

APPLICATIONS COURANTES DE LA MICRO-EXTRACTION EN PHASE SOLIDE (SPME) À L'ANALYSE DES VINS

Introduction

La Micro Extraction en Phase Solide (SPME) est une technique de concentration ne nécessitant pas de solvant et où la préparation de l'échantillon est très souvent limitée à son prélèvement. Elle repose sur la partition des composés d'intérêt entre la matrice de l'échantillon et une phase polymérique spécifique supportée par une fibre en silice.

Introduite au début des années 1990 par Pawliszin, cette technique permet le traitement d'échantillons de toutes natures (solide, liquide, gazeux) et trouve des applications très nombreuses dans des domaines aussi variés que l'environnement, la pharmacie ou l'agroalimentaire. Enfin, la technique SPME peut être utilisée aussi bien en chromatographie gazeuse que liquide.

Utilisation de la SPME pour l'analyse des vins

Caractérisation des saveurs du vin

Le bouquet d'un vin résulte de l'association de nombreux composés organiques volatils et semi-volatils correspondant à différentes saveurs. Parmi ces composés, les norisoprénoides et les esters éthyliques représentent la plus grande partie. Tous ces composés peuvent être extraits du vin par partage liquide-liquide à l'aide de solvants usuels. Cette technique très longue pose des problèmes de sécurité. De plus, l'étape de concentration par évaporation peut conduire à la perte d'analytes présents en très faible quantité dans le vin et pouvant avoir un impact organoleptique tout à fait significatif.

L'utilisation de la SPME permet de contourner ces obstacles en limitant la préparation de l'échantillon à son prélèvement. La mise au point analytique consiste principalement dans l'optimisation des conditions d'extraction (température, ajout de sel, type de fibre, durée d'adsorption...) et des paramètres chromatographiques.

Le **Laboratoire Exact** conduit des études dans le but de différencier des vins d'origines identiques, mais présentant des différences significatives à la dégustation. La caractérisation des saveurs présentées dans les échantillons de vin est conduite par SPME en couplage avec la GC-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse). L'adsorption des composés volatils est réalisée à l'aide d'une fibre mixte PDMS-Divinylbenzène-Carboxen sur des échantillons chauffés entre 40 et 65 °C et pour des durées de 30 à 60 minutes. L'identification des composés adsorbés est effectuée par spectrométrie de masse et par passage de solutions étalons authentiques.

Défauts organoleptiques du vin

De nombreux défauts peuvent altérer la qualité organoleptique des vins. Ces défauts sont associés à la présence de molécules spécifiques odorantes. Celles-ci se caractérisent par un seuil de perception correspondant à la valeur minimale du stimulus sensoriel nécessaire à l'éveil d'une sensation. Cette sensation peut ne pas être identifiée. Le **tableau 1** regroupe les défauts les plus fréquemment observés et pour lesquels les composés odorants sont clairement identifiés.

• Sensation « moisi »

La sensation de type « moisi » est très souvent associée à la présence dans les vins de chloroanisoles ou de 2,4,6-tribromoanisole. Les anisoles tri-halogénés peuvent présenter des seuils de perception extrêmement bas (jusqu'à 0,5 ng/litre) selon le type de vin. De ce fait, les techniques d'extraction

Tableau 1: Principaux défauts sensoriels du vin.

Défauts	Marqueurs chimiques	Seuil de perception dans les vins
Moisi	Chloroanisoles, 2,4,6-tribromoanisole	À partir de 2 ng/litre
Terreux	Géosmine	À partir de 30 ng/litre
	2-méthyl isobornéol	3 ng/litre (eau)
	3-isopropyl-2-méthoxy-pyrazine	2 ng/litre
Animal, fumé	Phénols volatils	420 µg/litre

classiques peuvent s'avérer insuffisamment sensibles pour caractériser ce type de défaut.

Le **Laboratoire Exact**, pionnier dans l'utilisation de cette technique, travaille depuis 1998 sur l'extraction des haloanisoles par SPME. L'extraction est réalisée par une fibre PDMS de 100 µm d'épaisseur sur des échantillons saturés en chlorure de sodium et chauffés à 40 °C. L'analyse est réalisée par GC-MS avec un étalon interne deutéré (le 2,4,6-trichloroanisole-d5) ou par GC-ECD (détecteur à capture d'électrons). La méthode permet d'atteindre des sensibilités comprises entre 0,2 et 0,5 ng/litre.

