 2. 3. Extraction en mode dynamique	90
III. 3. Conclusions	91
IV. Recyclage du support après extraction	92
IV. 1. Recyclage du support	92
IV. 2. Fonctionnalisation de la résine recyclée et extraction des dérivés carbonylés.....	93
V. Etude des contaminants présents en solution après extraction.....	94
V. 1. Méthode de dosage de traces d'hydrazine	94
V. 2. Dosage de l'hydrazine dans les solutions modèles après extraction	96
V. 3. Recherche de la provenance de l'hydrazine relarguée	98
V. 3. 1. Lavage avec une solution hydroalcoolique.....	99
V. 3. 2. Lavage avec une solution hydroalcoolique acidifiée à pH = 3,5	99
VI. Conclusions.....	101

Chapitre 2 : Copolymérisation en suspension du méthacrylate de glycidyle, fonctionnalisation et utilisation comme support d'extraction

I. Recherche d'un nouveau support.....	103
I. 1. Fonctionnalisation de résines commerciales	103
I. 1. 1. Fonctionnalisation de billes de styrène/DVB	103
I. 1. 2. Fonctionnalisation de résines Merrifield	104
I. 1. 2. Fonctionnalisation de billes de poly(bromostyrène)	107
I. 2. Polymérisation de monomères fonctionnels	109
I. 2. 1. Les polymères acryliques	110
I. 2. 2. Le méthacrylate de glycidyle.....	111
I. 2. 3. Copolymérisation en suspension du GMA.....	112
II. Cinétiques d'extraction.....	122
II. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂	122
II. 1. 1. Extraction de l'éthanal seul	122
II. 1. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul.....	123
II. 1. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul	124
II. 1. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution	124
II. 1. 5. Bilan des extractions	125
II. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂.....	126
II. 2. 1. Extraction de l'éthanal seul.....	126
II. 2. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul.....	126
II. 2. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul	127
II. 2. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution	128
II. 2. 5. Bilan des extractions	128
III. Influence du rapport molaire [hydrazine]/[dérivés carbonylés]	129
III. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂.....	129
III. 1. 1. Extraction de l'éthanal seul.....	129
III. 1. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul	130
III. 1. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul	131
III. 1. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution.....	131
III. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂	132
III. 2. 1. Extraction de l'éthanal seul.....	132

III. 2. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul	133
III. 2. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul	134
III. 2. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution.....	136
III. 2. 5. Bilan des extractions.....	137
IV. Mise en contact de l'agent d'extraction avec une solution hydroalcoolique ne contenant que du SO₂.....	138
V. Etude des contaminants après extraction	140
VI. Conclusions.....	142
Chapitre 3 : Extraction des dérivés carbonylés dans des vins	
I. Extraction dans des vins blancs.....	143
I. 1. Extraction dans un vin de Sauternes	143
I. 1. 1. Extraction des dérivés carbonylés	145
I. 1. 2. Mesure de l'évolution du taux de SO ₂	145
I. 1. 3. Bilan des extractions.....	146
I. 2. Extraction dans un vin blanc moelleux.....	148
I. 2. 1. Extraction des dérivés carbonylés	150
I. 2. 4. Mesure de l'évolution du taux de SO ₂	151
I. 2. 5. Bilan des extractions.....	152
II. Extraction dans un vin rosé.....	153
II. 1. Extraction des dérivés carbonylés	154
II. 2. Mesure de l'évolution du taux de SO₂.....	155
II. 3. Bilan des extractions	156
III. Extraction dans un vin rouge	158
III. 1. Extraction des dérivés carbonylés.....	159
III. 2. Mesure de l'évolution du taux de SO₂	160
III. 3. Bilan des extractions.....	161

IV. Recherche de contaminants dans les vins étudiés	163
V. Conclusions	164
Chapitre 4 : Discussion générale sur le procédé	
I- Bilan des équilibres	165
II- Résultats obtenus lors de l'extraction des dérivés carbonylés dans les solutions modèles	167
III- Résultats obtenus lors de l'extraction des dérivés carbonylés dans les vins	172
Conclusion générale	175
Partie expérimentale	179
Bibliographie.....	200

Liste des abbréviations

AIBN : Azo-bis-isobutyronitrile

BET : Méthode de calcul de la surface spécifique établie par Brunauer, Emmett et Teller

Bpy : 2,2'-bipyridine

CTAB : Bromure de cétyltriméthylammonium

DC : Dérivés carbonylés

DL₅₀ : Dose létale 50

DMF : Diméthylformamide

DVB : Divinylbenzène

EVB : Ethylvinylbenzène

GMA : méthacrylate de glycidyle

EDGMA : Ethylène glycol de diméthacrylate

m-DVB : Méta-divinylbenzène

m-EVB : Méta-éthylvinylbenzène

MEB : Microscope électronique à balayage

NAD(H) : Nicotinamide adénine dinucléotide

Nc : 2,9-Diméthyl-1,10-phénanthroline

NMP : N-méthyl-2-pyrrolidone

o-DVB : Ortho-divinylbenzène

p-DVB : Para-divinylbenzène

p-EVB : Para-éthylvinylbenzène

SPE : extraction sur phase solide

Introduction

Le vin est une boisson alcoolisée obtenue par la fermentation des raisins à travers un ensemble d'opérations appelé la vinification. Une étape clé du processus de vinification est le sulfitage. Ce procédé consiste à ajouter du dioxyde de soufre (SO_2) dans les moûts ou le vin. L'utilisation de ce composé chimique en œnologie est connue depuis plusieurs siècles. Le SO_2 est utilisé car il possède des propriétés antioxydantes, antioxydasiques et antiseptiques. Il protège donc les vins de l'oxydation chimique et enzymatique et permet un développement microbien (levures et microbes) contrôlé. Aucun produit possédant les mêmes qualités que le SO_2 n'a été trouvé à ce jour.

L'étude de la chimie du dioxyde de soufre permet de comprendre les équilibres qui s'établissent. Lors de l'introduction du SO_2 dans les vins, il réagit instantanément avec de l'eau. Un acide faible, l'acide sulfureux (H_2SO_3) est formé. Ce composé, instable en milieux aqueux, se décompose en ion bisulfite HSO_3^- et en ion sulfite SO_3^{2-} . Au pH des vins, l'ion HSO_3^- est largement prédominant. Cet ion constitue ce que l'on appelle couramment le SO_2 libre. L'ion bisulfite, nucléophile, réagit préférentiellement avec divers composés naturellement présents dans les vins en formant une liaison bisulfitique : le SO_2 est sous forme combiné. Seul le SO_2 libre présente une activité d'intérêt œnologique. Il est donc indispensable de conserver une dizaine de mg/L de SO_2 sous forme libre pour protéger les vins et assurer leur conservation. Pour avoir une dose suffisante de SO_2 libre dans les vins, l'ajout de plusieurs centaines de mg/L de SO_2 est nécessaire.

Les propriétés toxicologiques du SO_2 sont également connues. Les autorités et instances internationales ont imposé des réglementations autour des teneurs maximales en SO_2 autorisées. Ces réglementations risquent de devenir plus drastiques dans les années à venir. Il est donc indispensable de contrôler la quantité de SO_2 dans les vins. Plusieurs études ont été réalisées afin de trouver une méthode permettant de réduire la concentration en SO_2 dans les vins. La forme combinée n'ayant aucune activité d'intérêt œnologique, les travaux ont porté sur la réduction du taux de SO_2 combiné. Il a été tout d'abord nécessaire d'identifier les composés responsables de la combinaison du SO_2 : il s'agit essentiellement des dérivés carbonylés produits lors des processus fermentaires. L'élimination des dérivés carbonylés du milieu devrait permettre de réduire la teneur en SO_2 combiné tout en conservant une teneur suffisante en SO_2 libre.

Introduction

L'extraction sur phase solide est une méthode simple à mettre en œuvre permettant de purifier une solution. Ce procédé consiste à fixer une fonction extractive sur un support solide. Cette fonction extractive réagira de façon spécifique avec le composé cible que l'on souhaite extraire du milieu. Cette méthode a été retenue pour extraire les dérivés carbonylés des vins. Il est important d'identifier une fonction extractive pouvant réagir spécifiquement avec ces dérivés carbonylés. Cette fonction, une fois identifiée, sera fixée sur un support solide insoluble. Le support obtenu sera introduit dans le vin et les composés cibles se fixeront sur le support. Ce dernier sera récupéré par simple filtration et la solution sera appauvrie en dérivés carbonylés. Il faudra vérifier que le procédé d'extraction n'est pas une source de contamination du milieu. Le vin doit pouvoir être consommé sans risques après l'extraction des dérivés carbonylés.

Partie A :
Bibliographie générale

I. Généralités sur le dioxyde de soufre en œnologie

L'utilisation du dioxyde de soufre (autrefois appelé anhydride sulfureux) de formule chimique SO_2 est à l'heure actuelle incontournable en œnologie. Son utilisation pour la production des vins remonte vraisemblablement à la fin du XVIII^{ème} siècle et, en dépit de ses inconvénients, aucune molécule de substitution n'a été proposée jusqu'à présent.

Il a de nombreuses propriétés d'intérêt œnologique qui font de lui un allié indispensable au vinificateur [1] [2]. A dose suffisante, il protège les vins contre le développement de micro-organismes et permet ainsi d'éviter des problèmes de refermentation [3]. Il représente un intrant essentiel dans le vin, puisqu'aucun additif œnologique ne peut se substituer complètement à son usage.

I. 1. Propriétés œnologiques du dioxyde de soufre

Le dioxyde de soufre est l'additif le plus utilisé dans l'élaboration des vins selon un procédé appelé le « sulfitage ». Celui-ci consiste à apporter aux moûts ou aux vins une certaine quantité de dioxyde de soufre afin de permettre une bonne vinification et favoriser une meilleure conservation du produit. Le dioxyde de soufre est un antiseptique polyvalent mais également un composé réducteur dans le vin. Il protège les moûts et les vins de toute altération microbienne et empêche la refermentation bactérienne des vins [4]. Les principales propriétés du dioxyde de soufre sont attribuées à sa forme libre, l'état combiné n'étant que faiblement actif [5].

I. 1. 1. Activité antiseptique

L'utilisation du SO_2 pour ses propriétés antiseptiques (fongicide et bactéricide) remonte à la fin de XIX^{ème} siècle. En effet, dès 1866, Pasteur avait préconisé le méchage des barriques (introduction d'une mèche de soufre allumée) pour préserver les altérations microbiennes [6]. D'une manière générale, le SO_2 va inhiber le développement des micro-organismes que sont les levures et les bactéries lactiques et acétiques, ce qui évite la formation de troubles de levures, la refermentation et différentes altérations bactériennes [3]. Il permet, selon les cas, une sélection des espèces, un ralentissement ou une suppression de leur activité voire une destruction complète. Il permet ainsi des développements microbiens maîtrisés. Son activité

est plus grande sur les bactéries du vin que sur les levures [7].

L'activité antibactérienne comme l'activité antilevurienne est assurée par la forme moléculaire du dioxyde de soufre [8] dont l'activité est 100 à 500 fois plus élevée que celle des ions bisulfites [9].

Un sulfitage modéré de la vendange a pour effet, tout d'abord de bloquer les deux fermentations possibles (alcoolique par les levures et malolactique par les bactéries), puis de permettre uniquement une fermentation alcoolique « pure », après avoir effectué une sélection entre les levures et les bactéries.

Le SO₂ retarde, mais sans l'empêcher, la multiplication des levures. Les bactéries apportées par les raisins sont, au moins paralysées sinon tuées pour éviter les fermentations bactériennes avant que tout le sucre n'ait été consommé pendant la fermentation alcoolique.

Les doses de SO₂ permettant de tuer les cellules sont variables en fonction des espèces.

Le milieu peut être purifié ou totalement stérilisé en apportant une forte dose de dioxyde de soufre.

C'est l'expression de cette activité qui est recherchée lors de l'élaboration des vins possédant des sucres résiduels fermentescibles comme les vins moelleux et doux résultant d'un arrêt de la fermentation. Cet arrêt de fermentation alcoolique qui s'effectue habituellement par un ajout de dioxyde de soufre est appelé le « mutage ». Une quantité minimale de dioxyde de soufre est nécessaire pour arrêter la fermentation en cours, mais aussi pour empêcher sa reprise par prolifération de levures résiduelles qui auraient résisté à l'ajout de dioxyde de soufre lors du mutage.

I. 1. 2. Activité antioxydasique

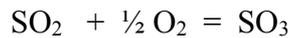
Tous les raisins présentent une activité oxydasique entraînant une consommation d'oxygène par voie enzymatique, avec oxydation de certains composés des moûts et vins. Cette activité a été attribuée à plusieurs enzymes fongiques et particulièrement à la tyrosinase et à la laccase [10].

Le SO₂ inhibe instantanément le fonctionnement de ces enzymes et peut assurer ensuite leur destruction. Par ce mécanisme, le SO₂ protège les moûts de l'oxydation, avant leur départ en fermentation. Il évite également la « casse oxydasique » dans les vins blancs et les vins rouges issus de vendanges pourries. Elle est provoquée, dans la plupart des cas, par une oxydation intense des polyphénols, en particulier les matières colorantes des moûts et des vins, l'action

de l'oxygène étant catalysée par une oxydase.

I. 1. 3. Activité antioxydante

Le rôle protecteur du SO₂ vis-à-vis de l'oxydation est classiquement cité, observé et quantifié. Le SO₂ combine l'oxygène dissous selon la réaction [7] :



La réaction, lente, met les vins à l'abri de l'oxydation de nature strictement chimique. Le dioxyde de soufre préserve les vins d'une oxydation trop intense des composés phénoliques et de certains éléments de l'arôme ; il prévient la madérisation, combinant des molécules telles que l'éthanal, responsable du caractère "d'évent" lorsqu'il est libre ; il contribue à fixer un niveau d'oxydoréduction suffisamment bas, favorable au développement des qualités sensorielles au cours de la conservation et du vieillissement des vins.

I. 1. 4. Effets organoleptiques

L'effet décolorant du SO₂ est directement observable sur les moûts et vins blancs et rouges [11] [12]. Cet effet résulte de la réduction chimique des composés bruns issus des oxydations et/ou d'un changement de structure des anthocyanes et des tanins. Le SO₂ joue ainsi un rôle de « protecteur de la couleur » à long terme.

Selon la quantité employée, l'utilisation de dioxyde de soufre peut avoir un impact important lors de la dégustation du vin. En quantité « normale », le sulfitage apporte souvent une amélioration sensible au goût des vins [11]. Il conserve toutefois les arômes du vin. Par exemple, il a une action protectrice sur certains arômes de types thiols. Il neutralise les odeurs souvent désagréables de diverses substances en se combinant à celles-ci. En effet, en combinant l'éthanal et d'autres produits similaires, le SO₂ protège l'arôme des vins et fait disparaître le caractère « éventé », l'odeur de pommes trop mûres [13] qui est désagréable et rédhibitoire pour la quasi-totalité des vins [7].

De plus, en créant un milieu réducteur convenable en bouteille, le dioxyde de soufre favorise le développement du bouquet des vins.

A l'inverse, mal utilisé, le dioxyde de soufre déprécie les qualités gustatives des vins. Il en neutralise l'arôme, il leur confère dureté, odeurs et goûts de réduction. Son odeur suffocante l'emporte sur les arômes. Les vins présentent alors une odeur désagréable et irritante.

I. 2. La chimie du dioxyde de soufre

I. 2. 1. Propriétés physico-chimiques

Le SO₂ est un gaz incolore, dense et toxique dont l'inhalation est fortement irritante. Il est libéré dans l'atmosphère terrestre par les volcans ainsi que par de nombreux procédés industriels. Il est également obtenu par la combustion de certains charbons, pétroles et gaz naturels non désulfurés.

Il présente les caractéristiques suivantes :

- masse moléculaire : 64,06 g/mol
- température de fusion : -75 °C
- température d'ébullition : -10 °C
- masse volumique sous forme gazeuse : 2,9 g/L ; sous forme liquide : 1400 g/L

Le *Tableau 1* ci-dessous indique la tension de vapeur du SO₂ à différentes températures.

Température (°C)	-40	-10	0	10	20	30
Tension de vapeurs (bars)	0,225	1,063	1,628	2,398	3,425	4,764

Tableau 1: Tension de vapeur du dioxyde de soufre en fonction de la température

Le SO₂ est soluble dans l'eau. Sa solubilité est donnée par la formule suivante :

$S \text{ (g/g}_{\text{eau}}) = 0,2322 e^{-0,0262T}$ (où T est la température en degré Celsius). Elle diminue donc avec la température [14] (**Figure 1**).

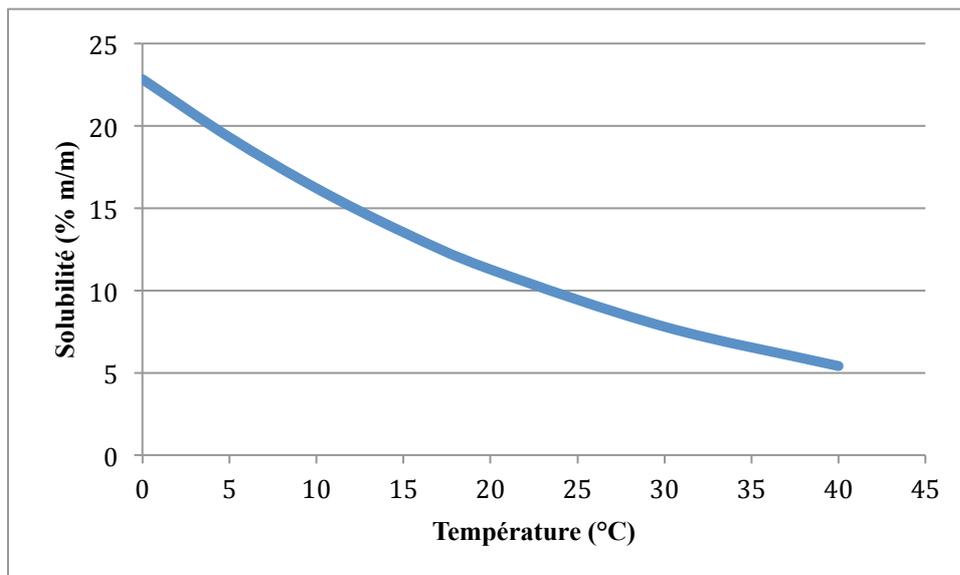


Figure 1: Solubilité du dioxyde de soufre dans l'eau en fonction de la température

I. 2. 2. Chimie du SO₂ en phase aqueuse : notion de SO₂ libre

En solution aqueuse, la forme moléculaire du dioxyde de soufre SO₂ ne peut exister telle quelle car elle réagit quasi instantanément avec l'eau pour donner l'acide sulfureux H₂SO₃, qui est un acide faible, selon l'équilibre suivant :



L'acide sulfureux peut se dissocier et est ionisé en ion hydrogénosulfite HSO₃⁻ et en ion sulfite SO₃²⁻ selon les équations suivantes (**Figure 2**) :

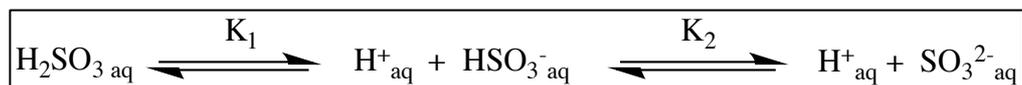


Figure 2: Equilibre réactionnel du dioxyde de soufre en solution aqueuse

Partie A : Bibliographie générale

Ces deux équilibres acido-basiques sont régis par les équations suivantes :

$$K_1 = \frac{[HSO_3^-]_{aq}[H^+]_{aq}}{[H_2SO_3]_{aq}}$$

$$K_2 = \frac{[SO_3^{2-}]_{aq}[H^+]_{aq}}{[HSO_3^-]_{aq}}$$

Où K_1 et K_2 sont les constantes de dissociation de l'acide sulfureux.

A 20 °C, dans l'eau $pK_1 = 1,81$ et $pK_2 = 6,91$.

Les constantes des équilibres acido-basiques permettent d'écrire :

$$pK_1 = pH - \log \frac{[HSO_3^-]_{aq}}{[H_2SO_3]_{aq}}$$

$$pK_2 = pH - \log \frac{[SO_3^{2-}]_{aq}}{[HSO_3^-]_{aq}}$$

L'équilibre chimique entre les différentes formes du SO_2 est fortement dépendant du pH. En utilisant les deux formules de pK ci-dessus ainsi que leurs valeurs respectives, il a été possible de calculer le pourcentage de répartition de chaque forme du SO_2 en fonction du pH [15] [16] **(Figure 3)**.

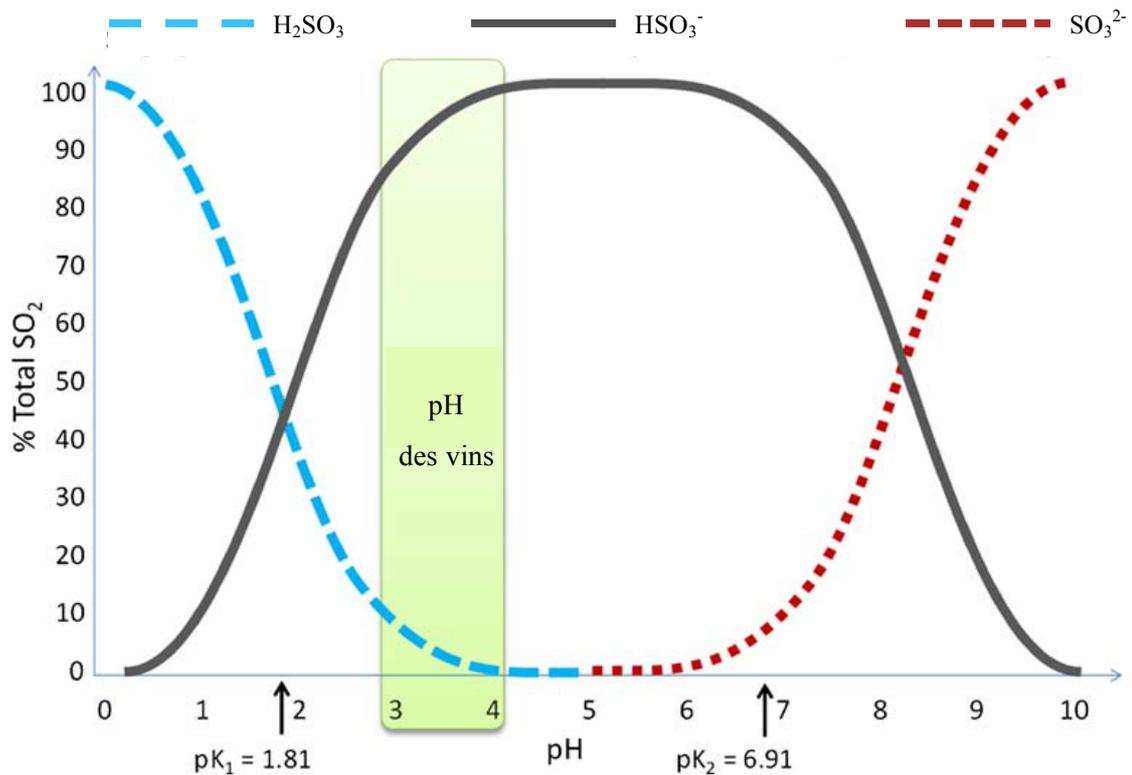


Figure 3: Pourcentage des différentes formes du dioxyde de soufre en solution aqueuse en fonction du pH

On observe que le SO₂ moléculaire (H₂SO₃ sous forme moléculaire) est la forme largement prédominante lorsque le pH est inférieur à 2 [17]. Entre pH = 2 et pH = 7 c'est la forme bisulfite qui est la plus présente. Au delà de pH = 7 c'est l'ion sulfite qui est présent en grande majorité.

Aux pH des vins (variant entre pH = 3 et pH = 4), le SO₂ est essentiellement sous la forme d'ions bisulfites. Les ions sulfites sont absents et le pourcentage de SO₂ moléculaire varie entre 6 et 0,6 %.

La valeur du pK est influencée par différents paramètres qui sont la température, le taux d'alcool et la force ionique (somme des activités des ions du milieu, exprimée en moles/L). Ces facteurs influencent donc la proportion de dioxyde de soufre à l'état de SO₂ actif [18].

La plupart des effets du SO₂ sont habituellement attribués au SO₂ libre mais il a été observé que l'essentiel de cette activité est liée au taux de SO₂ moléculaire encore appelé SO₂ actif [16].

Aux pH des vins, la forme anionique HSO₃⁻ est la seule pouvant exister en équilibre avec une faible proportion de SO₂ moléculaire dissous. L'ion hydrogénosulfite et le SO₂ actif

représentent le dioxyde de soufre libre.

I. 2. 3. Etat du dioxyde de soufre dans les vins

Le dioxyde de soufre peut être ajouté à différentes étapes de la vinification :

- A la vendange : il est introduit sous la forme de métabisulfite ($S_2O_5^-$) afin de limiter l'action des levures sauvages et prévenir l'oxydation.

- Pendant le foulage : le dioxyde de soufre est ajouté pour éviter un début de fermentation avec les levures sauvages. Les levures cultivées sont sélectionnées pour mieux résister au soufre.

- Lors de la fermentation : il est ajouté à n'importe quel moment mais le plus souvent à la fin de la fermentation pour stopper ou empêcher une fermentation malolactique.

- Au moment de la mise en bouteille : afin de prévenir l'oxydation (ou toute autre action microbienne) dans la bouteille de vin. Dans les vins sucrés, il y a un risque de voir la fermentation reprendre.

Le SO_2 est introduit dans le vin sous plusieurs formes :

- par combustion du soufre (S) dans le récipient qui va contenir le vin. Ce procédé appelé le « méchage » est le plus ancien ayant prouvé son efficacité depuis des siècles. Il est adapté au sulfitage des barriques car il permet d'aseptiser en profondeur. C'est une technique simple et économique mais elle est peu précise, corrosive pour les matériaux et de mise en œuvre désagréable.

- sous forme gazeuse avec un siphon doseur à partir de gaz pur liquéfié sous pression. Le SO_2 liquide génère le SO_2 gazeux par détente. Son injection directe dans les vins produit un effet de choc par formation de SO_2 actif résultant de la dissolution dans le moût ou le vin et agissant avant de se combiner. C'est un produit pur et économique utilisé pour les gros volumes.

- à partir de solutions sulfureuses obtenues avec ce même gaz qui est dissous dans des solutions aqueuses. La concentration est comprise entre 5% et 10% (soit 50 à 100 g de SO_2 par litre) et au dessus de 5% la stabilité de la teneur en SO_2 est réduite. C'est également un produit pur mais avec une odeur désagréable pouvant être dangereux s'il est utilisé en locaux mal ventilés car il provoque des suffocations et des irritations des voies respiratoires.

- à partir de métabisulfite (ou pyrosulfite) alcalin ($K_2S_2O_5$) en poudre ou en solutions concentrées généralement à 8 %, voire 16 %. Il libère le SO_2 dans les moûts et vins. C'est un

produit hygroscopique peu stable et d'usage limité dans le temps.

Aux pH des moûts et des vins, la fraction majeure du SO₂ est sous la forme nucléophile HSO₃⁻. Il peut donc se combiner à diverses molécules présentant un site électrophile telles que les nombreux dérivés carbonylés naturellement présents dans les vins pour donner une combinaison bisulfite selon une réaction réversible [19] [20] [21] [22].

L'équation générale de la réaction de combinaison est la suivante (**Figure 4**) :

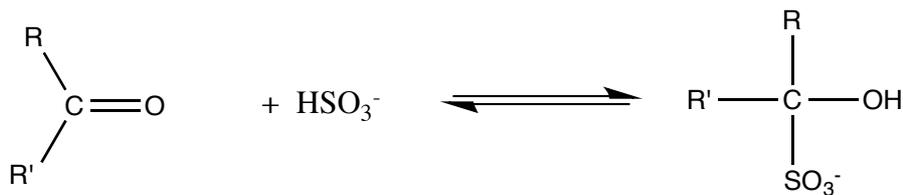


Figure 4: Formation de la liaison bisulfite

R' peut être un atome d'hydrogène (aldéhyde) ou un groupement carboné (cétone). On a donc une combinaison des dérivés carbonylés avec la forme la plus réactive du dioxyde de soufre pour donner un hydroxysulfonate [23].

Par rapport au SO₂ libre, le SO₂ combiné possède des propriétés antiseptiques ou antioxydantes beaucoup moins importantes, voire nulles [24].

La position de l'équilibre est régie par la loi d'action de masse définie par la constante de dissociation K_d dont la formule est :

$$K_d = \frac{[\text{RR}'\text{C}=\text{O}][\text{HSO}_3^-]}{[\text{RR}'\text{C}(\text{OH})\text{SO}_3^-]}$$

S'agissant d'une constante de dissociation, une valeur de K_d faible correspond à une forte combinaison et une valeur de K_d élevée à une faible combinaison.

Ainsi, pour des valeurs faibles de K_d, inférieures à 0,01 mmol/L, la combinaison est pratiquement totale pour des teneurs très faibles en SO₂ libre, inférieures à 5-10 mg/l.

Pour des valeurs élevées, comprises entre 1 et 10 mmol/L, la combinaison varie fortement avec la teneur en SO₂ libre et la combinaison n'est jamais totale. Elle croît si le SO₂ libre augmente, mais elle décroît s'il diminue, en libérant du SO₂ libre.

On peut dire que les substances à K_d faible conduisent à du SO_2 combiné « bloqué » tandis que les substances à K_d plus élevé produisent du SO_2 combiné « libérable ».

Ainsi, lorsqu'on ajoute du dioxyde de soufre dans les vins, il s'établit un équilibre entre les différentes formes du SO_2 et une partie se combine aux dérivés carbonylés naturellement présents dans les vins. La somme du SO_2 libre et du SO_2 combiné constitue le SO_2 total.



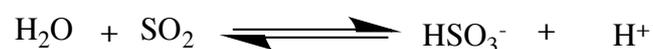
Il est indispensable de pouvoir déterminer la quantité de SO_2 présente dans les vins afin de s'assurer qu'il y a suffisamment de SO_2 libre permettant au vin d'être stable pendant plusieurs mois (voire années). Pour cela, plusieurs méthodes de dosage ont été développées et permettent de connaître les concentrations en SO_2 libre et en SO_2 total dans les vins.

I. 3. Méthodes de dosage du dioxyde de soufre

Plusieurs techniques permettant de déterminer la concentration en SO_2 libre et total contenu dans les vins ont été développées. Quelques unes seront présentées ici.

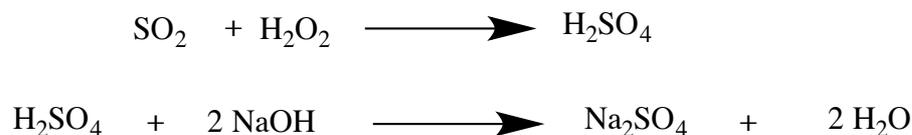
I. 3. 1. Méthode officielle de Franz-Paul [25]

C'est la méthode de référence selon l'Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV) et l'Union Européenne (UE) [26]. Elle est basée sur la distillation et le déplacement du SO_2 par un courant gazeux d'azote ou d'air à froid (pour doser le SO_2 libre) ou à chaud (pour doser le SO_2 total, la chaleur permettant la décombinaison), suivie d'une oxydation en sulfates et d'un dosage acidimétrique en présence d'un indicateur coloré. Le dioxyde de soufre est entraîné par un courant d'air après avoir été libéré en milieu fortement acide. Il est ensuite fixé et oxydé par barbotage dans une solution diluée et neutre de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). L'acide sulfurique formé est dosé par une solution titrée d'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence d'un indicateur coloré. Le SO_2 total est extrait du vin par un entraînement à chaud (environ 100°C) [27]. Le principe est donné par les équations suivantes :



Partie A : Bibliographie générale

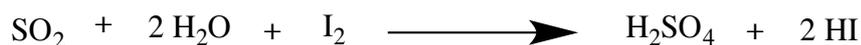
A pH fortement acide, l'équilibre est déplacé vers la gauche et fait passer la totalité du SO₂ sous forme gazeux.



Cette méthode de dosage est fiable avec une bonne répétabilité [27].

I. 3. 2. Méthode de Ripper

C'est la méthode la plus ancienne qui permet de doser le SO₂ par une solution titrée d'iode [5]. Le principe du dosage repose sur l'oxydation du dioxyde de soufre par l'iode en milieu acide.



Ce dosage n'est pas spécifique du SO₂ car il réagit avec de nombreux composés du vin tels que l'acide ascorbique ou les polyphénols. Une autre difficulté réside dans la détection de la fin du titrage qui se fait par changement de couleur de l'empois d'amidon ou du thiodène.

Cette méthode de dosage reste cependant très utilisée car elle est simple à mettre en œuvre, rapide, économique et possède une bonne répétabilité [27].

I. 3. 3. Méthode en flux continu

Le dosage en flux continu est maintenant largement développé et est basé sur l'injection d'un échantillon dans un courant d'une solution contenant un réactif [28]. Différentes méthodes de dosage en flux continu basées sur une détection colorimétrique ou potentiométrique ont été développées pour doser le SO₂ dans les vins [29]. Dans le cas de la détection par colorimétrie, le réactif le plus utilisé est le chlorure de [4-[Bis(4-aminophényl)méthylidène]-1-cyclohexa-2,5-diénylidène]azanium (pararosaniline) (**Figure 5**).

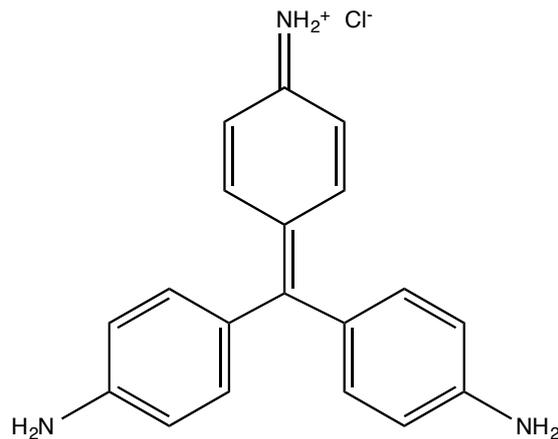


Figure 5: Structure de la pararosaniline

La pararosaniline en solution est de couleur pourpre. Le dioxyde de soufre a la propriété de pouvoir décolorer la solution de pararosaniline : on obtient le réactif de Schiff [30]. Ce complexe de pararosaniline avec le dioxyde de soufre est habituellement utilisé pour détecter la présence des aldéhydes. En effet, le réactif de Schiff réagit avec les aldéhydes qui redonnent une couleur pourpre à la solution [31] [32]. L'absorbance de la solution est mesurée à 550 nm. Grâce à ce procédé de coloration/décoloration et en mesurant l'absorbance des différents complexes, il est possible de déterminer la concentration en SO₂.

Principe du dosage : l'échantillon est injecté dans l'appareil et divisé en deux flux. Une partie pour doser le SO₂ libre et l'autre pour doser le SO₂ total. Le SO₂ est acidifié par de l'acide sulfurique pour le rendre gazeux (pour le SO₂ total une réaction préalable avec de la soude est réalisée pour libérer le SO₂ combiné). Ce flux gazeux est mélangé avec du formaldéhyde et cet intermédiaire réagit avec la p-rosaniline pour former un complexe coloré détecté à la longueur d'onde de 550 nm.

Cette méthode présente le grand avantage de pouvoir être automatisée ce qui permet un gain de temps considérable avec la possibilité de doser une centaine d'échantillons par heure. De plus, elle présente une bonne répétabilité.

La liste des méthodes existant est non exhaustive. Le dosage des concentrations en SO₂ libre et total est indispensable car le dioxyde de soufre est un composé toxique dont la quantité autorisée dans les vins est réglementée.

I.4. Toxicité du dioxyde de soufre et législation

La toxicité du SO₂ est étudiée depuis le début du XX^{ème} siècle et il s'avère qu'il a des effets nocifs pour la santé humaine. De nombreux auteurs se sont intéressés à l'action du SO₂ sur les organismes animaux et humains. Il a été prouvé que le SO₂ a des effets de suffocation, d'irritation et de troubles digestifs [33].

Ainsi, le SO₂ de provenance œnologique présente des risques pour la santé par inhalation et par ingestion. Pour ces raisons, des réglementations visant à limiter la quantité de dioxyde de soufre utilisée dans les vins ont été mises en place.

I. 4. 1. Toxicité par inhalation

Chez l'homme, la principale voie d'exposition du SO₂ est l'inhalation. En effet, l'activité humaine libère chaque année de grandes quantités de SO₂ conduisant à des taux atmosphériques variables (de 0,03 à des centaines de ppm) pouvant provoquer des étournelements, des irritations et des rougissements chez les sujets.

Selon les concentrations de dioxyde de soufre retrouvées dans l'air et dans l'atmosphère on distingue différents seuils [7] (*Tableau 2*).

Concentration en SO ₂ (ppm)	Seuil
0,1 à 5	Perception
2	Irritation
3 - 4	« Piquant »

Tableau 2: Seuils de concentration de SO₂ dans l'air

Le SO₂ est un gaz soluble dans l'eau qui est rapidement absorbé par les muqueuses des voies respiratoires ce qui explique que la plupart des effets liés au SO₂ soient respiratoires [34]. Une inhalation de concentrations élevées de SO₂ peut avoir des effets graves sur la santé. Une exposition à des concentrations inférieures ou égales à 50 ppm provoque une irritation des muqueuses telle que rhinite, laryngite, bronchite et conjonctivite. Une exposition à une concentration en SO₂ comprise entre 50 et 100 ppm provoque une irritation des voies pulmonaires, une suffocation et une cyanose. Une inhalation directe de dioxyde de soufre pur

entraîne des lésions irréversibles des voies respiratoires, par destruction quasi-totale des poumons par brûlure pouvant conduire à la mort [35].

Les personnes souffrant d'affection respiratoire comme l'asthme présentent une plus grande sensibilité à l'exposition au dioxyde de soufre, même si elle est modérée [36].

I. 4. 2. Toxicité par ingestion

Le SO₂ est utilisé comme additif dans de nombreux aliments pour prévenir leur oxydation ou une altération microbienne. Le vin constitue la principale source alimentaire contenant du SO₂ en Occident [7]. Les effets que peuvent produire une ingestion de SO₂ dépendent de la dose ingérée et sont résumés dans le *Tableau 3* [37] [38] :

Quantité de SO ₂ ingérée (mg)	Effets chez l'homme. Symptômes observés chez la plupart des patients
Doses uniques 5 à 10	Maux de tête, douleurs corporelles, nausées, vomissements, diarrhées (sujets présentant vraisemblablement une hypersensibilité au SO ₂)
245 à 600	Vomissements importants, troubles de la digestion
1200 (sur 2 jours)	Étourdissements, vomissements, diarrhées, cyanose
Supérieure à 1200	Insuffisance cardiaque, ralentissement de la respiration, dilatation de la pupille et perte de reflexes
Doses répétées 200 à 1000	Maux de tête, étourdissements, perte de poids corporel, diminution des érythrocytes, des leucocytes, de l'hémoglobine

Tableau 3: Effets de l'ingestion de doses uniques et/ou répétées de SO₂ chez l'homme

Partie A : Bibliographie générale

Certaines personnes présentent une plus grande sensibilité au SO₂ que d'autres ce qui fait que les effets causés sont différents d'un individu à l'autre. Il n'est donc pas possible de définir une toxicologie exacte du dioxyde de soufre.

Des études ont été menées sur l'animal et ont montré que, suivant l'espèce considérée et pour une prise unique de sulfite de sodium, la DL₅₀ (dose causant la mort de 50 % d'une population) est comprise entre 0,7 et 2,5 g de SO₂ par kilogramme de poids corporel (*Tableau 4*). La toxicité aiguë (définie par la DL₅₀) est à peu près identique à celle du sel de cuisine ou du bicarbonate de sodium.

Sujets expérimentés	Doses létales (en mg de SO ₂ /kg de poids corporel)
Souris/rats	1780 / 1540
Lapin	700
Mouton	2500

Tableau 4: DL₅₀ du SO₂ chez certains animaux

La dose journalière admissible pour l'homme (DJA) de SO₂ est fixée à 0,7 mg/kg/jour soit 49 mg/jour pour une personne de 70 kg [7].

Le SO₂ présente une action mutagène à très forte concentration (64 g/L) et uniquement in vitro. Il ne présente aucun effet tératogène ni cancérigène.

Le SO₂ est un composé toxique aussi bien par inhalation que par ingestion. Une réglementation stricte autour de l'utilisation du SO₂ dans les vins a été mise en place.

I. 4. 3. La législation actuelle concernant le SO₂ dans les vins

Les effets toxiques du dioxyde de soufre sont importants et connus depuis longtemps. Depuis plus d'un siècle, de nombreuses réglementations ont encadré les taux de SO₂ total et parfois de SO₂ libre autorisés dans les vins [7]. Voici quelques exemples de réglementation à travers le temps dans plusieurs pays :

- 1867 : l'Autriche limite le SO₂ libre à 20-80 mg/L
- 1900 : l'Italie limite le SO₂ libre à 20 mg/L et le SO₂ total à 200 mg/L
- 1901 : la France propose 200 mg/L puis 350 mg/L de SO₂ total

Partie A : Bibliographie générale

-1905 : les Etats-Unis limitent le SO₂ total à 200 mg/L pour les vins secs et à 350 mg/L au-dessus de 30 g/L de sucres

-1970 : le règlement européen CEE n°816/70 du 12 juillet 1970 entraîne la première forte réduction en ramenant les taux maximums à 200-350 mg/L de SO₂ total selon les types de vins.

Les normes actuelles basées sur le règlement CE n°606/2009 selon les catégories des vins sont les suivantes :

-vins secs : sucres inférieurs à 5 g/L

-rouges : 150 mg/L

-blancs et rosés : 200 mg/L

-vins avec sucres supérieurs à 5 g/L

-rouges : 200 mg/L

-blancs et rosés : 250 mg/L

-dérogation à 300 mg/L pour diverses AOC (appellation d'origine contrôlée) de vins blancs et moelleux

-dérogation à 400 mg/L pour des AOC produites à partir de raisins botrytisés, récoltés par tries successives : vin liquoreux

-vins effervescents de qualité : 185 mg/L

-vins effervescents : 235 mg/L

Ces valeurs réglementaires sont évolutives selon les années et les types de vins, d'où la nécessité et l'obligation de consulter la réglementation en vigueur à la date des opérations.

Depuis 2009, les étiquettes des vins et autres produits contenant plus de 10 mg/L de SO₂ doivent porter l'indication « contient des sulfites » ou une mention équivalente.

II- Les dérivés carbonylés

Les études menées depuis plusieurs années ont mis en évidence plusieurs dizaines de composés carbonylés combinant le SO₂ dans les moûts et les vins [7]. Ces composés carbonylés peuvent être classés en fonction de leur structure chimique et on distingue :

- les aldéhydes et cétones neutres
- les acides carbonyliques
- les sucres et les acides dérivés des sucres

Les sucres sont naturellement présents dans les raisins et les moûts. Les autres composés sont produits lors du métabolisme de la vigne et lors des fermentations par les levures et bactéries. La participation de chaque composé à la combinaison du SO₂ va dépendre de la constante de dissociation K_d de chaque composé et de leur teneur dans les vins (**Tableau 5**) [7].

	Nom	Formule chimique	Masse molaire (g/mol)	K _d	Teneurs moyennes dans les vins (mg/L)
Aldéhydes et cétones neutres	Ethanal	CH ₃ -CHO	44	0,0024	100
	Glycéraldéhyde	CH ₂ OH-CHO	90	0,4	20
	Glyoxal	CHO-CHO	58	0,15	5
Acides carbonyliques	Acide pyruvique	CH ₃ -CO-COOH	88	0,3	150
	Acide 2-oxoglutarique	COOH-CO-CH ₂ -CH ₂ -COOH	144	0,5	150
	Acide glyoxilique	CHO-COOH	74	0,008	5
Sucres et dérivés	Glucose	CH ₂ OH-(CHOH) ₄ -CHO	180	900	50000
	5-oxofrucose	CH ₂ OH-CO-(CHOH) ₂ -CO-CH ₂ OH	178	0,4	100
	Acide galacturonique	COOH-(CHOH) ₄ -CHO	212	17	300

Tableau 5 : Quelques dérivés carbonylés pouvant combiner le SO₂

Un grand nombre de dérivés carbonylés est capable de combiner le SO₂. Leur participation à la combinaison du SO₂ va dépendre en particulier de leur K_d et de leur concentration dans les vins.

Pour les composés ayant une valeur de K_d faible (inférieur à 0,01 mmol/L), la combinaison avec le SO₂ est pratiquement totale. C'est le cas de l'éthanal (K_d = 0,0024 mmol/L) et de l'acide glyoxilique (K_d = 0,008 mmol/L). La teneur en acide glyoxilique est très faible (5 mg/L). Ce composé ne peut pas être considéré comme un acteur de la combinaison du SO₂ malgré la valeur faible de son K_d.

Pour les composés ayant une valeur de K_d comprise entre 0,1 et 10 mmol/L, la combinaison avec le SO₂ a lieu mais elle n'est jamais totale. C'est le cas par exemple de l'acide pyruvique, de l'acide 2-oxoglutarique, du 5-oxofructose, du glyoxal et du glycéraldéhyde. Les teneurs en glyoxal et en glycéraldéhyde sont inférieures à 100 mg/L. Nous avons donc décidé de ne pas tenir compte de ces composés comme principaux acteurs de la combinaison du SO₂. Le 5-oxofructose a un K_d faible et sa teneur dans les vins est de l'ordre de 100 mg/L. Il a donc une responsabilité non négligeable dans la combinaison du SO₂ mais des travaux antérieurs ont montré qu'il est difficile de doser ce composé en solution [39]. Nous n'avons pas tenu compte du 5-oxofructose dans cette étude.

Les autres composés tels que le glucose ou l'acide galacturonique ont des teneurs dans les vins très élevées (surtout le glucose avec 50000 mg/L) mais des valeurs de K_d très élevées. Ils ne participent quasiment pas à la combinaison du SO₂.

Ainsi, trois composés ont été retenus comme principaux responsables de la combinaison du SO₂ : il s'agit de l'éthanal, de l'acide pyruvique et de l'acide 2-oxoglutarique qui présentent des valeurs de K_d faibles et des teneurs importantes dans les vins (supérieures ou égales à 100 mg/L).

II. 1. L'éthanal ou acétaldéhyde

L'éthanal est un produit intermédiaire de toute fermentation alcoolique et il est présent dans tous les vins [7] (**Figure 6**). La présence d'éthanal, qui représente environ 90 % du total des aldéhydes des vins, peut avoir diverses origines [40]. L'éthanal est formé par les levures pendant la fermentation alcoolique, par décarboxylation de l'acide pyruvique [23] [24]. Il est également formé par oxydation directe de l'éthanol mais ce processus est normalement limité et négligeable.

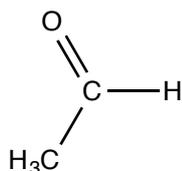


Figure 6: Structure de l'éthanal ou acétaldéhyde

C'est un composé volatil capable de se combiner avec de nombreux composés présents dans les vins, et en particulier avec le SO_2 à travers une réaction stœchiométrique (1 mole d'éthanal combine 1 mole de SO_2). La réaction entre l'éthanal et le SO_2 représente la part la plus importante du SO_2 combiné dans les vins (**Figure 7**).

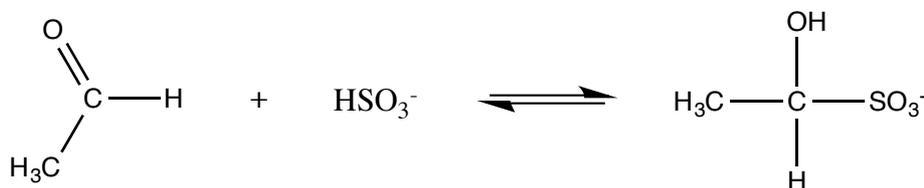


Figure 7: Combinaison de l'éthanal avec le SO_2

La combinaison entre l'éthanal et le SO_2 est rapide. Elle atteint 98 % en 90 min à $\text{pH} = 3,3$, en 5 h elle est totale [2]. Elle est stable dans les milieux acides. C'est sous la forme combinée qu'on retrouve de façon quasi exclusive l'éthanal (l'éthanal libre donne une odeur « éventée » au vin jugée désagréable dans la quasi-totalité des vins).

II. 2. L'acide pyruvique ou acide 2-oxopropanoïque

L'acide pyruvique est produit par plusieurs voies métaboliques telles que le cycle de Krebs (chaîne respiratoire cellulaire) et la fermentation alcoolique dont il est le produit final avant sa transformation en éthanal (**Figure 8**).

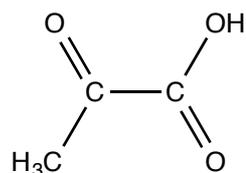


Figure 8: Structure de l'acide pyruvique

Sa teneur dans les vins peut atteindre 500 mg/L [18]. Compte tenu de la faible valeur de son K_d qui est de 0,3 mmol/L, il joue également un rôle important dans la combinaison bisulfite du SO_2 .

II. 3. L'acide 2-oxoglutarique ou acide 2-oxo-pentan-1,5-dioïque

L'acide 2-oxoglutarique se forme dans tous les raisins lors du cycle de Krebs et sa teneur augmente lors de la fermentation alcoolique [7] (**Figure 9**).

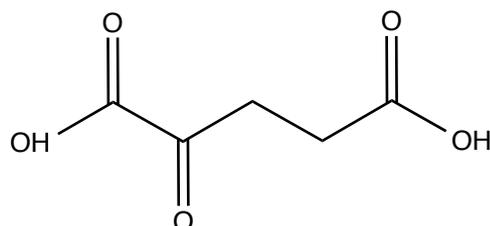


Figure 9: Structure de l'acide 2-oxoglutarique

Sa teneur moyenne dans les vins est de 150 mg/L et la valeur de sa constante de dissociation (K_d) est de 0,5 mmol/L [20]. Ce composé participe à la combinaison du SO_2 .

Ces trois composés carbonyles ont été retenus comme étant les principaux responsables de la combinaison du SO_2 . Ce sont ces composés que l'on va essayer d'extraire des vins afin de réduire le pouvoir de combinaison du SO_2 . Il est important d'étudier la réactivité des dérivés carbonyles afin d'identifier des molécules pouvant réagir avec ces derniers pour les extraire du vin.

II. 4. Réactivité des dérivés carbonyles

Il existe deux types de composés carbonyles : les aldéhydes et les cétones. Ces composés sont fréquemment retrouvés dans la nature et sont par exemple souvent liés aux goûts et arômes de nombreux aliments.

II. 4. 1. Généralités sur la réactivité des dérivés carbonyles

Le groupe carbonyle est un analogue oxygéné des alcènes. Il est constitué d'un atome de carbone et d'un atome d'oxygène tous deux hybridés sp^2 , situés dans le même plan que les substituants liés à l'atome de carbone et avec des angles entre les liaisons valant environ 120° . A la perpendiculaire de cette structure moléculaire apparaissent deux orbitales p , une sur le carbone et l'autre sur l'oxygène, formant la liaison π .

La molécule est plane avec un carbone carbonyle trigonale et une courte liaison carbone-oxygène du fait de son caractère de double liaison. Cette liaison est plutôt forte se situant dans la fourchette de 175-180 kcal/mol. L'atome d'oxygène porte deux doublets non liants et du fait de sa plus grande électronégativité que l'atome de carbone, cela induit une polarisation de la double liaison carbone-oxygène. L'atome de carbone présente une charge positive partielle alors que l'atome d'oxygène présente une charge négative partielle (**Figure 10**). De la sorte, le carbone est rendu électrophile tandis que l'oxygène devient nucléophile et légèrement basique [43].

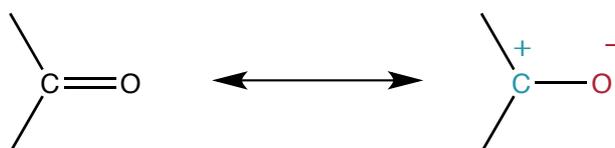


Figure 10 : Polarisation de la liaison carbone-oxygène de la fonction carbonyle

Le moment dipolaire de cette liaison est d'environ 2,7 Debye [43] [44].

Les aldéhydes et les cétones possèdent trois sites réactionnels où se déroulent la plupart des réactions (**Figure 11**) :

-l'atome d'oxygène qui est une base au sens de Lewis et sensible à une attaque par des électrophiles

-l'atome de carbone carbonyle qui est électrophile et donc sensible aux attaques nucléophiles

-l'atome de carbone en α de la fonction carbonyle qui porte un proton acide

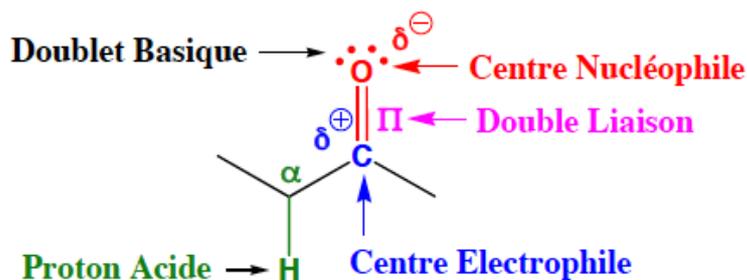


Figure 11: Sites réactionnels des aldéhydes et cétones

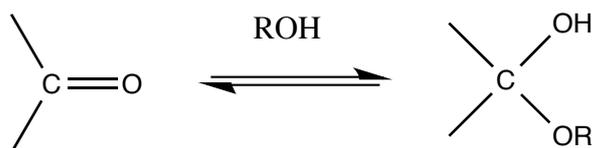
Pour réaliser l'extraction des dérivés carbonylés des vins, il est nécessaire d'identifier un réactif susceptible de créer une liaison covalente forte avec un dérivé carbonylé. Les principales réactions avec les dérivés carbonylés permettant de créer une liaison covalente sont les additions nucléophiles. Il sera nécessaire de trouver un réactif nucléophile qui réagira par une attaque nucléophile sur le carbone du carbonyle avec si possible un déplacement total de l'équilibre vers les produits. De nombreuses réactions d'addition nucléophile sur les dérivés carbonylés peuvent être réalisées : soit il s'agit d'une simple addition, soit d'une addition suivie d'une élimination. Etant donné qu'il ne faut absolument pas que des composés soient libérés dans le vin lors de cette extraction, seules les additions suivies d'une élimination d'eau peuvent être envisageables pour cette étude. La réaction doit se faire sans catalyseurs car ils seraient une source de contamination des vins. De plus, il faut que les molécules pouvant créer une liaison covalente avec les dérivés carbonylés puissent également être fixées sur un support solide par une fonction secondaire. Le composé qui sera retenu pour extraire les dérivés carbonylés des vins devra répondre à tous ces critères.

