

La traque des arômes de champignon frais

Mise au point de méthodes d'analyse au Laboratoire Exact

Michel Dumoulin¹, Stéphanie Barthas¹, Jean-Michel Riboulet²

¹ Laboratoire Exact - Mâcon - France.

² CEVAQOE - Toulouse - France.

Introduction

De nombreux composés organiques, présents à de très faibles concentrations, peuvent modifier de manière considérable les qualités organoleptiques d'un vin. Ces dernières années, de nombreux travaux de recherches ont été entrepris pour déterminer, entre autre, l'origine et éradiquer les problèmes de goûts « moisi terreux » (GMT) dans les vins (1, 2).

Dans certains vignobles, la présence de géosmine a été corrélée avec l'apparition de ce type de défaut. Par contre, dans d'autres régions viticoles, l'absence de géosmine ne permet pas d'expliquer l'origine des déviations sensorielles observées. D'après les jurys de dégustateurs, ces dernières sont d'ailleurs plus proches d'une perception de type arômes de champignon frais (ACF) que d'une perception GMT. De nombreux composés chimiques peuvent générer dans les denrées alimentaires des déviations sensorielles de type ACF. Des travaux de recherche, menés récemment (3) sur les baies de raisins et le vin, ont notamment permis d'associer ce type de défaut à la présence d'alcools et de cétones insaturées tels que le 1-octène-3-ol, 1-octène-3-one et 1-nonène-3-one. Ces composés présentent des seuils de perception relativement bas dans les vins. Il est donc nécessaire, pour pouvoir en faire l'analyse, de disposer d'une méthode suffisamment sensible et permettant de traiter des échantillons avec des délais de réponse relativement court. Ce type d'analyses présente un double intérêt. Il permet, d'une part, de déterminer, suite à une dégustation, l'origine d'un défaut type ACF dans un vin. D'autre part, il permet de pouvoir contrôler le plus tôt possible, au niveau des

Figure 1: Composés chimiques impliqués dans les déviations sensorielles ACF.

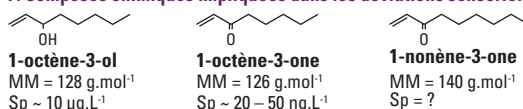


Figure 2: Réaction de dérivation du 1-octène-3-one en présence de PFBHA.

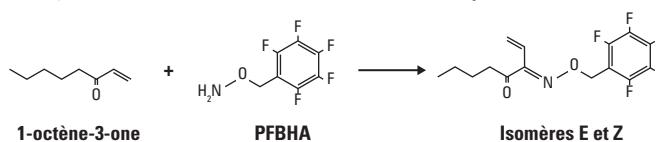


Tableau 1: Quelques données analytiques sur le dosage des composés ACF.

Matrices	1-octène-3-ol (µg.L ⁻¹)	1-octène-3-one (ng.L ⁻¹)	1-nonène-3-one (ng.L ⁻¹)
Raisins « moisis » (10 échantillons)	n.a	1200 à 26000	n.a
Moûts (150 échantillons)	< 1 à 20	100 à 1000	< 20 à 200
Vins (60 échantillons)	< 1 à 5	< 10 à 800	< 20 à 200

(n.a: non analysé)

baies et des moûts, la présence de composés ACF et ajuster, si nécessaire, les protocoles de vinification et d'élevage. Cet article présente les méthodes d'analyses mises au point au laboratoire Exact pour suivre les marqueurs chimiques impliqués dans les problèmes de déviations sensorielles de type ACF du raisin jusque dans le vin.

Les marqueurs chimiques associés aux arômes de champignon frais (ACF)

Trois composés peuvent être à l'origine de déviations de type ACF dans les vins. Il s'agit du 1-octène-3-ol, 1-octène-3-one et 1-nonène-3-one (figure 1). Ce sont des molécules de bas poids moléculaire (MM) et qui se caractérisent par des seuils de perception dans les vins extrêmement faibles (Sp). Le seuil de perception du 1-nonène-3-one n'a pas encore été déterminé à ce jour. Cependant, du fait de sa structure chimique, il est raisonnable de penser que ce seuil soit du même ordre de grandeur que celui du 1-octène-3-one.