• Sensation « terreux »

La géosmine est, à ce jour, le marqueur chimique le plus souvent attribué à ce type de défaut. D'autres molécules peuvent être associées à ce type de sensation, telle que le 3-isopropyl-2-méthoxy-pyrazine ou le 2-méthyl isobornéol.

Le 3-isopropyl-2-méthoxy-pyrazine fut identifié dans des vins rouges avec un seuil de perception d'environ 2 ng/litre. Le 2-méthyl isobornéol est responsable des sensations « terreux » dans des eaux contaminées. La molécule étant instable en milieu acide, sa présence dans les vins reste pour l'instant hypothétique. L'analyse de tous ces composés est réalisée au **Laboratoire Exact** par SPME en couplage avec la GC-MS.

Dans le cas de la géosmine, l'extraction est réalisée sur une fibre PDMS de 100 μm d'épaisseur à 40 °C pendant 30 minutes. La quantification est basée sur une standardisation interne par rapport à la géosmine deutérée et se caractérise par une sensibilité de 5 ng/litre dans les vins.

Le 3-isopropyl-2-méthoxy-pyrazine, ainsi que les pyrazines analogues (éthyl-méthoxy-pyrazine et isobutyl methoxy pyrazine), sont également analysées au **Laboratoire Exact** par SPME en couplage avec la GC-MS, mais sur des fibres beaucoup plus adsorbantes, telles que le DVB-Carboxen-PDMS.

• Sensation « animale, fumé »

Le 4-éthyl phénol et le 4-éthyl gâïacol sont responsables dans les vins rouges des notes de type « animale » ou « fumé ». Le seuil de perception de ces composés se situe aux alentours de 400 μg /litre. De ce fait, les techniques classiques d'extraction par partage liquide-liquide sont suffisamment sensibles.

L'utilisation de la SPME est cependant plus intéressante. Elle permet de réduire le temps de traitement des échantillons et de limiter les pertes de ces composés extrêmement volatils. Nous réalisons l'analyse de ces composés au laboratoire par adsorption sur une fibre à base de polyacrylate, qui est bien adaptée pour ce type de composés polaires. L'analyse chromatographique peut ensuite être indifféremment conduite par GC-MS ou par GC-FID (détecteur à ionisation de flamme). Par extension, nous appliquons également cette méthode à l'analyse d'autres dérivés phénols volatils, tels que le 4-vinyl-phénol, 4-vinyl-gâïacol, veratrole, 4,5-dichloro-gâïacol...

Contaminants chimiques

Les résidus de produits phytosanitaires sont les principaux contaminants chimiques recherchés dans les vins. Les méthodes d'analyses les plus courantes reposent en général sur une étape de concentration sur cartouche SPE, suivie

d'une éventuelle dérivation chimique, ayant pour but de faciliter l'analyse chromatographique.

La technique SPME s'est surtout développée dans le secteur de l'environnement et notamment dans le cas des analyses d'eau, qui ont servi de base au développement de méthodes d'analyse de pesticides dans les vins.

Les pesticides sont souvent caractérisés par un poids moléculaire élevé et une tension de vapeur faible. De ce fait, l'extraction par SPME nécessite des conditions plus drastiques, que dans le cas des saveurs.

Le chauffage des échantillons au-dessus de 50 °C peut suffire pour certains composés. Dans d'autres cas, l'immersion de la fibre dans le liquide à analyser est parfois la seule issue pour atteindre une sensibilité suffisante. Enfin, le choix de la fibre a également une influence non négligeable. Les fibres mixtes (PDMS-DVB, PDMS-Carboxen-DVB) s'avèrent souvent plus adaptées que les fibres simples (PDMS, polyacrylate).

À titre d'exemple, l'analyse de produits anti-botrytis cyprodinil et fludioxonil peut être conduite dans les vins par SPME couplée à la GC-MS. L'extraction est conduite en mode immersion sur une fibre composite PDMS-Carboxen-DVB. Avec des limites de détection comprises entre 100 et 200 ng/litre.

Conclusions

Nous avons ici fait un tour d'horizon des applications de la Micro Extraction en Phase Solide au domaine du vin et utilisées en routine au **Laboratoire Exact**. La suppression de l'utilisation de solvants et la réduction du temps de préparation des échantillons constituent des avantages considérables sur les techniques classiques.

Michel Dumoulin & Stéphanie Barthas

Laboratoire Exact - Mâcon - France

www.labo-exact.com