II. 4. 2. Quelques exemples d'additions nucléophiles

-Addition d'eau ou d'alcool

Dans le cas d'addition simple sur le carbone du carbonyle, aucun composé n'est libéré dans le milieu. On a par exemple l'hydratation des groupes carbonyles qui donne un diol géminé (encore appelé hydrate de carbonyle) ou l'addition d'alcool en catalyse acide qui conduit à la formation d'hémiacétals.

Ces réactions d'addition simple sont intéressantes mais régies par des équilibres qui sont en faveur du dérivé carbonylé de départ. Les hydrates de carbonyle et les hémiacétals ne sont habituellement pas isolables ce qui n'est pas compatible avec l'extraction des dérivés carbonylés (**Figure 12**).



si R = H: diol géminé

Figure 12: Formation d'hémiacétal

En présence d'un excès d'alcool ou de diol et sous catalyse acide, la réaction se poursuit au delà du stade d'hémiacétal pour former un acétal qui est une entité de type éther (**Figure 13**). Cette réaction étant réversible, elle peut servir à protéger le groupe carbonyle ce qui peut s'avérer indispensable pour certaines réactions. Il y a libération d'eau dans le milieu.

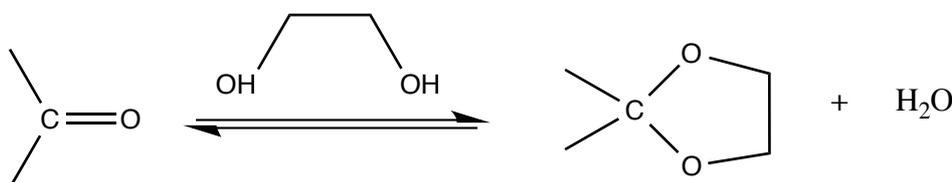


Figure 13: Formation d'acétal

Les acétals sont stables vis-à-vis de l'hydrolyse en milieu basique alors qu'ils sont rapidement hydrolysés en milieu acide. La constante d'équilibre de la synthèse des acétals est de l'ordre de 1,58 [43]. La position de l'équilibre n'est pas favorable au produit. Pour que la synthèse de

l'acétal soit complète, il faut soit utiliser un agent déshydratant soit piéger l'eau de façon irréversible par une distillation azéotrope. Cette réaction n'est pas envisageable dans les vins.

-Addition de composés azotés

Les amines sont des analogues azotés de l'eau et des alcools. Elles s'additionnent, comme les alcools, très bien sur les aldéhydes et cétones. L'ammoniac et les amines primaires s'additionnent pour former des imines avec libération d'eau dans le milieu (**Figure 14**).

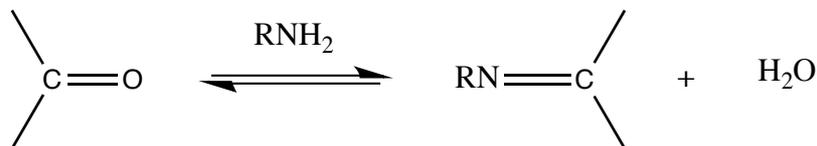


Figure 14: Formation des imines

Comme les acétals, les imines sont très sensibles à l'hydrolyse [45]. La réaction doit se faire en présence d'agent déshydratant ou avec une distillation azéotrope pour favoriser le déplacement chimique vers la formation des imines. Un tel procédé ne peut pas être utilisé dans notre étude.

Les hydrazines de la forme RNHNH₂ et leurs dérivés réagissent bien avec les dérivés carbonyles pour former des hydrazones [46]. Parmi les dérivés d'hydrazines, les sulfonylhydrazines de la forme RSO₂NHNH₂, où R est un groupe alkyle ou aryle, ont déjà fait l'objet d'étude pour l'extraction des dérivés carbonyles et elles ont montré des résultats encourageants [39]. Les sulfonylhydrazines réagissent avec les dérivés carbonyles pour former des sulfonylhydrazones avec élimination d'eau dans le milieu suivant un mécanisme d'addition-élimination [47] (**Figure 15**).



Figure 15 : Synthèse d'une sulfonylhydrazone

Pour mettre en œuvre l'extraction des dérivés carbonylés, la sulfonylhydrazine a été retenue comme fonction extractive. La sulfonylhydrazine doit être fixée sur un support solide inerte.

La réactivité des dérivés carbonylés a permis de sélectionner une fonction chimique qui permettra de les extraire des vins. Pour s'assurer que les dérivés carbonylés soient effectivement extraits du milieu, il faut utiliser une méthode d'analyse facile à mettre en œuvre et sélective de chaque dérivé carbonylé. La méthode d'analyse des dérivés carbonylés qui a été retenue est la méthode de dosage enzymatique.

II. 5. Dosages enzymatiques

II. 5. 1. Intérêt des dosages enzymatiques

Les enzymes sont des macromolécules biologiques dont le rôle est de catalyser les différentes réactions de transformations qui se produisent dans les organismes vivants [48] [49]. Il s'agit la plupart du temps de protéines mais il existe un petit nombre d'enzymes constituées d'ARN : il s'agit alors de ribozymes. Les enzymes agissent en abaissant l'énergie d'activation des réactions qu'elles catalysent ce qui permet de multiplier les vitesses des réactions par des facteurs compris entre 10^6 et 10^{12} par rapport aux mêmes réactions sans catalyseur. Elles sont plus efficaces que les catalyseurs chimiques.

Les réactions catalysées par des enzymes ont lieu dans des conditions relativement douces : températures inférieures à 100°C , pression atmosphérique. Elles ne nécessitent pas la mise sous atmosphère inerte, contrairement aux catalyseurs chimiques fragiles [50]. Les enzymes ne sont pas modifiées au cours de la réaction et ne modifient pas l'équilibre chimique entre le substrat et le produit.

Pour agir, les enzymes doivent tout d'abord se lier à leur substrat (réactif) avant de pouvoir catalyser la réaction chimique. Elles présentent des spécificités beaucoup plus grandes vis-à-

Partie A : Bibliographie générale

vis de leurs substrats et de leurs produits que les catalyseurs chimiques. Cette spécificité est en partie due à la conformation de leur site de liaison qui présente une complémentarité de forme et de propriétés d'hydrophobie/hydrophilie avec le substrat (modèle clé-serrure) [51]. De plus, les acides aminés qui constituent le site de liaison sont disposés afin d'interagir spécifiquement avec le substrat pour l'attirer (complémentarité électronique).

L'intérêt de l'utilisation des enzymes dans les analyses tient principalement dans leur capacité à réagir spécifiquement avec un composé précis dans un mélange [52]. Ceci permet d'éliminer toutes les étapes de séparation des composés et diminue le temps nécessaire pour les analyses. Au regard des conditions douces utilisées, les enzymes offrent la possibilité de pouvoir détecter et mesurer des substances "labiles" qui ne pourraient pas être détectées par d'autres méthodes.

Pour étudier les réactions enzymatiques, la spectrophotométrie est la méthode la plus utilisée, aussi bien dans le domaine du visible que dans celui de l'ultraviolet. C'est une méthode analytique consistant à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique en solution à une longueur d'onde donnée [49]. Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de cette lumière est absorbée par le ou les solutés. L'intensité de la lumière transmise I est donc inférieure à celle de la lumière incidente I_0 . L'absorbance, grandeur sans unité est donc définie par le rapport suivant :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

D'après la loi de Beer-Lambert, à une longueur d'onde donnée, l'absorbance d'une solution contenant une molécule donnée est proportionnelle à la concentration ainsi qu'à la distance du trajet optique :

$$A = \epsilon l c$$

l étant le trajet optique (distance parcourue par le faisceau absorbé)

ϵ (en $\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) est le coefficient d'extinction molaire de la molécule qui absorbe. Ce coefficient rend compte de la capacité de cette substance à absorber la lumière à la longueur d'onde λ

c est la concentration de la substance absorbante

Pour que la loi de Beer-Lambert soit valide, la concentration doit être faible (de l'ordre de $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$) afin que les interactions entre molécules et les facteurs instrumentaux soient négligeables. Il faut également que la lumière utilisée soit monochromatique et que la solution soit limpide (sans précipité).

La loi de Beer-Lambert est additive. Dans le cas des mélanges homogènes dilués, les densités optiques des différentes espèces présentes dans le milieu sont additives.

$$A_i = l \sum_i \epsilon_i c_i$$

Pour leur activité, certaines enzymes nécessitent un ou plusieurs cofacteurs encore appelés coenzymes qui favorisent l'activité enzymatique [53] [54]. Parmi ces coenzymes, nous pouvons citer le couple NADH/NAD⁺ qui est associé à de nombreuses enzymes d'oxydoréduction. Le cycle du coenzyme permet le suivi de la réaction catalysée, même si les substrats et produits n'absorbent pas dans le domaine de l'ultraviolet et du visible comme c'est le cas pour les composés que nous étudions ici. En effet, le NADH possède un maxima d'absorption à la longueur d'onde de 340 nm. Il sera possible de suivre l'évolution de la réaction enzymatique à cette longueur d'onde. Une augmentation d'absorbance traduit une formation de NADH (réduction du substrat) tandis qu'une diminution d'absorbance traduit une consommation de NADH (oxydation du substrat) (**Figure 16**).

Forme oxydée NAD⁺

Forme réduite NADH

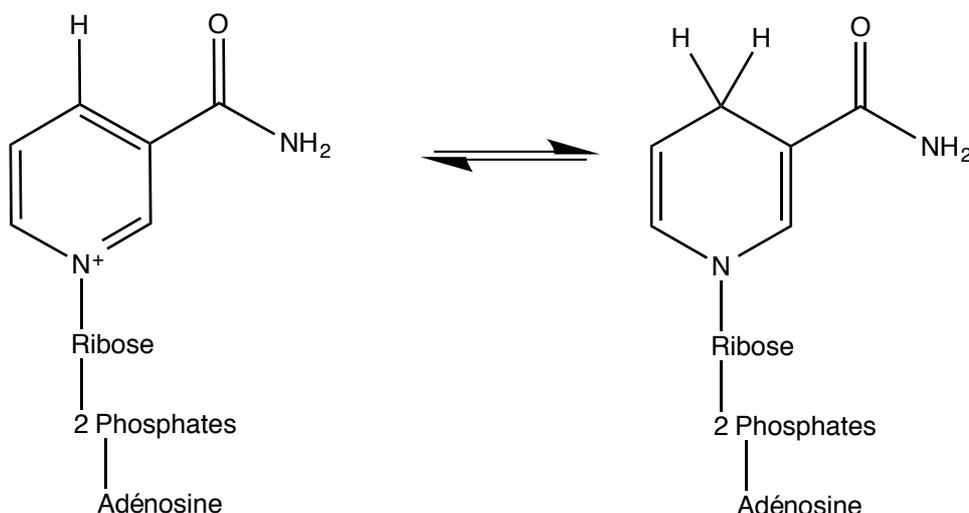


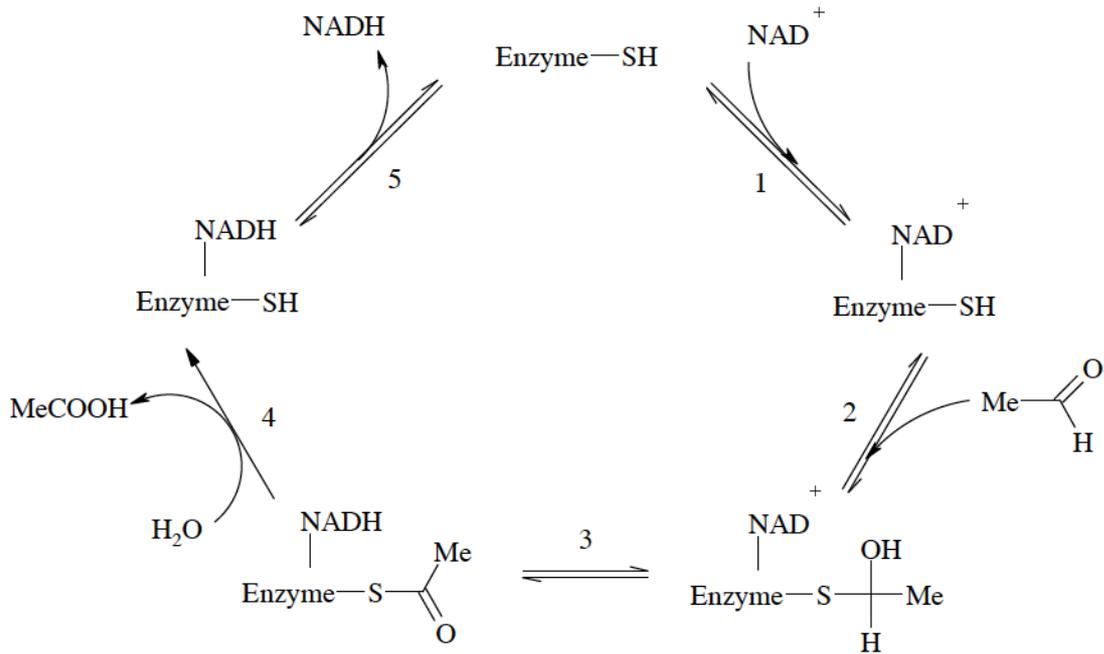
Figure 16: Forme oxydée et réduite du NAD(H)

II. 5. 2. Dosages enzymatiques utilisés

Plusieurs dosages enzymatiques ont été utilisés au cours de cette étude. Le dosage en parallèle de l'éthanal, de l'acide pyruvique et de l'acide 2-oxoglutarique, a permis de suivre l'évolution de la quantité de chaque dérivé carbonyle restant dans le milieu au cours des extractions réalisées. La spécificité de ces dosages permet de suivre l'évolution des composés aussi bien en mélange complexe que dans une solution ne contenant qu'un seul composé. Nous allons détailler les dosages enzymatiques utilisés.

II. 5. 2. a. Dosage enzymatique de l'éthanal

Le mécanisme du dosage enzymatique de la quantité d'éthanal restant en solution est représenté ci-après (**Figure 17**) [55]. En présence d'aldéhyde déshydrogénase qui est une enzyme catalysant la déshydrogénation d'une large variété d'aldéhydes [54], l'éthanal est oxydé en acide acétique par le NAD^+ . La quantité de NADH formée durant la réaction est proportionnelle à la quantité d'éthanal initialement présente. La réduction du NAD^+ est mesurée par l'augmentation de l'absorbance du NADH à la longueur d'onde de 340 nm.



- 1) Arrivée du NAD^+ à proximité des acides aminés Cys-243, Asp-114 et Glu-333 (qui permet la déprotonation d'une molécule d'eau),
- 2) Fixation de l'aldéhyde par la Cys-243 et la Asp-114 (liaison faible avec le proton de la fonction -OH),
- 3) Réduction du NAD^+ ,
- 4) Libération de l'acide acétique,
- 5) Départ du NADH.

Figure 17: Mécanisme de l'oxydation de l'éthanal en présence d'aldéhyde déshydrogénase

II. 5. 2. b. Dosage enzymatique de l'acide pyruvique

En présence de L-lactate déshydrogénase, le pyruvate est réduit en L-lactate par le NADH [56] (**Figure 18**). La quantité de NAD^+ formée durant la réaction est proportionnelle à la quantité de pyruvate initialement présente. L'oxydation du NADH est mesurée par la diminution de son absorbance à la longueur d'onde de 340 nm.

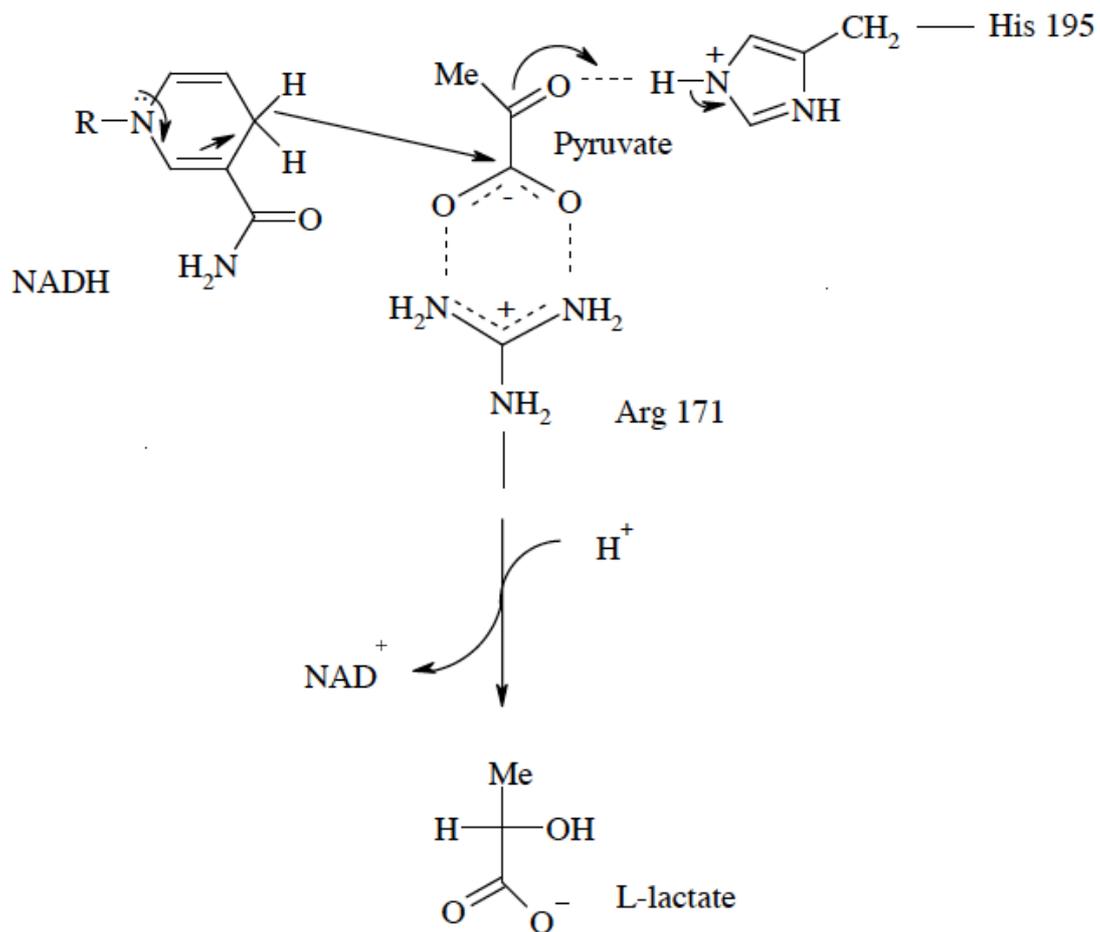


Figure 18: Mécanisme de la réduction de l'acide pyruvique en présence de la L-lactate déshydrogénase

II. 5. 2. c. Dosage enzymatique de l'acide 2-oxoglutarique

En présence de glutamate déshydrogénase, le 2-oxoglutarate réagit avec le NADH et les ions NH_4^+ pour former du L-glutamate et du NAD^+ [56]. La quantité de NAD^+ formée durant la réaction est proportionnelle à la quantité de 2-oxoglutarate initialement présente. L'oxydation du NADH est mesurée par la diminution de son absorbance à la longueur d'onde de 340 nm (Figure 19).

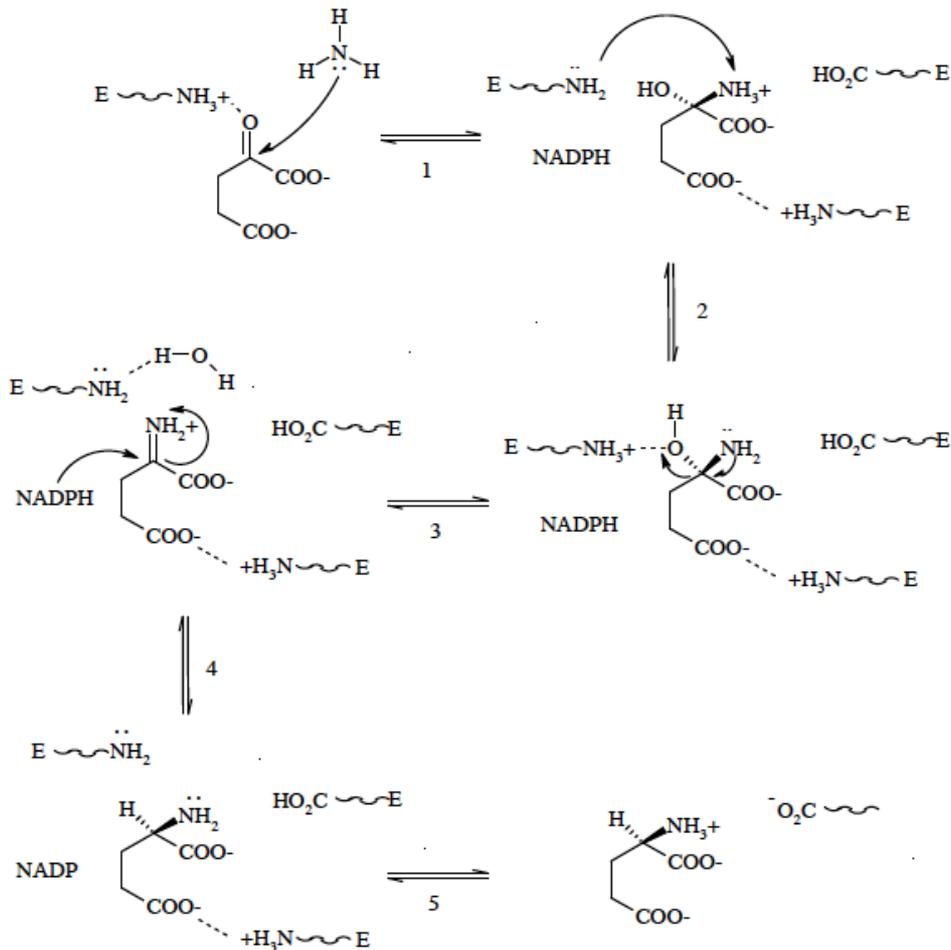


Figure 19: Mécanisme de la réduction de l'acide 2-oxoglutarique en présence de la L-glutamate déshydrogénase

L'intérêt des dosages enzymatiques est qu'ils sont spécifiques d'un composé particulier ce qui permet de doser chaque dérivé carbonylé dans un mélange complexe tel que le vin. Cette technique sera utilisée pour déterminer la concentration de chaque dérivé carbonylé dans le vin.

Trois dérivés carbonylés ont été retenus pour cette étude : l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique. L'étude de la réactivité des dérivés carbonylés a permis d'identifier une fonction chimique qui permettra de les extraire des vins : la fonction sulfonylhydrazine qui est un dérivé d'hydrazine. Il est important d'étudier plus en détail cette famille de composés.

III. Chimie de l'hydrazine

La chimie de l'hydrazine a été largement étudiée pendant près de trois-quarts de siècle entre la fin du XIX^{ème} siècle et le début du XX^{ème} siècle. Emil Fisher, en poursuivant ses travaux sur la réduction des composés diazoïques a permis, en 1875, d'isoler et de caractériser les dérivés organiques de l'hydrazine tels que les arylhydrazines [57]. Durant la seconde guerre mondiale, les allemands ont découvert la valeur de l'hydrazine comme carburant pour les fusées [58]. A la fin de la guerre, des industriels se sont intéressés aux applications non militaires de l'hydrazine. A l'heure actuelle, l'hydrazine et ses dérivés trouvent des applications dans divers secteurs. Elle est par exemple utilisée comme anticorrosif des surfaces métalliques ou des chaudières [59] [60]. C'est un intermédiaire dans la synthèse de nombreux médicaments [61], elle est utilisée dans les piles à combustibles [62] ou dans des pesticides.

III. 1- Propriétés physico-chimiques

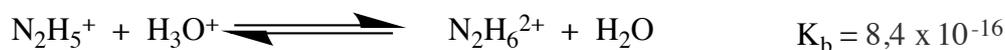
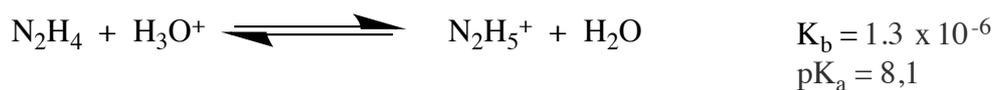
L'hydrazine de formule N_2H_4 est un composé chimique liquide incolore avec une odeur rappelant celle de l'ammoniac. Elle est constituée de deux unités d'ammoniac NH_3 couplées entre elles par perte d'une molécule d'hydrogène pour chaque unité. Dans cette molécule, les atomes d'azote adoptent une hybridation de type sp^3 et chaque unité NH_2 présente une forme pyramidale. La distance entre les deux atomes d'azote est de 145 picomètres.

L'hydrazine existe sous forme anhydre et sous forme hydratée (l'hydrate d'hydrazine). Une grande famille de dérivés de l'hydrazine est obtenue par substitution d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène par des groupes carbonés.

La forme anhydre de l'hydrazine a une masse moléculaire de 32 g/mol et elle est soluble dans l'eau en toute proportion ainsi que dans les solvants organiques polaires.

III. 1. 1. Comportement acido-basique

En solution aqueuse, l'hydrazine est une dibase [58] selon les deux équations acido-basiques suivantes :



Cette base entre en jeu dans des réactions acido-basiques [63] et à pH acide (comme dans les vins) c'est la forme N_2H_5^+ qui est majoritairement présente [64] (**Figure 20**).

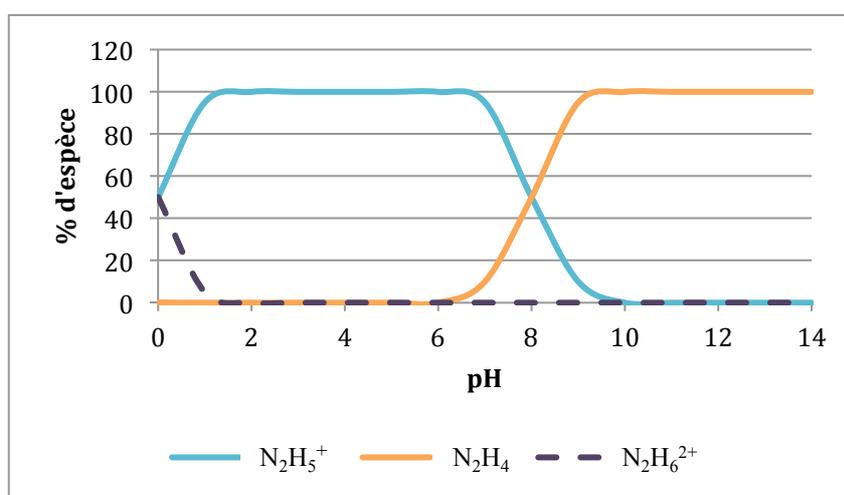


Figure 20 : Diagramme de répartition des différentes formes de l'hydrazine en fonction du pH à 25 °C

III. 1. 2. Comportement oxydo-réducteur

L'hydrazine a également des propriétés à la fois oxydante et réductrice.

La réaction d'oxydation de l'hydrazine sous forme neutre est donnée par l'équation suivante :



La réaction de réduction de l'hydrazine sous forme neutre est donnée par l'équation suivante :



L'hydrazine est plus connue comme étant un puissant agent réducteur inorganique volatil [65]. Les propriétés réductrices de l'hydrazine sont plus faibles en milieu acide qu'en milieu basique [66].

En plus de ses propriétés acido-basiques et oxydo-réductrices, l'hydrazine est un composé nucléophile qui intervient dans des réactions de chimie organique, notamment avec les dérivés carbonyles. C'est donc un composé largement utilisé en chimie.

III. 2. Utilisation en chimie de l'hydrazine

III. 2. 1. L'hydrazine utilisée en tant que composé nucléophile

L'hydrazine est un très bon nucléophile à cause de la répulsion entre les doublets non liants des atomes d'azotes adjacents [67]. Cette propriété permet à ce composé de réagir avec un grand nombre de composés chimiques permettant de former une grande famille de dérivés de l'hydrazine.

L'hydrazine peut réagir avec les cycles aromatiques substitués pour former la famille des arylhydrazines. On peut citer comme exemple la 2,4-dinitrophenylhydrazine qui est préparée par substitution nucléophile de l'hydrazine sur le 1-chloro (ou 1-bromo) benzène [68] (**Figure 21**).

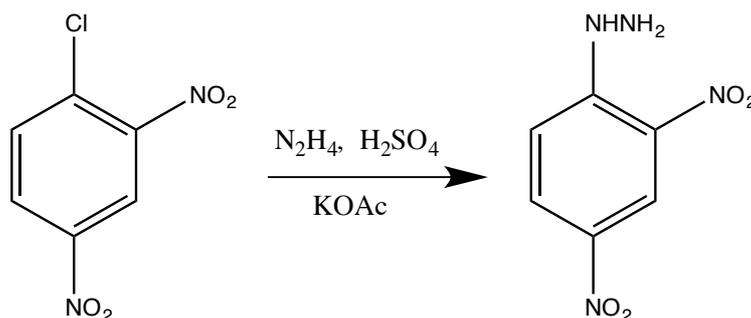


Figure 21 : Synthèse de la 2,4-dinitrophenylhydrazine

La réaction entre l'hydrazine et les dérivés carbonyles forme une hydrazone qui présente une double liaison carbone-azote. Cette réactivité permet de prouver la présence d'un dérivé carbonyle dans un milieu grâce à la 2,4-dinitrophenylhydrazine qui forme un précipité orange en présence de dérivés carbonyles [46] (**Figure 22**).

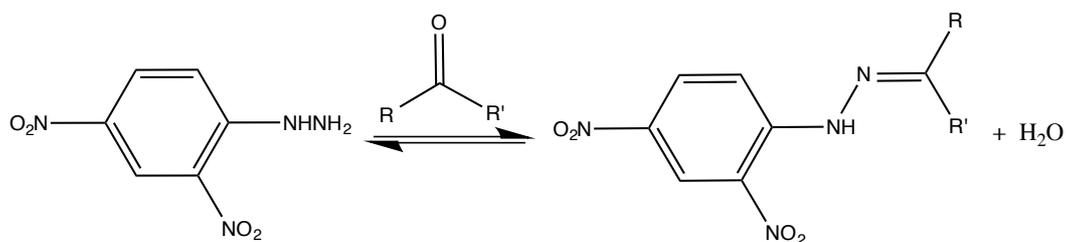


Figure 22: Synthèse de la 2,4-dinitrophenylhydrazone

Toujours grâce à leur caractère nucléophile, les hydrazines réagissent avec les acides carboxyliques, les esters ou les chlorures d'acyles pour former les hydrazides [69] (**Figure 23**).

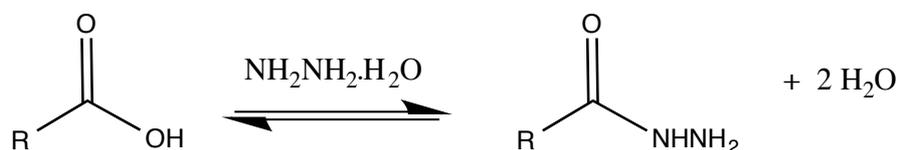


Figure 23 : Synthèse des hydrazides

Un groupe important appartenant à la classe des hydrazides sont les sulfonylhydrazines avec en particulier la paratoluène sulfonylhydrazine qui est formée par réaction d'un halogénure de tosylo avec de l'hydrazine [70] (**Figure 24**).

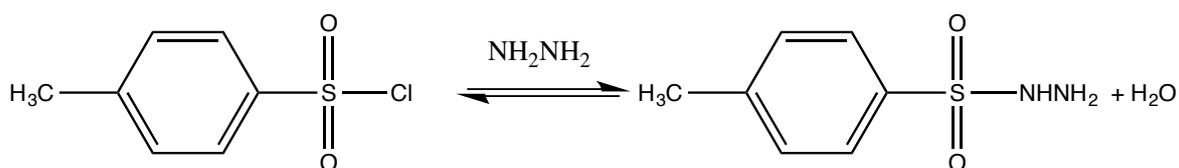


Figure 24 : Synthèse des sulfonylhydrazines

L'hydrazine permet donc de préparer une grande famille de dérivés. Ces composés réagissent avec les dérivés carbonyles pour former des dérivés d'hydrazones. La sulfonylhydrazine a déjà fait l'objet de travaux antérieurs [39] [71]. Cette fonction peut être fixée sur un support solide et elle réagit efficacement avec les dérivés carbonyles pour les extraire d'un mélange complexe tel que le vin. La fonction sulfonylhydrazine a été retenue pour cette étude.

III. 2. 2. L'hydrazine utilisée en tant qu'agent réducteur

L'hydrazine est un puissant agent réducteur très apprécié car ses sous-produits sont en général l'eau et l'azote gazeux. Elle a la capacité de réduire un très grand nombre d'oxydes métalliques comme l'oxyde de fer ou l'oxyde de cuivre, ce qui permet de passiver les surfaces du fer et du cuivre (**Figure 25**). Cette propriété réductrice de l'hydrazine a par exemple été utilisée comme antioxydant et inhibiteur de corrosion dans les chaudières et les eaux des circuits de chauffage.

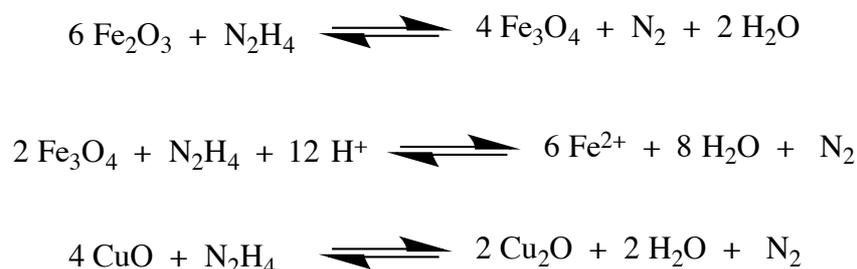


Figure 25 : Réduction des oxydes métalliques par l'hydrazine

L'hydrazine peut également réduire des composés tels que l'iode et l'iodure de potassium [72] [73] [74] (**Figure 26**). Cette propriété sert à doser l'hydrazine présente en grande quantité en solution et peut être utilisée pour doser l'hydrazine fixée sur support.

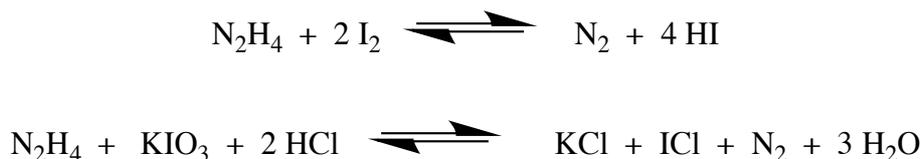


Figure 26 : Réduction de l'iode par l'hydrazine

L'hydrazine peut réagir avec le fer ou le cuivre pour former, en présence de ligands tels que la 2,2'-bipyridine (Bpy) ou la 2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline (Nc), un complexe coloré détectable par spectrométrie UV-Visible [75] [76] (**Figure 27**). Ces réactions permettent de détecter de très faibles concentrations d'hydrazine (de l'ordre du ppm) en solution.

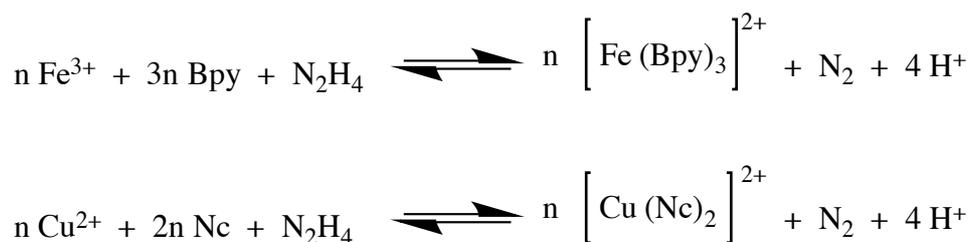


Figure 27 : Réactions permettant de détecter l'hydrazine

Le pouvoir réducteur de l'hydrazine a permis de développer de nombreuses méthodes de dosage [77] [73]. Ces méthodes de dosage seront d'une grande utilité dans cette étude, notamment pour s'assurer que le milieu n'est pas contaminé par l'hydrazine qui est un composé chimique toxique.

III. 3. Toxicité de l'hydrazine

L'hydrazine et son hydrate sont hautement toxiques quelle que soit la voie d'administration [78]. La principale cible est le système nerveux central mais il est également observé des atteintes au niveau du foie, des reins et du sang. C'est un irritant cutané et respiratoire rapidement absorbé par la peau ou les muqueuses avant d'être distribué dans les tissus.

Lors d'une exposition aiguë à l'hydrazine, les symptômes pouvant apparaître chez l'homme sont des irritations des yeux, du nez et de la gorge, des étourdissements, des nausées et dans les cas les plus extrêmes elle peut entraîner des œdèmes pulmonaires, des convulsions ou un coma.

Des expérimentations sur des animaux ont été réalisées et les doses létales ont pu être déterminées en fonction de la voie d'administration. Ainsi par voies orales et percutanées les DL_{50} sont (**Tableau 6**):

Sujets expérimentés	Doses létales (en mg d'hydrazine ou hydrate d'hydrazine/kg de poids corporel)
Souris/rats	60 / 60 (orale)
Lapin	55 (orale)
Cobaye	190 (percutanée)
Lapin	93 (percutanée)

Tableau 6 : Doses létales de l'hydrazine par voies orales et percutanées

Lors d'une exposition à 0,25 ppm et 1 ppm d'hydrazine pendant un an (6 h/jour ; 5 jours/semaine) une atteinte hépatique est avérée chez les rats, les chiens et les hamsters. Avec une exposition à 5 ppm d'hydrazine, ce sont des atteintes pulmonaires qui apparaissent [79].

L'hydrazine a des effets génotoxiques car elle induit des mutations géniques, des aberrations chromosomiques et une synthèse non programmée d'ADN lors de test *in vitro* et *in vivo*. Elle a également des effets cancérogènes. Par voie orale ou par inhalation, l'hydrazine augmente l'incidence des tumeurs nasales et des bronches chez les rats/souris. Enfin, elle a des effets sur la reproduction car elle entraîne une atrophie des organes reproducteurs chez les animaux mâles et femelles testés [80].

L'hydrazine est donc un composé chimique à la fois nucléophile et un puissant agent réducteur. Ces propriétés lui permettent de servir de précurseur à l'élaboration d'une grande famille de dérivés de l'hydrazine mais également de mettre au point plusieurs méthodes analytiques de dosage. Elle reste un composé chimique toxique à manipuler avec une extrême précaution. Dans le cadre de cette étude, l'hydrazine sera fixée sur un support solide afin de réagir avec les dérivés carbonyles présents dans les vins pour les extraire du milieu. C'est le principe de l'extraction en phase solide.

IV. L'extraction en phase solide

L'extraction en phase solide est un procédé de séparation au cours duquel des composés en solution sont séparés des autres éléments du mélange par fixation sélective sur un support solide. En fin de réaction, le composé immobilisé sur le support est facilement extrait du milieu par simple filtration. C'est sur ce principe que les dérivés carbonylés des vins seront extraits du milieu.

IV. 1. Principe de l'extraction en phase solide

L'extraction en phase solide (SPE) est une forme de chromatographie par étapes conçue pour extraire et/ou adsorber un ou plusieurs composés présents dans une phase liquide (échantillon) sur une phase solide. Au cours des vingt dernières années, la SPE est devenue la technique la plus puissante, disponible pour la préparation rapide et sélective d'échantillons avant la chromatographie analytique [81].

La SPE met en jeu des interactions entre un support solide poreux et une phase liquide riche en composé cible que l'on veut extraire du milieu. Une procédure de SPE peut être réalisée en mode dynamique et se déroule, en général, en trois ou quatre étapes [74] [75] (**Figure 28**) :

- conditionnement du support dans une cartouche d'extraction. Le support est positionné dans la cartouche puis mouillé avec un solvant similaire au solvant dans lequel est contenu le composé cible (en général de l'eau). Cela permet de solvater les groupements fonctionnels présents à la surface du support

- percolation de l'échantillon sur le support. La percolation peut se faire soit sous l'effet de la gravité, soit par une pompe péristaltique. Lors de cette étape, les composés n'ayant pas d'affinité avec le support solide ne seront pas retenus tandis que les composés cibles sont fixés sur le support.

- élution des interférents. Lors de la percolation de l'échantillon, il est possible que des composés non souhaités se fixent faiblement sur le support. Pour les éliminer du support, on va procéder à une étape de lavage avec un solvant permettant d'éliminer ces composés interférents tout en gardant fixés les composés cibles

- élution des composés cibles. La percolation d'un solvant spécifique permet la rupture des liaisons entre les composés cibles et le support. Les composés cibles sont récupérés et ils

pourront ensuite être analysés.

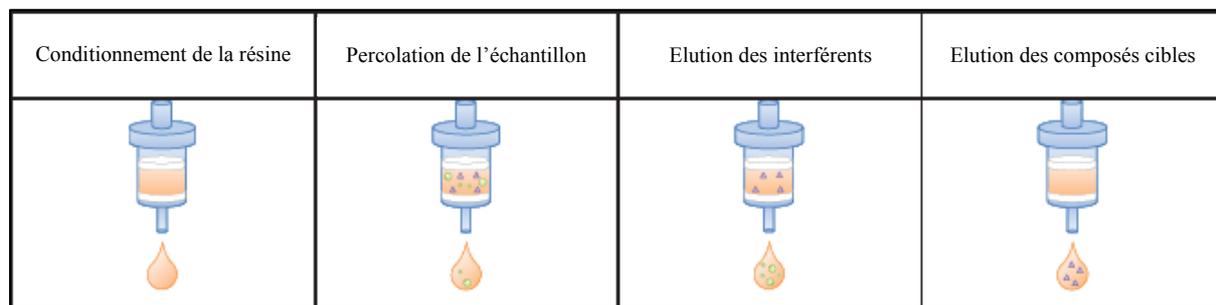


Figure 28 : Principe de l'extraction en phase solide (mode dynamique)

Dans le cadre de cette étude, les deux premières étapes suffisent car notre objectif n'est pas d'analyser les composés mais seulement de les extraire du milieu.

L'extraction en phase solide peut également être réalisée en mode statique. Dans ce cas, le support est directement introduit dans l'échantillon et laissé en contact pendant un laps de temps donné afin de permettre la fixation des composés cibles sur le support. A la fin de la réaction, le support sur lequel se sont fixées les molécules cibles est éliminé de l'échantillon par simple filtration (Figure 29). L'éluion des interférents et des composés cibles peut être réalisée si nécessaire.

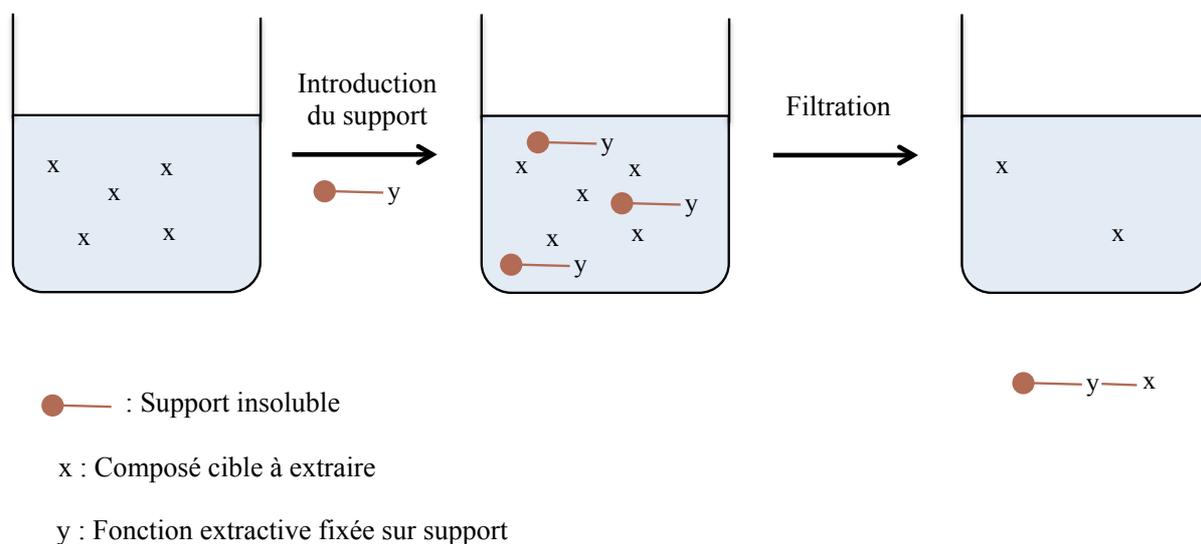


Figure 29: Principe de l'extraction en phase solide (mode statique)

Le principe de l'extraction en phase solide est simple et facile à mettre en œuvre. La seule difficulté est la nécessité d'une interaction sélective entre le support et le composé cible. Le choix du support est un facteur crucial à considérer pour développer une méthode d'extraction efficace.

IV. 2. Les supports solides pour l'extraction en phase solide

De nombreux supports solides peuvent être employés en SPE mais ils doivent répondre à un certain nombre de critères, essentiellement physiques et chimiques, afin d'être utilisés pour une telle application.

IV. 2. 1. Propriétés physiques

L'extraction en phase solide fait intervenir un support solide poreux qui est mis en contact avec une solution. Ce support doit contenir des cavités, encore appelées pores, à travers lesquelles la solution va se diffuser.

L'ensemble des pores définit la porosité totale du matériau, notée ϕ , et correspond au rapport entre le volume des pores et le volume total du matériau.

$$\phi = \frac{V_{pores}}{V_{total}}$$

Les pores sont généralement nommés et classés en fonction de leur diamètre selon la définition de l'IUPAC [83]:

- d < 2 nm : micropores
- 2 nm < d < 50 nm : mésopores
- d > 50 nm : macropores

Le support solide poreux est caractérisé par trois paramètres :

-la surface spécifique (ou aire spécifique), exprimée en m²/g, représente la surface externe des particules et la surface des pores à l'intérieur du matériau. Elle peut varier de 0 à 1500 m²/g et de faibles surfaces spécifiques correspondent à des matériaux dont la porosité est insignifiante. La surface spécifique doit être suffisamment grande car elle détermine la

surface de contact entre le support poreux et la phase solide [75] [76] [84].

-le volume poreux qui est caractéristique de la porosité

-la distribution de taille des pores qui représente la distribution du volume poreux en fonction de la taille des pores.

La taille du support est un facteur important à prendre en compte. Elle devra être suffisamment grande pour permettre une manipulation aisée et une filtration simple après réaction. En général, les supports sont de formes sphériques bien que d'autres formes existent [86]. La densité du support sera supérieure à celle de la solution. Dans le cas contraire, le support risque de surnager, entraînant une extraction de mauvaise qualité [87].

La stabilité mécanique et thermique du support est importante. La solution et la température ne modifieront pas ou ne dégraderont pas la nature du support.

IV. 2. 2. Propriétés chimiques

Le support sera inerte et stable chimiquement vis-à-vis du milieu. Il ne générera pas de réactions parasites et ne polluera pas le milieu. Les conditions acides ou basiques des solutions ne modifieront pas le support.

L'hydrophilie est également un paramètre essentiel. Pour une extraction en milieu aqueux, le support sera suffisamment hydrophile pour avoir une bonne qualité de contact avec la phase aqueuse et permettre la meilleure extraction possible. Dans le cadre de cette étude, le support devra être compatible avec les milieux hydroalcooliques pour obtenir une bonne mise en contact avec les dérivés carbonylés.

Le support qui sera employé pour la SPE devra répondre à tous ces critères.

IV. 2. 3. Choix du support solide : les polymères organiques

Des travaux antérieurs d'extraction des dérivés carbonylés des vins ont été réalisés avec l'utilisation de deux types de supports solides : les supports à base de silice et les supports polymères organiques [39]. Les résultats obtenus ont montré que les supports de silice modifient les qualités organoleptiques du vin et notamment le goût. Le support à base de silice provoque une contamination du milieu ce qui est incompatible avec les propriétés

chimiques que doivent respecter les supports pour une SPE. Les polymères organiques ont été étudiés.

IV. 2. 3. a. Les polymères à base de styrène

Les polymères sont des macromolécules constituées par l'enchaînement d'un grand nombre de molécules de taille plus petite appelées monomères. Les processus par lesquels se combinent les monomères pour former un polymère sont appelés polymérisation.

Parmi les polymères organiques de synthèse, les plus utilisés en SPE sont les copolymères de styrène avec du divinylbenzène (DVB) [88]. Les premiers ont été utilisés par Merrifield pour synthétiser des peptides sur support [89]. Ils sont obtenus par copolymérisation en suspension de styrène et de DVB (**Figure 30**) donnant des particules sphériques [90].

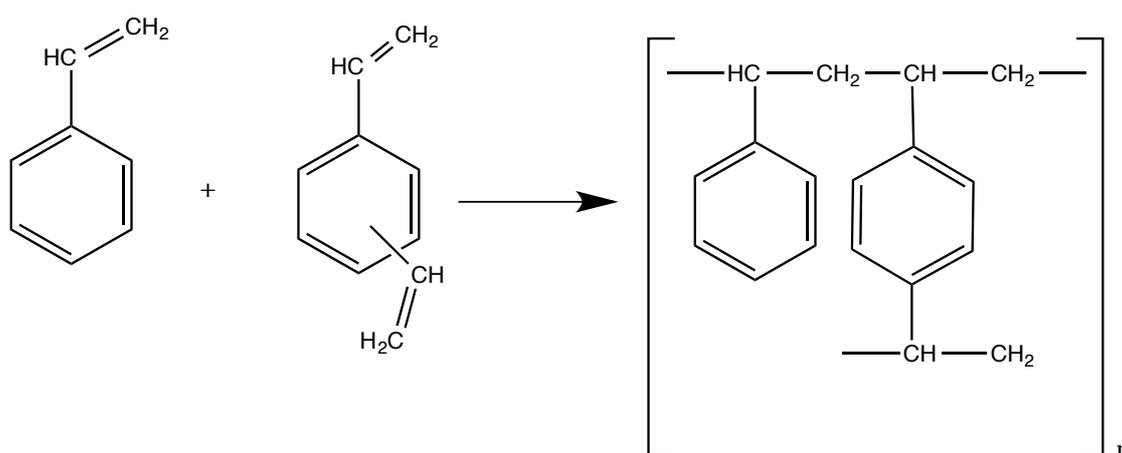


Figure 30: Copolymérisation du styrène et du divinylbenzène

Il est possible de greffer sur ces copolymères de styrène et de DVB des groupements échangeurs d'ions (anioniques ou cationiques). Des résines échangeuses d'ions telles que les résines sulfoniques sont obtenues [85].

IV. 2. 3. b. Les polymères à base d'acrylate

Une autre famille de polymères peut également être utilisée en SPE : la famille des polyacrylates et polyméthacrylates. La majorité de ces polymères sont des copolymères

contenant des proportions variées d'acrylates et de méthacrylates [91]. Ils sont moins utilisés que les polystyrènes mais trouvent des applications en SPE en sélectionnant le monomère acrylique adéquat. Les polymères à base de méthacrylates de glycidyle permettent d'introduire facilement des fonctions extractives sur polymères. La fonction époxyde du méthacrylate de glycidyle peut facilement être modifiée avec de nombreux composés chimiques qui pourront par la suite complexer des molécules cibles en milieux aqueux [92]. Les supports polymères organiques ont été retenus pour réaliser l'extraction des dérivés carbonylés dans les vins. La majorité des polymères ne permettent pas d'extraire directement les molécules cibles d'un milieu. Ils doivent faire l'objet d'une fonctionnalisation permettant d'introduire sur le support la fonction extractive sélectionnée.

IV. 3. Fonctionnalisation du support

Plusieurs voies permettent d'obtenir un support fonctionnalisé [85] qui servira à extraire une molécule cible d'un milieu :

- soit par modification chimique d'un support non fonctionnalisé
- soit par copolymérisation d'un monomère fonctionnalisé

IV. 3. 1. Les supports commerciaux à base de styrène/DVB

Des supports fonctionnalisés à base de styrène/DVB sont disponibles dans le commerce (**Tableau 7**).

	Fonction	Prix (en € pour 10 g)*
(Aminométhyl) polystyrène	NH ₂	262
(Chlorométhyl) polystyrène	Cl	55
(Mercaptométhyl) polystyrène	CH ₂ -SH	590
Bromopolystyrène	Br	71
p-toluène sulfonylhydrazine sur polymère	SO ₂ NHNH ₂	392
(2-aminoéthyl) polystyrène	NH ₂	414
Résine sulfonique	SO ₃ H	2

* Données Sigma Aldrich

Tableau 7 : Quelques supports polymères à base de styrène et de DVB disponibles dans le commerce

Les supports disponibles dans le commerce ont des prix variables. Il est possible que le polymère possédant la fonction d'intérêt souhaitée ne soit pas disponible dans le commerce ou soit très cher. Une alternative consiste à modifier chimiquement un support.

Le polystyrène est le polymère le plus utilisé pour la synthèse en phase solide. La fonctionnalisation du polystyrène dépourvu de toutes fonctions à sa surface peut être effectuée de différentes façons [93]. La quasi-totalité des substitutions électrophiles réalisées en solution sur le benzène peut être réalisée sur le polystyrène [88]. Ces substitutions peuvent être une bromation [94], une nitration [95], une sulfonylation, une acylation ou encore une alkylation [85]. Par exemple, les résines sulfoniques échangeuses d'ions sont obtenues par réaction du polystyrène avec l'acide sulfurique [96].

Il est également possible de modifier la fonction chimique d'un polymère commercial afin d'obtenir une autre fonction d'intérêt. Les résines Merrifield sont souvent utilisées pour fixer d'autres fonctions chimiques sur supports [88].

La liaison formée entre le support et la fonction chimique greffée doit être stable chimiquement et thermiquement, notamment dans les futures conditions d'utilisations. La fonctionnalisation doit être rapide et efficace sans engendrer de réactions secondaires susceptibles d'intégrer d'autres fonctions chimiques.

IV. 3. 2. Polymérisation de monomères fonctionnalisés

Une autre voie possible pour obtenir un support polymère fonctionnalisé consiste à copolymériser un monomère comportant une fonction d'intérêt avec un agent de réticulation. Le support avec la fonction d'intérêt est obtenu en un nombre d'étapes limité [97]. Le polymère doit avoir une taille et une forme adaptées à l'utilisation que l'on veut en faire et celles-ci dépendent du procédé de préparation utilisé.

Les procédés de polymérisation peuvent être divisés en deux grandes catégories en fonction du milieu réactionnel [91]:

- les polymérisations en milieu homogène
- les polymérisations en milieu hétérogène

IV. 3. 2. a. Polymérisation en milieu homogène

Dans le cas de la polymérisation en milieu homogène, tous les réactifs (monomères, amorceurs) sont solubles dans un même solvant. La polymérisation en masse est un exemple de polymérisation en milieu homogène.

La polymérisation en masse représente le procédé le moins contaminant pour le polymère. Il n'y a pas de diluant et de dispersant utilisés. Le mélange de monomères liquides est directement polymérisé selon différents types d'amorçage. Ce type de polymérisation, généralement exothermique, est difficile à contrôler. L'utilisation d'un agitateur adapté et efficace est nécessaire car la viscosité du mélange réactionnel augmente rapidement. La viscosité rend difficile le chauffage uniforme du mélange. Le polymère obtenu est un monolithe qui doit être broyé et tamisé pour obtenir des particules de taille désirée. A cause de ces difficultés, la polymérisation en masse est peu utilisée pour les polymérisations en chaîne [91].

IV. 3. 2. b. Polymérisation en milieu hétérogène

Dans le cas de la polymérisation en milieu hétérogène, le milieu de réaction est compartimenté en plusieurs phases. Les polymères obtenus sont de formes sphériques avec un diamètre plus ou moins grand selon le procédé utilisé. Il existe quatre procédés « directs » de polymérisation (en opposition aux procédés de polymérisation inverse) en milieu hétérogène

qui sont la suspension, l'émulsion, la dispersion et la précipitation [98].

- la polymérisation en suspension : c'est une méthode de polymérisation en phase hétérogène qui permet d'obtenir des particules sphériques de tailles variables. Lors de la polymérisation en suspension, la phase organique est dispersée en gouttelettes dans une phase aqueuse par agitation mécanique (**Figure 31**). Les suspensions nécessitent la présence de stabilisant afin d'éviter la coalescence des gouttelettes. La polymérisation est amorcée par un amorceur radicalaire organosoluble et chaque gouttelette agit comme un mini-réacteur. La polymérisation en suspension est généralement réalisée en une seule étape avec une durée de réaction de quelques heures. La taille finale des billes obtenues dépend du ratio phase dispersée/phase continue, de la vitesse d'agitation et de la quantité de stabilisant utilisé.

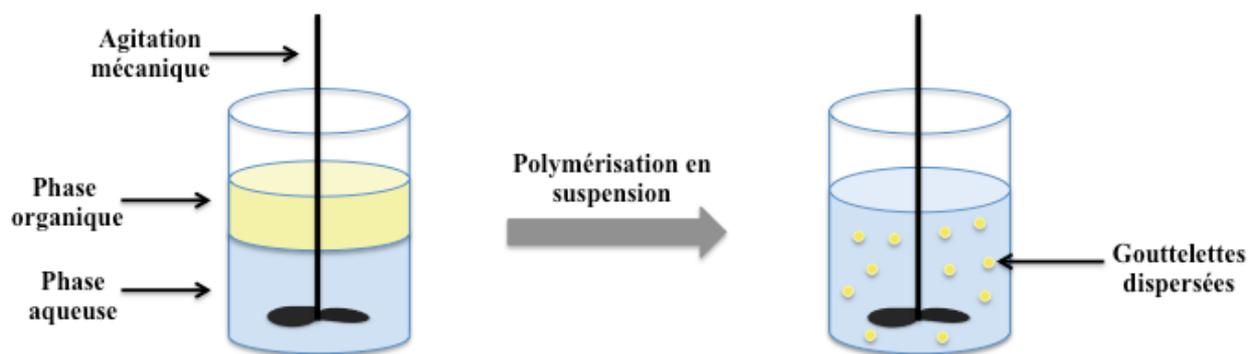


Figure 31: Schéma de la polymérisation en suspension

- la polymérisation en émulsion : c'est une polymérisation radicalaire en chaîne mettant en œuvre un ou plusieurs monomères dispersés dans une phase continue aqueuse. Elle ressemble à première vue à la polymérisation en suspension mais elle en diffère par son mécanisme et ses caractéristiques, en particulier par la taille et la nature des particules dans lesquelles se déroulent les réactions. Le milieu réactionnel de la polymérisation en émulsion est constitué de la phase aqueuse continue, de gouttelettes de monomères dispersées dans le milieu et stabilisées par un émulsifiant, de micelles qui se forment lorsque la concentration en tensioactif (émulsifiant) excède sa concentration micellaire critique (CMC). Ces micelles sont le lieu de la polymérisation. Ceci diffère de la polymérisation en suspension pour laquelle la polymérisation est effectuée dans les gouttelettes de monomères. Dans le cas de la

Partie A : Bibliographie générale

polymérisation en émulsion, le lieu de la polymérisation ne peut pas être les gouttelettes de monomères car l'amorceur est insoluble en milieu organique. Le principal inconvénient de la polymérisation en émulsion est l'instabilité des émulsions. Les particules obtenues sont de petites tailles.

- la polymérisation par précipitation : dans ce procédé, la polymérisation s'effectue en présence d'une grande quantité d'un solvant porogène. Le mélange est initialement homogène. Au cours de la polymérisation, les chaînes de polymères s'allongent et deviennent insolubles dans le milieu : elles précipitent. Le milieu devient hétérogène. La taille des particules obtenues dépend des paramètres de la polymérisation tels que la température, la nature de l'amorceur et le réticulant. Les billes obtenues ont des diamètres compris entre 0,1 et 1 μm .

-la polymérisation en dispersion est une polymérisation en suspension en présence de fortes concentrations en stabilisants hydrosolubles. Des particules de faibles dimensions sont obtenues.

Les caractéristiques de ces quatre procédés de polymérisation sont rassemblées dans le **Tableau 8** :

Type de polymérisation	Diamètre des particules (μm)	Nature de l'amorceur
Suspension	50-500	Organosoluble
Émulsion	0,05-0,30	Hydrosoluble
Dispersion	0,5-10	Organosoluble
Précipitation	0,1-1	Soluble

Tableau 8 : Caractéristiques des différents types de polymérisation en phase dispersée aqueuse

Parmi ces quatre procédés, la polymérisation en suspension permet d'obtenir des supports sphériques dont la taille est adaptée à l'extraction en phase solide. Avec les autres procédés, les particules sont de très petites tailles ce qui rendrait difficile la récupération du support après l'extraction et risque d'être une source de contamination du milieu.

Partie A : Bibliographie générale

Le styrène et ses dérivés, les esters acryliques et méthacryliques, le chlorure de vinyle et l'acétate de vinyle sont quelques exemples de monomères copolymérisables en suspension. Ce procédé présente de nombreux avantages :

- taille et forme des particules régulières
- contrôle efficace de la température de la réaction
- peu d'impuretés dans le produit final
- faible coût de séparation

Les caractéristiques structurales du polymère obtenu par polymérisation en suspension vont dépendre des conditions de polymérisation. Il est important de distinguer les facteurs influençant la polymérisation.

IV. 3. 2. c. Les facteurs influençant la polymérisation en suspension

- Présence d'agent de réticulation

La réticulation correspond à la formation de liaisons chimiques suivant les différentes directions de l'espace au cours de la polymérisation. La réticulation permet d'obtenir un réseau polymère tridimensionnel dans lequel les chaînes linéaires sont interconnectées [85] (**Figure 32**).

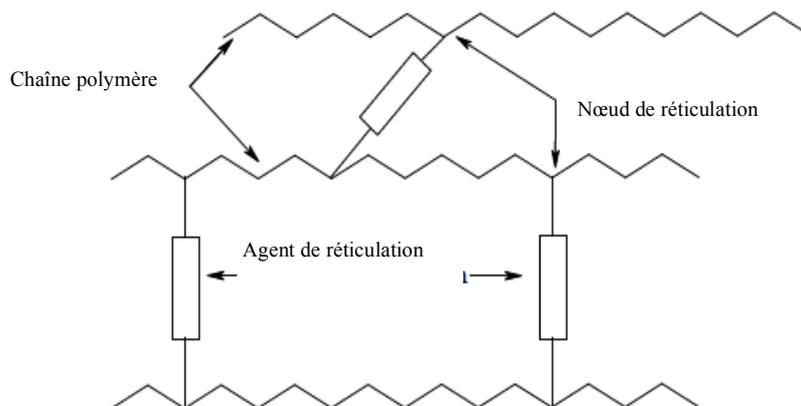


Figure 32 : Réseau tridimensionnel d'un polymère réticulé

Les agents de réticulation sont des monomères bisfonctionnels (voire trifonctionnels) de type vinyliques, allyliques, acryliques ou méthacryliques [99].

Quelques exemples d'agents de réticulation permettant la création du réseau polymère tridimensionnel sont présentés dans le **Tableau 9** [100] [101]:

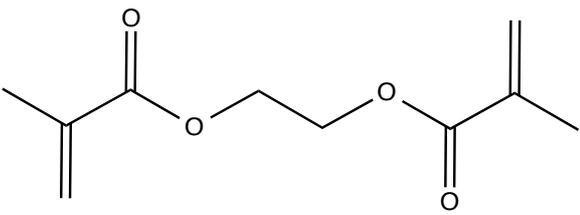
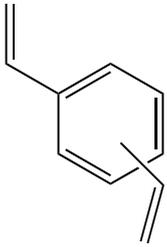
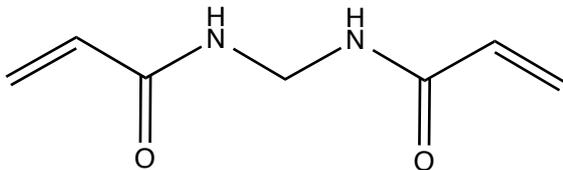
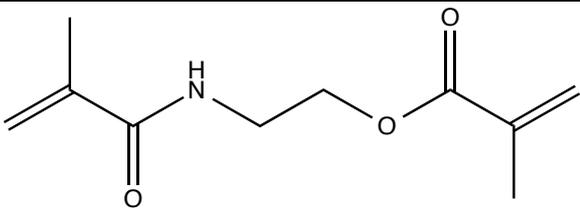
Nom de l'agent de réticulation	Structure
Diméthacrylate d'éthylène glycol (EGDMA)	
Divinylbenzène (DVB)	
N,N'-Méthylène-bis-acrylamide (MBAA)	
N,O-bisméthacryloéthanolamine (NOBE)	

Tableau 9 : Quelques exemples d'agents de réticulation

Parmi ces agents de réticulation, le DVB est couramment utilisé pour la réticulation des copolymères, notamment dans le cas des copolymères à base de styrène. En réalité, les produits commerciaux contiennent 55 %, 63 % ou 80 % d'isomères du DVB (p-DVB et m-DVB). Le reste est constitué d'un mélange d'isomères d'éthylvinylbenzène (EVB) (p-EVB et m-EVB) [102] (**Figure 33**). La concentration en o-DVB est négligeable car il est facilement converti en naphthalène durant la production.

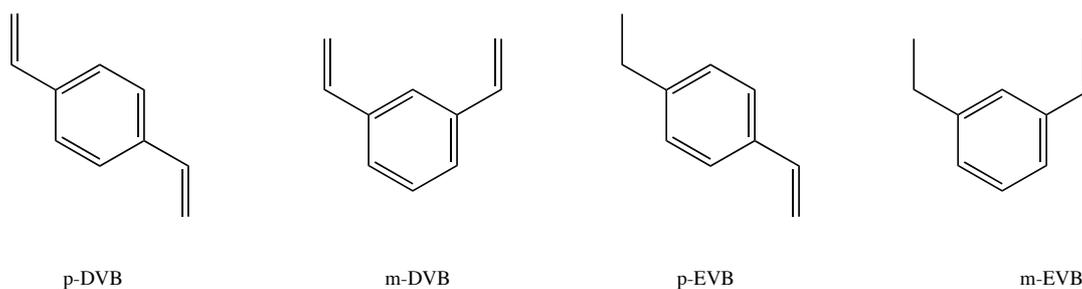


Figure 33 : Structure des isomères présents dans le DVB commercial

La quantité de DVB incorporée lors de la copolymérisation va influencer la porosité finale du matériau [103] [104].

A faible quantité (1 à 2 %), le DVB privilégie la formation de micropores. Les résines obtenues, faiblement réticulées, sont de type gel. Elles ne présentent pas de porosité à l'état sec mais sont capables, sous l'effet d'un solvant adéquat, de gonfler jusqu'à dix fois par rapport à leur volume à sec. Cette propriété permet de limiter les problèmes de diffusion des réactifs présents en solution et d'augmenter l'accessibilité des sites réactionnels supportés. Si le solvant utilisé ne permet pas l'expansion de la maille polymère, la mobilité des chaînes ainsi que l'accessibilité des sites réactionnels sont fortement réduites. Par conséquent, la réactivité de la résine est amoindrie et la vitesse de réaction risque d'être plus faible. En règle générale, les solvants polaires ne favorisent pas l'expansion de la maille polymère. Les résines de types gels sont des polymères souples et peu fragiles, très réactifs durant la fonctionnalisation qui peut atteindre 100 %.

A forte quantité de DVB (10 à 80 %), la formation de macropores et de mésopores est privilégiée. Les résines obtenues sont dites macroporeuses. Les polymères présentent une porosité permanente et une structure rigide. Les sites réactionnels sont répartis sur la surface des pores et sont accessibles par les molécules en solution sans problème de diffusion. Les supports macroporeux peuvent être utilisés avec pratiquement n'importe quel solvant puisqu'ils ne gonflent quasiment pas et que leur réactivité ne dépend pas de leur capacité de gonflement dans les solvants. Ces résines sont physiquement très fragiles. L'agitation prolongée dans un réacteur et/ou des températures élevées peuvent causer des dommages irréversibles. Leur taux de fonctionnalisation maximal est de 45 % [105].

- Agent porogène

Au moment de la polymérisation, un solvant appelé porogène est ajouté au mélange de monomères. L'agent porogène joue un rôle important dans le procédé de polymérisation. Il est l'initiateur de la porosité au sein du réseau polymère et permet de contrôler la surface spécifique du support [106] [107].

On distingue :

- les agents porogènes non solvatants, dits « mauvais solvants » du copolymère : ils ont une mauvaise miscibilité avec le polymère final. Ils favorisent la formation de larges cavités (macropores) avec des surfaces spécifiques de l'ordre de $10-100 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Le n-heptane et le n-butyle alcool sont des exemples d'agents porogènes non solvatants de copolymère de styrène/DVB.

- les agents porogènes solvatants, dits « bons solvants » du copolymère : ils sont à la fois miscibles avec les monomères et le polymère résultant. Ils permettent la formation de pores de plus petites tailles (mésopores et micropores) avec des surfaces spécifiques élevées ($50-500 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). Le toluène et le dichlorométhane sont les agents porogènes solvatants les plus utilisés pour la copolymérisation du styrène/DVB.

- Rôle des stabilisants

L'ajout de stabilisant à la phase aqueuse joue un rôle essentiel. La fonction des stabilisants est de réduire la tension de surface entre les gouttelettes de monomère formées et le milieu de la suspension. La coalescence des particules partiellement polymérisées est limitée, la formation de gouttelettes de tailles homogènes est favorisée. Quelques stabilisants utilisés dans les procédés de polymérisation en suspension sont présentés dans le **Tableau 10** [98] [108].

Stabilisants	Solubilité dans l'eau
Gélatine	Soluble à chaud
Gomme arabique	Soluble à chaud
Acide polyacrylique	Soluble
Polypyrrolidone vinylique	Soluble

Tableau 10 : Exemples de stabilisants employés lors de la polymérisation en suspension

- La forme du réacteur et de la pale d'agitation

Lors de la polymérisation en suspension, il est nécessaire de mettre le milieu sous agitation à cause de la différence de densité entre les deux phases. Pour une agitation optimale, la forme du réacteur et la forme de la pale d'agitation auront une influence sur l'homogénéité du polymère final. Un réacteur de forme cylindrique avec des parois irrégulières et une base aplatie est classiquement choisi [85]. La pale d'agitation est, en général, sous forme d'hélice lorsque le milieu est peu visqueux ce qui permet un cisaillement de la suspension et limite la formation d'un vortex autour de la tige d'agitation (**Figure 34**).



Figure 34 : Réacteur double enveloppe utilisé pour la polymérisation en suspension

- Influence de la vitesse d'agitation

La vitesse d'agitation va conditionner la taille des particules de polymère. Plus la vitesse d'agitation est élevée, plus le diamètre des particules obtenues est faible. La vitesse ne doit pas être trop faible afin de disperser convenablement le monomère dans la phase aqueuse et permettre l'obtention de particules de tailles et de formes régulières.

Objectifs de l'étude

Le dioxyde de soufre libre présent dans les vins est indispensable à leur bonne conservation tandis que la forme combinée ne présente pas d'activité. La quantité de dioxyde de soufre combiné doit être réduite.

La réduction de la quantité de composés carbonyles présents dans le vin permettra de diminuer le taux de combinaison du dioxyde de soufre. La dose de SO₂ total nécessaire à une bonne stabilité du produit sera réduite.

L'objectif général de cette étude consistera à élaborer une méthode efficace de diminution de la concentration des dérivés carbonyles. Cette méthode devra être la plus simple possible à mettre en œuvre sans altérer les qualités organoleptiques des vins traités. Une méthode de choix est l'extraction sur phase solide, procédé souvent mis en œuvre lorsqu'on cherche à purifier une solution [109] [110] [111]. Le principe de la méthode consiste à greffer, de manière covalente, un agent d'extraction (F) sélectif des espèces à extraire sur un support insoluble (S) inerte. Le support fonctionnalisé obtenu est ensuite mis en contact avec la solution contenant les espèces à extraire, en l'occurrence des dérivés carbonyles. Après réaction, le support est éliminé du milieu réactionnel par simple filtration. Une solution appauvrie en dérivés carbonyles est obtenue. Le support portant l'agent d'extraction lié au composé que l'on cherchait à extraire est récupéré.

Lors de travaux précédents réalisés au laboratoire [39], un agent d'extraction avait été sélectionné et fixé sur des supports insolubles, de type polymères synthétiques ou silice. Les supports obtenus avaient été utilisés pour effectuer des extractions en milieu modèle puis dans du vin. Une bonne efficacité d'extraction avait pu être mise en évidence.

Notre objectif est d'améliorer l'efficacité de fonctionnalisation des supports polymères déjà utilisés. La préparation du support devra pouvoir être réalisée à grande échelle en réduisant au maximum les coûts de fabrication et en utilisant le moins de solvants organiques afin d'éviter la contamination du milieu. Les travaux précédents n'ont pas fait l'objet d'une réelle recherche sur la contamination du milieu par le support polymère. Il faudra développer des méthodes fiables d'analyse des vins, après l'extraction des dérivés carbonyles, afin de déterminer la présence de contaminants et de les identifier. Il sera nécessaire de trouver une alternative si la contamination du milieu, après l'extraction, est avérée.

Un premier support d'extraction sera préparé par fonctionnalisation d'une résine commerciale. Les conditions opératoires seront optimisées pour obtenir le plus de fonctions

Partie A : Bibliographie générale

extractives possibles sur le support. Les capacités du support à extraire les dérivés carbonylés seront vérifiées sur des solutions modèles du vin. La présence de contaminants dans les solutions après l'extraction sera recherchée en utilisant des méthodes de dosage spécifiques et fiables. En l'absence de contaminants, ce support pourra être utilisé dans du vin. Dans le cas contraire, il sera indispensable de mettre au point un nouveau support d'extraction.

Partie B :
Résultats expérimentaux

Chapitre 1 :
Fonctionnalisation de résines
sulfoniques et utilisation comme
support d'extraction

Le chapitre bibliographique a permis de sélectionner le type de support solide pouvant être employé pour l'étude : les polymères organiques poreux qui présentent les propriétés physiques et chimiques requises pour une extraction en phase solide. Un agent d'extraction ayant, lors des travaux antérieurs, prouvé son efficacité a été sélectionné : il s'agit de la sulfonylhydrazine. L'obtention de fonctions greffées sur support polymère peut être réalisée selon deux voies :

- fonctionnalisation d'un support préformé.
- polymérisation de monomères fonctionnels.

Nous discuterons dans cette partie des résultats obtenus par fonctionnalisation d'un support commercial.

I- Fonctionnalisation de résines sulfoniques commerciales

Le greffage de la fonction sulfonylhydrazine peut être réalisé à partir de résines sulfoniques échangeuses d'ions disponibles dans le commerce [112]. Les résines sulfoniques ont été sélectionnées comme support de fixation de la fonction sulfonylhydrazine car leur utilisation est autorisée dans les vins pour la stabilisation tartrique des vins [113].

I. 1. Les résines échangeuses d'ions

I. 1. 1. Structure

Les résines échangeuses d'ions sont des solides insolubles ayant la capacité de pouvoir échanger, de manière stœchiométrique, les ions qu'elles contiennent avec les ions présents dans la solution dans laquelle elles sont plongées. Ces résines sont constituées d'un réseau macromoléculaire hydrophobe sur lequel sont fixés des groupements actifs ionisés compensés par des ions libres appelés contre-ions [114] [115]. Le réseau macromoléculaire forme le squelette de la résine et lui confère sa tenue mécanique. Les groupements fonctionnels confèrent à la résine la propriété d'échangeuse d'ions.

Il existe deux catégories de résines échangeuses d'ions en fonction de la nature des groupes fonctionnels fixés sur la résine :

- les résines cationiques faiblement ou fortement acides qui échangent des cations. Les groupements fonctionnels fixés sur la résine sont anioniques (sulfonate, phosphate, carboxylate).
- les résines anioniques faiblement ou fortement basiques qui échangent des anions. Les groupements fonctionnels fixés sur la résine sont cationiques (ammonium quaternaire).

Dans le cadre de cette étude, des résines cationiques fortement acides ont été utilisées : les résines sulfoniques qui échangent leurs cations (**Figure 35**) :

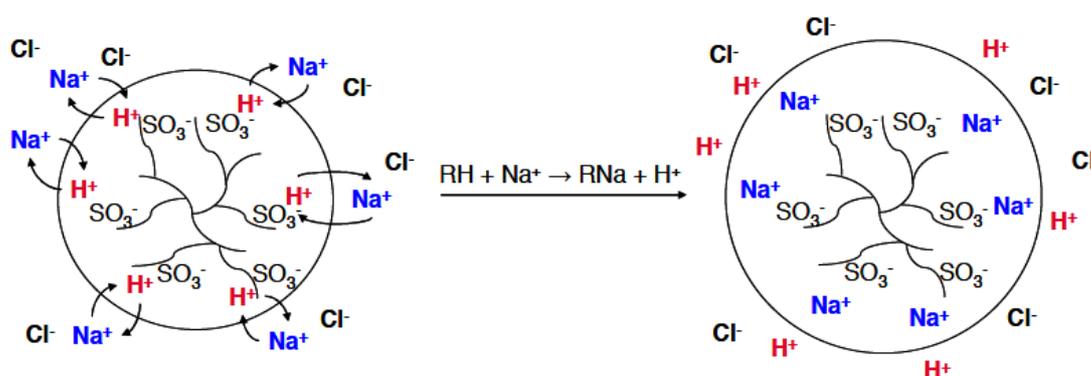


Figure 35: Principe d'une résine sulfonique échangeuse d'ions

I. 1. 2. Synthèse

Les résines échangeuses d'ions sont généralement obtenues en deux étapes. La copolymérisation en suspension de styrène avec du DVB permet la synthèse du squelette des résines sulfoniques. Le DVB est utilisé en tant qu'agent de réticulation pour créer des ramifications entre les chaînes linéaires de polystyrène et rendre le support insoluble. Le support obtenu, de forme sphérique, peut ensuite être sulfoné par réaction avec de l'acide sulfurique ou de l'acide chlorosulfonique [96] (**Figure 36**).

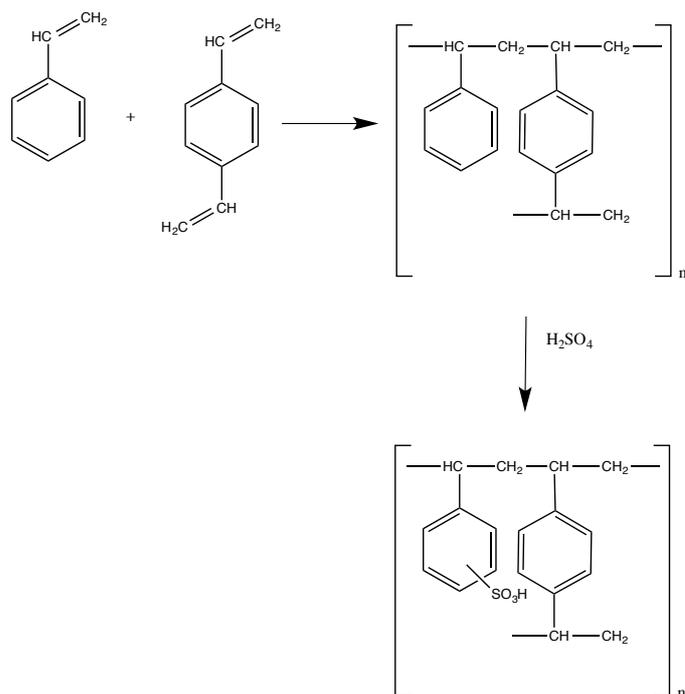


Figure 36: Synthèse d'une résine sulfonique

Les résines échangeuses d'ions ont largement été développées et sont disponibles dans le commerce chez différents fournisseurs. La Rohm & Haas Company est une entreprise américaine commercialisant divers copolymères de styrène/DVB sous l'appellation Amberlite® et Amberlyst®. Cette entreprise a été rachetée en 2009 par The Dow Chemical Company, un géant mondial dans la fabrication et la distribution de produits chimiques qui commercialise des résines échangeuses d'ions sous l'appellation Dowex®. Une large gamme de résines sulfoniques est disponible dans le commerce avec des structures différentes (Tableau 11).

Fournisseur	Nom commercial	Structure	Fonction chimique	Taille des billes (µm)	Capacité volumique (meq/mL)
Rohm & Haas	Amberlite® IR20	Styrène/DVB gel	SO ₃ ⁻ H ⁺	300-1000	1,9
	Amberlite® IRP 69	Styrène/DVB macroporeuse	SO ₃ ⁻ Na ⁺	25-150	-
	Amberjet® 1200	Styrène/DVB gel	SO ₃ ⁻ H ⁺	500-800	1,8
The Dow Chemical	Dowex® Monospheres 650 C	Styrène/DVB gel	SO ₃ ⁻ H ⁺	600-700	2
	Dowex® 50WX8	Styrène/DVB gel	SO ₃ ⁻ H ⁺	37-74	1,7

Tableau 11: Exemples de résines sulfoniques disponibles dans le commerce

I. 1. 3. Propriétés des résines sulfoniques

Les propriétés d'une résine échangeuse d'ions dépendent de sa structure qui est fonction des conditions de synthèse. Trois caractéristiques particulières vont avoir une influence sur le comportement de la résine : la taille des billes, le taux de réticulation et le taux de fonctionnalisation.

- La taille des billes

La taille et la forme des particules obtenues dépendent des conditions de fabrication. La polymérisation en suspension permet d'obtenir des résines de forme sphérique dont le diamètre va dépendre de la vitesse d'agitation, de la concentration en monomères et de la quantité de phase aqueuse. Il est possible de moduler ces facteurs en fonction de la taille des résines que l'on veut obtenir.

- Le taux de réticulation

L'introduction de DVB permet de réticuler le support le rendant insoluble et mécaniquement stable. Le taux de réticulation correspond au pourcentage molaire de DVB introduit dans le mélange initial pour réaliser la polymérisation [116]. Ce taux varie en règle générale entre 1 et 12 % molaire et détermine la porosité de la résine : les résines de types gel présentent un taux de réticulation compris entre 1 et 2 % alors que les résines macroporeuses ont un taux de réticulation variant de 8 à 12 %.

- La capacité d'échange ionique

D'un point de vue pratique, les résines échangeuses d'ions peuvent être considérées comme un réservoir de contre-ions prêts à être échangés. Par conséquent, la teneur en contre-ions dans la résine est une caractéristique importante à connaître. La capacité d'échange ionique correspond au nombre de contre-ions présents pour une quantité donnée de résine. Il s'agit du nombre de moles d'ions monovalents théorique que peut fixer la résine [115]. La capacité d'échange ionique, dans le cas des résines sulfoniques, dépend des conditions de sulfonation du support polymère. Pour la suite de l'étude, une résine ayant un taux important de groupes acide sulfonique sera sélectionnée. On espère ainsi obtenir un taux élevé de fonctions sulfonylhydrazine après la fonctionnalisation.

Dans ce travail, une résine sulfonique a été utilisée pour fixer la fonction sulfonylhydrazine sur un support solide.

I. 2. Voies de greffage de la fonction sulfonylhydrazine

Le greffage de la fonction sulfonylhydrazine sur un support polymère a été effectué sur des résines sulfoniques de type Dowex® 650 C commerciales, dont les caractéristiques sont données dans le **Tableau 12**.

Nom de la résine	Structure de la résine ^(a)	Diamètre des billes (μm) ^(a)	Taux de réticulation ^(a) (% molaire)	Capacité volumique ^(a) (meq/mL)
Dowex monosphere 650 C	Styrène/DVB gel	500-700	8	2

(a) : données du fournisseur

Tableau 12 : Caractéristiques de la résine Dowex® 650 C

Ces résines sulfoniques ont été retenues pour plusieurs raisons :

- prix raisonnable
- taille adaptée à la SPE
- utilisation alimentaire autorisée par la FDA (Food and Drug Administration)

Pour réaliser le greffage de la fonction sulfonylhydrazine sur les résines sulfoniques, plusieurs méthodes sont décrites dans la littérature [112] (**Figure 37**).

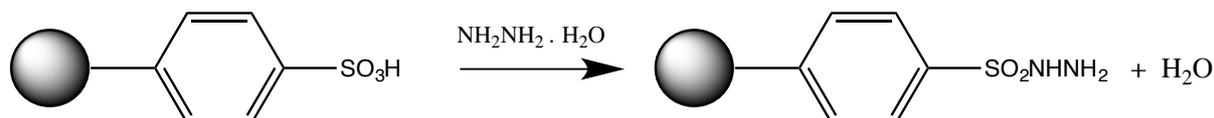


Figure 37 : Greffage de la fonction sulfonylhydrazine sur support

I. 2. 1. Voie de greffage utilisant l'acide chlorosulfonique

Le greffage des fonctions sulfonylhydrazine peut être effectué par traitement des résines sulfoniques avec de l'acide chlorosulfonique puis avec de l'hydrate d'hydrazine selon une fonctionnalisation en deux étapes (**Figure 38**) [117] [118].

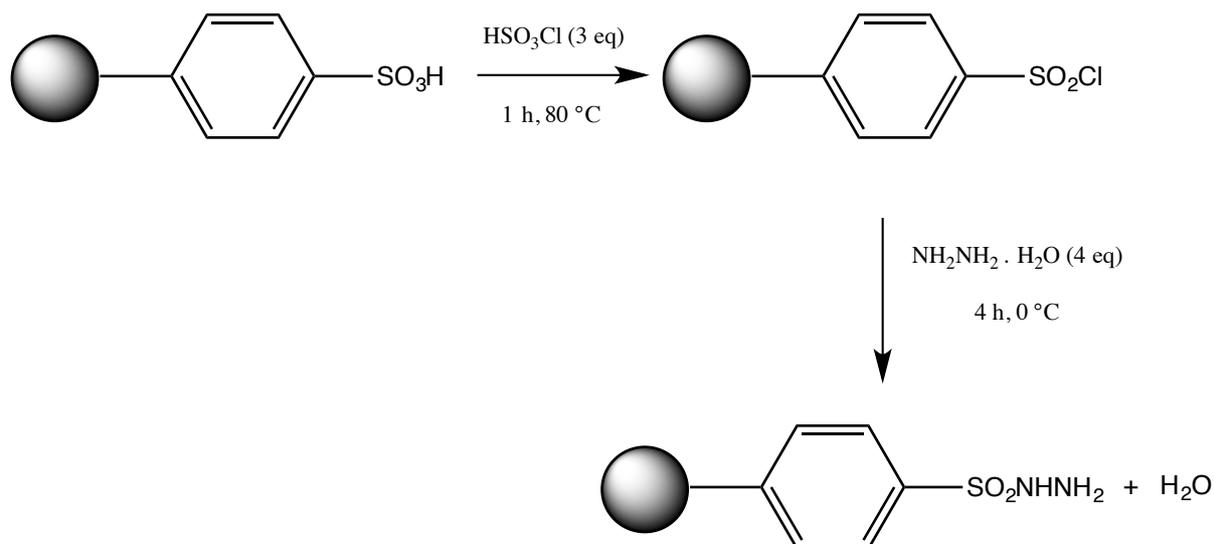


Figure 38 : Greffage de la fonction sulfonylhydrazine par la voie utilisant de l'acide chlorosulfonique

Le rendement moyen de fonctionnalisation, lorsque cette voie de synthèse est utilisée, est de 60 %. Les conditions expérimentales sont assez dures ce qui fragilise les supports qui sont parcourus de fissures ou sont cassés.

I. 2. 2. Voie de greffage utilisant le chlorure de thionyle

Le greffage des fonctions sulfonylhydrazine sur les résines sulfoniques peut être réalisé par traitement avec du chlorure de thionyle puis avec de l'hydrate d'hydrazine [119] [120] (**Figure 39**). La première étape nécessite généralement l'activation de la fonction acide par de la pyridine [47]. Dans notre cas, ce composé pouvant être un facteur de pollution, l'expérience sera réalisée sans pyridine. Le temps de réaction sera allongé et un excès de chlorure de thionyle sera employé.

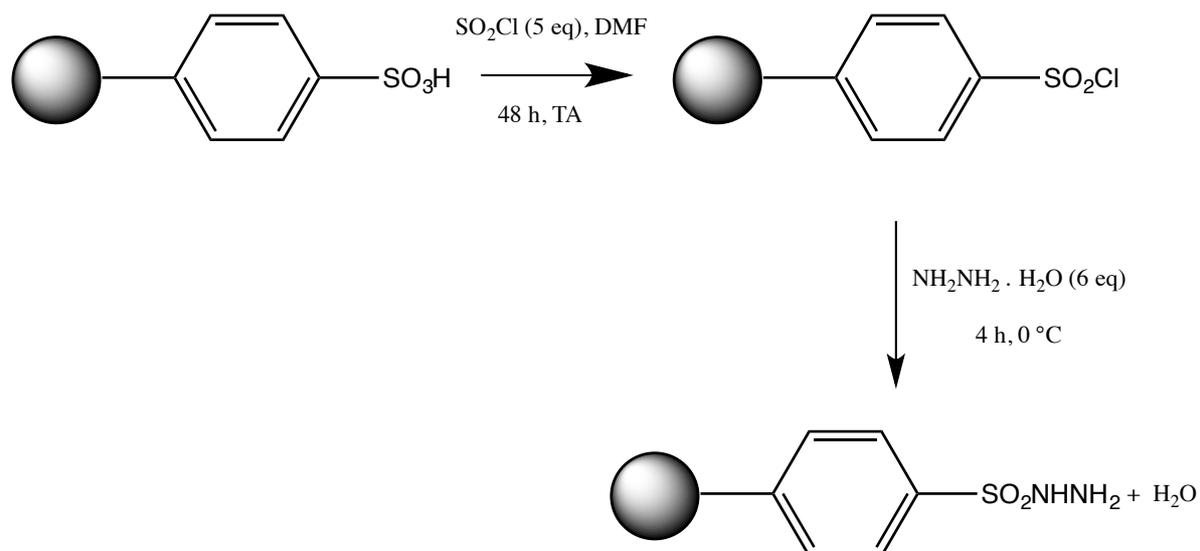


Figure 39 : Greffage de la fonction sulfonylhydrazine par la voie utilisant du chlorure de thionyle

Le rendement de fonctionnalisation obtenu, en utilisant cette voie de synthèse, est de l'ordre de 60 %. L'utilisation du chlorure de thionyle ne fragilise pas le support qui reste intact en fin de réaction.

Les voies de synthèse utilisant de l'acide chlorosulfonique ou du chlorure de thionyle présentent quelques inconvénients. Elles utilisent des dérivés chlorés et des solvants tels que le DMF qui sont connus pour leur toxicité.

Ces voies de synthèse n'ont finalement pas été retenues dans le cadre de cette étude, afin d'utiliser le moins de composés toxiques possible. Une nouvelle voie de synthèse en une seule étape a été développée faisant intervenir un chauffage par micro-ondes.

I. 2. 3. Voie directe de greffage

L'utilisation des micro-ondes comme source d'énergie pour les réactions chimiques a été largement étudiée durant ces dernières années [121] (**Figure 40**).



Figure 40 : Réacteur de micro-ondes disponible au laboratoire

La chimie sous micro-ondes est de plus en plus utilisée car elle est simple à mettre en œuvre, rapide, sélective et présente de nombreux avantages [122].

Le chauffage classique utilise un four ou un bain d'huile et chauffe les parois du réacteur par conduction ou convection. Le centre de l'échantillon prend plus de temps à atteindre la température espérée surtout si l'échantillon est de grande taille. A l'inverse, l'utilisation des micro-ondes permet un chauffage au cœur de la matière de façon uniforme et sans chauffer le four entier, ce qui permet de faire des économies d'énergie et d'atteindre la température souhaitée plus rapidement [123] (**Figure 41**).

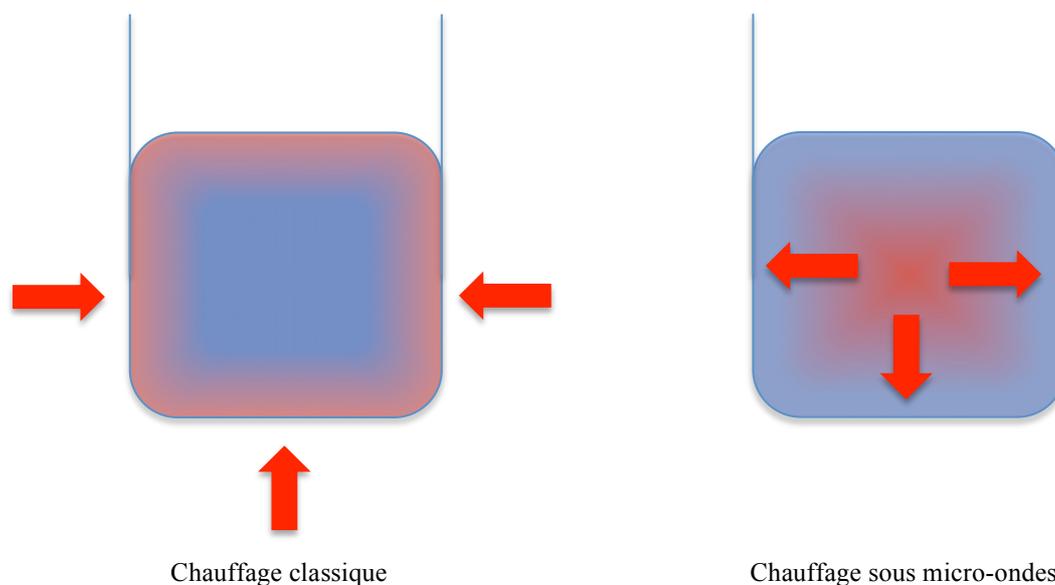


Figure 41 : Différence de transfert de chaleur entre le chauffage classique et le chauffage sous micro-ondes

L'activation micro-ondes permet d'accélérer de façon considérable certaines réactions chimiques. Elle permet de réaliser des réactions chimiques dans des conditions plus « propres » que le chauffage thermique, notamment en limitant l'utilisation de solvants. D'autre part, il est possible que les rendements obtenus en utilisant le chauffage sous micro-ondes soient meilleurs que ceux obtenus en utilisant le chauffage dit « classique » [124] [125].

Le chauffage par micro-ondes, associé à la synthèse sur support solide, peut être un moyen de s'affranchir de l'utilisation de réactifs toxiques et de réaliser les réactions chimiques, dans les meilleurs cas, en utilisant le moins de solvants possibles voire pas du tout. Cette approche de la synthèse chimique s'inscrit dans l'un des principes de la chimie verte [126].

L'activation thermique par micro-ondes a été utilisée afin de greffer directement la fonction sulfonylhydrazine sur les résines sulfoniques de type Dowex monosphères 650 C, sans passer par un intermédiaire chloré (**Figure 42**).

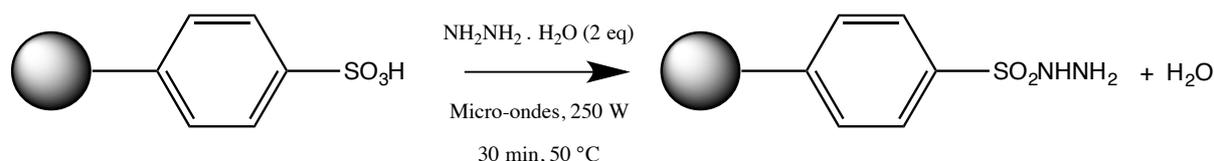


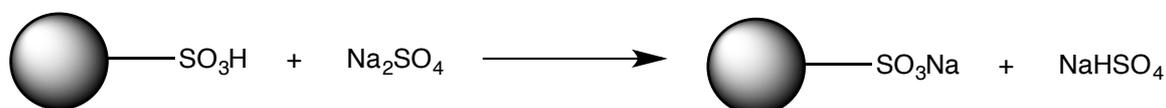
Figure 42 : Greffage de la fonction sulfonylhydrazine par activation thermique sous micro-ondes

Lors de travaux antérieurs [71], un rendement de fonctionnalisation de 66 % a été obtenu en utilisant cette approche. Cette voie de synthèse a été retenue pour fonctionnaliser les supports.

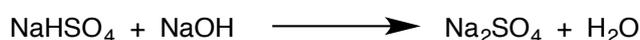
I. 2. 4. Analyse des supports

I. 2. 4. a. Détermination du taux de fonctions acide sulfonique

Une méthode de titration acido-basique a été employée pour déterminer la quantité de fonctions SO_3H présentes sur la résine sulfonique [127]. Les résines sont placées dans une solution aqueuse de sulfate de sodium : un hydrogénosulfate de sodium est formé selon l'équation suivante :

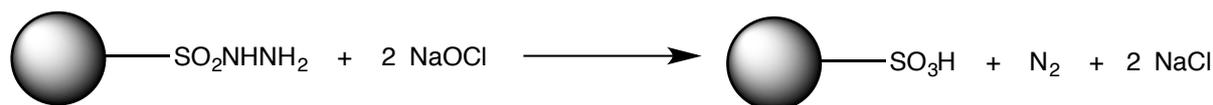


L'hydrogénosulfate de sodium obtenu est dosé en retour par une solution aqueuse de soude en présence d'un indicateur coloré (la phénolphtaléine). L'équivalence est atteinte lorsque la solution devient rose.



I. 2. 4. b. Détermination du taux de fonctions sulfonylhydrazine greffées

La validation du greffage de la fonction sulfonylhydrazine est importante. Une méthode fiable et sélective permettant de déterminer la quantité de fonctions sulfonylhydrazine fixées sur le support après la fonctionnalisation du support a été développée [112]. La réaction entre la sulfonylhydrazine et de l'hypochlorite de sodium provoque un dégagement gazeux d'azote.



Ce dégagement gazeux peut être quantifié à l'aide d'une burette à gaz (partie expérimentale).

I. 3. Optimisation des conditions opératoires de la fonctionnalisation

Parmi les différentes méthodes d'optimisation systématiques des conditions opératoires développées, la méthode du simplexe (« self-directing method ») a semblé être la plus attrayante car elle est mathématiquement simple et facile à mettre en œuvre [128]. Cette méthode a d'ailleurs trouvé de nombreuses applications en biochimie [129], en chimie des matériaux [130], en chimie analytique [131] et en synthèse organique [132].

Le procédé d'optimisation par la méthode du simplexe est une stratégie qui permet de localiser rapidement et efficacement la région de l'optimum réactionnel en faisant varier simultanément toutes les variables [133]. Un simplexe est une figure géométrique définie par un certain nombre de points (expériences) noté p dans un espace à $p-1$ dimensions (variables). Le procédé du simplexe se déroule en plusieurs étapes :

- la première étape consiste à réaliser un ensemble d'expériences représentant une figure géométrique en fonction du nombre de variables jugées intéressantes. La figure est un triangle pour deux variables, un tétraèdre pour trois variables et un simplexe (un triangle multidimensionnel) pour quatre variables ou plus.

- la seconde étape consiste à identifier l'expérience qui a produit le pire résultat une fois que l'ensemble des expériences a été réalisé.

- la troisième étape consiste à éliminer l'expérience donnant le pire résultat et la remplacer par une nouvelle expérience selon une règle définie. Dans cette étude, les conditions opératoires de la nouvelle expérience ont été obtenues en faisant un calcul : pour chaque variable, on calcule le double de la moyenne des valeurs donnant les meilleurs résultats et on soustrait la valeur donnant le plus mauvais résultat [134].

Lorsque cette expérience de remplacement a été exécutée, le plus mauvais point de la nouvelle série est identifié et éliminé encore. Cela continuera jusqu'à ce qu'aucune autre amélioration ne soit observée.

Pour procéder à l'optimisation, il est d'abord nécessaire de sélectionner les paramètres qui sont susceptibles d'avoir la plus grande influence sur le rendement de la réaction. Dans notre cas, quatre paramètres ont été retenus : la température de réaction (T), le temps de réaction (t), le pH de la solution aqueuse et le rapport molaire entre l'hydrate d'hydrazine et l'acide sulfonique supporté sur un polymère (R). Des limites ont été imposées sur chaque paramètre afin de ne pas atteindre des conditions de réaction trop drastiques. Les limites imposées du système choisi sont les suivantes : $30\text{ }^{\circ}\text{C} < T < 200\text{ }^{\circ}\text{C}$; $15\text{ min} < t < 120\text{ min}$; $0 < \text{pH} < 14$; $1 < R < 4$.

Le système ayant quatre variables, le simplexe va débiter par une série de cinq expériences menées au hasard tout en respectant les limites imposées pour chaque variable. La quantité de sulfonylhydrazine greffée sur le support ainsi que la quantité d'acide sulfonique restant sur le support ont été déterminées pour chaque expérience et le rendement a été calculé. Les résultats obtenus sont rapportés dans le **Tableau 13**.

Expérience	Paramètres				Résultats		Rendement (%)
	T (°C)	t (min)	pH	R	SO ₂ NHNH ₂ Greffée (mmol/g)	SO ₃ H Restant (mmol/g)	
1	50	30	9	2	3,47	1,01	77,1 ± 0,8
2	70	50	9	3	3,10	1,41	68,9 ± 0,7
3	30	50	9	1	2,88	1,63	64,0 ± 0,6
4	100	90	7	4	3,51	1,00	78,0 ± 0,8
5	120	15	4	2	3,24	1,28	72,0 ± 0,7

Tableau 13 : Résultats des expériences initiales du simplexe réalisées au hasard

Le plus mauvais taux de fonctionnalisation des supports est de 2,88 mmol de sulfonylhydrazine par gramme de support. Ce résultat est obtenu en appliquant les conditions

opératoires de l'expérience 3. Cette expérience sera éliminée et remplacée par un nouveau point en effectuant le calcul selon Hendrix [134] (**Tableau 14**) :

Expérience	Paramètres expérimentaux			
	T (°C)	t (min)	pH	R
1	50	30	9	2
2	70	50	9	3
3	30	15	2	1
4	100	90	7	4
5	120	15	4	2
Somme des quatre meilleures valeurs (1, 2, 4, 5)	340	185	29	11
Moyenne des quatre valeurs	85	46,25	7,25	2,75
2 × moyenne des quatre valeurs	170	92,5	14,5	5,5
Moins le plus mauvais point (point 3)	- 30	- 15	- 2	- 1
Nouvelle expérience (6)	140	77,5	12,5	4,5

Tableau 14 : Identification et remplacement de la plus mauvaise expérience

Cette méthode est répétée plusieurs fois jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'amélioration du rendement (**Tableau 15**).

Expérience	Paramètres expérimentaux				Résultats		
	t (min)	T (°C)	pH	R	SO ₂ NHNH ₂ Greffée (mmol/g)	SO ₃ H Restant (mmol/g)	Rendement %
6	78	140	12	4,5	3,64	0,78	80,9 ± 0,8
7	57	135	7	3,25	3,78	0,74	84,0 ± 0,8
8	112,5	93	14	4,9	3,87	0,64	86,0 ± 0,9
9	139	184	11	6,3	3,29	1,21	73,1 ± 0,7
10	103,5	175	14	5,5	3,92	0,60	87,1 ± 0,9
11	86	172	14	5,0	3,56	0,96	79,1 ± 0,8
12	46,5	207	13	3,9	3,87	0,64	86,0 ± 0,9
13	26	62	11	2,12	3,83	0,71	85,1 ± 0,8
14	75	145	14	4,42	3,38	1,03	75,1 ± 0,7

Tableau 15 : Ensemble des conditions opératoires calculées pour le simplexe

Les rendements des réactions de fonctionnalisation sont inscrits dans une gamme comprise entre 73 et 87 %. Le simplexe a été arrêté à l'expérience 14 car les rendements n'étaient plus améliorés. Les meilleurs taux de fonctionnalisation sont de 3,92 mmol de sulfonylhydrazine par gramme de support, 3,87 mmol de sulfonylhydrazine par gramme de support et de 3,83 mmol de sulfonylhydrazine par gramme de support respectivement obtenus avec les expériences 10, 12 et 13. L'expérience 13 permet d'obtenir le meilleur compromis avec un rendement de 85 % pour un temps de réaction de 26 minutes, une température de 62 °C, un pH de 11 et un rapport molaire de 2,12. Les conditions opératoires de l'expérience 13 ont été retenues pour fonctionnaliser les résines sulfoniques. Cette expérience a été répétée cinq fois et la moyenne des valeurs permet de déterminer un taux $3,70 \pm 0,04$ mmol de sulfonylhydrazine par gramme de support.

Les billes fonctionnalisées obtenues ont été observées au microscope électronique à balayage (MEB) (**Figure 43**).

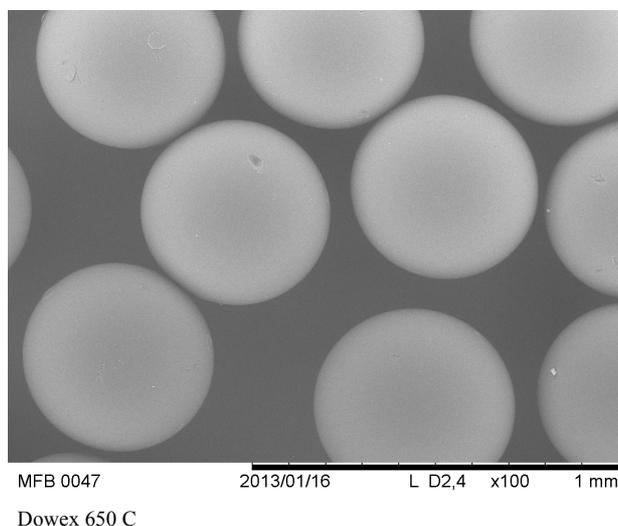


Figure 43 : Microphotographie MEB de la surface des résines sulfoniques fonctionnalisées

Les billes sont sphériques avec un diamètre moyen de 500 μm . La fonctionnalisation ne détériore pas les billes dont les surfaces sont lisses.

Les taux de gonflement de la résine sulfonique commerciale et de la résine fonctionnalisée avec de l'hydrazine par activation sous micro-ondes ont été évalués à l'aide d'une burette graduée. Un mélange eau-éthanol (88 : 12) a été utilisé comme solvant afin de reproduire un milieu hydroalcoolique. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 16**.

Support	Taux de gonflement (%)
Résine sulfonique commerciale	40
Résine fonctionnalisée	36

Tableau 16 : Taux de gonflement de la résine sulfonique avant et après fonctionnalisation

Les deux supports présentent un taux de gonflement proche. La fonctionnalisation par l'hydrazine n'a pas modifié le comportement du support dans le solvant utilisé. La capacité des supports à gonfler en milieu hydroalcoolique facilitera l'accessibilité des fonctions

sulfonylhydrazine. La solution diffusera à travers le support et la réaction d'extraction des dérivés carbonylés sera favorisée.

La capacité de ce support à extraire les dérivés carbonylés doit maintenant être vérifiée.

II- Cinétiques d'extraction des dérivés carbonylés en solution modèle

Le vin est une solution complexe contenant une grande diversité de composés chimiques. Il contient une grande quantité de dérivés carbonylés, de nombreux sucres et des composés responsables de la couleur tels que les anthocyanes. Avant de travailler directement avec du vin, l'étude de l'extraction des dérivés carbonylés par un support solide a été réalisée sur des solutions modèles du vin. Il s'agit de solutions hydroalcooliques constituées d'un mélange eau-éthanol (88 : 12), contenant des concentrations connues de dérivés carbonylés, et dont le pH est ajusté à 3,5 (pH du vin). Leur composition est simplifiée ce qui rend l'analyse et l'interprétation des résultats plus faciles.

La vérification de l'efficacité du support d'extraction a été réalisée sur des solutions modèles contenant d'une part l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique introduits individuellement, puis sur une solution modèle contenant un mélange des trois dérivés carbonylés. Il a été possible d'analyser le comportement de chaque dérivé carbonylé vis-à-vis de la sulfonylhydrazine greffée sur support mais également de déterminer si l'extraction des dérivés carbonylés était possible dans un mélange avant d'appliquer la méthode au vin.

Pour l'ensemble de l'étude avec la fonction sulfonylhydrazine, quatre solutions modèles contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés ont été préparées. La composition de chaque solution est détaillée dans le **Tableau 17**.

	Ethanal (mmol/L)	Acide pyruvique (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)
Ethanal seul	3,70	0	0
Acide pyruvique seul	0	3,70	0
Acide 2-oxoglutarique seul	0	0	3,70
Mélange des trois composés	1,35	1,25	1,10

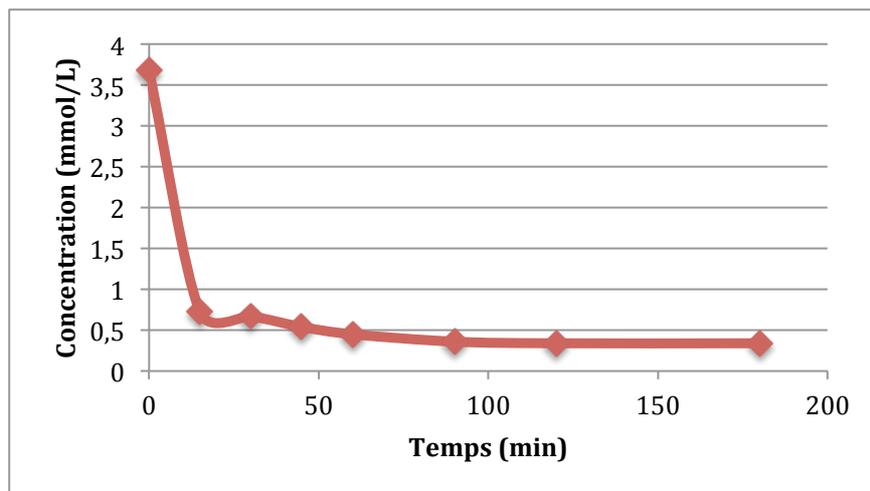
Tableau 17 : Composition des solutions modèles mises en contact avec la fonction sulfonylhydrazine

II. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂

Les solutions modèles ont été mises en contact avec les supports. Un rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés] = 1 a été utilisé. Le mélange a été laissé à température ambiante sans agitation. Un aliquot a été prélevé à intervalles de temps réguliers et analysé.

II. 1. 1. Extraction de l'éthanal seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'éthanal seul sont présentés sur le **Graphique 1**.

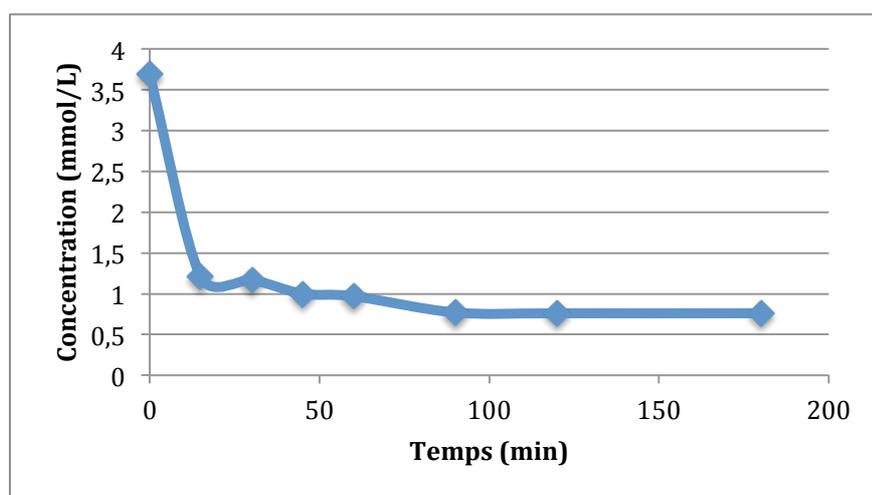


Graphique 1 : Evolution de la concentration en éthanal (en absence de SO_2) en fonction du temps

L'éthanal, seul présent en solution modèle, est rapidement extrait du milieu. Au bout de 15 minutes, la concentration en éthanal a diminué de 80 %. Un palier est atteint au bout de 90 minutes avec 10 % d'éthanal restant dans le milieu.

II. 1. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide pyruvique seul sont présentés sur le **Graphique 2**.

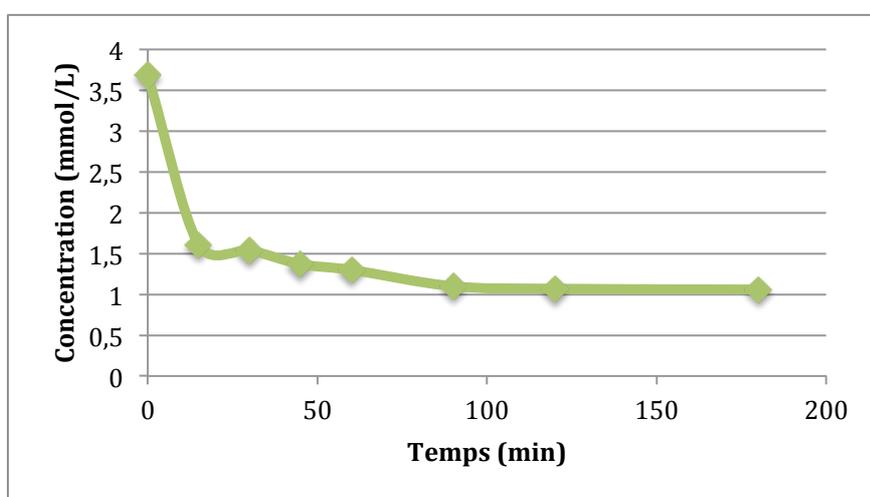


Graphique 2 : Evolution de la concentration en acide pyruvique (en absence de SO_2) en fonction du temps

Une diminution de la concentration en acide pyruvique est observée. Un équilibre est établi au bout de 90 min de mise en contact entre la solution et le support. Il reste 20 % d'acide pyruvique dans le milieu.

II. 1. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul sont présentés sur le **Graphique 3**.

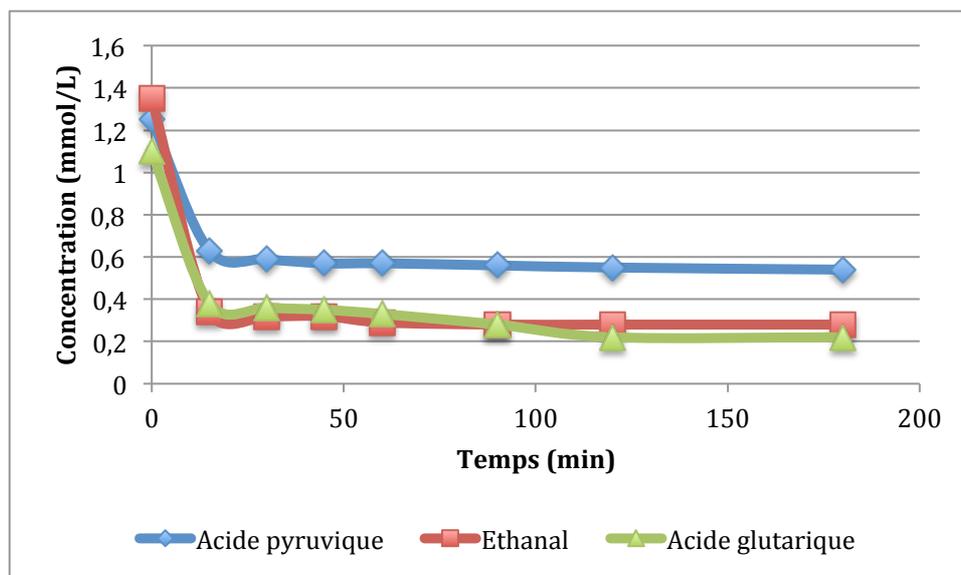


Graphique 3 : Evolution de la concentration en acide 2-oxoglutarique (en absence de SO_2) en fonction du temps

La concentration en acide 2-oxoglutarique baisse au contact du support. Le temps nécessaire pour obtenir une extraction optimale est de 90 min. L'efficacité d'extraction, de 70 %, est moins importante que dans les cas des deux autres dérivés carbonyles étudiés.

II. 1. 4. Extraction des trois dérivés carbonyles mélangés en solution

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction des trois dérivés carbonyles sont présentés sur le **Graphique 4**.



Graphique 4 : Evolution de la concentration des trois dérivés carbonyles présents dans une même solution (en absence de SO_2) en fonction du temps

Une diminution de la concentration des trois dérivés carbonyles est observée. L'équilibre est atteint au bout de 90 min. Au delà de ce temps, les concentrations ne varient plus. La concentration en éthanal a diminué de 85 % tandis que 54 % d'acide pyruvique et 76 % d'acide 2-oxoglutarique ont été extraits. L'éthanal est le composé le plus efficacement extrait dans ce cas.

II. 1. 5. Bilan des extractions

L'extraction de l'éthanal, de l'acide pyruvique et de l'acide 2-oxoglutarique, seuls ou mélangés en solution, peut être réalisée avec le support fonctionnalisé par la sulfonylhydrazine.

Le temps nécessaire pour obtenir une extraction optimale des composés carbonyles, dans tous les cas étudiés, est de 90 min.

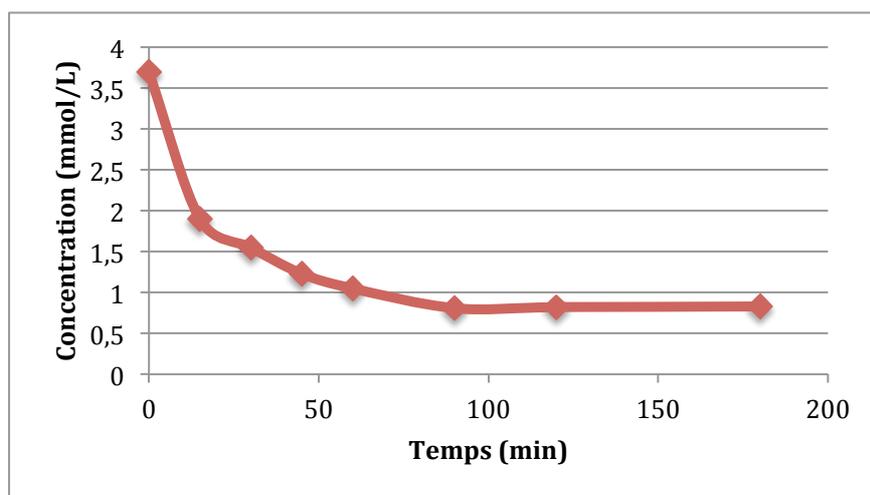
La présence d'un rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonyles] = 1 donne de bons résultats. Il sera intéressant d'étudier l'influence de la quantité de fonctions extractives sur l'efficacité d'extraction.

II. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂

Les quatre solutions modèles contiennent les mêmes concentrations en dérivés carbonylés que précédemment. A chaque solution modèle, une dose de SO₂ a été ajoutée afin d'obtenir une concentration en SO₂ total de 2,80 mmol/L (180 mg/L). Cette concentration a été déterminée par la méthode du TL50 [135]. Le TL50 est la teneur en SO₂ total nécessaire pour avoir une teneur en SO₂ libre de 50 mg/L (0,78 mmol/L). Cette teneur est connue en réalisant une méthode des ajouts dosés et en traçant la courbe de l'évolution de la concentration en SO₂ total en fonction de la concentration en SO₂ libre (partie expérimentale).

II. 2. 1. Extraction de l'éthanal seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'éthanal en présence de SO₂ sont présentés sur le **Graphique 5**.

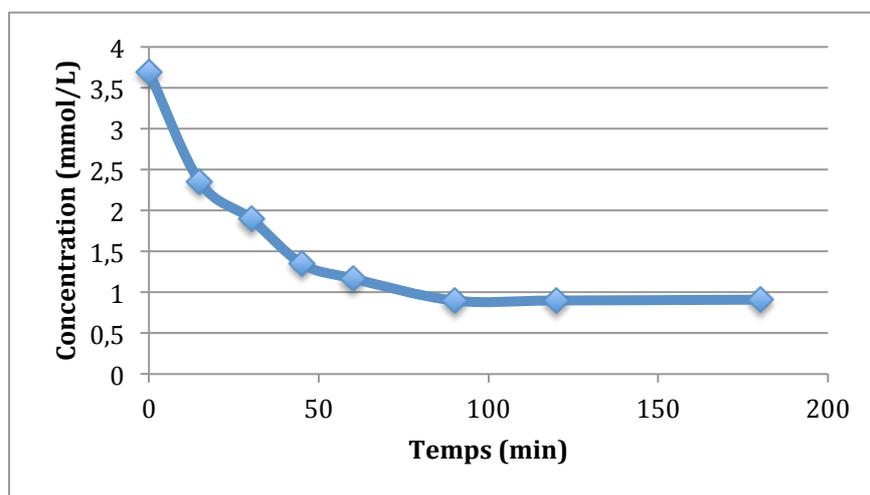


Graphique 5 : Evolution de la concentration en l'éthanal seul (en présence de SO₂) en fonction du temps

La concentration en éthanal a diminué. L'extraction de ce composé, en présence de SO₂, est possible. L'équilibre qui s'établit entre l'éthanal et le SO₂ peut être déplacé. Le temps nécessaire pour une extraction optimale est de 90 min. Il reste 22 % d'éthanal dans le milieu (contre 10 % en absence de SO₂). L'efficacité d'extraction diminue légèrement en présence de dioxyde de soufre.

II. 2. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide pyruvique en présence de SO_2 sont présentés sur le **Graphique 6**.

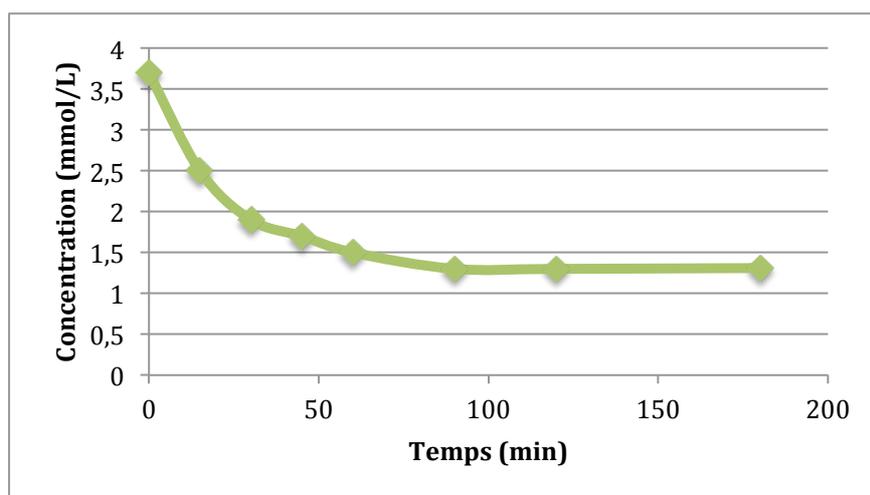


Graphique 6 : Evolution de la concentration en acide pyruvique (en présence de SO_2) en fonction du temps

Une baisse de la concentration en acide pyruvique est observée. L'équilibre entre le SO_2 et l'acide pyruvique peut être déplacé. Un palier est atteint au bout de 90 min avec 75 % d'acide pyruvique extrait du milieu (contre 80 % en absence de SO_2). La présence de dioxyde de soufre ne diminue pas de façon significative l'efficacité d'extraction de l'acide pyruvique.

II. 2. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique en présence de SO_2 sont présentés sur le **Graphique 7**.

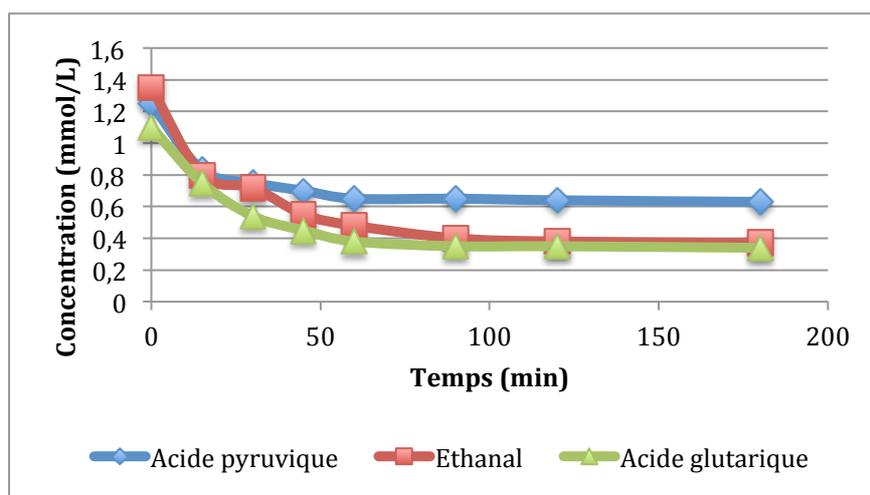


Graphique 7 : Evolution de la concentration en acide 2-oxoglutarique (en présence de SO₂) en fonction du temps

La concentration en acide 2-oxoglutarique diminue au contact du support. Le temps nécessaire pour obtenir le maximum d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique est de 90 min. Il reste 35 % de ce composé en solution. L'équilibre qui s'établit entre le SO₂ et l'acide 2-oxoglutarique peut, comme pour les deux autres composés, être déplacé.

II. 2. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction des trois dérivés carbonylés en présence de SO₂ sont présentés sur le **Graphique 8**.



Graphique 8 : Evolution de la concentration des trois dérivés carbonylés présents dans une même solution (en présence de SO_2) en fonction du temps

La concentration des trois dérivés carbonylés a diminué après mise en présence du support d'extraction. Bien qu'une partie de ces dérivés carbonylés soit combinée au SO_2 , il est possible de déplacer les équilibres formés avec ce dernier pour permettre l'extraction. Au delà de 90 min, les concentrations en composés carbonylés ne varient plus, un équilibre est donc atteint. Il reste 30 % d'éthanal, 50 % d'acide pyruvique et 35 % d'acide 2-oxoglutarique. L'efficacité globale d'extraction est de 62 %. La présence de SO_2 diminue légèrement l'efficacité d'extraction.

II. 2. 5. Bilan des extractions

L'extraction des dérivés carbonylés, qu'ils soient seuls ou en mélange, est possible en présence de SO_2 . Dans ce cas, l'efficacité est légèrement réduite par rapport aux résultats obtenus lorsque le SO_2 est absent. Le temps nécessaire pour atteindre un équilibre est de 90 min. Pour la suite de l'étude avec ce support, les temps de mise en contact entre le support et la solution ont été fixés à 3 h.

III- Influence du rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés] et du mode d'extraction choisi

Deux méthodes d'extraction ont été envisagées. L'extraction en mode statique est réalisée en laissant les flacons contenant la solution modèle et les résines sans aucune agitation pendant 3 h. L'extraction en mode dynamique est effectuée par percolation de la solution modèle à travers une cartouche contenant les résines à l'aide d'une pompe péristaltique. Lors des extractions en mode statique, plusieurs rapports molaires [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés] seront utilisés afin de déterminer l'influence du rapport molaire sur l'efficacité d'extraction des dérivés carbonylés.

III. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂

III. 1. 1. Extraction en mode statique

L'extraction en mode statique a été réalisée sur une solution modèle contenant les trois dérivés carbonylés. La concentration totale en dérivés carbonylés est de 3,70 mmol/L (1,35 mmol/L d'éthanal + 1,25 mmol/L d'acide pyruvique + 1,10 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique). Trois essais ont été effectués et pour chaque essai, un rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés] différent a été utilisé :

- témoin : rapport molaire = 0
- essai 1 : rapport molaire = 1
- essai 2 : rapport molaire = 1,5
- essai 3 : rapport molaire = 2

Le temps de mise en contact pour tous les essais est de 3 h. Les résultats de l'extraction des dérivés carbonylés en mode statique, en utilisant différentes concentrations des fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 18**.

	Témoin	Essai 1	Essai 2	Essai 3
Concentration finale en éthanal (mmol/L)	1,35 ± 0,04	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Efficacité d'extraction de l'éthanal (%)	-	96 ± 3	96 ± 3	96 ± 3
Concentration finale en acide pyruvique (mmol/L)	1,25 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,01
Efficacité d'extraction de l'acide pyruvique (%)	-	80 ± 3	85 ± 3	87 ± 3
Concentration finale en acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	1,10 ± 0,03	0,25 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,12 ± 0,01
Efficacité d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique (%)	-	77 ± 3	81 ± 3	89 ± 3
Total des dérivés carbonylés restants (mmol/L)	3,70 ± 0,11	0,55 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,33 ± 0,01
Efficacité d'extraction globale (%)	-	85	88	91

Tableau 18 : Résultats des extractions en mode statique des dérivés carbonylés en absence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives

Les trois dérivés carbonylés ont été efficacement extraits quel que soit le rapport molaire employé. L'utilisation d'un excès de fonctions extractives (rapport molaire = 2) n'améliore pas l'efficacité d'extraction de l'éthanal. Seules les efficacités d'extraction de l'acide pyruvique et de l'acide 2-oxoglutarique ont été légèrement améliorées. L'efficacité globale d'extraction est comprise entre 85 et 91 %. Il ne semble pas nécessaire d'utiliser un excès de fonctions extractives.

III. 1. 2. Extraction en mode dynamique

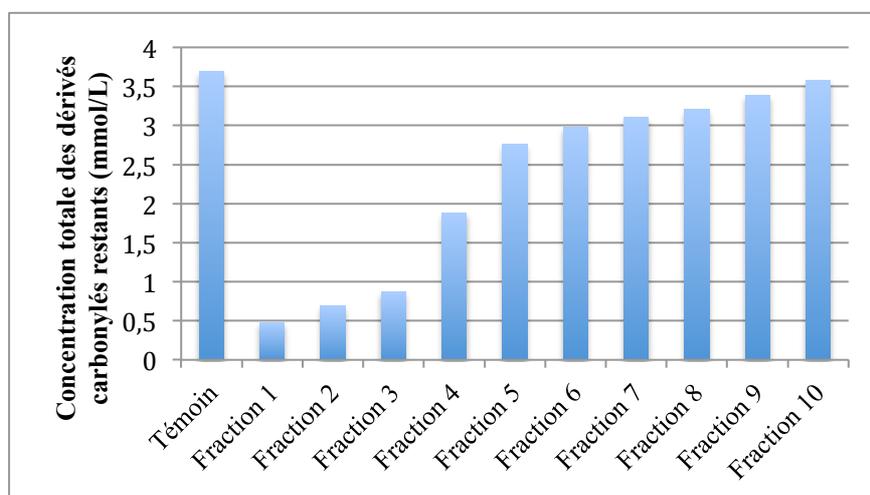
La deuxième méthode testée pour extraire les dérivés carbonylés consiste à faire percoler la solution modèle à travers les résines immobiles, contenues dans une colonne à chromatographie basse pression, grâce à une pompe péristaltique (**Figure 44**).



Figure 44 : Montage expérimental de l'extraction en mode dynamique

Un litre de solution modèle contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés (1,35 mmol/L d'éthanal + 1,25 mmol/L d'acide pyruvique + 1,10 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique) a été préparé. La solution a été percolée à travers une colonne contenant 1 g de billes (3,70 mmol/g de fonctions extractives ; rapport molaire = 1) à une vitesse de 100 mL/heure. Dix fractions de

100 mL sont recueillies et analysées. Les résultats des mesures effectuées sont présentés sur le **Graphique 9**.



Graphique 9 : Extraction en mode dynamique des dérivés carbonylés en absence de SO_2

La concentration en dérivés carbonylés a diminué dans les différentes fractions recueillies. L'extraction des composés en mode dynamique est efficace. Dans les fractions n° 1, 2 et 3, la concentration en dérivés carbonylés a diminué d'environ 77 %. L'extraction en mode dynamique baisse en efficacité au fil des fractions recueillies.

La quantité totale de dérivés carbonylés extraits de 1 L de solution modèle (10 fractions de 100 mL collectées) est de 1,37 mmol/L soit une efficacité d'extraction globale de 38 %. Ce mode d'extraction est moins efficace que l'extraction en mode statique qui permettait d'obtenir une efficacité d'extraction de 85 % avec un rapport molaire = 1.

Il a été observé, lors de la percolation, que la solution modèle suivait un trajet préférentiel. Une partie des résines n'était pas au contact de la solution modèle. Cela pourrait expliquer cette perte rapide d'efficacité d'extraction. Il est très probablement possible d'améliorer la méthode de percolation afin d'améliorer l'efficacité de l'extraction.

III. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO_2

Après avoir étudié l'influence du rapport molaire utilisé et du mode d'extraction (statique ou dynamique) sur l'efficacité d'extraction en absence de SO_2 , nous allons faire de même en présence de SO_2 .

III. 2. 1. Extraction en mode statique

Une solution comportant la même concentration en dérivés carbonylés que dans le cas de l'extraction en absence de SO₂ (1,35 mmol/L d'éthanal + 1,25 mmol/L d'acide pyruvique + 1,10 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique) a été préparée. Elle a été sulfitée afin d'obtenir 2,80 mmol/L (180 mg/L) de SO₂.

Trois essais ont été effectués et pour chaque essai, un rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés] différent a été utilisé :

- témoin : rapport molaire = 0
- essai 1 : rapport molaire = 1
- essai 2 : rapport molaire = 1,5
- essai 3 : rapport molaire = 2

Les résultats de l'extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂, en mode statique, avec différentes concentrations des fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 19**.

	Témoin	Essai 1	Essai 2	Essai 3
Concentration finale en éthanal (mmol/L)	1,35 ± 0,04	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Efficacité d'extraction de l'éthanal (%)	-	89 ± 3	89 ± 3	89 ± 3
Concentration finale en acide pyruvique (mmol/L)	1,25 ± 0,04	0,50 ± 0,03	0,42 ± 0,02	0,35 ± 0,03
Efficacité d'extraction de l'acide pyruvique (%)	-	60 ± 3	66 ± 3	72 ± 3
Concentration finale en acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	1,10 ± 0,03	0,30 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,25 ± 0,01
Efficacité d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique (%)	-	73 ± 3	75 ± 3	77 ± 3
Total des dérivés carbonylés restants (mmol/L)	3,70 ± 0,11	0,95 ± 0,03	0,84 ± 0,03	0,75 ± 0,02
Efficacité d'extraction globale (%)	-	74	77	80

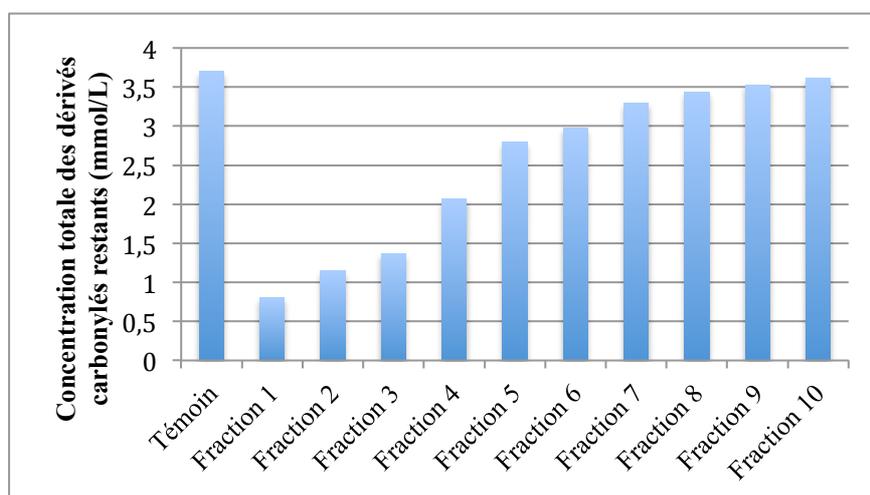
Tableau 19 : Résultats des extractions en mode statique des dérivés carbonylés en présence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives

Les trois dérivés carbonylés ont été efficacement extraits quel que soit le rapport molaire utilisé. L'utilisation d'un excès de fonctions extractives améliore légèrement l'efficacité globale d'extraction qui atteint 80 % avec un rapport molaire = 2 (contre 91 % en absence de SO₂). La présence de SO₂ diminue l'efficacité d'extraction. Il ne semble pas nécessaire d'utiliser un excès de fonctions extractives.

III. 2. 3. Extraction en mode dynamique

Un litre de solution modèle contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonyles (1,35 mmol/L d'éthanal + 1,25 mmol/L d'acide pyruvique + 1,10 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique) a été préparé. La solution a été sulfitée à 2,80 mmol/L (180 mg/L) de SO₂. Elle a été percolée à travers une colonne à chromatographie basse pression contenant 1 g de résines (3,70 mmol/L de fonctions extractives ; rapport molaire = 1) à une vitesse de 100 mL/heure. Dix fractions de 100 mL ont été recueillies et analysées.

Les résultats des mesures de l'extraction des dérivés carbonyles en mode dynamique en présence de SO₂ sont présentés sur le **Graphique 10**.



Graphique 10 : Extraction des dérivés carbonyles en mode dynamique (en présence de SO₂)

Une diminution de la concentration en dérivés carbonyles dans les différentes fractions recueillies est observée. L'extraction est plus efficace dans les fractions n° 1, 2 et 3. Le procédé d'extraction en mode dynamique baisse en efficacité au fil des fractions recueillies.

La quantité totale de dérivés carbonyles extraits dans 1 L de solution modèle contenant du SO₂ (10 fractions de 100 mL collectées) est de 1,20 mmol/L soit une efficacité d'extraction de 32 %. La présence de SO₂ ralentit légèrement l'extraction des composés (38 % de composés extraits en absence de SO₂). Le mode d'extraction dynamique est moins efficace que le mode d'extraction statique.

III. 3. Conclusions

Le support fonctionnalisé avec la sulfonylhydrazine extrait efficacement les dérivés carbonylés. En présence de dioxyde de soufre, l'extraction des dérivés carbonylés est possible. Les équilibres chimiques s'établissant entre les composés carbonylés et le SO₂ sont déplacés. La présence de dioxyde de soufre dans les solutions modèles diminue l'efficacité d'extraction.

Le mode d'extraction statique est facile à mettre en œuvre et donne de bons résultats avec des cinétiques de l'ordre de l'heure. L'extraction en mode dynamique doit être optimisée. L'ensemble de la résine n'est pas au contact de la solution modèle qui emprunte un chemin préférentiel. Une perte de l'efficacité d'extraction est alors observée.

Le support greffé avec la sulfonylhydrazine a été retenu en utilisant un mode d'extraction statique.

Le recyclage de ce support a été étudié.

IV. Recyclage du support après extraction

L'objectif de l'étude étant de synthétiser un support d'extraction à grande échelle en réduisant au maximum les coûts de fabrication, le recyclage des résines après leur utilisation en tant que support d'extraction des dérivés carbonylés a été envisagé.

IV. 1. Recyclage du support

A la fin de l'extraction des dérivés carbonylés, le support polymère se retrouve greffé par une fonction sulfonylhydrazone [136]. Notre souhait est de mettre au point une méthode permettant de régénérer la résine sulfonique de départ. Elle pourra être ensuite fonctionnalisée à nouveau et réutilisée pour extraire les dérivés carbonylés. La régénération de la résine échangeuse d'ions a été réalisée par un traitement avec une solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel) qui entraîne un décrochage des dérivés carbonylés et un dégagement gazeux d'azote [137] (**Figure 45**).

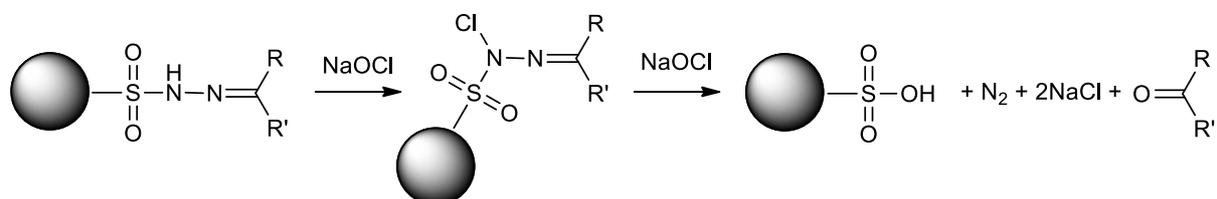


Figure 45 : Régénération de la résine échangeuse d'ions

La quantité de fonctions SO_3H disponibles sur le support est dosée après la réaction. La teneur obtenue est de 4,2 mmol/g de fonctions acide sulfonique contre 4,5 mmol/g sur le support de départ. Le recyclage de la résine sulfonique est donc efficace.

La deuxième étape consiste à fonctionnaliser à nouveau la résine sulfonique régénérée afin de fixer la fonction sulfonylhydrazine finale. La capacité du support recyclé à extraire les dérivés carbonylés a été testée en solution modèle.

IV. 2. Fonctionnalisation de la résine recyclée et extraction des dérivés carbonylés

La résine échangeuse d'ions régénérée a été fonctionnalisée sous activation micro-ondes dans les mêmes conditions que le support initial. Après analyse, le support contient $3,68 \pm 0,05$ mmol/g de fonctions sulfonylhydrazine et il reste $0,51 \pm 0,02$ mmol/g de fonctions acide sulfonique. Ces valeurs sont très proches de celles obtenues lors de la fonctionnalisation de la résine échangeuse d'ions commerciale. La capacité d'extraction des dérivés carbonylés par le support recyclé a été testée.

L'extraction a été réalisée en mode statique sur une solution modèle contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés (1,35 mmol/L d'éthanal + 1,25 mmol/L d'acide pyruvique + 1,10 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique). La solution a été sulfitée à 2,80 mmol/L de SO_2 . Un rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés] = 1 a été employé (**Tableau 20**).

	Témoin	RM = 1
Concentration finale en éthanal (mmol/L)	$1,35 \pm 0,04$	$0,35 \pm 0,01$
Efficacité d'extraction de l'éthanal (%)	-	74 ± 3
Concentration finale en acide pyruvique (mmol/L)	$1,25 \pm 0,04$	$0,64 \pm 0,02$
Efficacité d'extraction de l'acide pyruvique (%)	-	48 ± 3
Concentration finale en acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	$1,10 \pm 0,03$	$0,45 \pm 0,02$
Efficacité d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique (%)	-	59 ± 3
Total des dérivés carbonylés restants (mmol/L)	$3,70 \pm 0,11$	$1,44 \pm 0,04$
Efficacité d'extraction globale (%)	-	61

Tableau 20 : Résultats de l'extraction des dérivés carbonylés en mode statique (en présence de SO_2) avec la résine recyclée

Le support recyclé permet d'extraire les dérivés carbonylés en présence de SO₂. L'efficacité globale du procédé avec la résine régénérée est de 61 % (contre 74 % avec le support initial).

Le recyclage provoque une perte d'efficacité du support.

Il est maintenant nécessaire de s'assurer que ce support ne libère pas de contaminants dans le milieu.

V. Etude des contaminants présents en solution après extraction

Il est primordial pour le développement du projet que les solutions modèles soient exemptes de tout contaminant après l'extraction.

Le principal contaminant pouvant être retrouvé dans le milieu après l'extraction est l'hydrazine. Une méthode de détection de l'hydrazine à l'état de traces (de l'ordre de la centaine de ppm) a donc été développée.

V. 1. Méthode de dosage de traces d'hydrazine

L'hydrazine présente plusieurs effets toxiques à faibles doses. Il est indispensable de pouvoir la doser à l'état de traces. Plusieurs procédés sont décrits dans la littérature pour la détermination de l'hydrazine, en utilisant différentes techniques d'analyse, telles que la spectrophotométrie [138], la voltamétrie [139], la chromatographie en phase gazeuse [140], la chimioluminescence [141]. La plupart de ces méthodes manquent de sensibilité ou nécessitent l'utilisation d'instruments spécifiques et coûteux. Il nous a paru nécessaire de mettre au point une méthode fiable, précise et simple à mettre en œuvre pour doser l'hydrazine à l'état de traces en solution hydroalcoolique.

La méthode retenue fait intervenir le couple redox Cu/Cu²⁺, l'hydrazine et la 2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline encore appelée néocuproïne (**Figure 46**) [76].

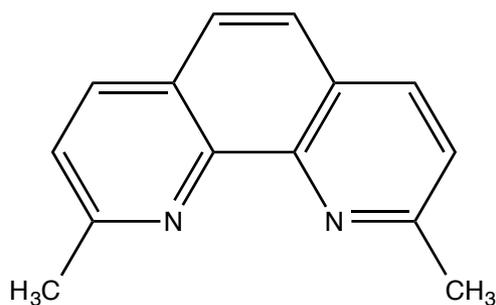


Figure 46 : Structure de la néocuproïne

Le Cu^{2+} est un puissant agent oxydant alors que l'hydrazine est un puissant réducteur. Le Cu^{2+} forme un complexe cuivrique de couleur bleu avec la néocuproïne (Nc). Ce complexe cuivrique peut être réduit par l'hydrazine. Un complexe cuivreux de couleur jaune-orange, absorbant spécifiquement à la longueur d'onde $\lambda = 450 \text{ nm}$ est formé (**Figure 47**) [142]. La quantité de complexe cuivreux formé est proportionnelle à la quantité d'hydrazine présente dans le milieu.

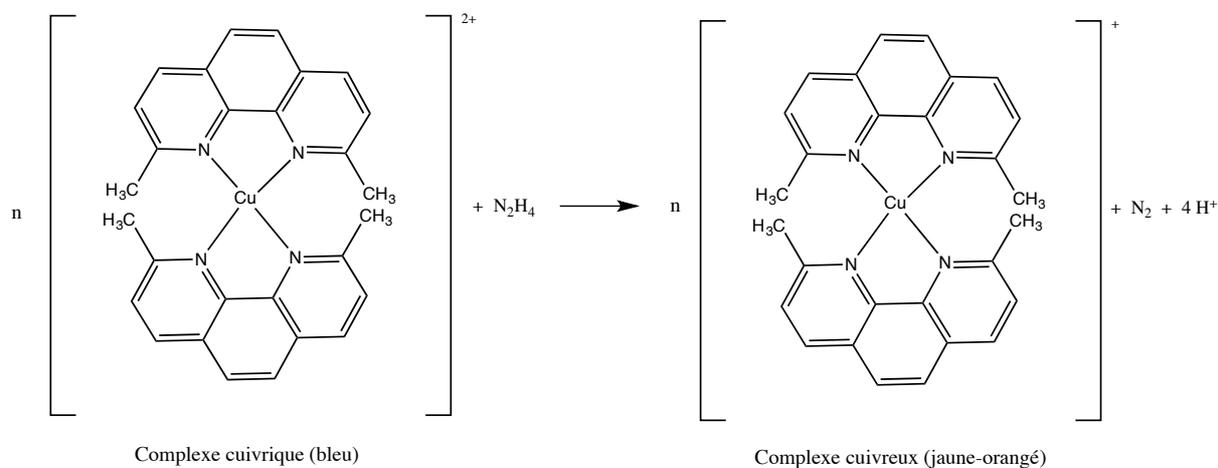


Figure 47 : Principe du dosage des traces d'hydrazine avec la néocuproïne

Le détail de la validation de cette méthode est donné en partie expérimentale.

Cette méthode de dosage a été retenue pour déterminer la présence de traces d'hydrazine dans le milieu après l'extraction des dérivés carbonylés.

V. 2. Dosage de l'hydrazine dans les solutions modèles après extraction

Quatre solutions modèles contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés ont été préparées. La composition de chaque solution modèle est détaillée dans le **Tableau 21**.

	Ethanal (mmol/L)	Acide pyruvique (mmol/L)	Acide 2- oxoglutarique (mmol/L)
Solution 1	3,70	0	0
Solution 2	0	3,70	0
Solution 3	0	0	3,70
Solution 4	1,35	1,25	1,10

Tableau 21 : Composition des solutions modèles analysées

Dans chaque solution, le support d'extraction a été ajouté afin que le rapport molaire soit égal à 1. Les solutions et les résines ont été laissées en contact sans agitation pendant 3 h. Un aliquot est prélevé à intervalles de temps réguliers. La quantité d'hydrazine présente dans chaque échantillon prélevé est dosée.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau 22**.

Concentration en hydrazine (ppm) retrouvée dans :	Temps de réaction avant prélèvement et analyse						
	0	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min
Solution 1	0	123 ± 3	125 ± 2	124 ± 2	126 ± 3	127 ± 2	127 ± 4
Solution 2	0	119 ± 3	121 ± 2	123 ± 3	122 ± 2	124 ± 4	123 ± 2
Solution 3	0	122 ± 2	124 ± 3	123 ± 3	125 ± 3	126 ± 4	125 ± 3
Solution 4	0	129 ± 5	128 ± 4	127 ± 4	130 ± 5	129 ± 4	130 ± 5

Tableau 22 : Evolution de la concentration en hydrazine retrouvée dans les solutions modèles en fonction de la durée d'extraction

Au temps $t = 0$, les solutions modèles ne contiennent pas de support. Aucune trace d'hydrazine n'est retrouvée dans le milieu.

En présence du support fonctionnalisé, une centaine de ppm d'hydrazine a été dosée dans l'ensemble des fractions recueillies. Le support fonctionnalisé avec la sulfonylhydrazine est donc une source de pollution des solutions modèles.

Lors de l'extraction des dérivés carbonylés, le support contamine le milieu en libérant de l'hydrazine. Le temps de contact entre le support et la solution modèle n'a pas d'influence sur la concentration en hydrazine retrouvée dans le milieu.

L'influence de la quantité de fonctions extractives ajoutées lors de l'extraction des dérivés carbonylés sur le taux de contamination a ensuite été étudiée. Les quatre solutions précédentes ont été préparées et fractionnées. A chaque fraction d'une même solution a été ajoutée une quantité différente de fonctions extractives. Les mélanges ont été laissés sans agitation pendant 3 h. La quantité d'hydrazine présente dans chaque fraction a été dosée. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 23**.

Concentration en hydrazine (ppm) retrouvée dans :	Rapport molaire [sulfonylhydrazine] / [dérivés carbonylés]		
	1	1,5	2
Solution 1	123 ± 3	195 ± 5	263 ± 4
Solution 2	125 ± 4	198 ± 4	257 ± 3
Solution 3	124 ± 4	197 ± 4	264 ± 4
Solution 4	124 ± 3	199 ± 4	262 ± 3

Tableau 23 : Evolution de la concentration en hydrazine retrouvée dans les solutions modèles en fonction du rapport molaire (temps de contact : 3 h)

Le taux de contamination en hydrazine augmente avec les quantités de fonctions extractives ajoutées dans les solutions modèles.

La présence d'hydrazine retrouvée dans le milieu peut avoir deux causes. D'une part, il est possible que le lavage des résines au Soxhlet après la fonctionnalisation ne soit pas exhaustif. D'autre part, le greffage de la fonction sulfonylhydrazine sur le support peut être fragilisé par les conditions d'extraction (milieu hydroalcoolique, pH acide) provoquant un décrochage de la fonction hydrazine.

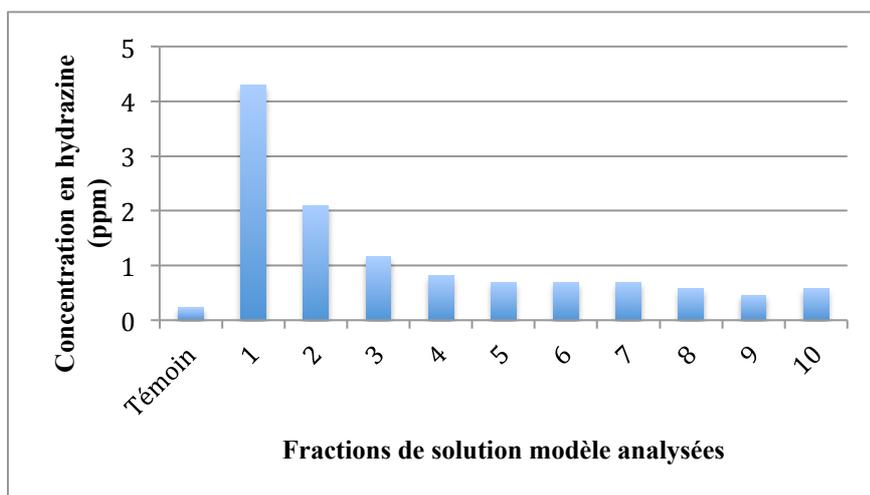
Une étude plus approfondie a été entreprise afin de déterminer l'origine des taux élevés d'hydrazine retrouvée dans le milieu.

V. 3. Recherche de la provenance de l'hydrazine relarguée

La provenance des quantités non négligeables d'hydrazine retrouvées dans les solutions modèles a été recherchée. Plusieurs essais de lavage des résines en utilisant deux solvants différents ont été réalisés. Lors de chaque lavage, les résines (5 g) ont été placées dans une solution (100 mL) et laissées sans agitation à température ambiante. Chaque heure, les résines ont été filtrées puis remises en suspension dans une solution fraîche. Chaque filtrat a été recueilli puis analysé.

V. 3. 1. Lavage avec une solution hydroalcoolique

Les résultats des analyses de chaque filtrat lors du lavage des résines avec une solution hydroalcoolique sont présentés sur le **Graphique 11**.



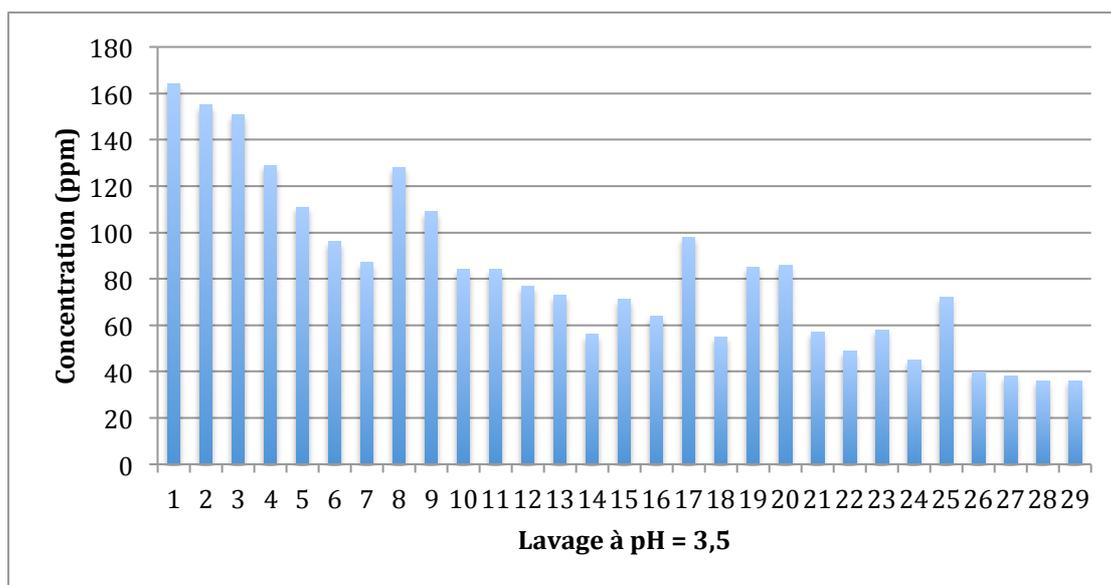
Graphique 11 : Dosage de l'hydrazine après lavage du support avec une solution hydroalcoolique

La quantité d'hydrazine retrouvée lors du lavage des résines avec une solution hydroalcoolique est quasiment nulle. Seulement $4,5 \pm 0,2$ ppm d'hydrazine ont été dosés lors du lavage des résines avec un mélange eau-éthanol (contre 100 ppm dans les solutions modèles après extraction).

Le milieu hydroalcoolique n'est pas à l'origine de la contamination.

V. 3. 2. Lavage avec une solution hydroalcoolique acidifiée à pH = 3,5

Le deuxième point à étudier consiste à vérifier l'influence du pH. Les lavages ont été réalisés en utilisant une solution hydroalcoolique acidifiée à pH = 3,5 et les résultats des analyses sont présentés sur le **Graphique 12**.



Graphique 12 : Dosage de l'hydrazine après lavage du support avec une solution hydroalcoolique acidifiée

Les résultats obtenus montrent que les concentrations en hydrazine retrouvées en solution lors de chaque lavage sont du même ordre de grandeur que celles retrouvées dans les solutions modèles après extraction (100-200 ppm). L'acidité de la solution semble être la cause de la contamination du milieu par l'hydrazine. Le taux de fonctions sulfonylhydrazine restant sur le support après les lavages successifs avec une solution hydroalcoolique acidifiée a été dosé. Il reste 2,4 mmol/g de fonctions sulfonylhydrazine (contre 3,7 mmol/g sur le support de départ) soit 35 % de fonctions hydrazine décrochées du support.

L'acidité provoque l'hydrolyse de la fonction sulfonylhydrazine [143]. La liaison soufre-azote qui est faible avec une énergie de 68 kcal/mol est rompue [144]. La fonction acide sulfonique est régénérée tandis que l'hydrazine est libérée dans le milieu ce qui est une source de contamination des solutions modèles (**Figure 48**).

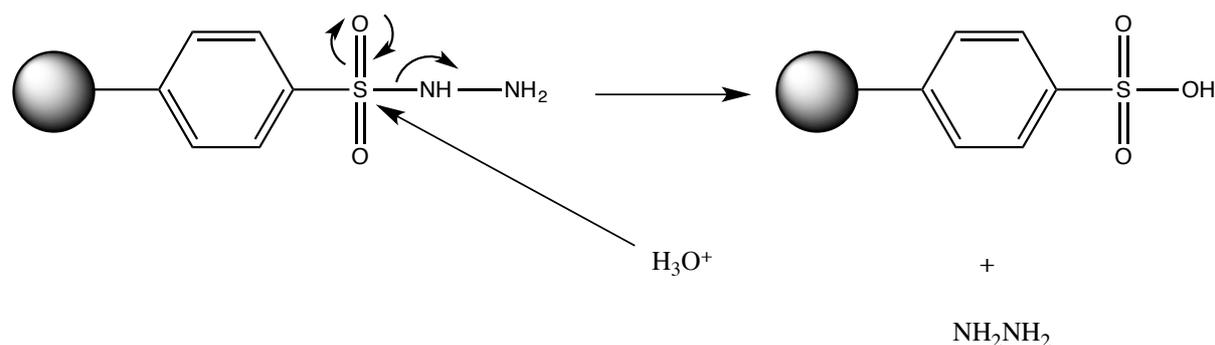


Figure 48 : Mécanisme de l'hydrolyse acide de la fonction sulfonylhydrazine

Le support fonctionnalisé avec la sulfonylhydrazine ne peut donc pas être utilisé pour extraire les dérivés carbonylés dans le vin car il est source de contamination.

VI. Conclusions

La fonction sulfonylhydrazine a été fixée sur un support polymère par modification d'une résine sulfonique échangeuse d'ions disponible dans le commerce. Parmi les différentes voies existant pour fonctionnaliser le support avec de l'hydrazine, c'est la voie la plus « propre » et la plus économique qui a été retenue. Elle est réalisée en utilisant un chauffage par micro-ondes avec de l'eau comme seul solvant. Les conditions opératoires ont été améliorées en utilisant une méthode mathématique permettant de s'approcher du meilleur rendement possible. Le support obtenu avec la sulfonylhydrazine greffée a été utilisé sur des solutions modèles du vin. L'ensemble des résultats des extractions réalisées montre que la méthode est efficace. Le support permet d'extraire les dérivés carbonylés. La vitesse d'extraction des dérivés carbonylés est de l'ordre de l'heure. Deux méthodes d'extraction ont été envisagées : le mode statique et le mode dynamique. L'extraction en mode statique donne les meilleurs résultats tout en étant la plus simple à mettre en œuvre. La présence de SO₂ dans les solutions modèles n'empêche pas l'extraction des dérivés carbonylés. L'équilibre s'établissant entre le SO₂ et les dérivés carbonylés peut être déplacé pour permettre l'extraction des dérivés carbonylés. Lors de la recherche de contaminants dans le milieu après l'extraction, il a été établi que des concentrations non négligeables d'hydrazine sont retrouvées dans les solutions modèles. L'étude de l'origine de cette contamination a montré que l'acidité du milieu

provoque un décrochage de l'hydrazine du support. Etant donné que ce composé chimique est connu pour sa toxicité et sachant que les réglementations autour du vin sont strictes, l'utilisation de ce support pour notre étude a été abandonnée. Il est indispensable de mettre au point un nouveau support extrayant efficacement les dérivés carbonylés sans contaminer le milieu.

Chapitre 2 :
Copolymérisation en suspension du
méthacrylate de glycidyle,
fonctionnalisation et utilisation comme
support d'extraction

Dans le chapitre précédent, une résine sulfonique commerciale a été fonctionnalisée avec la fonction sulfonylhydrazine. Le support obtenu a été utilisé pour extraire les dérivés carbonylés dans des solutions modèles du vin. Le procédé a montré son efficacité. L'acidité des solutions provoque une rupture de la liaison soufre-azote. L'hydrazine est libérée en quantité non négligeable dans le milieu. Ce support ne peut pas être employé dans du vin. Il est nécessaire de développer un nouveau support permettant d'extraire efficacement les dérivés carbonylés sans contaminer le milieu. Plusieurs pistes ont été envisagées pour mettre au point ce nouveau support.

I. Recherche d'un nouveau support

La fonction hydrazine a prouvé son efficacité en tant qu'agent d'extraction des dérivés carbonylés. La liaison soufre-azote a montré ses faiblesses en milieu acide. La fonction hydrazine a été maintenue comme fonction d'intérêt mais la nature de sa liaison avec le support a été modifiée. La fixation sur un support solide par une liaison carbone-azote a été choisie car cette liaison est plus forte que la liaison soufre-azote. Pour obtenir un nouveau support, deux possibilités ont été envisagées : fonctionnaliser de nouvelles résines commerciales ou polymériser un monomère fonctionnel.

I. 1. Fonctionnalisation de résines commerciales

I. 1. 1. Fonctionnalisation de billes de styrène/DVB

Pour fixer la fonction hydrazine sur un support solide, un copolymère de styrène/DVB disponible dans le commerce a été fonctionnalisé en trois étapes. Tout d'abord, la nitration des cycles du polymère est réalisée dans un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique [145]. La deuxième étape consiste à réduire les groupements NO_2 en groupement NH_2 par du chlorure d'étain SnCl_2 [146]. Enfin, le polymère obtenu porteur de la fonction amine a subi une nouvelle réaction de nitration avec du nitrite de sodium. Le diazonium obtenu a été réduit avec du chlorure d'étain pour obtenir la fonction hydrazine attendue [147] (**Figure 49**).

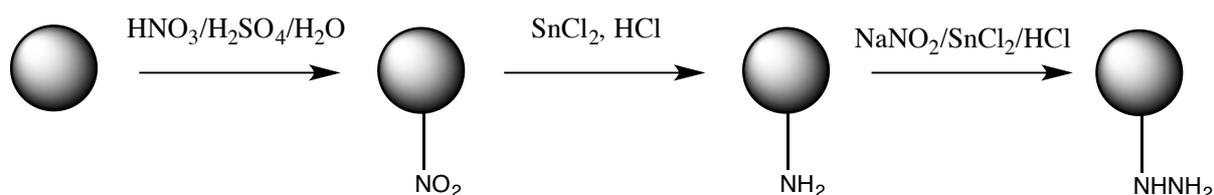


Figure 49 : Fonctionnalisation de polystyrène/DVB par l'hydrazine

La quantité de fonction hydrazine fixée sur le support a été déterminée par analyse élémentaire. Le support possède $0,89 \pm 0,03$ mmol/g de fonctions hydrazine.

Les capacités de ce support à extraire les dérivés carbonylés ont été étudiées. Un excès de support a été introduit dans une solution modèle contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés. Le mélange a été laissé sans agitation pendant deux semaines puis analysé. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 24** :

Quantité de fonctions extractives utilisées (mmol/L)	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)
0	$1,35 \pm 0,04$	$1,25 \pm 0,04$	$1,10 \pm 0,03$
5	$1,35 \pm 0,04$	$1,22 \pm 0,04$	$1,07 \pm 0,03$

Tableau 24 : Résultats de l'extraction des dérivés carbonylés avec le copolymère de styrène/DVB hydraziné (temps de réaction : 15 jours)

La concentration en dérivés carbonylés ne varie pas en présence du copolymère de styrène/DVB fonctionnalisé. Ce support ne permet pas l'extraction des dérivés carbonylés. Il doit être abandonné et remplacé par un nouveau support.

I. 1. 2. Fonctionnalisation de résines Merrifield

La résine « Merrifield » est le nom usuel du copolymère de styrène/DVB chlorométhylé (**Figure 50**).

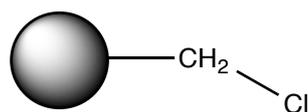


Figure 50 : Structure de la résine Merrifield

Cette résine a été synthétisée pour la première fois par le chimiste américain Robert Bruce Merrifield en 1963 [89]. Il obtint d'ailleurs le prix Nobel de Chimie en 1984 grâce au développement de ce support et ses applications en synthèse peptidique sur support solide. La synthèse de la résine s'opère en deux étapes : la copolymérisation du styrène et du DVB est suivie de la chlorométhylation du polymère obtenu avec du chlorométhyl méthyl éther en présence de chlorure d'étain (IV) [148] (**Figure 51**).

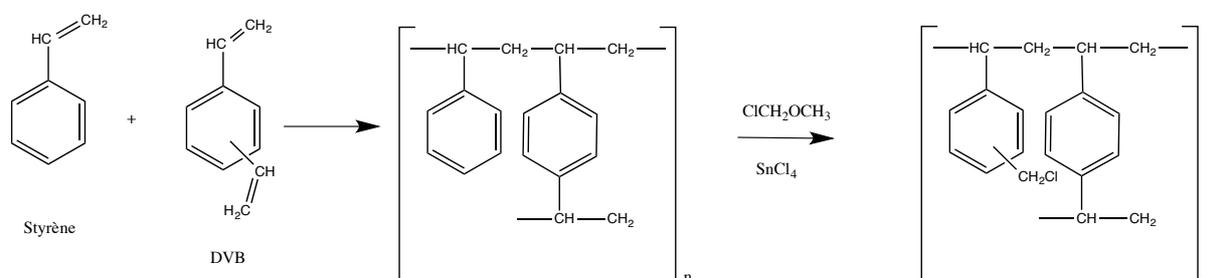


Figure 51 : Synthèse de la résine Merrifield

Les résines de Merrifield sont disponibles dans le commerce. De plus, une grande variété de réactions peut être effectuée afin de modifier ces résines [149].

La fixation de la fonction hydrazine a été tentée à partir d'une résine Merrifield disponible dans le commerce dont les caractéristiques sont présentées dans le **Tableau 25**.

Nom du support	Structure	Diamètre des billes ^(a) (μm)	Taux de réticulation ^(a) (% molaire)	Taux de Cl ^(a) (mmol/g)
Résine Merrifield	Styrène/DVB (gel)	75-150	1-2	1,7

(a) Données du fournisseur

Tableau 25 : Caractéristiques de la résine Merrifield sélectionnée

Une voie de synthèse en une étape utilisant un excès d'hydrate d'hydrazine a été mise en œuvre dans le but d'obtenir une résine fonctionnalisée avec de l'hydrazine [150] (**Figure 52**).

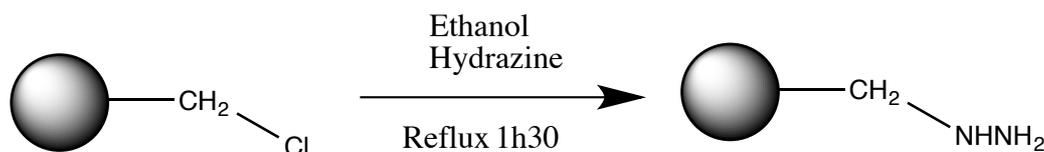


Figure 52 : Voie directe de fonctionnalisation de la résine Merrifield avec de l'hydrazine

Le taux d'hydrazine fixée sur ce support a été déterminé par analyse élémentaire. Les résines possèdent un taux de $0,42 \pm 0,02$ mmol/g d'hydrazine.

Les capacités d'extractions des dérivés carbonylés par ce nouveau support ont été testées. Le support a été introduit en excès dans une solution modèle contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés. Le mélange a été laissé en contact pendant deux semaines sans agitation. Les résultats suivants ont été obtenus (**Tableau 26**) :

Quantité de fonctions extractives utilisées (mmol/L)	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)
0	1,35 ± 0,04	1,25 ± 0,04	1,10 ± 0,03
5	1,28 ± 0,04	1,17 ± 0,04	1,06 ± 0,03

Tableau 26 : Résultats de l'extraction des dérivés carbonylés avec la résine Merrifield fonctionnalisée (temps de réaction : 15 jours)

La concentration de chaque dérivé carbonylé n'a quasiment pas diminué. Ce support est inefficace pour l'extraction des dérivés carbonylés. Il faut donc essayer de mettre au point un autre support.

I. 1. 2. Fonctionnalisation de billes de poly(bromostyrène)

Les billes de poly(bromostyrène) sont obtenues par substitution électrophile de poly(styrène)/DVB catalysée par de l'acétate de thallium [94] [151] (**Figure 53**). Ce support est disponible dans le commerce sous l'appellation SEPABEADS.

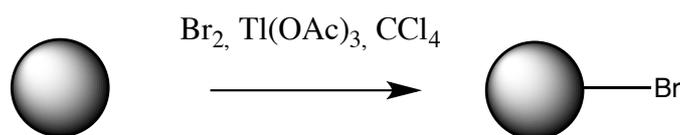


Figure 53 : Préparation de billes de poly(bromostyrène) (SEPABEADS)

Il est possible de condenser une amine ou un amide avec un halogénure d'aryle en utilisant des sels de cuivre [152] [153] (réaction d'Ullmann).

La réaction d'Ullmann passe par la formation d'un organocuprate qui réagit ensuite avec une arylamine (ou alkylamine) pour réaliser une substitution nucléophile aromatique.

La fixation de la fonction hydrazine a été réalisée sur une résine de poly(bromostyrène) dont les caractéristiques sont les suivantes (**Tableau 27**):

Nom du support	Structure des billes ^(a)	Diamètre des billes (µm) ^(a)	Taux de Br (mmol/g) ^(a)
Poly(bromostyrène) (SEPABEADS SP- 207)	Styrène/DVB (macroporeuse)	250	2-4

(a) : Données du fournisseur

Tableau 27 : Caractéristiques de la résine de bromostyrène commerciale

Le couplage d'Ullmann a été employé pour fonctionnaliser le support de poly(bromostyrène) commercial avec de l'hydrazine [154] (**Figure 54**).

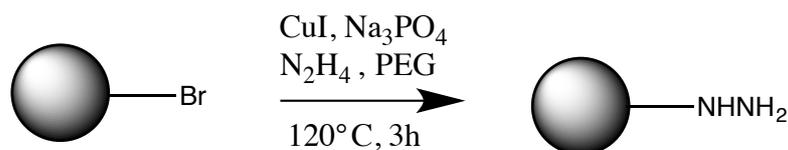


Figure 54 : Fonctionnalisation du poly(bromostyrène) avec de l'hydrazine

La quantité d'hydrazine fixée sur le support, déterminée par analyse élémentaire, est de $0,82 \pm 0,03$ mmol/g.

Les capacités d'extractions des dérivés carbonylés de ce nouveau support ont ensuite été vérifiées. Le support a été introduit en excès dans une solution modèle contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés. Le mélange a été laissé sans agitation pendant deux semaines puis analysé. Les résultats obtenus sont les suivants (**Tableau 27**) :

Quantité de fonctions extractives utilisées (mmol/L)	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)
0	1,35 ± 0,04	1,25 ± 0,04	1,10 ± 0,03
5	1,34 ± 0,04	1,23 ± 0,04	1,09 ± 0,03

Tableau 27 : Résultats de l'extraction des dérivés carbonyles avec la résine de poly(bromostyrène) fonctionnalisée (temps de réaction : 15 jours)

Ce support n'extrait aucun des dérivés carbonyles présents dans la solution modèle. Une nouvelle approche a été tentée.

Il est possible de fixer la fonction hydrazine sur différents supports commerciaux. Les différents supports développés n'ont pas la capacité d'extraire les dérivés carbonyles présents dans une solution modèle. Cette voie d'obtention de supports solides fonctionnalisés a été abandonnée.

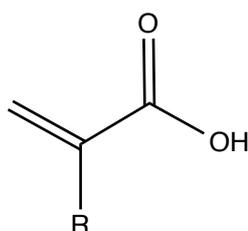
La copolymérisation en suspension de monomères comportant une fonction chimique permettant le greffage ultérieur de l'hydrazine a donc été envisagée comme alternative.

I. 2. Polymérisation de monomères fonctionnels

Les monomères styréniques sont généralement utilisés pour l'élaboration de support solide poreux. Les monomères de styrène fonctionnel disponibles dans le commerce sont chers et/ou difficiles à synthétiser. Notre objectif est d'élaborer des supports susceptibles d'être produits à grande échelle en réduisant au maximum les coûts de fabrication. Deux autres classes de polymères pouvant être utilisés pour l'extraction sur phase solide ont été étudiées : les polyacrylates et les polyméthacrylates.

I. 2. 1. Les polymères acryliques

Les polyacrylates et polyméthacrylates sont des polymères dérivant de l'acide acrylique qui est constitué d'un groupe vinyle et d'une fonction acide carboxylique terminal (**Figure 55**) [91].



R = H: acide acrylique

R = CH₃: acide méthacrylique

Figure 55 : Structure de l'acide acrylique

L'acide acrylique a été synthétisé pour la première fois en 1901 par Rohm et Haas [155]. Depuis, les acides et esters (méth)acryliques ont connu un essor considérable. Ce sont des monomères très réactifs capables de copolymériser entre eux mais également avec des monomères vinyliques. Ils conduisent à la fabrication d'homopolymères et de copolymères aux propriétés variables [156].

Les monomères acryliques et méthacryliques sont disponibles dans le commerce donnant accès à de nombreux polymères (**Figure 56**).

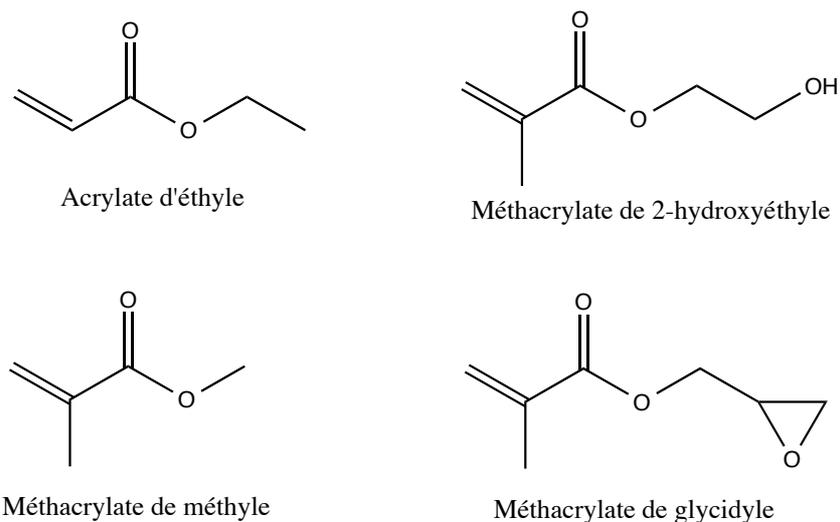


Figure 56 : Quelques exemples de monomères acrylates et méthacrylates commerciaux

Parmi les divers monomères acryliques, le méthacrylate de glycidyle a été sélectionné pour mettre au point un nouveau support.

I. 2. 2. Le méthacrylate de glycidyle

Le méthacrylate de glycidyle est un monomère présentant deux fonctions chimiques essentielles (**Figure 57**) :

- la fonction méthacrylate permettant sa copolymérisation par voie radicalaire avec divers monomères en utilisant des amorceurs de types peroxydes ou azotiques [157] [158] [159]. Le polymère obtenu comportera des fonctions époxydes pendantes.

- la fonction époxyde peut facilement être ouverte par polymérisation cationique, donnant un polymère linéaire ou un macromonomère cyclique [160] [161]. Le polymère comportera des fonctions méthacrylates pendantes.

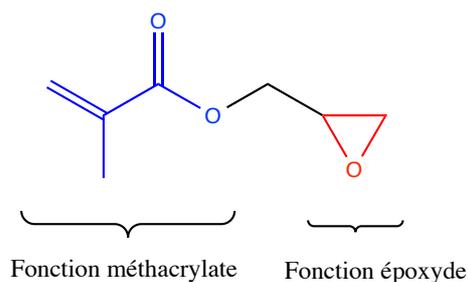


Figure 57 : Structure du méthacrylate de glycidyle (GMA)

Les polymères contenant des groupes époxydes pendants offrent de nombreuses possibilités de modifications afin d'obtenir des supports ayant différentes propriétés. L'ouverture du cycle époxyde est possible par réaction avec plusieurs fonctions chimiques telles que les amines et les hydrazines qui sont alors incorporées [162] [163] [164] [165]. Les copolymères à base de GMA ont été utilisés pour diverses applications telles que la séparation par chromatographie [166], l'échange d'ions [167], l'immobilisation d'enzymes et de ligands [168] [169].

Des supports comportant une fonction glycidyle pendante sont disponibles dans le commerce mais ont un prix élevé (100 € le gramme). La polymérisation en suspension du GMA par voie radicalaire a été réalisée. Un support insoluble poreux possédant des fonctions époxydes pendantes a été obtenu et fonctionnalisé avec de l'hydrazine.

I. 2. 3. Copolymérisation en suspension du GMA

L'obtention de supports solides poreux adaptés à l'extraction sur phase solide est délicate. Différents facteurs influencent les propriétés texturales, la forme et la taille des billes. La nature des monomères et de l'agent porogène vont déterminer la structure du support (porosité et surface spécifique). La forme et la taille des billes vont essentiellement dépendre de la vitesse d'agitation, de la forme du réacteur et de la pale d'agitation mais également de l'agent stabilisant.

I. 2. 3. a. Choix des conditions opératoires de polymérisation

- Choix des monomères : le GMA est le monomère fonctionnel à copolymériser. Deux agents de réticulation ont été sélectionnés : le DVB et le diméthacrylate d'éthylène glycol (EGDMA). Le DVB est un agent de réticulation hydrophobe permettant au support polymère d'avoir une bonne tenue mécanique et d'être rigide. L'utilisation finale du support polymère étant prévue en milieu hydroalcoolique, l'EGDMA a été utilisé comme second agent de réticulation. Ce composé hydrophile permettra au support d'être compatible avec un milieu aqueux.

- L'agent porogène influence la porosité et la surface spécifique des matériaux par sa capacité à solubiliser les monomères.

Il est important de connaître les paramètres de solubilité (δ) appelés paramètres d'Hildebrand des monomères et des solvants [170]. Si les paramètres de solubilité du solvant et du monomère sont proches, leur affinité est importante et ils sont miscibles. Le solvant permet de solubiliser les monomères et les chaînes polymères ce qui va entraîner la formation de micropores et une surface spécifique élevée. A l'inverse, si les paramètres d'Hildebrand du solvant et du monomère ont des valeurs éloignées, l'affinité est faible. Le solvant ne solubilise pas les chaînes polymères et la séparation de phase durant la polymérisation est rapide. Les supports obtenus auront des pores de plus grande taille avec une faible surface spécifique [171].

Les paramètres d'Hildebrand des monomères et des agents porogènes sélectionnés pour préparer le nouveau support sont rassemblés dans le **Tableau 29** [172] [173].

Nom du composé	Paramètre d'Hildebrand δ (MPa) ^{1/2}
GMA	22,30
Cyclohexanol	23,30
Toluène	18,20
Nonane	15,70

Tableau 29 : Paramètres de solubilité du GMA et des solvants porogènes choisis

Le cyclohexanol a la plus grande affinité avec le GMA suivi du toluène et enfin du nonane.

- Vitesse d'agitation : elle va conditionner la taille des billes.

Une vitesse d'agitation élevée permet d'obtenir des billes de faible diamètre. En diminuant la vitesse d'agitation, la taille des billes augmente. Une agitation trop lente ne permet pas la bonne dispersion des monomères dans la suspension. Les vitesses d'agitation choisies sont situées entre 150 et 300 tr/min afin de moduler le diamètre des billes.

- Le réacteur et la pale d'agitation : les polymères sont dispersés sous forme de particules sphériques dans un réacteur cylindrique à double enveloppe muni de chicanes pour obtenir une agitation régulière et une meilleure suspension. La pale d'agitation est conçue de manière à provoquer un mouvement ascendant des billes et à éviter les projections sur les parois du réacteur [174]. Le réacteur qui sera utilisé pour la polymérisation en suspension du GMA est présenté dans le **Figure 58**.



Figure 58 : Réacteur à double enveloppe utilisé pour la polymérisation en suspension du GMA

• Le stabilisant : son rôle est de venir s'adsorber à la surface des billes de manière à former une couche protectrice permettant d'éviter toute coalescence. La gomme d'acacia a été sélectionnée comme agent stabilisant. Elle est soluble à chaud.

Le GMA a été copolymérisé en suspension par voie radicalaire pour obtenir un polymère insoluble réticulé (**Figure 59**).

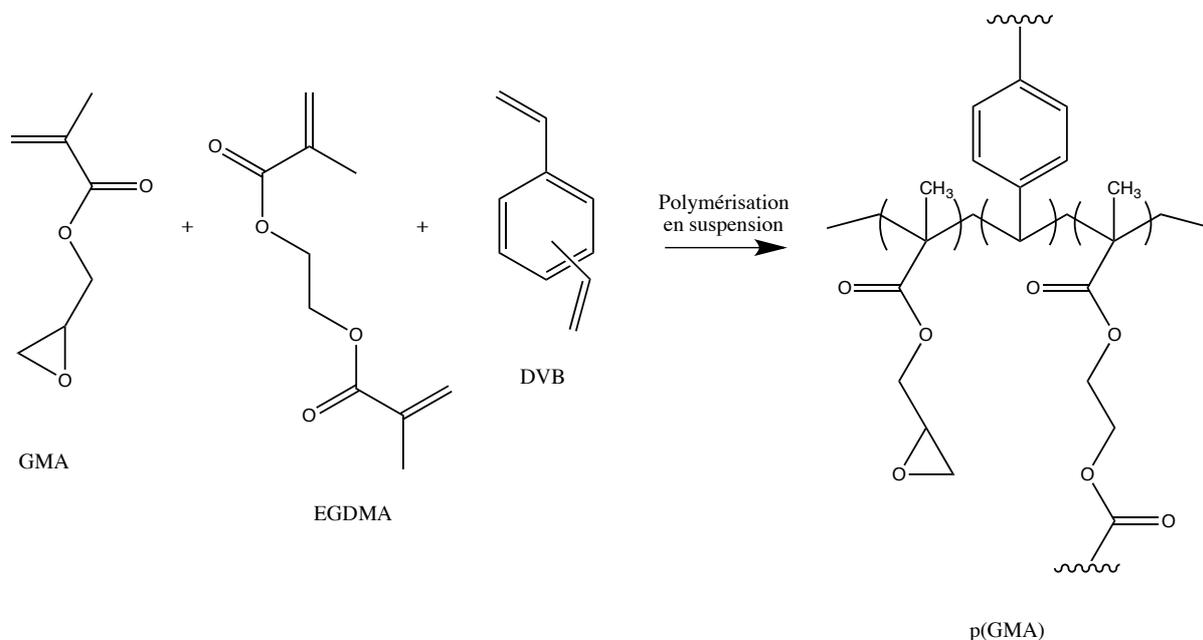


Figure 59 : Copolymérisation en suspension du GMA, de l'EGDMA et du DVB

Les conditions opératoires suivantes ont été retenues (**Tableau 30**) :

- l'azobisisobutyronitrile (AIBN) comme amorceur de la polymérisation
- le DVB et l'EGDMA comme agent de réticulation
- la gomme d'acacia comme stabilisant
- une vitesse d'agitation de 150 tr/min ou 300 tr/min
- trois solvants porogènes ont été testés : le cyclohexanol, le toluène et le nonane

La réaction a été menée pendant 3 h à 80 °C.

Nom du support	Quantité de GMA (g)	Quantité d'EGDMA (g)	Quantité de DVB (g)	Quantité de stabilisant (g)	Vitesse d'agitation (tr/min)	Nature du solvant porogène
p(GMA)1	22	15	6	20	300	Cyclohexanol
p(GMA)2	22	15	6	30	150	Cyclohexanol
p(GMA)3	15	15	6	30	150	Nonane
p(GMA)4	15	15	6	30	150	Toluène

Tableau 30 : Différentes formulations réalisées pour la copolymérisation du GMA

I. 2. 3. b. Fonctionnalisation du support

L'hydrazination du copolymère de GMA a été décrite dans la littérature selon plusieurs méthodes (**Figure 60**).

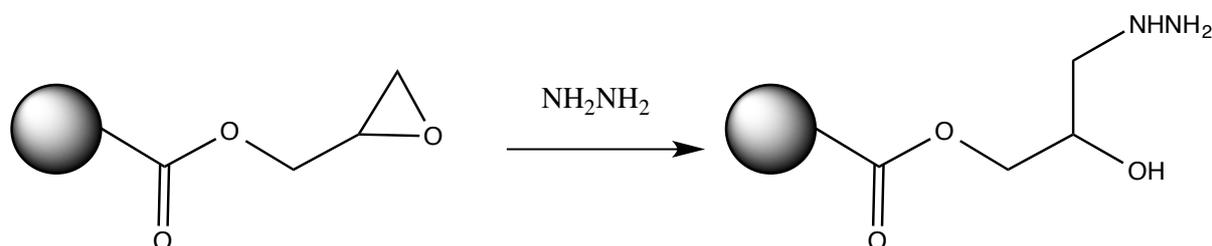


Figure 60 : Fonctionnalisation du poly(GMA) par l'hydrazine

La fonctionnalisation peut être réalisée en utilisant trois solvants différents : le toluène, le N-méthyl-2-pyrrolidone (NMP) ou l'eau. L'utilisation du toluène comme solvant permet d'obtenir un rendement de fonctionnalisation de 41 % [175]. Lorsque le NMP est utilisé comme solvant, le rendement de fonctionnalisation est de 90 % [163]. La réaction de fixation de l'hydrazine sur le copolymère à base de GMA en milieu aqueux permet d'obtenir un rendement de 42 % [176].

La voie de fonctionnalisation en phase aqueuse a été retenue. Les risques de contamination par le support sont réduits en excluant l'emploi de solvant organique.

I. 2. 3. c. Analyse des supports

L'analyse par porosimétrie par intrusion de mercure a permis de déterminer la porosité des supports. Les surfaces spécifiques ont été déterminées par adsorption d'azote en utilisant la méthode BET (Brunauer Emmett Teller) [177].

La teneur en groupements époxydes pendants a été évaluée en utilisant une méthode de dosage spécifique [178]. La réaction entre un époxyde et de l'acide chlorhydrique provoque une ouverture de cycle. Une chlorhydrine est synthétisée tout en consommant de l'HCl (**Figure 61**).

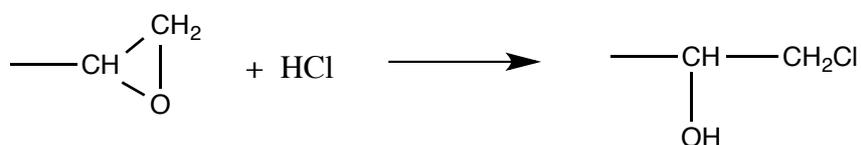


Figure 61 : Réaction de synthèse d'une chlorhydrine

La quantité d'HCl n'ayant pas réagi est déterminée par dosage en retour avec une solution méthanolique de soude en présence d'un indicateur coloré (la phénolphtaléine). La quantité d'acide chlorhydrique consommé permet de déterminer la quantité d'époxyde présent sur le support (partie expérimentale).

Les supports p(GMA) obtenus par copolymérisation en suspension ont été analysés et les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 31** :

	Nature du solvant porogène	Diamètre des billes ^(a) (µm)	Rendement en billes (%)	Porosité ^(b) (%)	Surface spécifique ^(c) (m ² /g)	Taux d'époxyde ^(d) (mmol/g)
p(GMA)1	Cyclohexanol	100-400	89	39	79	3,70 ± 0,05
p(GMA)2	Cyclohexanol	400-1100	90	45	83	3,10 ± 0,04
p(GMA)3	Nonane	100-1100	61	70	0,2	2,30 ± 0,05
p(GMA)4	Toluène	300-900	85	25	63	2,20 ± 0,06

(a) : Estimation par observation d'imagerie MEB (b) : Détermination par porosimétrie mercure

(c) : Détermination par adsorption d'azote associée à la méthode BET (d) : Détermination par dosage acido-basique

Tableau 31 : Caractéristiques des différents polymères obtenus

Le support p(GMA)1 obtenu est poreux. Le diamètre des billes obtenues est adapté à l'extraction sur phase solide.

Le support p(GMA)2 a été obtenu en utilisant les mêmes quantités de monomères que pour p(GMA)1 mais en réduisant la vitesse d'agitation. La taille des billes obtenues est plus élevée. Pour éviter la coalescence des billes, la quantité d'agent de stabilisation a été augmentée. La porosité et la surface spécifique ont légèrement augmenté. Le support p(GMA)2 présente un plus faible taux de fonctions époxydes que p(GMA)1.

L'utilisation du nonane comme agent porogène (p(GMA)3), permet d'obtenir un support très poreux (70 %) avec une faible surface spécifique. Ce support a une très mauvaise tenue mécanique et s'effrite sous la moindre pression.

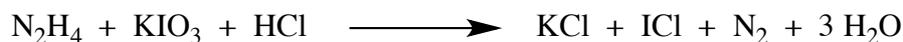
Le support p(GMA)4, polymérisé en utilisant le toluène comme agent porogène, a la porosité la plus faible (25 %) ainsi que le plus faible taux de fonctions époxydes.

Le support p(GMA)1 présente le plus grand taux de fonctions époxydes à sa surface tout en étant poreux (39 %) et possédant une assez grande surface spécifique. Ce support a été retenu pour la suite de l'étude.

Le support p(GMA)1 a été fonctionnalisé par un excès d'hydrazine en phase aqueuse. Plusieurs méthodes permettent d'évaluer la quantité d'hydrazine fixée sur un support [77].

Une méthode simple à mettre en œuvre a été reportée dans la littérature [72] [179].

L'hydrazine est capable de réduire de l'iodure de potassium KIO_3 en milieu acide selon l'équation suivante :



Cette propriété a été utilisée pour déterminer le taux d'hydrazine sur le support p(GMA)1-NHNH_2 dont les caractéristiques sont les suivantes (**Tableau 32**) :

	Diamètre des billes (a) (μm)	Porosité (b) (%)	Surface spécifique (c) (m^2/g)	Taux d'époxyde restant (d) (mmol/g)	Taux d'hydrazine greffée (d) (mmol/g)
p(GMA)1-NHNH_2	100-400	35	79	$1,90 \pm 0,05$	$1,70 \pm 0,06$

(a) : Estimation par observation d'imagerie MEB (b) : Détermination par porosimétrie mercure

(c) : Détermination par adsorption d'azote associée à la méthode BET (d) : Détermination par dosages spécifiques

Tableau 32 : Caractéristiques du polymère p(GMA)1-NHNH_2 fonctionnalisé avec l'hydrazine

Les billes de polymère obtenues après fonctionnalisation possèdent un taux d'hydrazine de $1,70 \pm 0,06$ mmol/g ce qui correspond à un rendement de conversion de 46 %. Il est probablement possible d'améliorer le rendement de fonctionnalisation du support en optimisant les conditions opératoires mais cela n'a pas été étudié.

Le polymère obtenu après fonctionnalisation a été observé au microscope électronique à balayage (**Figure 62**).

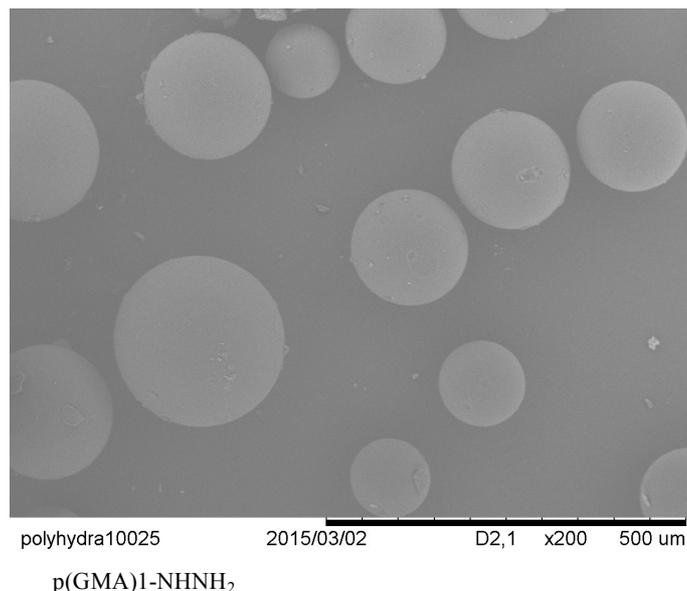


Figure 62 : Microphotographie MEB de la surface des billes de p(GMA)1-NHNH₂

Les billes obtenues sont sphériques avec une surface lisse. Le diamètre des supports est hétérogène.

Les taux de gonflement des polymères p(GMA)1 et p(GMA)1-NHNH₂ ont été évalués à l'aide d'une burette graduée. Un mélange eau-éthanol (88 : 12) a été utilisé comme solvant afin de reproduire un milieu hydroalcoolique. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 33**.

Support	Taux de gonflement (%)
p(GMA)1	30
p(GMA)1-NHNH ₂	30

Tableau 33 : Taux de gonflement des support à base de GMA

Les deux supports présentent un taux de gonflement identique. La fonctionnalisation par l'hydrazine n'a pas modifié le comportement du support dans le solvant utilisé. La capacité des supports à gonfler en milieu hydroalcoolique permettra l'accessibilité des fonctions hydrazine. La solution diffusera à travers le support et la réaction d'extraction des dérivés carbonyles sera favorisée.

Afin de vérifier les capacités d'extractions du support obtenu, un excès de p(GMA)1-NHNH₂ a été introduit dans une solution modèle contenant 3,70 mmol/L de dérivés carbonylés. Le mélange a été laissé sans agitation pendant deux semaines puis analysé. Les résultats obtenus sont les suivants (**Tableau 34**) :

Quantité de fonctions extractives utilisées (mmol/L)	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)
0	1,35 ± 0,04	1,25 ± 0,04	1,10 ± 0,03
5	0,51 ± 0,02	0,75 ± 0,02	0,66 ± 0,02

Tableau 34 : Résultats de l'extraction des dérivés carbonylés avec p(GMA)1-NHNH₂ (temps de réaction : 15 jours)

La concentration en chaque dérivé carbonylé a diminué. Ce support est relativement efficace pour l'extraction des dérivés carbonylés en solution. Il a été retenu pour la suite de l'étude.

II. Cinétiques d'extraction

Le support p(GMA)1-NHNH₂ possède 1,70 mmol/g de fonctions hydrazine (contre 3,70 mmol/g de fonctions sulfonylhydrazine pour le support précédent). Quatre nouvelles solutions modèles ont été préparées pour adapter les rapports molaires avec le nombre de fonctions hydrazine disponibles. Leurs compositions sont présentées dans le **Tableau 35** :

	Ethanal (mmol/L)	Acide pyruvique (mmol/L)	Acide 2- oxoglutarique (mmol/L)
Ethanal seul	1,70	0	0
Acide pyruvique seul	0	1,70	0
Acide 2- oxoglutarique seul	0	0	1,70
Mélange des 3 composés	1,25	1,15	1,00

Tableau 35 : Composition des solutions modèles mises en contact avec le support p(GMA)1-NHNH₂

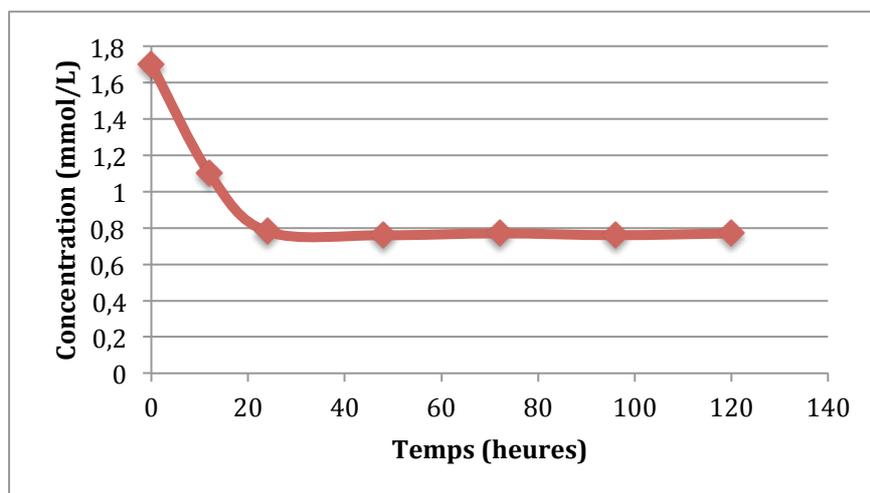
Les essais d'extractions ont été réalisés en mode statique.

Le rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 1 a été utilisé pour étudier l'évolution de la concentration en dérivés carbonylés en fonction du temps.

II. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂

II. 1. 1. Extraction de l'éthanal seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'éthanal seul sont présentés sur le **Graphique 13**.

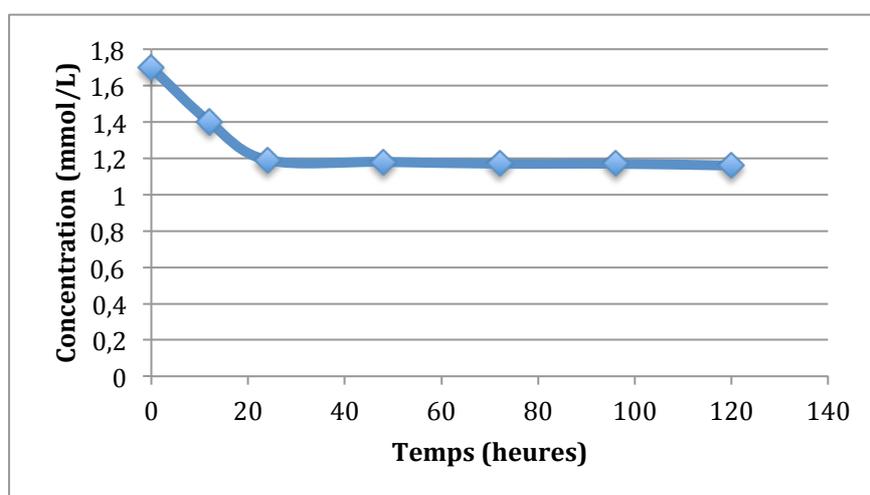


Graphique 13 : Evolution de la concentration de l'éthanal (en absence de SO_2) en fonction du temps

Les résultats montrent que l'éthanal est extrait par l'hydrazine fixée sur un support polymère. Après 12 h de contact entre le support et la solution modèle, 35 % de l'éthanal est extrait. Un équilibre est atteint au bout de 24 h de contact. Il reste 46 % d'éthanal dans le milieu. Au delà de 24 h, la concentration en éthanal ne varie plus.

II. 1. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide pyruvique seul sont présentés sur le **Graphique 14**.

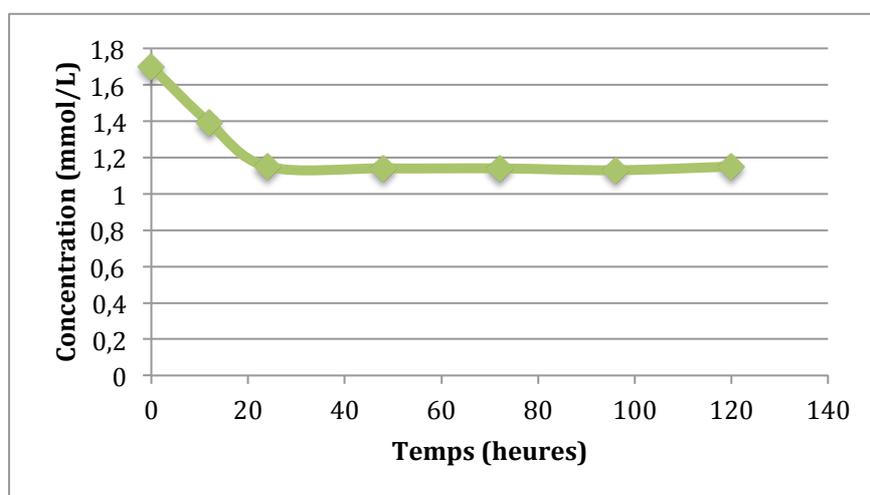


Graphique 14 : Evolution de la concentration de l'acide pyruvique (en absence de SO_2) en fonction du temps

L'acide pyruvique est extrait par le support p(GMA)1-NHNH₂. L'équilibre est atteint au bout de 24 h de mise en contact. Il reste 70 % d'acide pyruvique dans le milieu. L'extraction de l'acide pyruvique est moins efficace que celle de l'éthanal.

II. 1. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul sont présentés sur le **Graphique 15**.

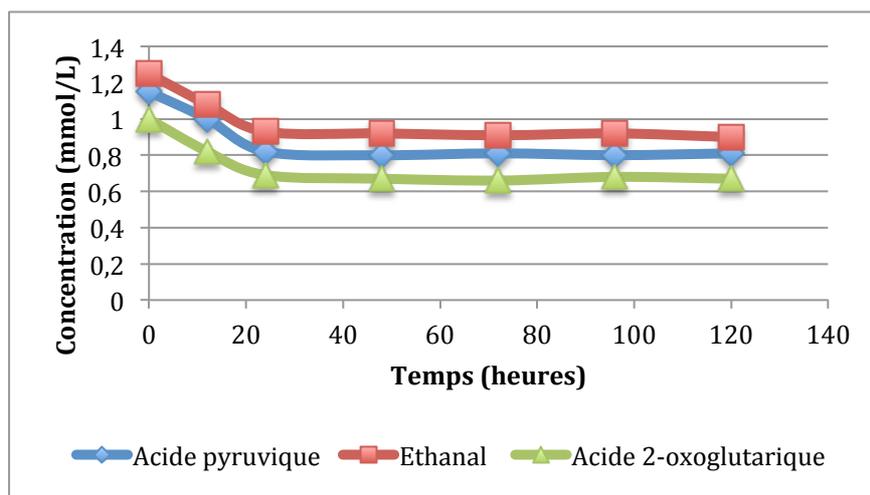


Graphique 15 : Evolution de la concentration de l'acide 2-oxoglutarique (en absence de SO₂) en fonction du temps

L'efficacité d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique est quasiment identique à celle de l'acide pyruvique. Un équilibre est établi au bout de 24 h avec 68 % d'acide 2-oxoglutarique restant en solution.

II. 1. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction des trois dérivés carbonylés présents en solution sont présentés sur le **Graphique 16**.



Graphique 16 : Evolution de la concentration des trois dérivés carbonyles (en absence de SO_2) en fonction du temps

Lors de l'extraction d'une solution modèle contenant un mélange des trois dérivés carbonyles, l'efficacité d'extraction des trois composés est assez proche. Au bout de 24 heures, 26 % de l'éthanal est extrait, ainsi que 28 % de l'acide pyruvique et 31 % de l'acide 2-oxoglutarique.

II. 1. 5. Bilan des extractions

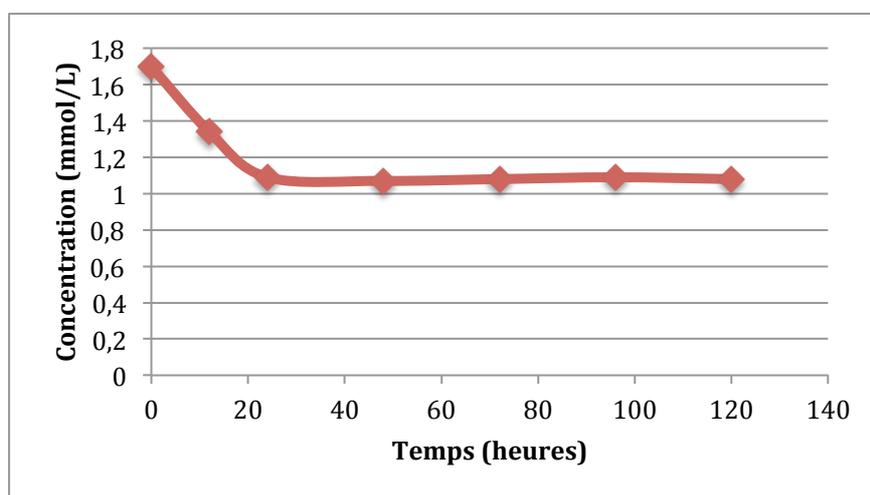
Le support p(GMA)1-NHNH₂ extrait les dérivés carbonyles aussi bien lorsqu'ils sont introduits individuellement en solution que lorsqu'ils sont tous les trois présents dans le milieu. Le temps nécessaire pour qu'un équilibre s'établisse est de 24 h. Ce temps caractéristique d'extraction est nettement plus long que dans le cas du support fonctionnalisé avec la sulfonylhydrazine (90 min). Les essais ont été réalisés en utilisant un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonyles] = 1 et les efficacités d'extractions obtenues sont d'environ 30 % pour l'ensemble des essais (54 % pour l'extraction de l'éthanal seul). Ce support extrait les dérivés carbonyles moins efficacement que le précédent support. L'utilisation d'un excès de fonctions extractives sera probablement nécessaire pour optimiser les efficacités d'extraction.

II. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂

Les solutions modèles contiennent les mêmes concentrations en dérivés carbonylés que précédemment. A chaque solution modèle, une dose de SO₂ a été ajoutée afin d'obtenir une concentration en SO₂ total de 2,80 mmol/L. Cette concentration a été déterminée par la méthode du TL50.

II. 2. 1. Extraction de l'éthanal seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'éthanal seul en présence de SO₂ sont présentés sur le **Graphique 17**.

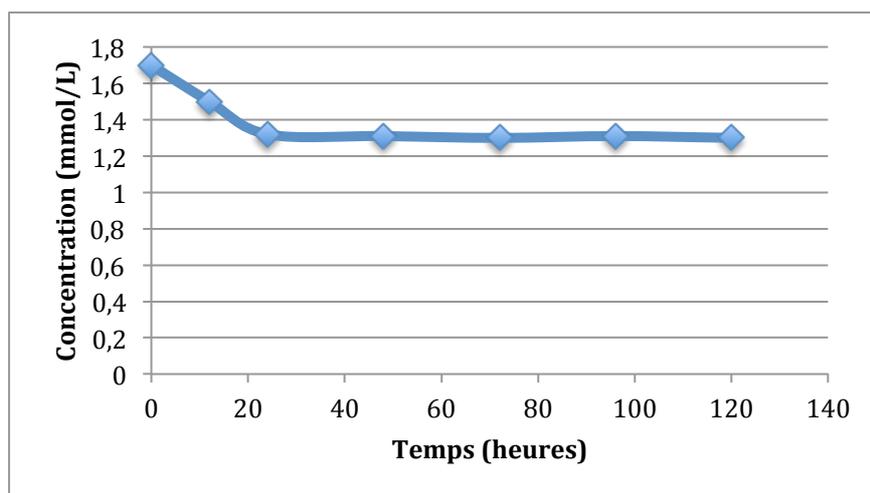


Graphique 17 : Evolution de la concentration de l'éthanal (en présence de SO₂) en fonction du temps

Une diminution de la concentration en éthanal est observée en présence de SO₂. Il est possible de déplacer l'équilibre qui s'établit entre ces deux composés. Un palier est également établi au bout de 24 h mais l'extraction est moins efficace qu'en absence de SO₂. Il reste 64 % d'éthanal dans le milieu (contre 46 % en absence de SO₂).

II. 2. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide pyruvique seul en présence de SO₂ sont présentés sur le **Graphique 18**.

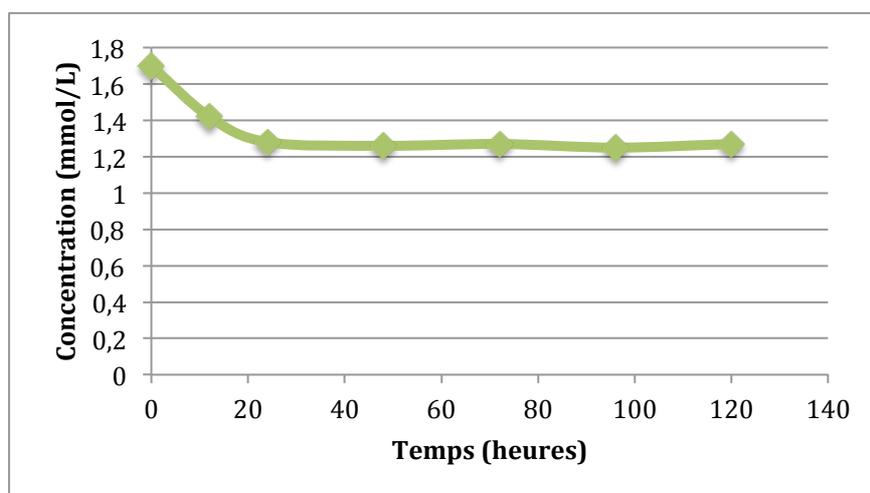


Graphique 18 : Evolution de la concentration de l'acide pyruvique (en présence de SO_2) en fonction du temps

En présence de SO_2 , l'extraction de l'acide pyruvique est moins efficace que lorsqu'il est absent de la solution. L'équilibre est atteint après 24 heures de mise en contact et il reste 78 % d'acide pyruvique dans la solution.

II. 2. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique en présence de SO_2 sont présentés sur le **Graphique 19**.

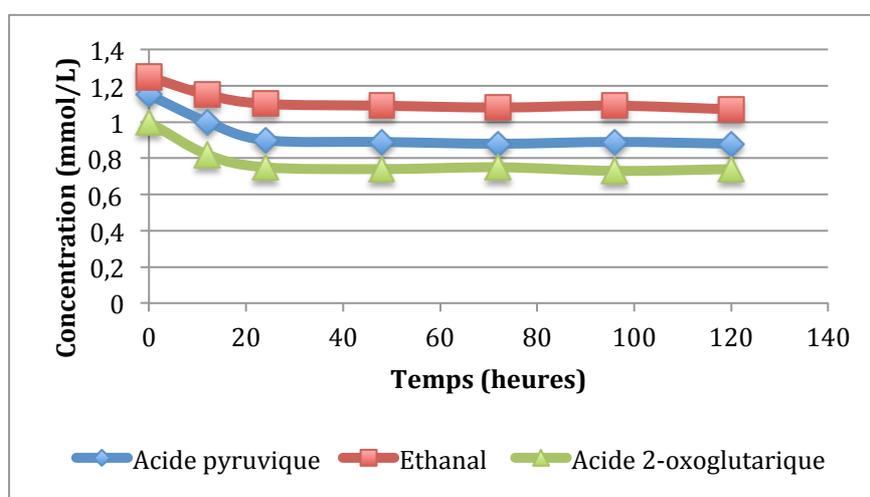


Graphique 19 : Evolution de la concentration de l'acide 2-oxoglutarique (en présence de SO_2) en fonction du temps

L'extraction de l'acide 2-oxoglutarique est également moins efficace en présence de SO₂. Un palier s'établit au bout de 24 h de mise en contact avec une efficacité d'extraction maximale de 30 %.

II. 2. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution

Les résultats des mesures de la vitesse d'extraction des trois dérivés carbonylés en présence de SO₂ sont présentés sur le **Graphique 20**.



Graphique 20 : Evolution de la concentration des trois dérivés carbonylés mélangés (en présence de SO₂) en fonction du temps

Le maximum d'extraction est atteint en 24 h pour les trois dérivés carbonylés. L'extraction des trois composés est moins efficace en présence de dioxyde de soufre dans le milieu. Seulement 12 % de l'éthanal est extrait du milieu contre 23 % d'acide pyruvique et 25 % d'acide 2-oxoglutarique.

II. 2. 5. Bilan des extractions

Il est possible de déplacer les équilibres qui s'établissent entre le SO₂ et l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique pour les extraire du milieu. La présence de SO₂ entraîne une baisse de l'efficacité d'extraction des dérivés carbonylés. Le temps nécessaire pour qu'un équilibre soit atteint est de 24 h. Pour la suite de l'étude, le temps de contact entre le support

et les solutions modèles a été fixé à 24 h. L'utilisation d'un excès de fonctions extractives devrait permettre d'améliorer l'efficacité du procédé mis en œuvre.

III. Influence du rapport molaire [hydrazine]/[dérivés carbonylés]

L'influence de la quantité de support utilisé sur l'efficacité d'extraction des dérivés carbonylés, en présence et en absence de SO₂, a été étudiée. La variation de la concentration en SO₂ lorsqu'il est présent a été analysée. Les concentrations en SO₂, seront exprimées en mmol/L et en mg/L.

III. 1. Extraction des dérivés carbonylés en absence de SO₂

III. 1. 1. Extraction de l'éthanal seul

Les résultats de l'extraction de l'éthanal seul en présence de différentes quantités de fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 36**.

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/[DC]	Ethanal restant (mmol/L)	Ethanal extrait (mmol/L)	Efficacité d'extraction de l'éthanal (%)
0	0	1,70 ± 0,05	0	0
3,40	2	0,63 ± 0,02	1,07 ± 0,03	63 ± 3
6,80	4	0,25 ± 0,01	1,45 ± 0,04	85 ± 3
13,60	8	0,05 ± 0,01	1,65 ± 0,05	97 ± 3
17,00	10	0,05 ± 0,01	1,65 ± 0,05	97 ± 3

Tableau 36 : Extraction de l'éthanal en absence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives (temps de réaction : 24 h)

En présence de 3,40 mmol/L de fonctions extractives (rapport molaire = 2), 63 % de l'éthanal est extrait de la solution modèle. L'augmentation de la quantité de fonctions extractives

introduites dans le milieu entraîne une extraction de l'éthanal plus efficace. Ce composé a pratiquement disparu de la solution lorsque 13,60 mmol/L (rapport molaire = 8) et 17 mmol/L (rapport molaire = 10) de fonctions hydrazine fixées sur support sont ajoutés aux solutions modèles.

III. 1. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul

Les résultats de l'extraction de l'acide pyruvique seul en présence de différentes quantités de fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 37**.

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/[DC]	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide pyruvique extrait (mmol/L)	Efficacité d'extraction de l'acide pyruvique (%)
0	0	1,70 ± 0,05	0	0
3,40	2	0,66 ± 0,02	1,04 ± 0,03	61 ± 3
6,80	4	0,29 ± 0,01	1,41 ± 0,04	83 ± 3
13,60	8	0,15 ± 0,02	1,55 ± 0,05	91 ± 3
17,00	10	0,10 ± 0,01	1,60 ± 0,05	94 ± 3

Tableau 37 : Extraction de l'acide pyruvique en absence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives (temps de réaction : 24 h)

L'efficacité d'extraction de l'acide pyruvique est similaire à celle de l'éthanal quelle que soit la quantité de fonctions extractives utilisée. En présence de 3,40 mmol/L (rapport molaire = 2) de fonctions extractives, la concentration en acide pyruvique a baissé de 61 %. Le fait d'augmenter la quantité de fonctions extractives améliore l'efficacité d'extraction qui atteint 94 % en présence de 17 mmol/L (rapport molaire = 10) de fonctions extractives.

III. 1. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul

Les résultats de l'extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul en présence de différentes quantités de fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 38**.

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/[DC]	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique extrait (mmol/L)	Efficacité d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique (%)
0	0	1,70 ± 0,05	0	0
3,40	2	1,07 ± 0,03	0,63 ± 0,02	37 ± 3
6,80	4	0,37 ± 0,01	1,33 ± 0,04	78 ± 3
13,60	8	0,08 ± 0,01	1,62 ± 0,05	95 ± 3
17,00	10	0,08 ± 0,01	1,62 ± 0,05	95 ± 3

Tableau 38 : Extraction de l'acide 2-oxoglutarique en absence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives (temps de réaction : 24 h)

En présence de 3,40 mmol/L (rapport molaire = 2) de fonctions extractives, la concentration en acide 2-oxoglutarique a diminué de 37 %. L'augmentation de la quantité de fonctions extractives améliore l'efficacité d'extraction qui atteint 95 % avec 13,60 mmol/L (rapport molaire = 8) de fonctions extractives.

III. 1. 4. Extraction des trois dérivés carbonyles mélangés en solution

Les résultats de l'extraction des trois dérivés carbonyles en présence de différentes quantités de fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 39**.

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/[DC]	Dérivés carbonylés restants (mmol/L)	Dérivés carbonylés extraits (mmol/L)	Efficacité d'extraction des dérivés carbonylés (%)
0	0	3,40 ± 0,10	0	0
6,80	2	2,24 ± 0,07	1,16 ± 0,03	34 ± 3
13,60	4	1,53 ± 0,05	1,87 ± 0,05	55 ± 3
27,20	8	0,78 ± 0,02	2,62 ± 0,08	77 ± 3
34,00	10	0,31 ± 0,01	3,09 ± 0,09	91 ± 3

Tableau 39 : Extraction des trois dérivés carbonylés en absence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives (temps de réaction : 24 h)

Avec 6,80 mmol/L (rapport molaire = 2) de fonctions extractives, seulement 34 % des dérivés carbonylés sont extraits. L'augmentation de la quantité de fonctions extractives améliore l'efficacité d'extraction qui atteint 91 % avec 34 mmol/L (rapport molaire = 10) de fonctions extractives.

III. 2. Extraction des dérivés carbonylés en présence de SO₂

III. 2. 1. Extraction de l'éthanal seul

Les résultats de l'extraction de l'éthanal seul en présence de SO₂ avec différentes quantités de fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 40** :

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/ [DC]	Ethanal restant (mmol/L)	Ethanal extrait (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	Efficacité d'extraction de l'éthanal (%)
0	0	1,70 ± 0,05	0	2,80 ± 0,22 180 ± 14	1,21 ± 0,19 78 ± 12	0
3,40	2	0,88 ± 0,03	0,82 ± 0,02	2,34 ± 0,19 150 ± 12	1,15 ± 0,17 74 ± 11	48 ± 3
6,80	4	0,70 ± 0,02	1,00 ± 0,03	2,18 ± 0,17 140 ± 11	1,01 ± 0,15 65 ± 10	59 ± 3
13,60	8	0,36 ± 0,01	1,34 ± 0,04	2,01 ± 0,16 129 ± 10	0,89 ± 0,13 57 ± 8	79 ± 3
17,00	10	0,30 ± 0,01	1,40 ± 0,04	1,80 ± 0,14 115 ± 9	0,70 ± 0,11 45 ± 7	82 ± 3

Tableau 40 : Extraction de l'éthanal seul en présence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives (temps de réaction : 24 h)

La présence de SO₂ diminue l'efficacité d'extraction de l'éthanal. Avec 3,40 mmol/L (rapport molaire = 2) de fonctions extractives, la concentration en éthanal a diminué de 48 %. L'utilisation d'un large excès de fonctions extractives permet d'améliorer l'efficacité de l'extraction qui atteint 82 % avec 17 mmol/L de fonctions hydrazine fixées sur support (rapport molaire = 10). La disparition de l'éthanal du milieu s'accompagne d'une diminution des concentrations en SO₂ libre et total. Avec 17 mmol/L (rapport molaire = 10) de fonctions extractives, 1 mmol/L de SO₂ total a disparu de la solution. L'équilibre chimique s'établissant entre l'éthanal et le SO₂ est déplacé.

III. 2. 2. Extraction de l'acide pyruvique seul

Les résultats de l'extraction de l'acide pyruvique seul en présence de SO₂ avec différentes quantités en fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 41** :

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/ [DC]	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide pyruvique extrait (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	Efficacité d'extraction de l'acide pyruvique (%)
0	0	1,70 ± 0,05	0	2,80 ± 0,22 180 ± 14	1,80 ± 0,27 115 ± 17	0
3,40	2	0,87 ± 0,03	0,83 ± 0,03	2,68 ± 0,21 172 ± 13	2,03 ± 0,30 130 ± 19	49 ± 3
6,80	4	0,48 ± 0,02	1,22 ± 0,04	2,55 ± 0,20 163 ± 13	2,15 ± 0,32 138 ± 20	72 ± 3
13,60	8	0,17 ± 0,01	1,53 ± 0,05	2,44 ± 0,19 156 ± 12	2,15 ± 0,32 138 ± 20	90 ± 3
17,00	10	0,15 ± 0,01	1,55 ± 0,05	2,25 ± 0,18 144 ± 12	2,21 ± 0,33 142 ± 21	91 ± 3

Tableau 41 : Extraction de l'acide pyruvique seul en présence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives (temps de réaction : 24 h)

L'efficacité de l'extraction de l'acide pyruvique est freinée par la présence de SO₂. Lorsque 3,40 mmol/L (rapport molaire = 2) de fonctions extractives sont utilisées, 49 % d'acide pyruvique a été extrait (contre 61 % en absence de SO₂). La diminution de la concentration en acide pyruvique s'accompagne d'une diminution de la concentration en SO₂ total et d'une augmentation de la concentration en SO₂ libre. Avec 17 mmol/L de fonctions extractives (rapport molaire = 10), le SO₂ est presque entièrement sous forme libre. L'équilibre s'établissant entre l'acide pyruvique et le SO₂ est déplacé.

III. 2. 3. Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul

Les résultats de l'extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul en présence de SO₂ avec différentes quantités en fonctions extractives sont rassemblés dans le **Tableau 42** :

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/ [DC]	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique extrait (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre restant (mmol/L) (mg/L)	Efficacité d'extraction de l'acide 2-oxoglutarique (%)
0	0	1,70 ± 0,05	0	2,80 ± 0,22 180 ± 14	2,30 ± 0,35 147 ± 22	0
3,40	2	1,05 ± 0,03	0,65 ± 0,02	2,68 ± 0,21 172 ± 13	2,63 ± 0,40 168 ± 26	38 ± 3
6,80	4	0,53 ± 0,02	1,17 ± 0,04	2,04 ± 0,16 131 ± 10	2,04 ± 0,31 131 ± 20	69 ± 3
13,60	8	0,15 ± 0,005	1,55 ± 0,05	1,90 ± 0,15 122 ± 10	1,90 ± 0,28 122 ± 18	91 ± 3
17,00	10	0,14 ± 0,005	1,56 ± 0,05	1,85 ± 0,15 118 ± 10	1,85 ± 0,28 118 ± 18	92 ± 3

Tableau 42 : Extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul en présence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives (temps de réaction : 24 h)

L'acide 2-oxoglutarique est efficacement extrait en présence de SO₂. La diminution de la concentration en acide 2-oxoglutarique s'accompagne d'une baisse de la concentration en SO₂ total.

Lorsque 3,40 mmol/L (rapport molaire = 2) de fonctions extractives sont utilisées, la concentration en SO₂ libre augmente et atteint une valeur très proche de la concentration en SO₂ total.

En présence de 6,80 mmol/L (rapport molaire = 4) de fonctions extractives, la concentration en SO₂ libre diminue et est égale à la concentration en SO₂ total. Le SO₂ est totalement décombiné et n'existe que sous forme libre.

En présence de 13,60 mmol/L (rapport molaire = 8) et de 17 mmol/L (rapport molaire = 10) de fonctions extractives, la concentration en SO₂ libre continue de diminuer.

III. 2. 4. Extraction des trois dérivés carbonylés mélangés en solution

Les résultats de l'extraction des trois dérivés carbonylés en présence de SO₂ avec différentes quantités de fonction extractive sont rassemblés dans le **Tableau 43**.

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine] / [DC]	Dérivés carbonylés restants (mmol/L)	Dérivés carbonylés extraits (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre restant (mmol/L) (mg/L)	Efficacité d'extraction des dérivés carbonylés (%)
0	0	3,40 ± 0,10	0	2,80 ± 0,22 180 ± 14	0,51 ± 0,08 33 ± 5	0
6,80	2	2,24 ± 0,07	1,16 ± 0,03	2,41 ± 0,19 154 ± 12	0,63 ± 0,09 40 ± 6	34 ± 3
13,60	4	1,53 ± 0,05	1,87 ± 0,06	2,14 ± 0,17 137 ± 11	0,75 ± 0,11 48 ± 7	55 ± 3
27,20	8	0,78 ± 0,02	2,62 ± 0,08	1,72 ± 0,14 110 ± 9	0,46 ± 0,07 29 ± 4	77 ± 3
34,00	10	0,31 ± 0,01	3,09 ± 0,09	1,00 ± 0,08 64 ± 5	0,13 ± 0,02 8 ± 1	91 ± 3

Tableau 43 : Extraction des trois dérivés carbonylés en présence de SO₂ avec différentes concentrations de fonctions extractives

La concentration en dérivés carbonylés diminue en présence de SO₂. Les différents équilibres chimiques sont déplacés. L'utilisation d'un très large excès de fonctions extractives (34 mmol/L ; rapport molaire = 10), entraîne une baisse de 91 % de la concentration totale en dérivés carbonylés.

Une diminution de la concentration en SO₂ total est observée quelle que soit la quantité de fonctions extractives utilisée. En présence de 34 mmol/L (rapport molaire = 10) de fonctions extractives 1,80 mmol/L de SO₂ total ont disparu du milieu.

En présence de 6,80 mmol/L (rapport molaire = 2) et de 13,60 mmol/L (rapport molaire = 4) de fonctions extractives, la concentration en SO₂ libre augmente.

A l'inverse, en présence d'une plus grande quantité de fonctions extractives, la concentration en SO₂ libre diminue.

III. 2. 5. Bilan des extractions

L'extraction des dérivés carbonylés est efficace en absence et en présence de SO₂. La quantité de fonctions introduites dans le milieu influence la variation de la concentration en dérivés carbonylés. L'utilisation d'un large excès de support permet de réduire de 90 % la quantité de dérivés carbonylés.

Dans tous les cas étudiés, une baisse de la concentration en SO₂ total et une variation de la concentration en SO₂ libre ont été observées. Le principe d'extraction sur phase solide permet un déplacement des équilibres chimiques qui se forment entre les dérivés carbonylés et le SO₂.

La diminution systématique du SO₂ total au cours des extractions ainsi que la baisse simultanée du SO₂ libre dans certains cas est difficile à expliquer à partir des connaissances actuelles de la chimie du SO₂ dans les vins. Nous avons émis comme hypothèse qu'il pourrait s'établir une réaction directe entre le SO₂ et la fonction hydrazine supportée qui perturberait les équilibres.

Nous avons essayé de mettre en évidence l'existence d'une telle réaction.

IV. Mise en contact de l'agent d'extraction avec une solution hydroalcoolique ne contenant que du SO₂

La mise en évidence d'une éventuelle réaction entre l'hydrazine et le SO₂ a été tentée. Une solution hydroalcoolique ne contenant aucun dérivé carbonyle a été sulfitée à 2,80 mmol/L (180 mg/L) de SO₂. La solution a été fractionnée. Dans chaque fraction, une quantité différente de fonctions extractives fixées sur le support a été ajoutée. Les mélanges ont été laissés sans agitation pendant 24 h puis analysés. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **Tableau 44**.

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre restant (mmol/L) (mg/L)
0	2,80 ± 0,22 180 ± 14	2,80 ± 0,22 180 ± 27
3,40	2,48 ± 0,20 159 ± 13	2,48 ± 0,20 159 ± 24
6,80	2,00 ± 0,16 128 ± 10	2,00 ± 0,16 128 ± 19
13,60	1,67 ± 0,13 107 ± 8	1,67 ± 0,13 107 ± 16
17,00	1,22 ± 0,09 78 ± 6	1,22 ± 0,09 78 ± 12

Tableau 44 : Evolution de la concentration en SO₂ libre et total en fonction de la quantité de fonctions extractives (temps de contact : 24 h)

Dans l'échantillon témoin, les concentrations en SO₂ total et en SO₂ libre sont identiques. Le dioxyde de soufre ne se combine à aucun composé. Une diminution de la concentration en SO₂ total (et libre) est observée lorsque le support est introduit dans le milieu. Une réaction directe entre le SO₂ et l'hydrazine peut être envisagée. La réactivité entre le SO₂ et l'hydrazine en milieu aqueux a été très peu étudiée [180]. La formation d'adduits de Lewis entre les amines et le SO₂ est connue [181]. De plus, la formation d'adduits entre le SO₂ et des

dérivés de l'hydrazine a été observée lors de l'introduction de SO₂ sous forme gazeux dans une solution d'hydrazine [182].

Dans notre cas, le SO₂ est en solution aqueuse sous forme HSO₃⁻ en raison de l'acidité du milieu. En milieu acide, l'hydrazine est majoritairement sous forme protonée (**Figure 63**).

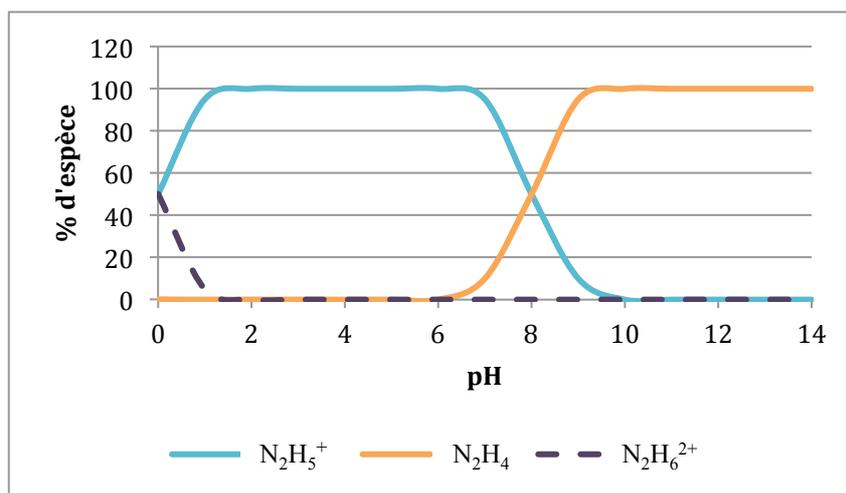


Figure 63 : Diagramme d'existence des différentes formes de l'hydrazine en fonction du pH

Au pH des solutions hydroalcooliques utilisées (pH = 3,5), l'ion HSO₃⁻ peut réagir avec l'hydrazine protonée pour former un complexe acido-basique de Lewis [183] (**Figure 64**).

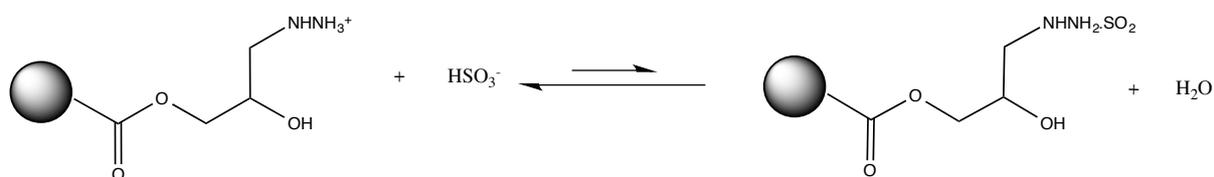


Figure 64 : Formation d'un adduit de Lewis entre l'hydrazine et le SO₂ à pH acide

La fonction obtenue serait un analogue de la fonction acide sulfinamique R- NH-SO₂H fixée sur support [184].

Il est possible qu'une telle réaction se produise lors de l'extraction des dérivés carbonylés et entraîne une diminution de la concentration en SO₂ total (et libre dans certains cas).

Les extractions ont prouvé leur efficacité. Il faut maintenant s'assurer que ce support ne contamine pas le milieu.

V. Etude des contaminants après extraction

Il est indispensable de vérifier que le support p(GMA)1-NH₂ mis au point ne libère pas d'hydrazine dans le milieu. La recherche de traces d'hydrazine dans les solutions modèles après extraction a été réalisée en utilisant le complexe cuivre-néocuproïne utilisé précédemment.

L'influence du temps de contact sur la concentration en hydrazine retrouvée dans le milieu a d'abord été étudiée. Pour cela, quatre solutions ont été préparées :

- solution 1 : contient 1,70 mmol/L d'éthanal
- solution 2 : contient 1,70 mmol/L d'acide pyruvique
- solution 3 : contient 1,70 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique
- solution 4 : contient 3,40 mmol/L des trois composés

Ces solutions ont été sulfitées à 2,80 mmol/L de SO₂. Dans chaque solution, un rapport molaire = 1 de fonctions extractives a été introduit. Le mélange a été laissé sans agitation. Un aliquot a été prélevé à intervalles de temps réguliers et la quantité d'hydrazine a été dosée.

Les résultats des analyses des solutions modèles sont présentés dans le **Tableau 45**.

Concentration en hydrazine (ppm) retrouvée dans :	Temps de contact avant prélèvement et analyse					
	0 h	12 h	24 h	48 h	96 h	120 h
Solution 1	0	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,2
Solution 2	0	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2
Solution 3	0	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,2
Solution 4	0	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,1

Tableau 45 : Evolution de la quantité d'hydrazine retrouvée dans les solutions modèles (en présence de SO₂) en fonction du temps

La quantité d'hydrazine dosée dans l'ensemble des solutions modèles est en moyenne de 1,1 ppm. L'augmentation du temps de contact n'entraîne pas d'augmentation de la concentration d'hydrazine retrouvée en solution. Ce support ne semble pas être une source de contamination des solutions modèles lors de l'extraction des dérivés carbonylés.

L'influence de la quantité de support ajouté a également été étudiée. Les quatre solutions précédentes ont été préparées et ont été fractionnées. Chaque fraction a reçu une quantité différente de fonctions extractives. Les mélanges ont été laissés sans agitation pendant 24 h puis chaque fraction a été analysée avec le complexe cuivre-néocuproïne.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau 46**.

Concentration en hydrazine (ppm) retrouvée dans :	Rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés]			
	2	4	8	10
Solution 1	2,3 ± 0,3	3,4 ± 0,1	5,6 ± 0,5	7,8 ± 0,3
Solution 2	2,4 ± 0,2	3,5 ± 0,3	5,5 ± 0,3	7,7 ± 0,4
Solution 3	2,1 ± 0,2	3,8 ± 0,4	5,4 ± 0,2	7,9 ± 0,2
Solution 4	2,2 ± 0,3	3,2 ± 0,3	5,2 ± 0,3	7,6 ± 0,3

Tableau 46 Evolution de la quantité d'hydrazine retrouvée dans les solutions modèles (en présence de SO₂) en fonction du rapport molaire (temps de contact : 24 h)

Après l'extraction, de très faibles quantités d'hydrazine sont retrouvées dans le milieu. Avec un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 2, 2,3 ppm d'hydrazine sont libérés en moyenne dans l'ensemble des solutions modèles. L'augmentation de la quantité de fonctions extractives entraîne une augmentation de la concentration en hydrazine présente dans les différentes solutions. Le maximum atteint est de 7,7 ppm avec un rapport molaire = 10. Ces valeurs sont nettement inférieures à celles retrouvées lors de l'utilisation du support greffé par la sulfonylhydrazine (100-200 ppm). Les conditions d'extraction en milieu acide ne semblent pas permettre la rupture de la liaison carbone-azote du support à base de GMA.

Les quantités d'hydrazine retrouvées peuvent être attribuées à un lavage non exhaustif. Un autre solvant pourra être utilisé pour assurer un meilleur lavage du support.

VI. Conclusions

Le support greffé par la fonction sulfonylhydrazine contaminait les solutions modèles lors de l'extraction. Plusieurs tentatives ont été réalisées pour mettre au point un nouveau support extrayant les dérivés carbonylés sans contaminer les solutions modèles. Le support sélectionné a été obtenu par copolymérisation en suspension par voie radicalaire du GMA. C'est un polymère poreux porteur de fonctions époxydes pendantes. Ces fonctions réagissent avec l'hydrazine en milieu aqueux pour donner l'agent d'extraction attendu. Les capacités d'extractions du support ainsi obtenu ont été étudiées en solution modèle. Il permet d'extraire les dérivés carbonylés, avec ou sans SO₂. Les vitesses d'extractions sont plus lentes (24 h) qu'avec le support précédemment utilisé (90 min). L'emploi d'un excès de fonctions extractives est nécessaire pour obtenir une extraction satisfaisante des dérivés carbonylés. Lors de l'extraction des dérivés carbonylés, une baisse systématique de la concentration en SO₂ total a été observée.

Une hypothèse selon laquelle le support réagit directement avec le SO₂ en formant un adduit a été étudiée expérimentalement et semble être raisonnablement validée. Ce support ne contamine pas le milieu avec de l'hydrazine. Moins de 10 ppm d'hydrazine ont été retrouvées en présence d'un large excès de fonctions extractives (contre 100-200 ppm avec le support greffé par la sulfonylhydrazine). Un meilleur lavage du polymère sera néanmoins nécessaire pour éliminer toutes traces de contaminants.

Toutes les conditions sont réunies pour utiliser ce support directement dans du vin.

Chapitre 3 :
Extraction des dérivés carbonylés
dans des vins

Le polymère de p(GMA)1-NHNH₂ a prouvé son efficacité à extraire l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique en présence de SO₂ dans des solutions modèles du vin. Le support ne contamine pas le milieu lors de l'extraction. L'application du procédé d'extraction est donc maintenant envisageable sur du vin fini, c'est-à-dire à la fin de toutes les étapes de vinifications et après mise en bouteille. La poursuite des travaux a porté sur la mise en œuvre de la méthode d'extraction solide-liquide sur plusieurs vins déjà mis en bouteille. Différents vins ont été soumis à l'extraction. Les cinétiques d'extraction ayant déjà été déterminées sur les solutions modèles, le temps de contact entre le support et les vins a été fixé à 24 h. Les extractions ont été réalisées sans agitation avec soit 2,5 g/L de support (250 mg de support dans 100 mL de vin) soit avec 5 g/L de support (500 mg de support dans 100 mL de vin).

Les caractéristiques principales du support sont rappelées dans le **Tableau 47**.

	Diamètre des billes (µm) ^(a)	Porosité (%) ^(b)	Surface spécifique (m ² /g) ^(c)	Taux d'époxyde restant (mmol/g) ^(d)	Taux d'hydrazine greffée (mmol/g) ^(d)
p(GMA)1-NHNH ₂	100-400	35	79	1,9	1,7

(a) : Estimation par observation d'imagerie MEB (b) : Détermination par porosimétrie mercure

(c) : Détermination par adsorption d'azote associée à la méthode BET (d) : Détermination par des méthodes de dosage

Tableau 47 : Rappel des caractéristiques du support p(GMA)1-NHNH₂

I. Extraction dans des vins blancs

I. 1. Extraction dans un vin de Sauternes

L'étude a porté sur un vin liquoreux de Sauternes embouteillé (2013). Pour ce premier essai, 2,5 g/L de support ont été utilisés.

Les quantités initiales d'éthanal, d'acide pyruvique et d'acide 2-oxoglutarique et celles restantes dans les vins après extraction sont déterminées par dosage enzymatique. Les taux de SO₂ libre et total sont, quant à eux, déterminés par la méthode de flux continu. La teneur en SO₂ combiné a été obtenue par différence.

La composition initiale du vin de Sauternes est la suivante (**Tableau 48**) :

Ethanal (mmol/L)	1,56 ± 0,05
Acide pyruvique (mmol/L)	0,38 ± 0,01
Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	0,29 ± 0,02
Ethanal + Acide pyruvique + Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	2,23 ± 0,08
SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	0,23 ± 0,03 15 ± 2
SO ₂ total (mmol/L) (mg/L)	2,84 ± 0,23 182 ± 15
SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)	2,61 ± 0,20 167 ± 13

Tableau 48 : Quantités de dérivés carbonylés et de dioxyde de soufre présents initialement dans le vin de Sauternes étudié

Deux flacons rigoureusement identiques ont été préparés. Chaque flacon comporte 100 mL de vin. Un flacon sert de témoin pour tenir compte de l'évolution du vin au cours du temps. L'autre flacon a reçu 250 mg de résine. Les compositions des deux flacons sont les suivantes (**Tableau 49**) :

Nature de l'échantillon	Quantité de dérivés carbonylés (mmol/L)	SO ₂ total (mmol/L)	Quantité de fonctions extractives sur support (mmol/L)
Témoin	2,23 ± 0,07	2,84 ± 0,23	0
2,5 g/L de support	2,23 ± 0,07	2,84 ± 0,23	4,25

Tableau 49 : Caractéristiques initiales des essais effectués sur un vin de Sauternes 2013

Les deux flacons sont laissés sans agitation pendant 24 h puis les billes sont filtrées. Les quantités de dérivés carbonylés et de SO₂ restants sont déterminées.

I. 1. 1. Extraction des dérivés carbonylés

Les résultats des mesures de la concentration en dérivés carbonylés restants dans le vin de Sauternes après extraction sont rassemblés dans le **Tableau 50**.

Nature de l'échantillon	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)	Dérivés carbonylés total restant (mmol/L)
Témoin	1,56 ± 0,05	0,38 ± 0,01	0,29 ± 0,02	2,23 ± 0,08
2,5 g/L de support	0,92 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,01	1,14 ± 0,05

Tableau 50 : Quantités de dérivés carbonylés restants (mmol/L) après l'extraction avec 2,5 g/L de support (temps de contact : 24 h)

Au bout de 24 h de mise en contact avec le support, en présence d'un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 1,90 (2,5 g/L de support ; 4,25 mmol/L de fonctions extractives), 0,64 mmol/L d'éthanal (42 %) est extrait du milieu ainsi que 0,26 mmol/L d'acide pyruvique (70 %) et 0,19 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique (66 %). La concentration totale en dérivés carbonylés a diminué de 49 %. L'extraction des dérivés carbonylés est efficace dans les vins liquoreux.

I. 1. 2. Mesure de l'évolution du taux de SO₂

Les quantités de SO₂ libre et total restants dans le milieu après extraction sont mesurées par la méthode de flux continu. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 51**.

Nature de l'échantillon	SO ₂ Total (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)
Témoin	2,84 ± 0,23 182 ± 15	0,23 ± 0,03 15 ± 2	2,61 ± 0,20 167 ± 13
2,5 g/L de support	2,41 ± 0,20 154 ± 13	0,33 ± 0,05 21 ± 3	2,08 ± 0,15 133 ± 10

Tableau 51 : Mesure de la concentration en SO₂ libre et total après l'extraction dans un vin de Sauternes (temps de contact : 24 h)

Le vin étudié contient initialement 2,84 mmol/L de SO₂ total et 0,23 mmol/L de SO₂ libre. La teneur en SO₂ total et libre de l'échantillon témoin n'a pas varié. Le vin n'a pas été oxydé.

En ce qui concerne l'échantillon contenant 4,25 mmol/L de fonctions extractives (2,5 g/L de support), la quantité de SO₂ total passe à 2,41 mmol/L soit une diminution de 0,43 mmol/L (15 %).

La concentration en SO₂ libre augmente légèrement passant de 0,23 mmol/L dans l'échantillon témoin à 0,33 mmol/L dans l'échantillon contenant 4,25 mmol/L de fonctions extractives. La teneur en SO₂ combiné baisse de 0,53 mmol/L (20 %).

I. 1. 3. Bilan des extractions

Le **Tableau 52** présente un bilan de matière de l'extraction réalisée avec 2,5 g/L de support en considérant la quantité de dérivés carbonylés extraits, la quantité de dioxyde de soufre qui a disparu du milieu et les fonctions extractives disponibles sur le support. Initialement, le vin contient 2,23 mmol/L de dérivés carbonylés et 2,84 mmol/L de SO₂.

	Essai d'extraction avec 2,5 g/L de support
Fonctions extractives mises en œuvre (mmol/L)	4,25
Concentration initiale en dérivés carbonylés (mmol/L)	2,23 ± 0,08
Concentration en dérivés carbonylés après extraction (mmol/L)	1,14 ± 0,05
Efficacité d'extraction des dérivés carbonylés par le support (%)	49
Concentration en SO ₂ total initiale (mmol/) (<i>mg/L</i>)	2,84 ± 0,23 182 ± 15
Concentration en SO ₂ total après extraction (mmol/L) (<i>mg/L</i>)	2,41 ± 0,20 154 ± 13
Concentration en SO ₂ libre initiale (mmol/) (<i>mg/L</i>)	0,23 ± 0,03 15 ± 2
Concentration en SO ₂ libre après extraction (mmol/L) (<i>mg/L</i>)	0,33 ± 0,05 21 ± 3
Fonctions utilisées sur le support (mmol/L)	1,52
Taux d'utilisation du support (%)	36

Tableau 52 : Bilan de l'efficacité d'extraction par le support fonctionnalisé sur un vin de Sauternes (temps de contact : 24 h)

L'extraction des dérivés carbonylés d'un vin de Sauternes est réalisée avec une efficacité de 49 %. L'utilisation de 2,5 g/L de support (4,25 mmol/L de fonctions extractives) donne de bons résultats.

L'extraction a été réalisée sans agitation des flacons. Cette manière de procéder est plus simple à mettre en œuvre. La réaction se déroule par diffusion des espèces à extraire depuis la solution vers la porosité du support d'extraction. Le risque de contamination du vin est limité : l'agitation pourrait entraîner une fragilisation du support par les chocs répétés et induire une pollution.

Les concentrations en SO₂ total et en SO₂ combiné ont respectivement diminué de 15 % et de 20 %.

Le procédé mis en œuvre est efficace aussi bien en solution modèle qui est un milieu simple, que dans le vin, milieu complexe dans lequel plusieurs équilibres se créent et entrent en compétition.

La fonction hydrazine greffée sur support a prouvé son efficacité bien que seulement 36 % des fonctions fixées sur le support soient utilisées.

Cela nous a conduits à effectuer les tests sur d'autres vins en utilisant cette fois 2,5 g/L et 5 g/L de support dans le vin. L'influence de la quantité de fonctions extractives sur les résultats a été étudiée.

I. 2. Extraction dans un vin blanc moelleux

L'extraction des dérivés carbonylés a été réalisée sur un vin blanc moelleux de Bordeaux (2013). Les quantités d'éthanal, d'acide pyruvique et d'acide 2-oxoglutarique ont été déterminées par dosage enzymatique tandis que le taux de SO₂ libre et total a été dosé par la méthode de flux continu. La teneur en SO₂ combiné a été obtenue par différence. La composition initiale du vin est présentée dans le **Tableau 53** :

Ethanal (mmol/L)	1,23 ± 0,04
Acide pyruvique (mmol/L)	0,29 ± 0,01
Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	0,59 ± 0,02
Ethanal + Acide pyruvique + Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	2,11 ± 0,06
SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	0,55 ± 0,08 35 ± 5
SO ₂ total (mmol/L) (mg/L)	2,27 ± 0,18 145 ± 12
SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)	1,72 ± 0,10 110 ± 7

Tableau 53 : Quantités de dérivés carbonylés et de dioxyde de soufre initialement présents dans le vin blanc moelleux étudié

Trois flacons rigoureusement identiques ont été préparés. Chaque flacon comporte 100 mL de vin. Un flacon sert de témoin pour tenir compte de l'évolution du vin au cours du temps. Les deux autres flacons ont reçu respectivement 250 mg et 500 mg de résine. Les compositions des trois flacons avant extraction sont présentées dans le **Tableau 54** :

Nature de l'échantillon	Quantité de dérivés carbonylés (en mmol/L)	SO ₂ total (mmol/L)	Quantité de fonctions extractives sur support (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés]
Témoin	2,11 ± 0,06	2,27 ± 0,18	0	0
2,5 g/L de support	2,11 ± 0,06	2,27 ± 0,18	4,25	2
5 g/L de support	2,11 ± 0,06	2,27 ± 0,18	8,50	4

Tableau 54 : Caractéristiques initiales des essais effectués dans un vin blanc moelleux

Les trois flacons sont laissés sans agitation pendant 24 h puis les billes sont filtrées. Les quantités de dérivés carbonylés et de SO₂ restants sont déterminées.

I. 2. 1. Extraction des dérivés carbonylés

Les résultats des mesures de la concentration en dérivés carbonylés restants dans le vin blanc moelleux après extraction sont rassemblés dans le **Tableau 55**.

Nature de l'échantillon	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)	Total des dérivés carbonylés restants (mmol/L)
Témoin	1,23 ± 0,04	0,29 ± 0,02	0,59 ± 0,02	2,11 ± 0,08
2,5 g/L de support	0,57 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,37 ± 0,03	1,07 ± 0,06
5 g/L de support	0,14 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,34 ± 0,02	0,56 ± 0,04

Tableau 55 : Quantités de dérivés carbonylés restants (mmol/L) après l'extraction avec 2,5 g/L et 5 g/L de support (temps de contact : 24 h)

Au bout de 24 h de mise en contact avec le support, en présence d'un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 2 (4,25 mmol/L de fonctions extractives ; 2,5 g/L de support), 0,66 mmol/L d'éthanal a été extrait ainsi que 0,16 mmol/L d'acide pyruvique et 0,22 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique. L'efficacité d'extraction globale est de 49 %.

En présence d'un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 4 (8,50 mmol/L de fonctions extractives ; 5 g/L de support), 1,09 mmol/L d'éthanal a été extrait avec 0,21 mmol/L d'acide pyruvique et 0,25 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique. Au total, 73 % des dérivés carbonylés ont été extraits.

L'augmentation de la quantité de fonctions extractives dans le milieu améliore l'efficacité d'extraction des dérivés carbonylés.

I. 2. 4. Mesure de l'évolution du taux de SO₂

Les quantités de SO₂ libre et total restants dans le milieu après extraction sont mesurées par la méthode de flux continu. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 56** :

Nature de l'échantillon	SO ₂ Total (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)
Témoin	2,27 ± 0,18 145 ± 12	0,55 ± 0,08 35 ± 5	1,72 ± 0,10 110 ± 7
2,5 g/L de support	1,89 ± 0,15 121 ± 10	0,47 ± 0,07 30 ± 4	1,42 ± 0,08 91 ± 6
5 g/L de support	1,64 ± 0,13 105 ± 8	0,36 ± 0,05 23 ± 3	1,28 ± 0,08 82 ± 5

Tableau 56 : Mesure de la concentration en SO₂ libre et total après extraction dans un vin blanc moelleux (temps de contact : 24 h)

Le vin étudié contient initialement 2,27 mmol/L de SO₂ total et 0,55 mmol/L de SO₂ libre. La teneur en SO₂ total et libre du témoin (après 24 h) ne varie pas. Le vin n'a pas été oxydé.

La concentration en SO₂ total passe de 2,27 mmol/L pour l'échantillon témoin à 1,89 mmol/L dans l'échantillon contenant 4,25 mmol/L de fonctions extractives soit une baisse de 0,38 mmol/L (17 %).

Dans l'échantillon contenant 8,5 mmol/L de fonctions extractives, la concentration en SO₂ total est de 1,64 mmol/L soit une diminution de 0,63 mmol/L (28 %)

La quantité de SO₂ libre diminue dans le vin traité par le support. Elle passe de 0,55 mmol/L dans l'échantillon témoin à 0,47 mmol/L avec un rapport molaire = 2 pour finir à 0,36 mmol/L avec un rapport molaire = 4.

La concentration en SO₂ combiné diminue de 0,44 mmol/L entre l'échantillon témoin et celui contenant 8,5 mmol/L de fonctions extractives (diminution de 26 %).

I. 2. 5. Bilan des extractions

Le **Tableau 57** présente un bilan de matière de l'extraction réalisée avec 2,5 g/L et 5 g/L de support en considérant la quantité de dérivés carbonylés extraits, la quantité de dioxyde de soufre qui a disparu du milieu et les fonctions extractives disponibles sur le support. Initialement, le vin contient 2,11 mmol/L de dérivés carbonylés et 2,27 mmol/L de SO₂.

	Extraction avec 2,5 g/L de support	Extraction avec 5 g/L de support
Fonctions extractives mises en œuvre (mmol/L)	4,25	8,50
Concentration initiale en dérivés carbonylés (mmol/L)	2,11 ± 0,06	2,11 ± 0,06
Concentration en dérivés carbonylés après extraction (mmol/L)	1,07 ± 0,03	0,56 ± 0,02
Efficacité d'extraction des dérivés carbonylés par le support (%)	49	73
Concentration initiale en SO ₂ total (mmol/L) (mg/L)	2,27 ± 0,18 145 ± 12	2,27 ± 0,18 145 ± 12
Concentration en SO ₂ total après extraction (mmol/L) (mg/L)	1,89 ± 0,15 121 ± 10	1,64 ± 0,13 105 ± 8
Concentration initiale en SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	0,55 ± 0,08 35 ± 5	0,55 ± 0,08 35 ± 5
Concentration en SO ₂ libre après extraction (mmol/L) (mg/L)	0,47 ± 0,07 30 ± 4	0,36 ± 0,05 23 ± 3
Fonctions utilisées sur le support (mmol/L)	1,42	2,18
Taux d'utilisation du support (%)	33	25

Tableau 57 : Bilan de l'efficacité d'extraction par le support fonctionnalisé sur un vin blanc moelleux (temps de contact : 24 h)

L'extraction des dérivés carbonylés d'un vin moelleux est efficace et dépend de la quantité de support utilisé.

Le taux d'utilisation du support est de 33 % avec 4,25 mmol/L de fonctions extractives mises en œuvre. Ce taux d'utilisation passe à 25 % lorsque 8,25 mmol/L de fonctions extractives sont employées. L'amélioration de l'efficacité d'extraction n'est pas proportionnelle à la quantité de fonctions hydrazine introduites dans le vin. Un équilibre est atteint avant que toutes les fonctions extractives disponibles soient utilisées.

La diminution de la concentration en SO₂ total dépend également de la quantité de fonctions hydrazine employées. Le support fixe directement du SO₂.

II. Extraction dans un vin rosé

Le procédé d'extraction a prouvé son efficacité sur les vins blancs. L'application de la méthode sur d'autres vins a été envisagée. L'extraction des dérivés carbonylés dans un vin rosé de Côtes de Provence (2014) a été étudiée. La composition initiale de ce vin est la suivante (**Tableau 58**) :

Ethanal (mmol/L)	0,89 ± 0,03
Acide pyruvique (mmol/L)	0,21 ± 0,02
Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	0,43 ± 0,03
Ethanal + Acide pyruvique + Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	1,53 ± 0,08
SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	0,25 ± 0,04 16 ± 3
SO ₂ total (mmol/L) (mg/L)	1,36 ± 0,11 87 ± 7
SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)	1,11 ± 0,07 71 ± 4

Tableau 58 : Quantités de dérivés carbonylés et de dioxyde de soufre présents initialement dans le vin rosé analysé

Trois flacons rigoureusement identiques ont été préparés. Chaque flacon comporte 100 mL de vin. Un flacon sert de témoin pour tenir compte de l'évolution du vin au cours du temps. Les deux autres flacons ont reçu respectivement 250 mg et 500 mg de résine (**Tableau 59**).

Nature de l'échantillon	Quantité de dérivés carbonylés (en mmol /L)	SO ₂ total (mmol/L)	Quantité de fonctions extractives sur support (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés]
Témoin	1,53 ± 0,08	1,36 ± 0,11	0	0
2,5 g/L de support	1,53 ± 0,08	1,36 ± 0,11	4,25	2,8
5 g/L de support	1,53 ± 0,08	1,36 ± 0,11	8,50	5,6

Tableau 59 : Caractéristiques initiales des essais effectués dans un vin rosé

Les trois flacons sont laissés sans agitation pendant 24 h puis les billes sont filtrées. Les quantités de dérivés carbonylés et de SO₂ restants sont déterminées.

II. 1. Extraction des dérivés carbonylés

Les résultats des mesures de la concentration en dérivés carbonylés restants dans le vin rosé après extraction sont rassemblés dans le **Tableau 60** :

Nature de l'échantillon	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)	Total des dérivés carbonylés restants (mmol/L)
Témoin	0,89 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,43 ± 0,03	1,53 ± 0,08
2,5 g/L de support	0,29 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,71 ± 0,05
5 g/L de support	0,10 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,31 ± 0,02	0,48 ± 0,04

Tableau 60 : Quantités de dérivés carbonylés restants (mmol/L) après l'extraction avec 2,5 g/L et 5 g/L de support (temps de contact : 24 h)

Au bout de 24 h de mise en contact, en présence d'un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 2,8 (4,25 mmol/L de fonctions extractives ; 2,5 g/L de support), 0,60 mmol/L d'éthanal a été extrait du milieu (67 %) ainsi que 0,12 mmol/L d'acide pyruvique (41 %) et 0,10 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique (28 %). L'efficacité globale d'extraction est de 54 %.

Avec un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 5,6 (8,50 mmol/L de fonctions extractives ; 5 g/L de support), 0,79 mmol/L d'éthanal a été extrait du milieu comme 0,14 mmol/L d'acide pyruvique et 0,12 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique. Dans ce cas, 69 % des dérivés carbonylés ont été extraits du vin.

II. 2. Mesure de l'évolution du taux de SO₂

Les quantités de SO₂ libre et total restants dans le milieu après l'extraction sont mesurées par la méthode de flux continu. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 61** :

	SO ₂ Total (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)
Témoin	1,36 ± 0,11 87 ± 7	0,25 ± 0,04 16 ± 3	1,11 ± 0,07 71 ± 4
2,5 g/L de support	1,20 ± 0,09 77 ± 6	0,20 ± 0,03 13 ± 2	1,00 ± 0,06 64 ± 4
5 g/L de support	0,96 ± 0,08 61 ± 5	0,17 ± 0,02 11 ± 1	0,79 ± 0,06 50 ± 4

Tableau 61 : Mesure de la concentration en SO₂ libre et total après extraction dans un vin rosé (temps de contact : 24 h)

La concentration en SO₂ total diminue en présence du support. Dans l'échantillon contenant 4,25 mmol/L de fonctions extractives, il reste 1,20 mmol/L de SO₂ total (soit une baisse de 12 %). La concentration en SO₂ total passe à 0,96 mmol/L dans l'échantillon comportant 8,5 mmol/L de fonctions extractives (baisse de 29 %).

La concentration en SO₂ libre diminue légèrement lorsque le vin est traité par le support, passant de 0,25 mmol/L dans l'échantillon témoin à 0,20 mmol/L avec 4,25 mmol/L d'hydrazine fixée sur support. Elle atteint 0,17 mmol/L avec 8,5 mmol/L de fonctions extractives.

Le taux de SO₂ combiné diminue de 29 % en présence de 8,5 mmol/L de fonctions extractives.

II. 3. Bilan des extractions

Le **Tableau 62** présente un bilan de matière de l'extraction réalisée dans un vin rosé avec 2,5 g/L et 5 g/L de support en considérant la quantité de dérivés carbonylés extraits, la quantité de dioxyde de soufre qui a disparu du milieu et le nombre de fonctions extractives disponibles sur le support. Rappelons qu'initialement, le vin contient 1,53 mmol/L de dérivés carbonylés et 1,36 mmol/L de SO₂.

	Extraction avec 2,5 g/L de support	Extraction avec 5 g/L de support
Fonctions extractives mises en œuvre (mmol/L)	4,25	8,50
Concentration initiale en dérivés carbonylés (mmol/L)	1,53 ± 0,08	1,53 ± 0,08
Concentration en dérivés carbonylés après extraction (mmol/L)	0,71 ± 0,05	0,48 ± 0,04
Efficacité d'extraction des dérivés carbonylés (%)	54	69
Concentration initiale en SO ₂ total (mmol/L) (mg/L)	1,36 ± 0,11 87 ± 7	1,36 ± 0,11 87 ± 7
Concentration en SO ₂ total après extraction (mmol/L) (mg/L)	1,20 ± 0,09 77 ± 6	0,96 ± 0,08 61 ± 5
Concentration initiale en SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	0,25 ± 0,04 16 ± 3	0,25 ± 0,04 16 ± 3
Concentration en SO ₂ libre après extraction (mmol/L) (mg/L)	0,20 ± 0,03 13 ± 2	0,17 ± 0,02 11 ± 1
Fonctions utilisées sur le support (mmol/L)	1,03	1,44
Taux d'utilisation du support (%)	24	17

Tableau 62 : Bilan de l'efficacité d'extraction par le support fonctionnalisé sur un rosé (temps de contact : 24 h)

L'extraction des dérivés carbonylés dans un vin rosé est efficace. L'augmentation de la quantité de supports dans le vin a une incidence sur l'efficacité d'extraction. Avec 4,25 mmol/L de fonctions extractives, 54 % des dérivés carbonylés sont extraits du vin. En présence de 8,50 mmol/L de fonctions extractives, 69 % des dérivés carbonylés sont extraits. La baisse de la concentration en SO₂ total est plus importante lorsqu'un large excès de

fonctions extractives est présent dans le vin. Le taux d'utilisation du support est de 24 % lorsqu'on utilise 2,5 g/L de support et descend à 17 % avec 5 g/L de support. L'amélioration de l'efficacité de fixation des dérivés carbonylés n'est pas proportionnelle à la quantité de fonctions extractives introduites dans le milieu.

III. Extraction dans un vin rouge

Le procédé d'extraction a prouvé son efficacité sur les vins blancs et rosés. Il ne nous reste plus qu'à effectuer des essais sur un vin rouge. Le vin étudié est un vin rouge de Bordeaux (2013). Les quantités d'éthanal, d'acide pyruvique et d'acide 2-oxoglutarique ont été déterminées par dosage enzymatique tandis que le taux de SO₂ libre et total a été dosé par la méthode de flux continu. La teneur en SO₂ combiné a été obtenue par différence. La composition initiale est la suivante (**Tableau 63**) :

Ethanal (mmol/L)	1,66 ± 0,05
Acide pyruvique (mmol/L)	1,35 ± 0,04
Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	0,62 ± 0,02
Ethanal + Acide pyruvique + Acide 2-oxoglutarique (mmol/L)	3,63 ± 0,11
SO ₂ libre (mmol/L)	0
SO ₂ total (mmol/L)	1,09 ± 0,09
(mg/L)	70 ± 6
SO ₂ combiné (mmol/L)	1,09 ± 0,09
(mg/L)	70 ± 6

Tableau 63 : Quantités de dérivés carbonylés et de dioxyde de soufre présents initialement dans le vin rouge analysé

Trois flacons rigoureusement identiques ont été préparés. Chaque flacon comporte 100 mL de vin. Un flacon sert de témoin pour tenir compte de l'évolution du vin au cours du temps. Les deux autres flacons ont reçu respectivement 250 mg et 500 mg de résine (**Tableau 64**) :

Nature de l'échantillon	Quantité de dérivés carbonylés (mmol/L)	SO ₂ total (mmol/L)	Quantité de fonctions extractives sur support (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés]
Témoin	3,63 ± 0,11	1,09 ± 0,09	0	0
250 mg de support	3,63 ± 0,11	1,09 ± 0,09	4,25	1,2
500 mg de support	3,63 ± 0,11	1,09 ± 0,09	8,50	2,3

Tableau 64 : Caractéristiques initiales des essais effectués dans un vin rouge

Les trois flacons sont laissés sans agitation pendant 24 h puis les billes sont filtrées. Les quantités de dérivés carbonylés et de SO₂ restants sont déterminées.

III. 1. Extraction des dérivés carbonylés

Les résultats des mesures de la concentration en dérivés carbonylés restants dans le vin rouge après extraction sont rassemblés dans le le **Tableau 65**.

Nature de l'échantillon	Ethanal restant (mmol/L)	Acide pyruvique restant (mmol/L)	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)	Total des dérivés carbonylés restants (mmol/L)
Témoin	1,66 ± 0,05	1,35 ± 0,04	0,62 ± 0,02	3,63 ± 0,11
2,5 g/L de support	1,37 ± 0,04	1,13 ± 0,03	0,16 ± 0,01	2,64 ± 0,08
5 g/L de support	0,91 ± 0,03	1,07 ± 0,03	0,15 ± 0,01	2,13 ± 0,07

Tableau 65 : Quantités de dérivés carbonylés restants (mmol/L) après l'extraction avec 2,5 g/L et 5 g/L de support (temps de contact : 24 h)

Au bout de 24 h de mise en contact, avec un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 1,2 (4,25 mmol/L de fonctions extractives ; 2,5 g/L de support), 0,29 mmol/L d'éthanal a été extrait avec 0,22 mmol/L d'acide pyruvique et 0,46 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique. L'efficacité globale d'extraction est de 27 %.

L'utilisation d'un rapport molaire [hydrazine] / [dérivés carbonylés] = 2,3 (8,50 mmol/L de fonctions extractives ; 5 g/L de support) a permis d'extraire 0,75 mmol/L d'éthanal ainsi que 0,28 mmol/L d'acide pyruvique et 0,46 mmol/L d'acide 2-oxoglutarique. Au total, 41 % des dérivés carbonylés ont été extraits.

L'utilisation d'un excès de fonctions extractives améliore l'efficacité d'extraction des dérivés carbonylés.

III. 2. Mesure de l'évolution du taux de SO₂

Les quantités de SO₂ libre et total restants dans le milieu après l'extraction sont mesurées par la méthode de flux continu. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 66** :

	SO ₂ Total (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)
Témoin	1,09 ± 0,09 70 ± 6	0	1,09 ± 0,09 70 ± 6
2,5 g/L de support	1,06 ± 0,08 68 ± 5	0	1,06 ± 0,08 68 ± 5
5 g/L de support	1,03 ± 0,08 66 ± 5	0	1,03 ± 0,08 66 ± 5

Tableau 66 : Mesure de la concentration en SO₂ libre et total après extraction dans un vin rouge (temps de contact : 24 h)

Ce vin fini embouteillé ne contient pas de SO₂ libre. Le SO₂ total est uniquement sous forme combinée. La concentration en SO₂ diminue très légèrement, passant de 1,09 mmol/L dans l'échantillon témoin à 1,06 mmol/L dans celui contenant 4,25 mmol/L de fonctions extractives. Elle atteint 1,03 mmol/L en présence de 8,50 mmol/L de fonctions extractives.

Cette faible diminution peut s'expliquer par le fait que ce vin ne contienne pas de SO₂ libre. La concentration en dérivés carbonylés est pratiquement deux fois supérieure à celle en SO₂. Tout le SO₂ a été combiné et il reste une grande quantité de dérivés carbonylés libres.

Lorsque le support est introduit dans le milieu, ce sont les dérivés carbonylés restés sous forme libre qui sont extraits du milieu. L'extraction des dérivés carbonylés n'a quasiment pas d'incidence sur la concentration en SO₂. Pour que la concentration en SO₂ total diminue, il faudrait d'abord extraire tous les dérivés carbonylés restés libres dans le vin.

III. 3. Bilan des extractions

Le **Tableau 67** présente un bilan de matière de l'extraction réalisée dans un vin rouge avec 2,5 g/L et 5 g/L de support en considérant la quantité de dérivés carbonylés extraits, la quantité de dioxyde de soufre qui a disparu du milieu et le nombre de fonctions extractives disponibles sur le support. Rappelons qu'initialement, le vin contient 3,63 mmol/L de dérivés carbonylés et 1,09 mmol/L de SO₂.

	Extraction avec 2,5 g/L de support	Extraction avec 5 g/L de support
Fonctions extractives mises en œuvre (mmol/L)	4,25	8,50
Concentration initiale en dérivés carbonylés (mmol/L)	3,63 ± 0,11	3,63 ± 0,11
Concentration en dérivés carbonylés après extraction (mmol/L)	2,64 ± 0,08	2,13 ± 0,06
Efficacité d'extraction des dérivés carbonylés (%)	28	42
Concentration initiale en SO ₂ total (mmol/L) (mg/L)	1,09 ± 0,09 70 ± 6	1,09 ± 0,09 70 ± 6
Concentration en SO ₂ total après extraction (mmol/L) (mg/L)	1,06 ± 0,08 68 ± 5	1,03 ± 0,08 66 ± 5
Fonctions utilisées sur le support (mmol/L)	1,02	1,56
Taux d'utilisation du support (%)	24	18

Tableau 67 : Bilan de l'efficacité d'extraction par le support fonctionnalisé en 24 h dans un vin rouge (temps de contact : 24 h)

L'extraction des dérivés carbonylés dans un vin rouge est moins efficace que dans le cas des vins blancs et rosés étudiés précédemment. L'utilisation d'un excès de fonctions extractives améliore la qualité de l'extraction.

Le vin rouge étudié ne contient pas de dioxyde de soufre sous forme libre. Les composés carbonylés extraits dans ce vin ne sont pas combinés au SO₂. L'extraction des dérivés carbonylés n'influence pas, dans ce cas, la concentration en SO₂ total.

Le taux d'utilisation du support est de 24 % en présence de 2,5 g/L de support et descend à 18 % avec 5 g/L de support.

IV. Recherche de contaminants dans les vins étudiés

La consommation des vins doit être possible après l'extraction des dérivés carbonylés. La libération de composés dans le milieu n'est pas tolérée. La recherche de traces d'hydrazine dans les différents vins ayant été mis en contact avec le support d'extraction a été réalisée et les résultats sont les suivants (**Tableau 68**) :

Concentration en hydrazine (ppm) retrouvée après extraction dans :	Quantités de fonctions extractives (mmol/L)	
	4,25	8,50
Vin blanc Sauternes	2,2 ± 0,2	-
Vin blanc Moelleux	1,8 ± 0,1	3,9 ± 0,3
Vin rosé	2,5 ± 0,3	5,2 ± 0,4
Vin rouge	2,8 ± 0,3	5,1 ± 0,3

Tableau 68 : Quantités d'hydrazine retrouvées dans les vins après extraction

De faibles quantités d'hydrazine sont retrouvées dans les vins après extraction avec le support p(GMA)1-NHNH₂. L'augmentation de la quantité de fonctions extractives entraîne une augmentation de la quantité d'hydrazine retrouvée dans les vins. Cette quantité est faible et n'excède pas 10 ppm.

La contamination, aussi faible soit elle, des vins ne peut être acceptée. Il est indispensable d'améliorer les conditions de lavages du support après fonctionnalisation.

V. Conclusions

Les extractions réalisées sur un vin blanc liquoreux, un vin blanc moelleux, un vin rosé et un vin rouge ont été efficaces. L'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique sont extraits par l'hydrazine fixée sur un support polymère poreux. Le procédé d'extraction sur phase solide est donc efficace dans un milieu complexe tel que le vin. Il peut s'appliquer à n'importe quel vin. Lors de l'extraction des dérivés carbonylés, la concentration en SO₂ combiné a diminué dans tous les cas étudiés. L'objectif final est donc atteint. Cependant, la diminution de la concentration en SO₂ combiné n'est pas aussi importante qu'on l'espérait. La concentration en SO₂ total et en SO₂ libre diminue également.

Une étude des contaminants a montré que de très faibles concentrations en hydrazine sont retrouvées dans les vins. La toxicité de l'hydrazine ne permet pas la consommation de vins contaminés avec ce composé. Il sera indispensable de procéder à un lavage plus efficace du support afin d'éliminer toutes traces d'hydrazine dans les vins.

Il serait intéressant de détailler et de discuter des équilibres qui s'établissent dans les vins afin de comprendre les résultats obtenus.

Chapitre 4 :

Discussion générale sur le procédé

Les extractions des dérivés carbonylés réalisées sur des solutions modèles et sur plusieurs vins ont prouvé l'efficacité de la méthode. L'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique ont été extraits par le copolymère de méthacrylate de glycidyle fonctionnalisé avec de l'hydrazine. Ces composés participent à la combinaison du SO₂. Les concentrations en SO₂ total et combiné ont diminué lors de l'extraction des dérivés carbonylés. Une légère diminution de la concentration en SO₂ libre a également été observée.

Plusieurs équilibres entrent en compétition lors de l'extraction des dérivés carbonylés. Il est nécessaire de les détailler afin d'essayer de comprendre les bilans de matières obtenus.

I- Bilan des équilibres

Avant l'ajout du support, deux équilibres s'établissent dans les solutions : celui du dioxyde de soufre en milieu aqueux en fonction du pH et celui entre les dérivés carbonylés et le dioxyde de soufre (**Figure 65**).

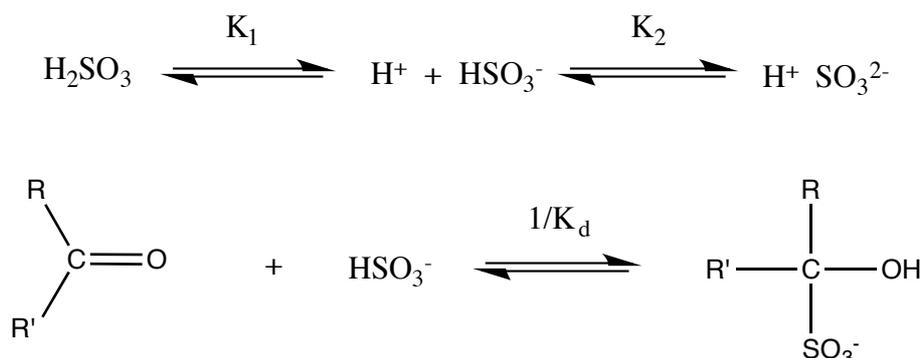


Figure 65 : Equilibre entre les différentes formes du dioxyde de soufre et combinaison avec les dérivés carbonylés

La constante de dissociation K_d , est une valeur propre à chaque dérivé carbonylé. Elle régit l'équilibre qui se forme entre le SO₂ et chaque dérivé carbonylé. Plus la valeur de K_d est faible, plus l'équilibre est déplacé vers la forme combinée (cas de l'éthanal). Dans le cas des dérivés carbonylés étudiés, l'ordre des constantes de dissociation est le suivant :

$$K_d \text{ éthanal} < K_d \text{ acide pyruvique} < K_d \text{ acide 2-oxoglutarique}$$

L'éthanal est fortement combiné au SO₂ alors que l'acide 2-oxoglutarique est le composé le moins fortement combiné au SO₂.

La concentration totale en dioxyde de soufre dans le milieu est égale à la concentration en dioxyde de soufre libre dans le milieu et à la concentration en dioxyde de soufre combiné aux dérivés carbonylés du vin.

La concentration totale en dérivés carbonylés présents dans le milieu est égale à la somme de la quantité de dérivés carbonylés libres et à la quantité de dérivés carbonylés combinés au dioxyde de soufre.

$$[\text{SO}_2]_{\text{Total}} = [\text{SO}_2]_{\text{Libre}} + [\text{SO}_2]_{\text{Combiné}}$$

$$[\text{Dérivé carbonylé}]_{\text{Total}} = [\text{Dérivé carbonylé}]_{\text{Libre}} + [\text{Dérivé carbonylé}]_{\text{Combiné}}$$

Lors de l'ajout du support fonctionnalisé, les dérivés carbonylés restés libres vont se fixer sur le support. L'équilibre de combinaison avec l'ion HSO₃⁻ est déplacé. Les dérivés carbonylés se décombinent du SO₂ pour se recombinaison avec l'hydrazine fixée sur le support. La concentration en SO₂ libre va augmenter alors que la concentration en SO₂ combiné va diminuer.

Le système est constitué de deux équilibres compétitifs de constantes respectives K_d (combinaison dérivés carbonylés et SO₂) et K_s (combinaison dérivés carbonylés/support) (**Figure 66**).

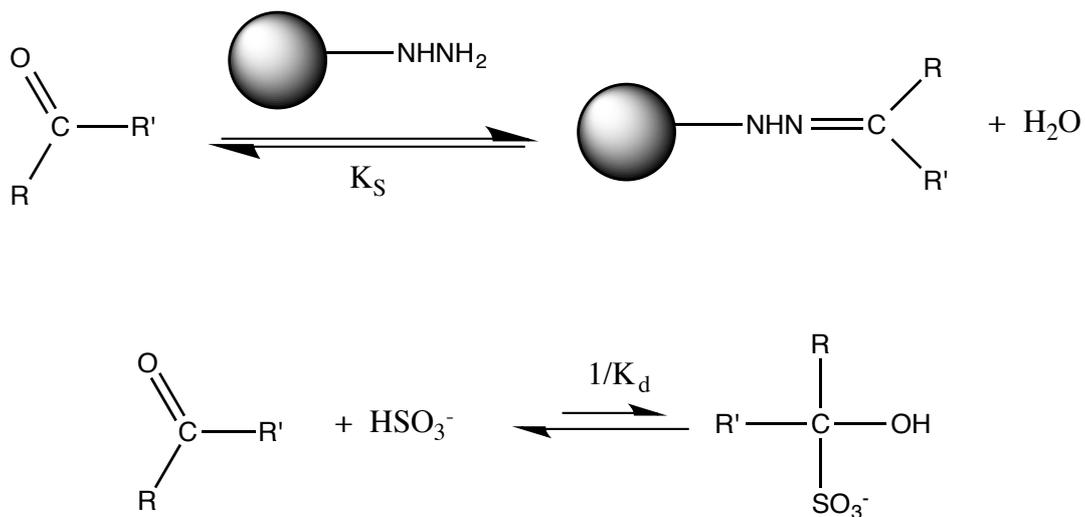


Figure 66 : Equilibres dans le vin en présence des supports d'extraction

Lors de l'introduction du support dans la solution, la concentration totale en dérivés carbonylés est égale à la somme de la concentration en dérivés carbonylés restés libres, de la concentration en dérivés carbonylés combinés au SO₂ et de la concentration en dérivés carbonylés fixés sur le support. La concentration totale en SO₂ est égale à la somme de la concentration en SO₂ libre et de la concentration en SO₂ combiné aux dérivés carbonylés.

$$[\text{SO}_2]_{\text{Total}} = [\text{SO}_2]_{\text{Libre}} + [\text{SO}_2]_{\text{Combiné aux dérivés carbonylés}}$$

$$[\text{Dérivé carbonylé}]_{\text{Total}} = [\text{Dérivé carbonylé}]_{\text{Libre}} + [\text{Dérivé carbonylé}]_{\text{Combiné au SO}_2} + [\text{Dérivé carbonylé}]_{\text{Fixé sur support}}$$

La présence du support déplace l'équilibre vers la combinaison des dérivés carbonylés avec la fonction extractive en libérant du SO₂.

II- Résultats obtenus lors de l'extraction des dérivés carbonylés dans les solutions modèles

Les extractions des dérivés carbonylés seuls en présence de SO₂ permettent de comprendre le comportement de chaque composé lors de l'extraction des dérivés carbonylés.

Les résultats obtenus lors de l'extraction de l'éthanal seul en présence de SO₂ sont présentés dans le **Tableau 69** :

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/ [DC]	Ethanal restant (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L)	SO ₂ libre (mmol/L)	SO ₂ combiné (mmol/L)	Efficacité d'extraction de l'éthanal (%)
0	0	1,70 ± 0,05	2,80 ± 0,22 180 ± 14	1,21 ± 0,19 78 ± 12	1,59 102	0
3,40	2	0,88 ± 0,03	2,34 ± 0,19 150 ± 12	1,15 ± 0,17 74 ± 11	1,19 76	48
6,80	4	0,70 ± 0,02	2,18 ± 0,17 140 ± 11	1,01 ± 0,15 65 ± 10	1,17 76	59
13,60	8	0,36 ± 0,01	2,01 ± 0,16 129 ± 10	0,89 ± 0,13 57 ± 8	1,12 72	79
17,00	10	0,30 ± 0,01	1,80 ± 0,14 115 ± 9	0,70 ± 0,11 45 ± 7	1,10 70	82

Tableau 69 : Bilan de l'extraction de l'éthanal seul en présence de SO₂

Dans l'échantillon témoin, la concentration en éthanal est très proche de la concentration en SO₂ combiné. L'éthanal combine bien, comme indiqué dans la littérature, le SO₂ à près de 99 %. L'extraction d'une mole d'éthanal devrait entraîner une diminution de la concentration en SO₂ combiné d'une valeur égale à une mole, libérant ainsi une mole de SO₂ libre. Ces résultats n'ont pas été observés.

En présence de 3,40 mmol/L de fonctions extractives (rapport molaire = 2) la concentration en SO₂ combiné diminue de 25 % alors que 48 % de l'éthanal a été extrait.

En augmentant la quantité de fonctions extractives, la concentration en SO₂ combiné ne varie plus alors que la concentration en éthanal diminue (82 % en présence de 17,00 mmol/L de fonctions extractives).

Ce résultat inattendu ne peut pas être expliqué à partir des connaissances actuelles de l'éthanal et du dioxyde de soufre.

Les résultats obtenus lors de l'extraction de l'acide pyruvique seul en présence de SO₂ sont présentés dans le **Tableau 70** :

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/ [DC]	Acide pyruvique restant (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ combiné (mmol/L) (mg/L)	Efficacité d'extraction de l'acide pyruvique (%)
0	0	1,70 ± 0,05	2,80 ± 0,22 180 ± 14	1,80 ± 0,27 115 ± 17	1,00 65	0
3,40	2	0,87 ± 0,03	2,68 ± 0,21 172 ± 13	2,03 ± 0,30 130 ± 19	0,65 42	49
6,80	4	0,48 ± 0,02	2,55 ± 0,20 163 ± 13	2,15 ± 0,32 138 ± 20	0,40 25	72
13,60	8	0,17 ± 0,005	2,44 ± 0,19 156 ± 12	2,15 ± 0,32 138 ± 20	0,29 18	90
17,00	10	0,15 ± 0,005	2,25 ± 0,18 144 ± 12	2,21 ± 0,33 142 ± 21	0,04 2	91

Tableau 70 : Bilan de l'extraction de l'acide pyruvique seul en présence de SO₂

Dans l'échantillon témoin, environ 60 % de l'acide pyruvique est combiné au SO₂. Lorsque l'acide pyruvique est extrait du milieu, une diminution de la concentration en SO₂ combiné est observée avec une augmentation de la concentration en SO₂ libre. En présence d'un large excès de fonctions extractives (17,00 mmol/L de fonctions extractives ; rapport molaire = 10), 91 % de l'acide pyruvique a été extrait. La concentration en SO₂ combiné est quasi nulle.

En introduisant le support dans le milieu, l'acide pyruvique resté libre se fixe sur le support en premier. L'équilibre qui s'établit entre l'acide pyruvique et le SO₂ est déplacé. L'acide pyruvique se décombine du dioxyde de soufre et se combine à l'hydrazine fixée sur le support. La concentration en SO₂ combiné diminue tandis que celle en SO₂ libre augmente. Lorsque le milieu contient une faible concentration en acide pyruvique, le SO₂ reste sous forme libre.

Les résultats obtenus lors de l'extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul en présence de SO₂ sont présentés dans le **Tableau 71** :

Quantité de fonctions extractives (mmol/L)	Rapport molaire [hydrazine]/ [DC]	Acide 2-oxoglutarique restant (mmol/L)	SO ₂ total restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ libre restant (mmol/L) (mg/L)	SO ₂ combiné restant (mmol/L)	Efficacité d'extraction (%)
0	0	1,70 ± 0,05	2,80 ± 0,22 180 ± 14	2,30 ± 0,35 147 ± 22	0,50 147	0
3,40	2	1,05 ± 0,03	2,68 ± 0,21 172 ± 13	2,63 ± 0,40 168 ± 26	0,05 168	38
6,80	4	0,53 ± 0,02	2,04 ± 0,16 131 ± 10	2,04 ± 0,31 131 ± 20	0	69
13,60	8	0,15 ± 0,005	1,90 ± 0,15 122 ± 10	1,90 ± 0,28 122 ± 18	0	91
17,00	10	0,14 ± 0,005	1,85 ± 0,15 118 ± 10	1,85 ± 0,28 118 ± 18	0	92

Tableau 71 : Bilan de l'extraction de l'acide 2-oxoglutarique seul en présence de SO₂

Dans l'échantillon témoin, 30 % de l'acide 2-oxoglutarique est combiné au SO₂. L'extraction de l'acide 2-oxoglutarique s'accompagne d'une diminution de la concentration en SO₂ total et d'une augmentation de la concentration en SO₂ libre.

En présence d'un excès de fonctions extractives (6,80 mmol/L de fonctions extractives ; rapport molaire = 4), les concentrations en SO₂ total et libre sont identiques. L'acide 2-oxoglutarique est totalement décombiné du SO₂.

L'équilibre qui s'établit entre l'acide 2-oxoglutarique et le dioxyde de soufre est déplacé et le SO₂ est uniquement sous forme libre.

L'extraction des dérivés carbonylés individuellement dans des solutions modèles permet une compréhension des mécanismes ayant lieu. Les extractions de l'acide pyruvique et de l'acide 2-oxoglutarique donnent des résultats attendus. Ces deux composés se décombinent du SO₂ ce qui provoque une baisse de la concentration en SO₂ combiné et une augmentation de la

concentration en SO₂ libre. L'extraction de l'éthanal donne des résultats surprenants et inexpliqués. La concentration en SO₂ combiné reste élevée (1,10 mmol/L) alors que 82 % d'éthanal a été extrait du milieu (il reste 0,30 mmol/L d'éthanal). Aucune explication n'a pu être donnée à partir des connaissances actuelles sur la combinaison entre l'éthanal et le dioxyde de soufre.

Dans tous les cas étudiés, une diminution de la concentration en SO₂ total a été observée lors de l'extraction. Ces résultats nous ont conduits à émettre l'hypothèse de l'existence d'une réaction directe entre l'hydrazine greffée sur support et le SO₂. Au pH des vins, l'hydrazine se trouve sous forme protonée et peut réagir avec le SO₂ libre. Le support peut fixer le SO₂ initialement libre dans le vin ou le SO₂ libéré par décombinaison avec les dérivés carbonylés. Il se forme alors un hydrogénosulfite d'hydrazinium avec l'ion HSO₃⁻ (**Figure 67**).

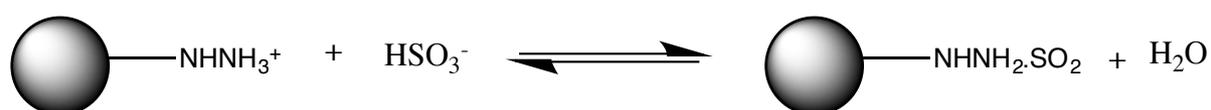


Figure 67 : Formation d'un adduit entre l'hydrazine et le SO₂

La diminution de la concentration en SO₂ total, dans tous les cas étudiés, a été attribuée à une réaction directe entre l'hydrazine greffée sur le support solide et le dioxyde de soufre. Cette hypothèse a été confirmée par la mise en contact du support fonctionnalisé avec une solution hydroalcoolique ne contenant que du SO₂.

Les méthodes de dosages ne permettent pas de prendre en considération la quantité de SO₂ fixé sur le support ce qui explique les écarts observés. Les incertitudes des mesures peuvent également expliquer les écarts observés sur les concentrations en SO₂ libre et total.

L'extraction des dérivés carbonylés dans les solutions modèles a permis de comprendre les déplacements d'équilibre qui ont lieu. Cependant, dans les vins, tous les dérivés carbonylés sont présents. Il est indispensable de prendre en compte des notions de compétitions entre les équilibres. De plus, chaque équilibre va subir l'influence des autres équilibres.

III- Résultats obtenus lors de l'extraction des dérivés carbonylés dans les vins

Lors de l'extraction des dérivés carbonylés dans les vins, les concentrations en SO₂ libre et total diminuent. Concernant le SO₂ combiné, une formule permet de calculer la quantité de SO₂ combiné par un dérivé carbonylé en fonction de sa constante de dissociation (K_d) [22]. La formule est la suivante :

$$[SO_2c] = \left(\frac{\frac{[SO_2l]}{64} \times \frac{[A]}{M(A)}}{K_d + \frac{[SO_2l]}{64}} \right) \times 64$$

Avec [SO₂l] la concentration en SO₂ libre mesuré par flux continu

[A] la concentration du dérivé carbonylé A présent en solution

M(A) la masse molaire du dérivé carbonylé A

K_d la constante de dissociation du composé carbonylé A

SO₂c la concentration en SO₂ combiné au composé carbonylé A

64 correspond à la masse molaire du SO₂

La constante de dissociation de chaque dérivé carbonylé étudié est connue ainsi que sa masse molaire. Leur concentration en solution a été déterminée par dosage enzymatique et la concentration en SO₂ libre a été mesurée par la méthode de flux continu. Cette formule permet d'accéder à la concentration en SO₂ combiné à chacun des dérivés carbonylés. La formule a été appliquée aux trois composés que l'on cherche à extraire du vin. La somme des trois concentrations calculées permet d'accéder à la valeur de SO₂ combiné par l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique. La comparaison du résultat obtenu à la teneur en SO₂ combiné total (déterminée par différence entre le SO₂ total et le SO₂ libre) permet d'évaluer la contribution des trois composés choisis à la combinaison du SO₂.

Les résultats calculés dans le vin blanc de Sauternes sont rassemblés dans le **Tableau 72** :

	Témoin	2,5 g/L support
Concentration en dérivés carbonylés (mmol/L)	2,23 ± 0,08	1,14 ± 0,05
SO ₂ total (mmol/L) (mg/L)	2,84 ± 0,23 182 ± 15	2,41 ± 0,20 154 ± 13
SO ₂ libre (mmol/L) (mg/L)	0,23 ± 0,03 15 ± 2	0,33 ± 0,05 21 ± 3
SO ₂ combiné total ^(a) (mmol/L) (mg/L)	2,61 167	2,08 133
SO ₂ combiné par les 3 composés ^(b) (mmol/L) (mg/L)	1,79 115	1,04 67
Participation des 3 composés à la combinaison (%)	70	50

(a) : obtenue par différence entre SO₂ total et SO₂ libre b : calculé selon l'équation

Tableau 72 : Estimation du taux de combinaison du dioxyde de soufre avec les dérivés carbonylés dosés après l'extraction dans un vin de Sauternes

Les résultats obtenus dans l'échantillon témoin confirment le choix judicieux de la sélection des trois molécules : l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique sont majoritairement responsables de la combinaison du SO₂ dans le vin non traité (69 %).

Lorsque les trois composés carbonylés sont extraits du vin (49 % d'extraction), la quantité de SO₂ combiné diminue, ce qui était l'objectif de l'étude. Une baisse de 20 % de la concentration en SO₂ combiné est observée.

La participation des trois dérivés carbonylés étudiés à la combinaison du SO₂ diminue en présence du support. En présence de 4,25 mmol/L de fonctions extractives (2,5 g/L de support), la participation de ces composés à la combinaison du dioxyde de soufre n'est plus que de 50 %. Cependant, la concentration en SO₂ combiné reste importante. De nombreuses molécules, qui ont volontairement été exclues de l'étude, sont susceptibles de combiner le SO₂ dans les vins.

Discussion générale sur le procédé

On peut citer par exemple le 5-oxofructose, dont le $K_d = 0,4$ mmol/L et la teneur moyenne dans les vins est d'environ 0,60 mmol/L. Le glyoxal participe également à la combinaison du SO_2 ($K_d = 0,15$ mmol/L et sa teneur est estimé à 1,00 mmol/L). En considérant les teneurs théoriques de ces deux composés dans les vins et en appliquant l'équation précédente, on estime qu'environ 25 % du SO_2 est combiné à ces deux composés (ce sont des estimations car les teneurs exactes n'ont pas été dosées).

Les incertitudes de mesures ainsi que la combinaison du SO_2 avec d'autres composés permettent d'expliquer les différences observées.

Conclusion générale

L'objectif de cette étude était la diminution de la concentration en SO₂ qu'il est nécessaire d'ajouter aux vins afin d'assurer leur conservation. La proportion de SO₂ combiné dans les vins est importante mais n'a aucune activité pour la conservation des vins. Il est donc nécessaire de réduire la proportion de SO₂ combiné des vins.

La méthode retenue consiste à éliminer du vin les dérivés carbonylés naturellement présents, n'ayant pas d'activité conservatrice et responsables de la formation de combinaisons bisulfiteuses.

L'extraction de ces composés doit s'effectuer sans dénaturer les qualités organoleptiques du vin et sans générer l'apparition de nouvelles molécules qui pourraient être source de contamination du vin. La méthode retenue a été l'extraction sur phase solide.

Une étude bibliographique portant sur les dérivés carbonylés responsables de la combinaison bisulfiteuse, sur leur réactivité ainsi que sur les réactions auxquelles ils sont susceptibles de participer a été réalisée. Celle-ci a permis de sélectionner les dérivés carbonylés à extraire prioritairement et de mettre en avant des familles de molécules susceptibles de les extraire suivant les contraintes imposées pour cette étude :

- milieu hydroalcoolique
- température ambiante
- pas d'ajout de catalyseur
- pas de libération de composés dans le milieu

Les dérivés carbonylés considérés comme responsables de la plus grande partie du piégeage du dioxyde de soufre dans les vins sont l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique. La famille de molécule retenue à l'issue de cette recherche comme pouvant être des agents d'extraction des dérivés carbonylés était l'hydrazine et ses dérivés.

Cet agent d'extraction a été fixé sur des supports insolubles pour mettre en œuvre l'extraction sur phase solide. Le type de support d'extraction retenu a été un support polymère organique.

Dans le cas du greffage de la fonction sulfonylhydrazine sur support polymère, une résine sulfonique commerciale a été fonctionnalisée avec de l'hydrazine afin d'obtenir le greffage désiré. Une activation micro-ondes a été choisie car elle permet d'effectuer la fonctionnalisation en une seule étape sans utiliser de solvant ni de composés chlorés contrairement aux travaux de la littérature. Les micro-ondes permettent également de réduire

Conclusion générale

considérablement le temps de réaction.

Les conditions opératoires optimales de greffage ont été établies grâce à l'application d'une méthode mathématique permettant de tendre rapidement vers un optimum réactionnel. La méthode du simplexe consiste à faire varier simultanément plusieurs paramètres préalablement choisis en suivant une règle mathématique, et à éliminer à chaque étape les conditions donnant le plus mauvais rendement. L'opération est répétée jusqu'à ce que le rendement ne soit plus amélioré.

La sulfonylhydrazine greffée sur support polymère a pu être obtenue avec un rendement avoisinant 85 %. Les supports obtenus par le traitement ne présentent pas de fragilité physique.

La vérification de l'efficacité de ces supports pour l'extraction des dérivés carbonylés a été réalisée sur des solutions modèles du vin. Ce sont des solutions hydroalcooliques, contenant des concentrations connues de dérivés carbonylés, ajustées au pH des vins. Il a été possible d'étudier l'extraction des dérivés carbonylés aussi bien séparément qu'en mélange, en présence ou en absence de SO₂. Dans tous les cas étudiés, l'éthanal, l'acide pyruvique et l'acide 2-oxoglutarique ont bien pu être extraits par la sulfonylhydrazine greffée sur support solide. La méthode d'extraction retenue est applicable à n'importe quelle étape du processus de vinification, y compris après sulfitage.

La stabilité chimique de l'espèce greffée a ensuite été vérifiée avant d'appliquer ce support sur du vin car il ne faut pas libérer de molécules indésirables dans le milieu. L'hydrazine étant un composé hautement toxique, nos efforts ont été concentrés sur cette molécule. Une méthode de dosage de l'hydrazine à faible concentration a été développée. L'emploi de cette méthode nous a permis d'observer un relargage important d'hydrazine dans le milieu. Il n'est pas envisageable d'utiliser ce support dans les vins.

Le développement d'un support chimiquement plus stable a donc été entrepris. Après plusieurs tentatives infructueuses, un nouveau support a pu être obtenu par copolymérisation en suspension par voie radicalaire de méthacrylate de glycidyle, de diméthacrylate d'éthylène glycol et de divinylbenzène. Les supports polymères obtenus, présentant des fonctions époxydes pendantes, ont permis la fonctionnalisation par de l'hydrazine avec un rendement de fonctionnalisation de 45 %. Ce nouveau support a ensuite été testé sur des solutions modèles du vin afin d'analyser son efficacité d'extraction des dérivés carbonylés. Les trois dérivés carbonylés ont été extraits dans toutes les solutions étudiées, qu'ils aient été seuls ou mélangés, en absence ou en présence de SO₂. La méthode est applicable, avec ce support, à n'importe quelle étape du processus de vinification. Le déplacement des équilibres qui

Conclusion générale

s'établissent entre le SO₂ et l'éthanal, l'acide pyruvique ou l'acide 2-oxoglutarique est possible. L'analyse de la concentration en SO₂ a montré une baisse de la concentration en SO₂ total et dans certains cas, une diminution de la concentration en SO₂ libre. L'extraction des composés carbonylés provoque une diminution de la concentration en SO₂ combiné. Le support permet en plus d'ôter le SO₂ libre du milieu. La réaction entre l'hydrazine et le SO₂ a été prouvée par la mise en contact du support fonctionnalisé avec une solution hydroalcoolique ne contenant que du SO₂.

La présence d'hydrazine dans les solutions modèles après l'extraction des dérivés carbonylés a été recherchée en utilisant la même méthode de dosage que précédemment. Des concentrations en hydrazine cent fois plus faibles que celles dosées lors de l'extraction avec le support fonctionnalisé par la sulfonylhydrazine ont été détectées. L'acidité ne semble pas, dans le cas de ce support, entraîner une rupture de liaison. Un lavage des billes plus exhaustif avec un autre solvant devrait être employé pour éliminer toutes traces d'hydrazine.

Le nouveau support n'étant pas source de contamination du milieu, l'extraction des dérivés carbonylés a été mise en œuvre sur plusieurs vins finis embouteillés. Les expériences ont montré que les trois dérivés carbonylés retenus pour cette étude sont extraits de façon satisfaisante des vins (jusqu'à 80 % d'extraction). La disparition des dérivés carbonylés s'accompagne d'une diminution de la concentration en dioxyde de soufre combiné. La méthode permet de réduire la concentration en SO₂ combiné. Cependant, cette baisse en SO₂ combiné n'est pas aussi importante qu'on l'espérait. La complexité du milieu, les différents équilibres qui s'établissent et les incertitudes de mesures sont des facteurs expliquant en partie ces résultats.

La concentration en SO₂ total diminue également à cause de la réaction directe entre l'hydrazine et le SO₂. Cela peut être intéressant pour notre étude dont l'objectif est de réduire la concentration en dioxyde de soufre dans les vins.

La recherche de polluant dans les vins après l'extraction des dérivés carbonylés a été réalisée. De faibles concentrations en hydrazine ont été retrouvées car le lavage du support n'a pas été modifié.

Cette étude a permis de diminuer le pouvoir de combinaison des vins en utilisant la méthode d'extraction sur phase solide.

Le respect des qualités organoleptiques des vins traités est un point essentiel n'ayant pu être abordé. Des vins devront être traités avec le support fonctionnalisé par de l'hydrazine, filtrés puis soumis à un panel d'experts. Cela permettra de mettre en évidence que le procédé ne

Conclusion générale

confère pas de défauts aux vins mis en contact avec le support.

Le polyméthacrylate de glycidyle ayant été mis au point en urgence, des travaux supplémentaires devront être entrepris afin d'optimiser les conditions de polymérisation du support. L'obtention d'une structure poreuse plus importante permettrait d'améliorer la diffusion de la solution et l'extraction des dérivés carbonylés. Il serait intéressant d'optimiser les conditions de fonctionnalisation pour obtenir plus de fonctions hydrazine sur le support. La régénération du support après l'extraction devra être envisagée dans le but de réduire les coûts de fabrication. Le support nécessitera un lavage exhaustif en utilisant un autre solvant ou un autre procédé qui permettra d'éliminer définitivement toutes traces d'hydrazine retrouvées par la suite dans les solutions modèles. La recherche de contaminants autre que l'hydrazine devra également être réalisée. En effet, des résidus de monomères n'ayant pas copolymérisé peuvent être retrouvés en solution.

Les extractions devront enfin être réalisées à grande échelle pour une application directe dans les chais. Cela permettra de déterminer si la diminution de la concentration en SO₂ combiné est suffisante tout en ayant une quantité suffisante de SO₂ libre permettant la stabilité des vins.

Partie expérimentale

Appareillage

- Les absorbances à une longueur d'onde de 340 nm ont été déterminées sur un spectrophotomètre Spectronic 20 Genesys en utilisant des demi-cuves micro UV.
- Les mesures d'adsorption d'azote ont été réalisées sur un appareil Micromeritics ASAP 2010. Les résultats ont été traités selon la méthode B.E.T. (Brunauer, Emmett and Teller) afin de déterminer les surfaces spécifiques.
- Les analyses centésimales ont été effectuées par le service d'analyse élémentaire de l'ISM (groupe CESAMO) à Talence (33). Les dosages sont donnés à $\pm 0,3$ % sur C, H, N, O.
- Le microscope électronique à balayage (MEB) est un HITACHI TM 1000. La détermination de la taille des billes a été réalisée par analyse d'image en utilisant le logiciel Scion.
- Les mesures des volumes poreux ont été réalisées par un porosimètre par intrusion de mercure (Autopore IV 9500)
- Le four à micro-ondes utilisé est un Milestone START SYNTH.

Réactifs

L'ensemble des réactifs utilisés ont été fournis par Sigma-Aldrich, Acros, Alpha-Aesar et R-Biopharm.

- Dowex monospheres 650 C
- Hydrate d'hydrazine
- Hydroxyde de sodium
- Hypochlorite de sodium
- Bisulfite de sodium
- Méthacrylate de glycidyle
- Diméthacrylate d'éthylène glycol
- Acide chlorhydrique
- Acide nitrique
- Dioxane
- Iodure de potassium
- Méthanol
- AIBN
- Gomme d'acacia
- Divinylbenzène
- Bromure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAB)
- 2,9-diméthyl-1,10-phenanthroline
- Acide pyruvique
- Ethanal
- Acide 2-oxoglutarique
- L-lactic deshydrogenase
- L-glutamic deshydrogenase
- Acide tartrique
- Nitrate de cuivre (II) hydraté
- Chlorure d'étain (II) anhydre

I- Support fonctionnalisé avec la fonction sulfonylhydrazine

I. 1. Mesure du taux de fonctions supportées SO_3H par dosage acido-basique

Mode opératoire :

Les supports (0,5g) sont placés dans une solution de Na_2SO_4 (25 mL, 0,5 mol/L). Après 2 h, la solution est dosée en retour avec une solution aqueuse de soude à 0,5 mol/L.

L'expérience est renouvelée trois fois afin de moyenner le taux de fonctionnalisation du support.

Résultats : Un taux de fonctionnalisation d'environ 4,5 mmol $\text{SO}_3\text{H}/\text{g}$ a été obtenu

I. 2. Mesure de taux de fonctions SO_2NHNH_2 fixées sur le support

Mode opératoire :

Les supports (0,1 g) sont broyés puis placés dans un flacon connecté avec une burette à gaz remplie de liquide (dans notre cas de l'encre pour faciliter la lecture des résultats). Dans le système totalement fermé, de l'hypochlorite de sodium (5 mL) est ajouté. Il se produit un violent dégagement gazeux d'azote qui provoque un déplacement du liquide dans la burette à gaz (**Figure 68**). Le volume d'azote dégagé correspond au volume d'hydrazine fixée sur le support.

L'expérience est renouvelée plusieurs fois afin de moyenner le taux de fonctionnalisation du support.



Figure 68 : Montage expérimental du dosage du taux d'hydrazine avec une burette à gaz

I. 3. Détermination du taux de gonflement

Le support (1 g), préalablement séché sous vide, est introduit dans une burette graduée de 25 mL. Le volume à sec (V_0) est alors mesuré. Les billes sont ensuite imbibées de solvant et agitées à l'aide d'une spatule afin de favoriser la pénétration du liquide et d'éliminer les bulles d'air. Le système est laissé 12 h afin de parvenir à stabilisation. Le nouveau volume (V) est alors mesuré.

Le taux de gonflement est défini selon la relation suivante :

$$\text{Taux de gonflement (\%)} = (V - V_0) / V \times 100$$

I. 4. Fonctionnalisation du support avec la fonction sulfonylhydrazine

Mode opératoire :

Les supports Dowex sont préalablement lavés au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (25 : 75) pendant 48 h afin d'éliminer les conservateurs de la résine. Après séchage à l'étuve pendant 24 h, les supports (10 g ; 45 mmol de SO_3H) sont placés dans des réacteurs pour micro-ondes. On ajoute de l'hydrazine hydratée, de l'eau et le pH est ajusté par addition d'une solution aqueuse de soude (ou d'acide chlorhydrique) (1 mol/L). Le mélange réactionnel est irradié sous micro-ondes à 250 Watt. Les billes récupérées après réaction sont rincées à l'eau

Partie expérimentale

puis lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Après séchage à l'étuve, les supports sont analysés.

L'ensemble des modes opératoires est rassemblé dans le **Tableau 73**.

Manip	Nombre de moles d'hydrazine	pH	Température (°C)	Temps (min)	Taux de SO ₃ H restant (mmol/g)	Taux de NHNH ₂ fixé (mmol/g)
1	90	9	50	30	1,01	3,47
2	135	9	70	50	1,41	3,10
3	45	2	30	30	1,63	2,88
4	180	7	100	90	1,00	3,51
5	90	4	120	15	1,28	3,24
6	203	12,5	140	78	0,78	3,64
7	147	7	135	57	0,74	3,78
8	220	14	93	113	0,64	3,87
9	284	11	184	139	1,21	3,29
10	248	14	175	103,5	0,60	3,92
11	225	14	171,5	86	0,96	3,56
12	176	13	207	46,5	0,64	3,87
13	95	11	62	26	0,71	3,83
14	45	14	145	75	1,03	3,38

Tableau 73 : Modes opératoires de la fonctionnalisation d'une résine sulfonique

I. 5. Extraction des dérivés carbonylés

I. 5. 1. Extraction en absence de SO₂

Préparation des solutions modèles : De l'acide tartrique (4 g – 0,0265 mol) est ajouté à une solution eau-éthanol (88 : 12) (1 L). Une quantité connue d'un dérivé carbonylé est ajoutée.

La solution est ensuite ramenée à un pH de 3,5 par ajout d'une solution de soude à 3 mol/L.

Ethanal seul: 163 mg – 3,70 mmol pour 1 L

Acide pyruvique seul: 326 mg – 3,70 mmol pour 1 L

Partie expérimentale

Acide 2-oxoglutarique seul: 533 mg – 3,70 mol pour 1 L

Lorsque les trois dérivés carbonylés sont présents en solution, la quantité de chaque dérivé carbonylé est la suivante :

Ethanal: 59 mg – 1,35 mmol pour 1 L

Acide pyruvique: 110 mg – 1,25 mmol pour 1L

Acide 2-oxoglutarique: 158 mg – 1,10 mol pour 1L

Cinétique d'extraction : A une fraction de 100 mL (3,70 mmol/L) de solution modèle est ajouté un rapport molaire = 1 d'agents d'extraction (3,70 mmol/g ; 100 mg de support). Les flacons sont laissés sans agitation à température ambiante. Des prélèvements sont effectués à intervalles de temps réguliers de façon à mesurer la disparition des dérivés carbonylés en fonction du temps par dosages enzymatiques.

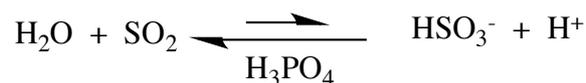
Influence du rapport molaire : A des fractions de 100 mL de solution modèle sont ajoutés respectivement un rapport molaire = 1 (3,70 mmol/L ; 100 mg de support), un rapport molaire = 1,5 (5,55 mmol ; 150 mg de support) et un rapport molaire = 2 d'agents d'extraction (7,40 mmol/L ; 200 mg de support). Les flacons sont laissés sans agitation à température ambiante pendant 3 h. Les billes sont filtrées. Les échantillons sont analysés par dosages enzymatiques.

I. 5. 2. Extraction en présence de SO₂

Méthode de dosage de Franz Paul : Le SO₂ est entraîné sous forme de gaz après avoir été libéré en milieu fortement acide (H₃PO₄). Il est ensuite fixé et oxydé par barbotage dans une solution de H₂O₂ contenant quelques gouttes de réactif de Tashiro (mélange de rouge de méthyle et bleu de méthylène) : la solution est violette. L'acide sulfurique formé est dosé par une solution de soude de concentration connue jusqu'à équivalence : la solution devient verte.

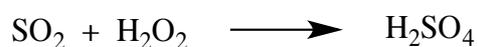
- Dosage du SO₂ total

L'échantillon (20 mL) est introduit dans un ballon monocol. De l'acide phosphorique H₃PO₄ (5mL) est ajouté. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 20 min permettant la libération du SO₂ combiné. L'acidification de l'échantillon permet de libérer le SO₂ sous forme gazeux.



Dans un barboteur, de l'eau oxygénée (3 mL) est introduite. Du rouge de méthyle (3-4 gouttes) et du bleu de méthylène (1-2 gouttes) sont ajoutés : ce mélange forme le réactif de Tashiro de couleur violette.

A la fin du chauffage, le mélange formé de l'échantillon et de H_3PO_4 est laissé à barboter dans de l'azote pendant 15 min et le SO_2 est entraîné sous forme de gaz dans le H_2O_2 . Il se forme de l'acide sulfurique.



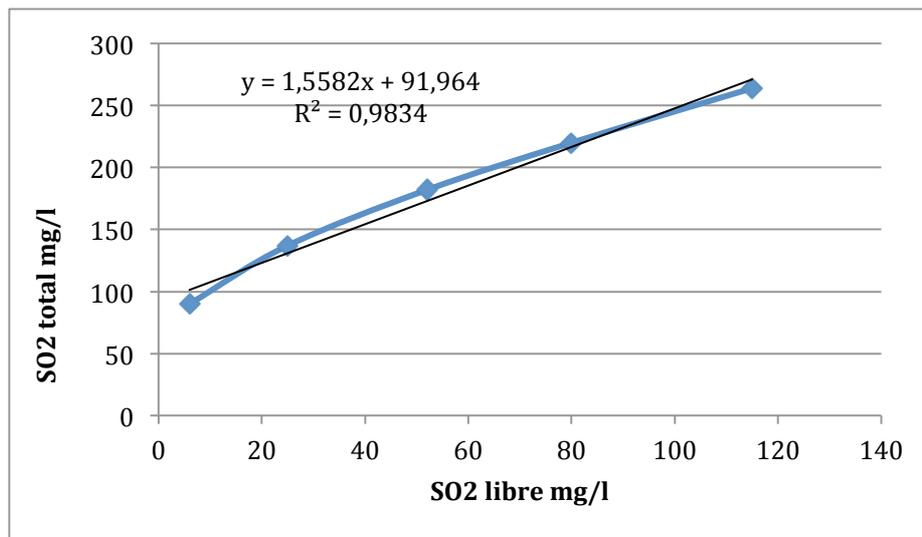
L'acide sulfurique formé est dosé par une solution de soude à 1 mol/L. L'équivalence est observée par un changement de couleur de la solution qui devient verte.

$$\text{SO}_2 \text{ (en mg/L)} = V_{\text{eq}} \times 16$$

- Dosage du SO_2 libre

La procédure est identique sauf qu'on ne chauffe pas le mélange formé de l'échantillon et le H_3PO_4 .

Recherche du TL 50 : la détermination du TL 50 est réalisée par une méthode des ajouts dosés. Une solution modèle contenant les trois dérivés carbonylés est préparée. Cinq ajouts croissants et connus de SO_2 sont effectués sur des fractions de 100 mL de cette solution modèle. Les teneurs en SO_2 libre et total sont dosés par la méthode de Franz Paul. On trace la courbe de la teneur en SO_2 total en fonction de la teneur en SO_2 libre (**Graphique 21**).



Graphique 21 : Evolution de la concentration en SO_2 total en fonction de la concentration en SO_2 libre permettant de définir le pouvoir de combinaison d'une solution

Pour une concentration en SO_2 total de 180 mg/L (2,80 mmol/L), il restera environ 50 mg/L (0,78 mmol/L) de SO_2 sous forme libre.

Préparation des solutions modèles sulfitées: Aux solutions modèles préparées précédemment est ajouté 3,06 mL d'une solution aqueuse de SO_2 à 6 % massique ce qui permet d'obtenir une solution contenant 2,80 mmol/L (180 mg/L) de SO_2 .

Les extractions sont réalisées dans les mêmes conditions que précédemment.

II. 5. 3. Extraction des dérivés carbonylés dans les vins

Procédure générale : Dans une fraction de 100 mL de vin est ajoutée la quantité de support nécessaire pour l'extraction (250 mg ou 500 mg de support). Les flacons sont laissés sans agitation à température ambiante pendant 24 h

Les solutions sont ensuite filtrées pour éliminer les supports du milieu. Les concentrations en SO_2 libre et total sont mesurées par la méthode de flux continu.

La concentration en éthanal, en acide pyruvique et en acide 2-oxoglutarique restant est déterminée par dosages enzymatiques.

I. 6. Recyclage des résines sulfoniques

Régénération de la résine sulfonique : les supports récupérés après extraction (1 g) sont placés dans une solution d'hypochlorite de sodium (100 mL) et laissés sous agitation pendant 30 min. Il se produit un puissant dégagement gazeux d'azote. A la fin de la réaction, les résines sont filtrées puis lavées abondamment à l'eau avant d'être lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Les billes sont ensuite séchées à l'étuve à 50 ° C pendant 24 h.

Quantité d'acide sulfonique dosé : 4,2 mmol/g

Fonctionnalisation du support recyclé : Le support recyclé (10 g ; 42 mmol SO₃H), est placé dans un réacteur pour micro-ondes. L'hydrate d'hydrazine (3,8 mL ; 95 mmol) et de l'eau (16,2 mL) sont ajoutés. Le pH est ajusté à 11 par ajout d'une solution de NaOH. Le mélange réactionnel est irradié sous micro-ondes pendant 26 minutes à 62 °C à 250 Watts. A la fin de la réaction, les billes sont filtrées puis rincées abondamment à l'eau. Elles sont ensuite lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) puis séchées à l'étuve.

Quantité d'hydrazine dosée : 3,67 mmol/g

I. 7. Dosage de l'hydrazine sous forme de traces

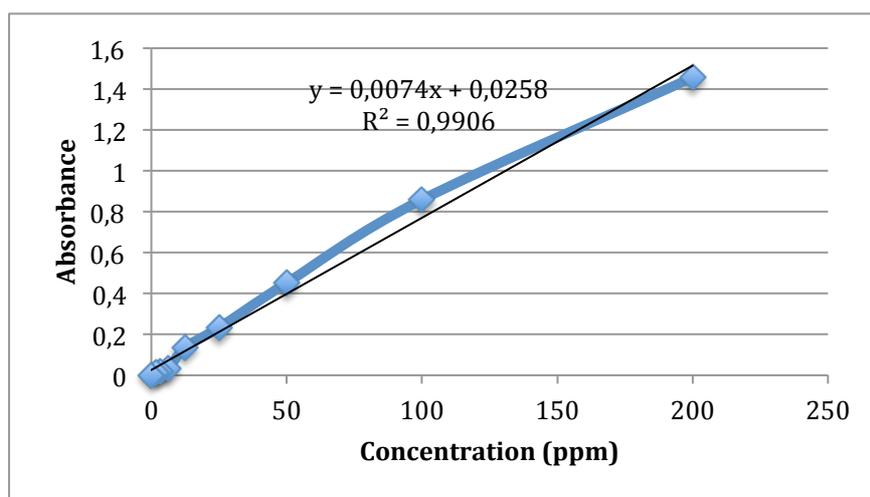
Préparation des réactifs : une solution de néocuproïne à 30 mmol/L est préparée par dissolution de néocuproïne (163 mg) dans de l'éthanol (25 mL). Une solution aqueuse de cuivre est préparée par dissolution de nitrate de cuivre Cu(NO₃)₂.H₂O (604 mg) dans de l'eau (25 mL). Une solution de bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) est préparée par dissolution de CTAB (911 mg) dans de l'eau (25 mL). Une solution tampon à pH = 5 est préparée en mélangeant une solution de soude à 1 mol/L (50 mL) avec une solution d'acide acétique à 1 mol/L (50 mL).

Procédure de dosage : dans une cuve à spectroscopie de 1 mL d'épaisseur on introduit 0,56 mL d'eau, 0,40 mL de solution de néocuproïne, 0,40 mL de solution de cuivre, 0,40 mL de

Partie expérimentale

solution tampon et 0,26 mL de solution de CTAB. Ce mélange servira à faire le blanc dans le spectrophotomètre. Une fois le blanc réalisé, une cuve contenant les mêmes composés est préparée. On ajoute ensuite 25 μ L d'échantillon et on mesure l'absorbance à 450 nm.

Courbe d'étalonnage : une courbe d'étalonnage $A(450) = f(\text{Concentration hydrazine})$ a été établie à partir de solutions contenant entre 0 et 200 ppm d'hydrazine pour lesquelles les absorbances ont été mesurées (**Graphique 22**).



Graphique 22 : Evolution de l'absorbance en fonction de la concentration en hydrazine

A partir de cette courbe d'absorbance, il est possible de déterminer la concentration en hydrazine des échantillons dans la gamme 0-200 ppm.

II. Nouveaux supports d'extractions

II. 1. Fonctionnalisation des billes de polystyrène-co-DVB

Les billes commerciales de polystyrène sont préalablement lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol pendant 48 h.

-Nitration

L'acide nitrique (500 mL) est placé dans un réacteur cylindrique à double enveloppe en verre de 1,5 L muni d'un fritté dans le fond, de chicanes verticales et d'une agitation mécanique puis refroidi à 5 °C. Les billes de polystyrènes (35 g) sont alors ajoutées et on ajoute de l'acide sulfurique (100 mL). Le mélange réactionnel acide est donc HNO₃/H₂SO₄/H₂O (54/17/29 % massique). La suspension est alors agitée à 150 tr/min à 5 °C pendant 3 h, puis à 40 °C pendant 1 h. A la fin de la réaction, l'acide est filtré et les billes de polymères sont lavées abondamment à l'eau (2 agitations de 20 min avec 1 L d'eau) puis à l'éthanol (1 agitation de 20 min avec 1 L d'éthanol). Les billes sont ensuite séchées à l'étuve à 50 °C pour donner des billes orangées.

Analyse élémentaire : 4,4 % d'azote

- Réduction en amine

L'éthanol (800 mL) est placé dans un réacteur à double enveloppe en verre de 1,5 L muni d'un fritté dans le fond, de chicanes verticales et d'une agitation mécanique à température ambiante. Le chlorure d'étain II anhydre (83 g, 436 mmol) est ajouté puis les billes de poly(p-nitrostyrène) (29 g) sont ajoutées. Une solution d'acide chlorhydrique à 37 % (10 mL) est aussi additionnée. La suspension est alors agitée à 150 tr/min à 60 °C pendant 24 h. A la fin de la réaction, le liquide est filtré et les billes de polymère sont lavées abondamment avec une solution de soude (2 mol/L) pour éliminer les résidus stanniques. Les billes sont ensuite lavées à l'eau (1 agitation avec 1 L d'eau) puis à l'éthanol (1 agitation avec 1 L d'éthanol). Les billes sont enfin séchées à l'étuve à 50 °C pour donner des billes jaunâtres.

Analyse élémentaire : 3,9 % d'azote

-Réduction en hydrazine

De l'acide chlorhydrique concentré (800 mL) est introduit dans un réacteur cylindrique de 1,5 L à double enveloppe muni d'un fritté dans le fond, de chicanes verticales et d'une agitation mécanique. Le réacteur est refroidi à 5 °C. On ajoute alors les billes de poly(p-aminostyrène) (30 g). Une solution de nitrite de sodium (300 mmol) est additionnée au goutte à goutte. Une solution de chlorure d'étain II (430 mmol) est ensuite ajoutée au goutte à goutte à 5 °C sous agitation. La suspension est alors agitée à 150 tr/min à 5 °C pendant 5 h. Le liquide est filtré et les billes de polymères sont lavées abondamment avec une solution de soude (2 mol/L) pour éliminer les résidus stanniques. Les billes sont ensuite lavées à l'eau puis à l'éthanol. Les billes sont enfin séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Analyse élémentaire : 2,5 % d'azote

II. 2. Fonctionnalisation de la résine Merrifield

Le support (10 g, 17 mmol Cl) est placé dans un ballon bicol de 500 mL. De l'éthanol (250 mL) et de l'hydrate d'hydrazine (6,8 mL ; 170 mmol) sont ajoutés. Le montage est mis à chauffer à reflux à 100 °C pendant 1 h 30. A la fin de la réaction, les billes sont filtrées et rincées abondamment à l'eau avant d'être lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Les billes sont enfin séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Analyse élémentaire : 1,2 % d'azote

II. 3. Fonctionnalisation des billes de poly(bromostyrène)

Le support (10 g, 30 mmol Br) est placé dans un réacteur pour micro-ondes. De l'iodure de cuivre CuI (5,73 g ; 30 mmol), du phosphate de sodium Na₃PO₄ (9,84 g ; 60 mmol), de l'hydrate d'hydrazine (4,8 mL ; 120 mmol) et du polyéthylène glycol (9,6 mL) sont ajoutés. Le mélange est irradié sous micro-ondes pendant 3 h à 120 °C et 250 Watts.

A la fin de la réaction, les billes sont filtrées, abondamment rincées à l'eau puis lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Les billes sont enfin séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Analyse élémentaire : 2,3 % d'azote

II. 4. Copolymérisation en suspension du méthacrylate de glycidyle

II. 4. 1. Polymérisation en suspension

Procédure générale :

1) Préparation de la phase aqueuse

Dans un bécher de 1 L muni d'une agitation magnétique, de l'eau est introduite. On ajoute de la gomme d'acacia. Le mélange est chauffé à 50 °C et agité jusqu'à dissolution complète de la gomme d'acacia. Du NaCl est ajouté puis le mélange est versé dans le réacteur de polymérisation en suspension qui est chauffé à 80 °C.

2) Préparation de la phase organique

Dans un bécher de 1 L, on place du cyclohexanol, du méthacrylate de glycidyle, de l'éthylène glycol de diméthacrylate, du divinylbenzène et de l'AIBN. Le mélange est placé sous agitation magnétique afin de dissoudre du mieux possible l'AIBN. Une fois l'AIBN dissous, on ajoute rapidement la phase organique à la phase aqueuse présente dans le réacteur de polymérisation.

3) Polymérisation en suspension

La suspension des deux phases précédentes est alors agitée et chauffée à 80°C pendant 3 h. Après refroidissement, les billes de polymère obtenues sont lavées abondamment à l'eau puis lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Elles sont ensuite séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Partie expérimentale

p(GMA)1 :

Dans un réacteur à double enveloppe relié à un réfrigérant à eau et muni d'une agitation mécanique (300 tr/min), une solution aqueuse, composée d'eau (400 mL), de gomme d'acacia (20 g) et de NaCl (40 g) est introduite. La température du réacteur est ajustée à 80 °C. La phase organique composée de méthacrylate de glycidyle (22 g), de diméthacrylate d'éthylène glycol (15 g), de divinyl benzène (6 g), de cyclohexanol (90 g) et d'AIBN (1 g) est ajoutée à la phase aqueuse. Le mélange est maintenu sous agitation à 80 °C pendant 3 h. A la fin de la réaction, les billes sont filtrées puis abondamment rincées à l'eau. Les billes sont alors lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Après lavage, les billes sont séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Rendement de polymérisation = 89 %

p(GMA)2:

Dans un réacteur à double enveloppe relié à un réfrigérant à eau et muni d'une agitation mécanique (130 tr/min), une solution aqueuse composée d'eau (650 mL), de gomme d'acacia (30 g) et de NaCl (65 g) est introduite. La température du réacteur est ajustée à 80 °C. La phase organique composée de méthacrylate de glycidyle (22 g), de diméthacrylate d'éthylène glycol (15 g), de divinyl benzène (6 g), de cyclohexanol (90 g) et d'AIBN (1 g) est ajoutée à la phase aqueuse. Le mélange est maintenu sous agitation à 80 °C pendant 3 h. A la fin de la réaction, les billes obtenues sont filtrées puis rincées abondamment à l'eau. Les billes sont lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Les billes sont séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Rendement de polymérisation = 90 %

p(GMA)3

Dans un réacteur à double enveloppe relié à un réfrigérant à eau et muni d'une agitation mécanique (200 tr/min), une solution aqueuse composée d'eau (650 mL), de gomme d'acacia (30 g) et de NaCl (65 g) est introduite. La température du réacteur est ajustée à 80 °C. La phase organique composée de méthacrylate de glycidyle (15 g), de diméthacrylate d'éthylène

Partie expérimentale

glycol (15 g), de divinyl benzène (6 g), de nonane (45 g) et d'AIBN (1 g) est ajoutée à la phase aqueuse. Le mélange est maintenu sous agitation à 80 °C pendant 3 h. A la fin de la réaction, les billes sont filtrées et rincées abondamment à l'eau. Les billes sont lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Les billes sont séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Rendement de polymérisation = 61 %

P(GMA)₄

Dans un réacteur à double enveloppe relié à un réfrigérant à eau et muni d'une agitation mécanique (180 tr/min), une solution aqueuse, composée d'eau (650 mL), de gomme d'acacia (30 g) et de NaCl (65 g) est introduite. La température du réacteur est ajustée à 80 °C. La phase organique composée de méthacrylate de glycidyle (15 g), de diméthacrylate d'éthylène glycol (15 g), de divinyl benzène (6 g), de toluène (90 g) et d'AIBN (1 g) est ajoutée. Le mélange est maintenu sous agitation à 80 °C pendant 3 h. A la fin de la réaction, les billes sont filtrées puis rincées abondamment à l'eau. Les billes sont lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Les billes sont séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

Rendement de polymérisation = 85 %

II. 4. 2. Dosage du taux d'époxyde

Préparation du témoin

- 5 mL de 1,4 dioxane purifié sont placés dans un ballon de 25 mL
- on ajoute 5 mL d'une solution à 0,2 mol/L d'acide chlorhydrique dans du dioxane
- on laisse sous agitation à température ambiante pendant 3 h
- les 10 mL de solution sont dosés par une solution à 0,1 mol/L de soude NaOH dissous dans du méthanol en présence de phénolphtaléine qui joue le rôle d'indicateur coloré. Le volume équivalent (noté V_0) est déterminé.

Préparation de l'échantillon

- un échantillon de 0,15 g de support est placé dans 5 mL de 1,4 dioxane purifié et on laisse les résines gonfler pendant 3 h.
- au bout de 3 h, on ajoute à l'échantillon 5 mL de la solution HCl-dioxane et on laisse sous agitation à température ambiante pendant 3h
- l'échantillon est ensuite filtré et le filtrat est dosé par une solution à 0,1 mol/L de soude dans du méthanol en présence de phénolphtaléine qui joue le rôle d'indicateur coloré. Le volume équivalent de l'échantillon (noté V_1) est déterminé.

Le dosage du témoin permet de déterminer le nombre de moles exact d'HCl initialement présent. Le dosage du filtrat en présence de l'échantillon permet de doser le nombre de moles d'HCl n'ayant pas réagi avec le support. La différence entre les deux mesures permet de déterminer le nombre de moles d'époxydes ayant réagi avec l'acide chlorhydrique.

$$\text{Taux d'époxyde (mmol/g)} = \frac{(V_0 - V_1) \times [\text{NaOH}]}{m_{\text{échantillon}}}$$

II. 4. 3. Fonctionnalisation du support avec l'hydrazine

Les supports polymères précédemment obtenus (30 g, 108 mmol d'époxyde), après lavage et séchage sont placés dans un ballon de 250 mL. L'hydrate d'hydrazine (70 mL, 1750 mmol) est ajouté et le mélange est chauffé à reflux pendant 3 h avec une agitation magnétique. Au bout de 3 h, le mélange est laissé à refroidir. Les billes sont filtrées et abondamment rincées à l'eau avant d'être lavées au soxhlet avec un mélange eau-éthanol (50 : 50) pendant 48 h. Les résines sont ensuite séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

II. 4. 4. Dosage du taux d'hydrazine fixée sur le support

Les billes fonctionnalisées (0,5 g) sont placées dans un erlenmeyer de 250 mL. Une solution composée d'acide chlorhydrique à 37 % (40 mL) dilué dans de l'eau distillée (60 mL) est ajoutée. Du chloroforme (5 mL) est ajouté et forme des gouttelettes bien visibles dans la

solution. La solution ainsi obtenue est dosée par une solution de iodure de potassium à 0,1 mol/L. Lorsqu'on ajoute les premières gouttes de iodure de potassium, la solution devient jaune et les gouttelettes de chloroforme se colorent en violet. L'équivalence est atteinte lorsque les gouttelettes deviennent incolores.

III. Dosages par méthodes enzymatiques

Calcul et expression des résultats

Les dosages des dérivés carbonylés restant en solution sont effectués en utilisant des dosages enzymatiques. La formule générale pour le calcul des concentrations des composés restants est la suivante :

$$C = (V * M * f) / (\epsilon * d * v * 1000) * \Delta A$$

Où

V : volume des tests en mL

v : volume de l'essai en mL

M : masse molaire de la substance à doser

d : épaisseur de la cuve en cm

f : facteur de dilution

ϵ : coefficient d'absorption molaire de la NADH ou NADPH : $6,31 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 340 nm

ΔA : différence d'absorbance entre la référence et l'échantillon

Les dosages ont été effectués dans des cuves de 1 cm d'épaisseur à une température comprise entre 18 et 25 °C. Les mesures d'absorbance ont été effectuées à 340 nm.

III. 1. Dosage enzymatique de l'éthanal

Principe : En présence d'aldéhyde déshydrogénase, l'éthanal est oxydé en acide acétique par le NAD^+ . La quantité de NADH formée durant la réaction est proportionnelle à la quantité d'acétaldéhyde. La réduction du NAD^+ est mesurée par l'augmentation de l'absorbance du NADH à la longueur d'onde de 340 nm.

Mode opératoire : Les dosages ont été effectués en utilisant les produits fournis par Boehringer Mannheim. Le tampon consiste en une solution de diphosphate de potassium, d'un pH de l'ordre de 9,0, dans laquelle des pastilles de NAD^+ , d'approximativement 0,8 mg, sont dissoutes. Les proportions sont de 1 pastille pour 3 mL de solution. A partir d'acétaldéhyde déshydrogénase (ALDH) lyophilisée, une préparation à 6,6 U/mL est faite par dissolution dans de l'eau milliQ. On procède comme indiqué sur le **Tableau 74**.

Introduire dans les cuves	Témoin (mL)	Echantillon (mL)
Solution tampon	1,500	1,500
Echantillon	-	0,100
Eau	0,100	-
Agiter et lire l'absorbance après 3min (A1)		
Déclencher la réaction par addition de :		
Préparation de ALDH	0,025	0,025
Agiter et lire l'absorbance après 3 à 5min (A2)		

Tableau 74 : Mode opératoire mis en œuvre pour le dosage de l'éthanal

III. 2. Dosage enzymatique de l'acide pyruvique

Principe : En présence de L-lactate déshydrogénase, le pyruvate est réduit en L-lactate par le NADH. La quantité de NAD⁺ formée durant la réaction est proportionnelle à la quantité de pyruvate. L'oxydation du NADH est mesurée par la diminution de son absorbance à la longueur d'onde de 340 nm.

Mode opératoire : Les dosages ont été effectués en utilisant les produits fournis par Sigma-Aldrich. La solution de Trizma est une solution de tris(hydroxyméthyl)aminométhane à 1,5 mol/L utilisée sans dilution. La solution de Trizma + NADH est obtenue par dilution de NADH dans le Trizma à une concentration de 0,45 mg/mL. La préparation de Lactate déshydrogénase (LD) en suspension dans une solution de sulfate d'ammonium d'approximativement 1000U/mL. On procède comme indiqué sur le **Tableau 75**.

Introduire dans les cuves	Témoin (mL)	Echantillon (mL)
Eau	1,500	0,750
Echantillon	-	0,250
Solution de Trizma	-	0,250
Agiter		
Solution de Trizma + NADH	-	0,250
Agiter et lire l'absorbance (A1)		
Déclencher la réaction par addition de		
L-Lactic dehydrogenase	-	0,025
Agiter et lire l'absorbance après 3 à 5 min (A2)		

Tableau 75 : Mode opératoire mis en œuvre pour le dosage de l'acide pyruvique

III. 3. Dosage enzymatique de l'acide 2-oxoglutarique

Principe : En présence de glutamate déshydrogénase, le 2-oxoglutarate réagit avec le NADH et les ions NH_4^+ pour former du L-glutamate et du NAD^+ . La quantité de NAD^+ formée durant la réaction est proportionnelle à la quantité de 2-oxoglutarate. L'oxydation du NADH est mesurée par la diminution de son absorbance à la longueur d'onde de 340 nm.

Mode opératoire :

Les dosages ont été effectués en utilisant les produits fournis par R-Biopharm. Le tampon, dans l'eau milliQ, est composé de 58,4 g de di-sodium hydrogénophosphate dodécahydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12 \text{ H}_2\text{O}$), de 3,8 g de potassium dihydrogénophosphate (KH_2PO_4), de 11,5 g de phosphate monoammonique ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), de 7,4 g d'acide éthylènediaminetétraacétique ($\text{EDTA Na}_2\text{H}_2$) pour un litre de solution ajusté à un pH de 7,6 par addition d'une solution de soude concentrée (3mol/L). La solution de NADH présente une concentration de 2,5 g/L et est préparée par dilution dans une solution aqueuse de NaHCO_3 à 10 g/L. La préparation de glutamate déshydrogénase (GLDH) est de concentration de 6 mg/mL dans une solution aqueuse de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 2 mol/L. On procède comme indiqué sur le **Tableau 76**.

Introduire dans les cuves	Témoin (mL)	Echantillon (mL)
Tampon	2,000	2,000
Solution NADH	0,050	0,050
Echantillon	-	0,050
Eau	0,100	0,050
Agiter et lire l'absorbance après 3 min (A)		
Déclencher la réaction par addition de		
Préparation de GLDH	0,050	0,050
Agiter et lire l'absorbance après 10 min (A1)		

Tableau 76 : Mode opératoire mis en œuvre pour le dosage de l'acide 2-oxoglutarique

IV. Détermination du dioxyde de soufre : Méthode de flux continu

Principe du dosage du SO₂ libre par flux continu :

L'échantillon est segmenté par des bulles d'azote afin d'éviter l'oxygénation du SO₂ par l'oxygène de l'air. L'échantillon est acidifié par de l'acide sulfurique à 10 %, on amène ainsi le pH aux alentours de 1,5.

La solution est ensuite dialysée puis diluée avec de l'acide sulfurique à 1 %.

L'échantillon ainsi traité reçoit le formaldéhyde puis la pararosaniline.

Ce réactif est spécifique du SO₂ et donne en présence de formaldéhyde une coloration rose à 45 °C. On mesure ainsi la densité optique à 560 nm.

Incertitude de mesure : 15 %

Principe du dosage du SO₂ total par flux continu :

L'échantillon est segmenté par des bulles d'azote afin d'éviter l'oxygénation du SO₂ par l'oxygène de l'air. On ajoute une solution d'hydroxyde de sodium à 2 mol/L pour libérer le SO₂ combiné, puis de l'acide sulfurique pour maintenir le SO₂ sous sa forme libre.

La solution est ensuite dialysée puis diluée avec de l'acide sulfurique à 1 %.

L'échantillon ainsi traité reçoit le formaldéhyde puis la pararosaniline.

Ce réactif est spécifique du SO₂ et donne en présence de formaldéhyde une coloration rose à 45 °C. On mesure ainsi la densité optique à 560 nm.

Incertitude de mesure : 8 %

Bibliographie

- [1] J. Ribéreau-Gayon, E. Peynaud, P. Ribéreau-Gayon, *Traité d'oenologie : Sciences et techniques du vin. Tome IV: Clarification et stabilisation. Matériels et installations*. Paris: Bordas, 1977.
- [2] P. Ribéreau-Gayon, D. Dubourdieu, B. Donèche, A. Lonvaud, *Traité d'oenologie Tome I – Microbiologie du vin. Vinifications*, 6^e édition. Paris: Dunod, 2012.
- [3] V. Millet, A. Lonvaud-Funel, “Incidence du dioxyde de soufre sur les micro-organismes pendant l'élevage des vins rouges,” *Journal des sciences et techniques de la tonnellerie*, 27–45, 1999.
- [4] J. Ribéreau-Gayon, E. Peynaud, P. Ribéreau-Gayon, and P. Sudraud, *Traité d'oenologie : Sciences et techniques du vin, tome 3 : Vinification. Transformation du vin*, 3^e édition. Paris: Dunod, 1976.
- [5] M. Ripper, “Die schweflige säure im weine und deren bestimmung,” *J. Prakt. Chem*, 428–473, 1892.
- [6] L. Pasteur, *Études sur le vin: ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir*. Paris: Imprimerie impériale, 1866.
- [7] J. Blouin, *Le SO₂ en oenologie*. Paris: Dunod, 2014.
- [8] M. Ingram, “The germicidal effects of free and combined sulphur dioxide,” *J. Soc. Chem. Ind.*, **67**, 18–21, 1948.
- [9] H.-J. Rehm, H. Wittmann, “Beitrag zur Kenntnis der antimikrobiellen Wirkung der schwefligen Säure,” *Z. Für Lebensm.-Unters. Forsch.*, **120**, 465–478, 1963.
- [10] M. Dubernet, “Recherches sur la tyrosinase de *Vitis vinifera* et la laccase de *Botrytis cinerea* : Applications technologiques,” Université de Bordeaux II, Bordeaux, 1974.
- [11] C. S. Ough, E. A. Crowell, “Use of sulfur dioxide in winemaking,” *J. Food Sci.*, **52**, 386–388, 1987.
- [12] J. Bakker, P. Bridle, S. J. Bellworthy, C. Garcia-Viguera, H. P. Reader, S. J. Watkins, “Effect of sulphur dioxide and must extraction on colour, phenolic composition and sensory quality of red table wine,” *J. Sci. Food Agric.*, **78**, 297–307, 1998.
- [13] B. Zoecklein, K. C. Fugelsang, B. H. Gump, F. S. Nury, *Wine Analysis and Production*. New-York: Springer, 1995.

- [14] J.-C. Barbe, “La combinaison du dioxyde de soufre dans les moûts et vins issus de raisins botrytisés : rôle des bactéries acétiques,” Université de Bordeaux II, Bordeaux, 2000.
- [15] B. J. Macri, P. Markakis, “Transport and toxicity of sulphur dioxide in *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus*,” *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 21–29, 1974.
- [16] B. Divol, M. du Toit, E. Duckitt, “Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **95**, 601–613, 2012.
- [17] O. Rahn, J. E. Conn, “Effect of Increase in Acidity on Antiseptic Efficiency,” *Ind. Eng. Chem*, 185–187, 1944.
- [18] L. Usseglio-Tomasset, *Chimie oenologique*, 2ème édition française revue et augmentée. Paris: Tec et doc, 1995.
- [19] J.-C. Barbe, G. de Revel, A. Joyeux, A. Lonvaud-Funel, A. Bertrand, “Role of Carbonyl Compounds in SO₂ Binding Phenomena in Musts and Wines from Botrytized Grapes,” *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 3413–3419, 2000.
- [20] J. Blouin, “Contribution à l’étude de des combinaisons de l’anydride sulfureux dans les moûts et dans les vins,” Université de Bordeaux II, Bordeaux, 1966.
- [21] B. Rankine, K. Pocock, “Influence of yeast strain on binding of sulphur dioxide in wines, and on its formation during fermentation,” *J. Sc. Food. Agr.*, 104–109, 1969.
- [22] V. Grignard, G. Dupont, R. Locquin, *Traité de chimie organique. Tome VII, Aldéhydes - Cétones - Enols - Polycétones - Aldéhydes cétoniques*. Paris: Masson, 1950.
- [23] C. S. Ough, L. Were, “Sulfur dioxide and sulfites,” in *Antimicrobials in food, third Edition*, CRC Press, 2005.
- [24] P. Romano, G. Suzzi, “Sulfur dioxide and wine microorganisms,” in *Wine Microbiology and Biotechnology*, Chur: Harwood Academic Publishers, 1993.
- [25] F. Paul, *Mitt. Klosterneuburg Rebe u. Wein*. 1958.
- [26] OIV, “Recueil des méthodes internationales d’analyse des vins et des moûts,” Paris, 2011.
- [27] C. Bonder, R. Silvestre, *Pratiquer les contrôles analytiques en oenologie*. Dijon: Educagri éd., 2005.
- [28] F. Falcone, K. C. Maxwell, “Simultaneous continuous flow analysis of free and total sulfur dioxide in wine,” *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1355–1357, 1992.
- [29] J. M. Cano Pavon, J. Giménez Plaza, E. Vereda Alonso, A. Garcia de Torres, M. E. Urena Pozo, A. Rivero Molina, “The determination of sulfur dioxide in wines. A review,” *Quimica analitica*, 235–241, 1997.

- [30] H. A. Huitt, J. P. Lodge, "Equilibrium Effects in Determination of Sulfur Dioxide with Pararosaniline and Formaldehyde.," *Anal. Chem.*, **36**, 1305–1308, 1964.
- [31] R. V. Nauman, P. W. West, F. Tron, G. C. Gaeke, "A Spectrophotometric Study of the Schiff Reaction as Applied to the Quantitative Determination of Sulfur Dioxide," *Anal. Chem.*, **32**, 1307–1311, 1960.
- [32] L. C. Schroeter, *Sulfur Dioxide Applications in Foods, Beverages, and Pharmaceuticals*. Burlington: Elsevier Science, 1966.
- [33] M. Bisson, J. Bureau, F. Del Gratta, J.-P. Lefevre, A. Levilain, "Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques-Dioxyde de soufre," 2011.
- [34] M. T. Kleinman, "Sulfur Dioxide and Exercise: Relationships between Response and Absorption in Upper Airways," *J. Air Pollut. Control Assoc.*, **34**, 32–37, 1984.
- [35] F. A. Patty, *Industrial hygiene and toxicology vol II*. N.Y.: Wiley, 1963.
- [36] D. Sheppard, J. Epstein, R. A. Bethel, J. A. Nadel, H. A. Boushey, "Tolerance to sulfur dioxide-induced bronchoconstriction in subjects with asthma," *Environmental research*, 412–419, 1983.
- [37] J. M. Vaquer, "L'anhydride sulfureux en oenologie, l'étude de sa toxicité et les méthodes proposées pour en réduire les doses," Université de Montpellier, Montpellier.
- [38] W. Wucherpfennig, "A propos de la toxicité de l'acide sulfureux," 1979.
- [39] M. Blasi, "Extraction liquide-solide sélective en milieu hydroalcoolique : application à la réduction du pouvoir de combinaison des vins liquoreux," Université de Bordeaux I, Bordeaux, 2005.
- [40] L. Nykänen, H. Suomalainen, *Aroma of Beer, Wine and Distilled Alcoholic Beverages*. Berlin: Springer Science & Business media, 1983.
- [41] E. Longo, J. B. Velazquez, C. Sieiro, J. Cansado, P. Calo, T. G. Villa, "Production of higher alcohols, ethyl acetate, acetaldehyde and other compounds by 14 *Saccharomyces cerevisiae* wine strains isolated from the same region (Salnés, NW Spain)," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **8**, 539–541, 1992.
- [42] A. Morata, M. C. Gómez-Cordovés, B. Colomo, J. A. Suárez, "Pyruvic Acid and Acetaldehyde Production by Different Strains of *Saccharomyces cerevisiae* : Relationship with Vitisin A and B Formation in Red Wines," *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7402–7409, 2003.
- [43] K. P. C. Vollhardt, P. Depovere, N. E. Schore, *Traité de chimie organique*. Bruxelles: De Boeck, 2009.
- [44] S. Patai and J. Zabicky, *The Chemistry of the carbonyl group*. Interscience Publishers, 1966.

- [45] K. P. C. Vollhardt and N. E. Schore, *Traité de chimie organique*. Bruxelles: De Boeck, 2004.
- [46] H. H. Monfared, O. Pouralimardan, C. Janiak, “Synthesis and spectral characterization of hydrazone Schiff bases derived from 2, 4-dinitrophenylhydrazine. Crystal structure of salicylaldehyde-2, 4-dinitrophenylhydrazone,” *Z. Naturforschung B-J. Chem. Sci.*, **62**, 717–720, 2007.
- [47] H. Kamogawa, A. Kanzawa, M. Kadoya, T. Naito, M. Nanasawa, “Conversions of carbonyl compounds via their polymeric sulfonylhydrazones into alkenes, alkanes, and nitriles,” *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 762–765, 1983.
- [48] J. Pelmont, *Enzymes: catalyseurs du monde vivant*. Presses universitaires de Grenoble, 1995.
- [49] J. Wallach, *Les Enzymes*. Paris: Nathan, 1997.
- [50] D. Voet, J. G. Voet, *Biochimie*. Bruxelles: De Boeck, 2005.
- [51] E. Fischer, “Synthesen in der Zuckergruppe II,” *Berichte Dtsch. Chem. Ges.*, **27**, 3189–3232, 1894.
- [52] S. A. Kuby, *Enzyme catalysis, kinetics, and substrate binding*. Boca Raton: CRC Press, 1991.
- [53] D. Cobessi, F. Tête-Favier, S. Marchal, G. Branlant, A. Aubry, “Structural and biochemical investigations of the catalytic mechanism of an NADP-dependent aldehyde dehydrogenase from *Streptococcus mutans*,” *J. Mol. Biol.*, **300**, 141–152, 2000.
- [54] G. Izaguirre, R. Pietruszko, S. Cho, A. D. MacKerell Jr, “Human aldehyde dehydrogenase catalytic activity and structural interactions with coenzyme analogs,” *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **19**, 429–447, 2001.
- [55] J. Hempel, J. Perozich, T. Chapman, J. Rose, J. S. Boesch, Z.-J. Liu, R. Lindahl, B.-C. Wang, “Aldehyde Dehydrogenase Catalytic Mechanism,” in *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism 7*, Boston, MA: Springer US, 1999, 53–59.
- [56] M. Sinnott, *Comprehensive biological catalysis: a mechanistic reference volume III. Radical reactions and oxidation/reduction*. San Diego: Academic Press, 1998.
- [57] E. Fischer, “Ueber aromatische Hydrazinverbindungen,” *Berichte Dtsch. Chem. Ges.*, **8**, 589–594, 1875.
- [58] J. E. Troyan, “Properties, production, and uses of hydrazine,” *Ind. Eng. Chem.*, **45**, 2608–2612, 1953.
- [59] M. G. Fontana, “Hydrazine for corrosion inhibition,” *Ind. Eng. Chem.*, **47**, 81–82, 1955.

- [60] M. N. H. Moussa, F. I. M. Taha, M. M. A. Gouda, G. M. Singab, "The effect of some hydrazine derivatives on the corrosion of Al in HCl solution," *Corros. Sci.*, **16**, 379–385, 1976.
- [61] D. Lednicer, *The Organic Chemistry of Drug Synthesis*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2008.
- [62] M. Boudellal, U. Bossel, *La pile à combustible l'hydrogène et ses applications*. Paris: Dunod : L'Usine nouvelle, 2012.
- [63] L. F. Audrieth and B. A. Ogg, *The chemistry of hydrazine*. New York: J. Wiley and Sons, 1951.
- [64] B. Cames, "Étude de l'oxydation électrochimique directe et indirecte de l'hydrazine en milieu acide nitrique sur platine," rapport CEA-R-5779, 1997.
- [65] P. Cohen, *The ASME handbook on water technology for thermal power systems*. New York, NY: American Society of Mechanical Engineers, 1989.
- [66] D. F. Shriver, P. W. Atkins, *Chimie inorganique*. Bruxelles: De Boeck Université, 2001.
- [67] M. Hornby, J. Peach, *Les fondements de la chimie organique*. Paris: DeBoeck Université, 1997.
- [68] G. D. Byrkit, G. A. Michalek, "Hydrazine in organic chemistry," *Ind. Eng. Chem.*, **42**, 1862–1875, 1950.
- [69] A. Saha, R. Kumar, R. Kumar, C. Devakumar, "Development and Assessment of Green Synthesis of Hydrazides.," *Indian J Chem*, **49B**, 526–531, 2010.
- [70] L. Friedman, R. L. Litle, W. R. Reichle, "p-Toluenesulfonylhydrazide," *Org. Synth.*, **40**, 93, 1960.
- [71] D. Saidane, "Mise au point d'un procédé de réduction du pouvoir de combinaison des vins à base de biopolymères issus de la biomasse," Bordeaux, 2011.
- [72] G. Frederick Smith, C. Wilcox, "New Indicators for Iodate-Iodine Monochloride Andrews Analytical Procedures," *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **14**, 49–53, 1942.
- [73] I. M. Kolthoff, "The volumetric analysis of hydrazine by the iodine, bromate, iodate and permanganate methods," *J. Am. Chem. Soc.*, **46**, 2009–2016, 1924.
- [74] L. W. Andrews, "Titrations with potassium iodate.," *J. Am. Chem. Soc.*, **25**, 756–761, 1903.
- [75] M. A. Karimi, M. Mazloum-Ardakani, M. H. Mashhadizadeh, F. Banifateme, "Simultaneous kinetic spectrophotometric determination of hydrazine and isoniazid using H-point standard addition method and partial least squares regression in micellar media," *Croat.*

Chem. Acta, **82**, 729–738, 2009.

[76] A. Safavi, H. Abdollahi, F. Sedaghatpour, M. R. Hormozi Nezhad, “Indirect simultaneous kinetic determination of semicarbazide and hydrazine in micellar media by H-point standard addition method,” *Talanta*, **59**, 147–153, 2003.

[77] H. E. Malone, *The determination of hydrazino-hydrazide groups*, 1st. ed. Oxford, New York: Pergamon Press, 1970.

[78] G. Choudhary, H. Hansen, “Human health perspective of environmental exposure to hydrazines: A review,” *Chemosphere*, **37**, 801–843, 1998.

[79] D. Jargot, B. La Rocca, S. Malard, A. Simonnard, S. Robert, “Fiche toxicologique hydrazine, hydrate d’hydrazine et solutions aqueuses,” 2013.

[80] E. H. Vernot, J. D. MacEwen, R. H. Bruner, C. C. Haun, E. R. Kinkead, D. E. Prentice, A. Hall, R. E. Schmidt, R. L. Eason, G. B. Hubbard, “Long-term inhalation toxicity of hydrazine,” *Toxicol. Sci.*, **5**, 1050–1064, 1985.

[81] L. Humbert, “Extraction en phase solide (SPE) : théorie et applications,” *Ann. Toxicol. Anal.*, **22**, 61–68, 2010.

[82] F. Chapuis, V. Pichon, M.-C. Hennion, “Méthode de préconcentration par extraction en phase solide: principe et application aux industries environnementales et pétrolières,” *Oil Gas Sci. Technol.*, **60**, 899–912, 2005.

[83] K. S. W. Sing, “Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984),” *Pure Appl. Chem.*, **57**, 1985.

[84] R. Corriu, T. A. Nguyen, *Chimie moléculaire, sol-gel et nanomatériaux*. Palaiseaux: Ecole polytechnique, 2008.

[85] P. Hodge, D. C. Sherrington, *Polymer-supported reactions in organic synthesis*. Chichester ; New York: J. Wiley, 1980.

[86] N. Joe Maeji, R. M. Valerio, A. M. Bray, R. A. Campbell, H. M. Geysen, “Grafted supports used with the multipin method of peptide synthesis,” *React. Polym.*, **22**, 203–212, 1994.

[87] J. S. Fritz, *Analytical solid-phase extraction*. New York: Wiley-VCH, 1999.

[88] F. Z. Dörwald, *Organic synthesis on solid phase: supports, linkers, reactions*. Weinheim ; New York: Wiley-VCH, 2000.

[89] R. B. Merrifield, “Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide,” *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2149–2154, 1963.

- [90] T. Balakrishnan, W. T. Ford, "Particle size control in suspension copolymerization of styrene, chloromethylstyrene, and divinylbenzene," *J. Appl. Polym. Sci.*, **27**, 133–138, 1982.
- [91] G. G. Odian, E. Franta, *La Polymérisation: principes et applications*. Paris: Polytechnica, 1994.
- [92] G. Bayramoglu, E. Yavuz, B. F. Senkal, and M. Y. Arica, "Glycidyl methacrylate grafted on p(VBC) beads by SI-ATRP technique: Modified with hydrazine as a salt resistance ligand for adsorption of invertase," *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, **345**, 127–134, 2009.
- [93] A. Akelah, D. C. Sherrington, "Application of functionalized polymers in organic synthesis," *Chem. Rev.*, **81**, 557–587, 1981.
- [94] M. J. Farrall, J. M. J. Frechet, "Bromination and lithiation: two important steps in the functionalization of polystyrene resins," *J. Org. Chem.*, **41**, 3877–3882, 1976.
- [95] L. M. Dowling, G. R. Stark, "Sequential degradation of peptides with an insoluble Edman reagent," *Biochemistry (Mosc.)*, **8**, 4728–4734, 1969.
- [96] J. R. Millar, D. G. Smith, W. E. Marr, T. R. E. Kressman, "Solvent-modified polymer networks. Part II. Effect of structure on cation-exchange kinetics in sulphonated styrene-divinylbenzene copolymers," *J. Chem. Soc. Resumed*, 2779, 1963.
- [97] R. A. Beauvais, S. D. Alexandratos, "Polymer-supported reagents for the selective complexation of metal ions: an overview," *React. Funct. Polym.*, **36**, 113–123, 1998.
- [98] R. Arshady, "Suspension, emulsion, and dispersion polymerization: A methodological survey," *Colloid Polym. Sci.*, **270**, 717–732, 1992.
- [99] S. Rouif, "Modifications physico-chimiques des polymères par ionisation," *Techniques de l'ingénieur. Plastiques et composites*, 2008.
- [100] M. J. Whitcombe, I. Chianella, L. Larcombe, S. A. Piletsky, J. Noble, R. Porter, A. Horgan, "The rational development of molecularly imprinted polymer-based sensors for protein detection," *Chem Soc Rev*, **40**, 1547–1571, 2011.
- [101] M. Kralik, M. Hronec, V. Jorik, S. Lora, G. Palma, M. Zecca, A. Biffis, B. Corain, "Microporous poly-(N,N-dimethyl-acrylamide)-(1-methacryloyl-ethylene-2-sulphonate) (N,N'-methylene-bis-acrylamide) resins as hydrophilic supports for metal catalysts," *J. Mol. Catal. Chem.*, **101**, 143–152, 1995.
- [102] V. A. Davankov, M. Tsyurupa, *Hypercrosslinked polymeric networks and adsorbing materials synthesis, properties, structure, and applications*. Amsterdam; Oxford: Elsevier, 2011.
- [103] O. Okay, "Macroporous copolymer networks," *Prog. Polym. Sci.*, **25**, 711–779, 2000.

- [104] A. Guyot, M. Bartholin, "Design and properties of polymers as materials for fine chemistry," *Prog. Polym. Sci.*, **8**, 277–331, 1982.
- [105] M. Malacria, J.-P. Goddard, C. Ollivier, G. Gouhier, "Chimie supportée sur phase solide," *Techniques de l'ingénieur*, 2008.
- [106] D. C. Sherrington, "Preparation, structure and morphology of polymer supports," *Chem. Commun.*, **21**, 2275–2286, 1998.
- [107] M. H. Mohamed, L. D. Wilson, "Porous Copolymer Resins: Tuning Pore Structure and Surface Area with Non Reactive Porogens," *Nanomaterials*, **2**, 163–186, 2012.
- [108] S. Howdle, "Reversibly collapsible macroporous poly(styrene-divinylbenzene) resins," *Polymer*, **41**, 7273–7277, 2000.
- [109] N. J. K. Simpson., *Solid-phase extraction: principles, techniques, and applications*. New York: Marcel Dekker, 2000.
- [110] D. L. Flynn, J. Z. Crich, R. V. Devraj, S. L. Hockerman, J. J. Parlow, M. S. South, S. Woodard, "Chemical library purification strategies based on principles of complementary molecular reactivity and molecular recognition," *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 4874–4881, 1997.
- [111] S. V. Ley, I. R. Baxendale, R. N. Bream, P. S. Jackson, A. G. Leach, D. A. Longbottom, M. Nesi, J. S. Scott, R. I. Storer, S. J. Taylor, "Multi-step organic synthesis using solid-supported reagents and scavengers: a new paradigm in chemical library generation," *J. Chem. Soc.*, **23**, 3815–4195, 2000.
- [112] D. W. Emerson, R. R. Emerson, S. C. Joshi, E. M. Sorensen, J. E. Turek, "Polymer-bound sulfonylhydrazine functionality. Preparation, characterization, and reactions of copoly (styrene-divinylbenzenesulfonylhydrazine)," *J. Org. Chem.*, **44**, 4634–4640, 1979.
- [113] "RÈGLEMENT (CE) No 606/2009 DE LA COMMISSION du 10 juillet 2009 fixant certaines modalités d'application du règlement (CE) no 479/2008 du Conseil en ce qui concerne les catégories de produits de la vigne, les pratiques oenologiques et les restrictions qui s'y appliquent," *Journal officiel de l'Union Européenne*, 2009.
- [114] E. J. Zaganariaris, *Ion exchange resins and synthetic adsorbents in food processing*. 2011.
- [115] F. G. Helfferich, *Ion exchange*, Dover ed. New York: Dover Publications, 1995.
- [116] W. Rieman, H. F. Walton, R. Belcher, H. Freiser, *Ion Exchange in Analytical Chemistry International Series of Monographs in Analytical Chemistry*. Burlington: Elsevier Science, 1970.
- [117] N. Biçak, B. Filiz Şenkal, "Polystyrene sulfonic acid esters as alkylating agents: preparation of unsymmetrical secondary amines," *React. Funct. Polym.*, **29**, 123–128, 1996.

- [118] D. W. Emerson, S. O. Ifalade, "Improved Preparation of Macroporous, chlorosulfonated Poly(styrene-co-divinylbenzene) and Conversion to Sulfonamides and Sulfonylhydrazines," *Ind. Eng. Chem. Res.*, **44**, 7045–7048, Aug. 2005.
- [119] H. Kamogawa, T. Kitamura, "Polymer reagents derived from sodium p-styrenesulfonate: N-methyl-N-nitroso-p-styrenesulfonamide and p-styrenesulfonic acid polymers.," *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, 189–192, 1989.
- [120] G. H. Daub, T. W. Whaley, "Synthesis of 4-(2-hydroxyethylsulfonyl)-1-naphthalenesulfonamide," *J. Org. Chem.*, **43**, 4659–4662, 1978.
- [121] M. Nüchter, B. Ondruschka, W. Bonrath, A. Gum, "Microwave assisted synthesis-a critical technology overview," *Green Chem.*, **6**, 128, 2004.
- [122] R. J. Giguere, T. L. Bray, S. M. Duncan, G. Majetich, "Application of commercial microwave ovens to organic synthesis.," *Tetrahedron Lett.*, **27**, 4945–4948, 1986.
- [123] G. Majetich and R. Hicks, "Applications of microwave-accelerated organic synthesis," *Radiat. Phys. Chem.*, vol. 45, no. 4, pp. 567–579, Apr. 1995.
- [124] A. de la Hoz, A. Diaz-Ortiz, A. Moreno, "Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects," *Chem. Soc. Rev.*, **34**, 164, 2005.
- [125] V. Polshettiwar, R. S. Varma, "Aqueous microwave chemistry: a clean and green synthetic tool for rapid drug discovery," *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 1546, 2008.
- [126] R. S. Varma, "Solvent-free organic syntheses using supported reagents and microwave irradiation," *Green Chem.*, **1**, 43–55, 1999.
- [127] R. Kunin, *Element of ion exchange*. Reinhold publishing corporation, 1960.
- [128] W. Spendley, G. R. Hext, F. R. Himsforth, "Sequential Application of Simplex Designs in Optimisation and Evolutionary Operation," *Technometrics*, **4**, 441–461, 1962.
- [129] P. A. Felse, T. Panda, "Self-directing optimization of parameters for extracellular chitinase production by *Trichoderma harzianum* in batch mode," *Process Biochem.*, **34**, 563–566, 1999.
- [130] E. Natividad, J. C. Díez, L. A. Angurel, J. M. Andrés, "Successful Application of Simplex Methods to the Optimization of Textured Superconducting Ceramics," *J. Am. Ceram. Soc.*, **87**, 1216–1221, 2004.
- [131] S. L. Morgan, S. N. Deming, "Simplex optimization of analytical chemical methods," *Anal. Chem.*, **46**, 1170–1181, 1974.
- [132] F. L. Chubb, J. T. Edward, S. C. Wong, "Simplex optimization of yields in the Bucherer-Bergs reaction," *J. Org. Chem.*, **45**, 2315–2320, 1980.

- [133] C. L. Shavers, M. L. Parsons, S. N. Deming, "Simplex optimization of chemical systems," *J. Chem. Educ.*, **56**, 307, 1979.
- [134] C. D. Hendrix, "Through the response surface with test tube and pipe wrench," *Chemtech*, 488, 1980.
- [135] E. Kielhöfer, G. Würdig, "Die unbekannte Weinbestand teile gebundene schweiflige Säure (Rest SO₂) und ihre Bedeutung für den Wein," *Weinberg u. Keller*, 313–328, 1960.
- [136] V. Polshettiwar, R. S. Varma, "Polystyrene sulfonic acid catalyzed greener synthesis of hydrazones in aqueous medium using microwaves," *Tetrahedron Lett.*, **48**, 5649–5652, 2007.
- [137] T.-L. Ho, C. M. Wong, "Regeneration of ketones from tosylhydrazones," *J. Org. Chem.*, **39**, 3453–3454, 1974.
- [138] S. Amlathe, V. K. Gupta, "Spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine in polluted water," *The Analyst*, **113**, 1481, 1988.
- [139] M. Yang, H. L. Li, "Determination of trace hydrazine by differential pulse voltammetry using magnetic microspheres," *Talanta*, **55**, 479–484, 2001.
- [140] J. A. Timbrell, J. M. Wright, C. M. Smith, "Determination of hydrazine metabolites of isoniazid in human urine by gas chromatography," *J. Chromatogr. A*, **138**, 165–172, 1977.
- [141] J. Lv, Y. Huang, Z. Zhang, "Determination of hydrazine by flow injection with chemiluminescence," *Anal. Lett.*, **34**, 1323–1330, 2001.
- [142] R. L. Prior, X. Wu, K. Schaich, "Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements," *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 4290–4302, 2005.
- [143] M. L. Berins, *Plastics Engineering Handbook Of The Society Of The Plastics Industry*, 5. ed., New York, NY: Chapman & Hall, 1996.
- [144] N. Baumann, H.-J. Fachmann, R. Jotter, A. Kubny, N. Baumann, *Sulfur-Nitrogen Compounds: Compounds with Sulfur of Oxidation Number II*. Berlin: Springer, 1994.
- [145] B. Erb, J.-P. Kucma, S. Mourey, F. Struber, "Polymer-Supported Triazines as Smart Reagents for the Alkylation of Carboxylic Acids," *Chem. - Eur. J.*, **9**, 2582–2588, 2003.
- [146] S. Boussetta, C. Branger, A. Margailan, J.-L. Boudenne, B. Coulomb, "Salicylic acid and derivatives anchored on poly(styrene-co-divinylbenzene) resin and membrane via a diazo bridge: Synthesis, characterisation and application to metal extraction," *React. Funct. Polym.*, **68**, 775–786, 2008.

- [147] J. D. White, K. M. Yager, T. Yakura, "Synthetic Studies of the Pyrroloquinoline Nucleus of the Makaluvamine Alkaloids. Synthesis of the Topoisomerase II Inhibitor Makaluvamine D," *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1831–1838, 1994.
- [148] K. W. Pepper, H. M. Paisley, M. A. Young, "Properties of ion-exchange resins in relation to their structure. Part VI. Anion-exchange resins derived from styrene-divinylbenzene copolymers," *J. Chem. Soc.*, 4097–4105, 1953.
- [149] S. S. Labana, *Chemistry and properties of crosslinked polymers*. New York: Academic Press, 1977.
- [150] J. Ou, X. Zhu, L. Wang, C. Xu, F. Liu, L. Ren, X. Xu, Y. Wang, C. Rui, S. Liu, "Synthesis and Bioactivity Study of 2-Acylamino-Substituted *N*'-Benzylbenzohydrazide Derivatives," *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 10942–10951, 2012.
- [151] B. A. Bunin, *The combinatorial index*. San Diego: Academic Press, 1998.
- [152] F. Ullmann, "Ueber eine neue Bildungsweise von Diphenylaminderivaten," *Berichte Dtsch. Chem. Ges.*, **36**, 2382–2384, 1903.
- [153] I. Goldberg, "Ueber Phenylirungen bei Gegenwart von Kupfer als Katalysator," *Berichte Dtsch. Chem. Ges.*, **39**, 1691–1692, 1906.
- [154] J. Chen, Y. Zhang, W. Hao, R. Zhang, F. Yi, "Efficient synthesis of aryl hydrazines using copper-catalyzed cross-coupling of aryl halides with hydrazine in PEG-400," *Tetrahedron*, **69**, 613–617, 2013.
- [155] K. Weissermel, H.-J. Arpe, P. Kalck, B. Zahner, *Chimie organique industrielle*. Paris: DeBoeck Université, 2000.
- [156] Crenot, *La Chimie des Acryliques*. Nathan-Communication, 1987.
- [157] J. L. de la Fuente, P. F. Cañamero, M. Fernández-García, "Synthesis and characterization of glycidyl methacrylate/butyl acrylate copolymers obtained at a low temperature by atom transfer radical polymerization," *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.*, **44**, 1807–1816, 2006.
- [158] H. Kuroda, Z. Osawa, "Synthesis and characterization of macroporous glycidyl methacrylate-divinylbenzene copolymer beads," *Eur. Polym. J.*, **31**, 57–62, 1995.
- [159] P. J. Dowding, J. W. Goodwin, B. Vincent, "The characterization of porous styrene-glycidyl methacrylate copolymer beads prepared by suspension polymerization," *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, **145**, 263–270, 1998.
- [160] J. P. Kennedy, T. Kelen, F. Tüdös, "Analysis of the linear methods for determining copolymerization reactivity ratios. II. A critical reexamination of cationic monomer reactivity ratios," *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **13**, 2277–2289, 1975.

- [161] K. Matyjaszewski, Ed., *Cationic polymerizations: mechanisms, synthesis, and applications*. New York: Marcel Dekker, 1996.
- [162] B. F. Senkal, F. Bildik, E. Yavuz, A. Sarac, "Preparation of poly(glycidyl methacrylate) grafted sulfonamide based polystyrene resin with tertiary amine for the removal of dye from water," *React. Funct. Polym.*, **67**, 1471–1477, 2007.
- [163] G. Bayramoglu, E. Yavuz, B. F. Senkal, and M. Y. Arica, "Glycidyl methacrylate grafted on p(VBC) beads by SI-ATRP technique: Modified with hydrazine as a salt resistance ligand for adsorption of invertase," *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, **345**, 127–134, 2009.
- [164] E. Yavuz, G. Bayramoğlu, B. F. Şenkal, and M. Y. Arica, "Poly(glycidylmethacrylate) brushes generated on poly(VBC) beads by SI-ATRP technique: Hydrazine and amino groups functionalized for invertase adsorption and purification," *J. Chromatogr. B*, **877**, 1479–1486, 2009.
- [165] F. Švec, H. Hrudková, D. Horák, and J. Kálal, "Reactive polymers. VIII. Reaction of the epoxide groups of the copolymer glycidyl methacrylate–ethylenedimethacrylate with aliphatic amino compounds," *Angew. Makromol. Chem.*, **63**, 23–36, 1977.
- [166] V. Šmigol and F. Švec, "Synthesis and properties of uniform beads based on macroporous copolymer glycidyl methacrylate–ethylene dimethacrylate: A way to improve separation media for HPLC," *J. Appl. Polym. Sci.*, **46**, 1439–1448, 1992.
- [167] P. M. van Berkel, D. C. Sherrington, "Improved synthesis of ion-exchange resins through copolymerization of ligand-modified monomers," *Polymer*, **37**, 1431–1435, 1996.
- [168] S. Sufang, M. Xuejie, "Preparation of Macroporous Poly (GMA-DVB) and Its Application to Immobilize [beta]-Galactosidase from *Aspergillus Oryzae*," *Int. Res. J. Pure Appl. Chem.*, **4**, 234, 2014.
- [169] G. Bayramoglu, A. U. Senel, and M. Y. Arica, "Effect of spacer-arm and Cu(II) ions on performance of l-histidine immobilized on poly(GMA/MMA) beads as an affinity ligand for separation and purification of IgG," *Sep. Purif. Technol.*, **50**, 229–239, 2006.
- [170] J. Hildebrand, R. L. Scott, *The solubility of Nonelectrolytes*, 3rd Ed. New York, 1950.
- [171] H. Deleuze, X. Schultze, D. C. Sherrington, "Porosity analysis of some poly(styrene/divinylbenzene)beads by nitrogen sorption and mercury intrusion porosimetry," *Polym. Bull.*, **44**, 179–189, 2000.
- [172] A. F. M. Barton, *CRC handbook of polymer-liquid interaction parameters and solubility parameters*. Boca Raton: CRC Press, 1990.

- [173] J. E. Mark, Ed., *Physical properties of polymers handbook*, 2. ed. New York, NY: Springer, 2007.
- [174] D. Saidane, J.-C. Barbe, M. Birot, H. Deleuze, "Preparation of functionalized lignin beads from oak wood alkaline lignin," *J. Appl. Polym. Sci.*, **128**, 424–429, 2013.
- [175] N. Miletić, R. Rohandi, Z. Vuković, A. Nastasović, K. Loos, "Surface modification of macroporous poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) resins for improved *Candida antarctica* lipase B immobilization," *React. Funct. Polym.*, **69**, 68–75, 2009.
- [176] N. Bicak, Sana Sungur, N. Tan, F. Bensebaa, Y. Deslandes, "Metalization of polymer beads via polymer-supported hydrazines as reducing agents," *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.*, **40**, 748–754, 2002.
- [177] S. Brunauer, P. H. Emmett, E. Teller, "Adsorption of Gases in Multimolecular Layers," *J. Am. Chem. Soc.*, **60**, 309–319, 1938.
- [178] J. A. Kling, H. J. Ploehn, "Synthesis and characterization of epoxy-functional polystyrene particles," *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.*, **33**, 1107–1118, 1995.
- [179] G. B. L. Smith, T. G. Wheat, "Identification of Aldehydes and Ketones: By Estimation of Hydrazine Nitrogen According to the Jamieson Method," *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **11**, 200–201, 1939.
- [180] J. S. Budkuley, "Thermoanalytical properties of hydrazinium sulfite monohydrate," *Asian J. Chem.*, 818–822, 1992.
- [181] T. C. Waddington, *Non aqueous solvent system*. New York: Academic Press, 1965.
- [182] J. M. Kanamueller, "Sulfur dioxide adducts of some disubstituted hydrazines," *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **33**, 4051–4055, 1971.
- [183] F. Ephraim, E. Lasocki, "Über Nitro-sulfamid und Sulfohydrazid," *Berichte Dtsch. Chem. Ges.*, **44**, 395–403, 1911.
- [184] A. Michaelis, J. Ruhl, "Ueber anorganische Derivate des Phenylhydrazins," *Berichte Dtsch. Chem. Ges.*, **23**, 474–477, 1890.

Développement d'un procédé de réduction des sulfites dans les vins

Résumé : Le SO₂ est un additif utilisé en œnologie pour ses propriétés antiseptiques, antioxydantes et antioxydasiques. Il est introduit dans les vins en grandes quantités en raison de son fort pouvoir de combinaison avec les dérivés carbonylés, ce qui limite son activité. Le problème est que les teneurs maximales de SO₂ autorisées ne permettent pas toujours une protection suffisante du vin contre les phénomènes de refermentation. L'objectif principal de ce projet était de réduire la concentration en dioxyde de soufre dans les vins en éliminant une partie des dérivés carbonylés responsables de la combinaison bisulfite. La méthode retenue a été l'extraction sur phase solide (SPE). Elle fait intervenir des interactions entre une phase liquide et un support solide poreux modifié avec une fonction extractive. Les travaux antérieurs ont permis de sélectionner l'hydrazine et la sulfonylhydrazine comme agents d'extraction. Ces fonctions ont été fixées sur des supports polymères organiques selon deux voies : la fonctionnalisation de résines sulfoniques commerciales et la copolymérisation en suspension de méthacrylate de glycidyle suivie d'une fonctionnalisation. Les supports solides obtenus ont été caractérisés afin de valider la fonctionnalisation. Ils ont ensuite été testés sur des solutions modèles du vin et le procédé a prouvé son efficacité. La présence de contaminants dans les solutions a été recherchée avant d'appliquer la méthode sur du vin.

Mots clés : dioxyde de soufre, dérivés carbonylés, pouvoir de combinaison, extraction sur phase solide, contaminants

Development of a method to reduce sulfites in wine

Abstract : SO₂ is an additive used in enology for its antiseptic, antioxidant and antioxydasic properties. It is introduced in wines in large quantities due to its high binding power with carbonyl compounds, which limits its activity. The maximum SO₂ content authorized is not always enough to avoid fermentative phenomena during wine storage. The main objective of this project was to develop a method to reduce the sulfur dioxide concentration in wines by eliminating some of carbonyl compounds responsible for the SO₂ binding. The method used was solid-phase extraction (SPE). It involves interactions between a liquid and a porous solid support modified with an extractive function. Previous work allowed to select hydrazine and sulfonylhydrazine as extractive reagents. These functions were fixed on organic polymer supports according to two routes : functionalization of commercial sulfonic resins and suspension copolymerization of glycidyl methacrylate (followed by the functionalization). The solid supports obtained were characterized in order to validate the functionalization. Then selective extractions were executed on model solutions. The diminution of carbonyl compounds concentration and SO₂ content was showed by those experiments. The presence of contaminants in the solutions was investigated before applying the method to wine.

Key-words : sulfur dioxide, carbonyl compounds, binding power, solid-phase extraction, contaminants