Les défis soulevés par le dosage des composés ACF et les solutions analytiques développées au laboratoire Exact

L'analyse des composés organiques à l'état de traces dans les matrices agro-alimentaires est le plus souvent basée sur l'utilisation de techniques d'extraction liquide-liquide, liquide-solide ou de purification sur phase solide (SPE). Bien qu'ayant démontré leurs performances, ces techniques sont longues à mettre en œuvre, nécessitent des quantités importantes de solvants et peuvent présenter une mauvaise répétabilité dans le cas de dosage de composés volatils. Au sein du laboratoire Exact, nous avons pu démontrer que la micro-extraction en phase solide (SPME) développée par J. Pawliszyn (4) est parfaitement adaptée au dosage des composés volatils dans des matrices telles que le vin (5). Utilisée en couplage avec la chromatographie phase gazeuse – spectrométrie de masse (GC/MS), la SPME facilite la préparation des échantillons, permet d'atteindre des sensibilités et des niveaux de répétabilité très élevés. Le principe de la SPME repose sur l'adsorption, en mode « espace de tête » ou « immersion », des composés volatils présents dans l'échantillon à analyser à l'aide d'une fibre recouverte par un polymère adsorbant. Une fois l'adsorption

réalisée, les différents composés fixés sur la fibre sont désorbés dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse. La répartition des composés entre la matrice de l'échantillon, l'espace de tête et l'adsorbant de la fibre est fonction à la fois des paramètres physico-chimiques du milieu (température, pH, force ionique), de la nature du polymère recouvrant la fibre et de la vitesse d'agitation du milieu. C'est cette technique qui a été choisie pour développer des méthodes d'analyses permettant de quantifier les composés ACF dans les vins et les moûts à des teneurs proches de leur seuil de perception.

Les solutions analytiques développées pour le dosage des composés ACF

1-octène-3-ol

De part sa fonction alcool primaire, le 1-octène-3-ol est un composé très polaire. L'extraction efficace de ce composé par SPME dans des échantillons de moûts ou de vins nécessite donc de recourir à des fibres très polaires, telles que les fibres polyacrylate. La méthode optimisée consiste à extraire le 1-octène-3-ol en mode « espace de tête » SPME sur une fibre polyacrylate à 40 °C pendant 30 minutes sous agitation régulière. La dilution de l'échantillon avec de l'eau et l'ajout de chlorure de sodium au milieu d'extraction facilitent le transfert de la molécule vers l'espace de tête et son adsorption sur le polymère de la fibre. L'analyse chromatographique est réalisée sur une colonne polaire de type DB-Wax, permettant une séparation très efficace avec les autres composés polaires adsorbés sur la fibre SPME. La détection se fait par spectrométrie de masse. Cette méthode d'analyse se caractérise par une limite de détection de 1 µg.L⁻¹, une répétabilité de 18 % à 10 µg.L⁻¹ et une linéarité de 2 à 200 µg.L⁻¹. L'analyse est rapide et permet de traiter une trentaine d'échantillons par jour environ.

1-octène-3-one et 1-nonène-3-one

L'analyse directe par SPME-GC-MS

dans les conditions optimisées pour le 1-octène-3-ol n'est pas adaptée pour pouvoir analyser le 1-octène-3-one et le 1-nonène-3-one avec une sensibilité suffisante. En effet, le faible poids moléculaire de ces composés et leur extrême volatilité, ne permettent pas de déterminer leur concentration en dessous de 1 µg.L⁻¹. Les travaux de L. Culleré sur l'analyse de 1-octène-3-one dans les vins (3) d'une part, et ceux de N.Ochiai sur le dosage d'aldéhydes insaturés dans la bière (4) et de B. Cancho sur la détermination d'aldéhydes légers dans l'eau (5) d'autre part, ont permis de développer une méthode efficace de dosage du 1-octène-3-one et du 1-nonène-3-one dans les vins et les moûts. Le principe de cette méthode consiste à faire réagir les fonctions cétones de ces deux composés avec un réactif de dérivation, le pentafluorobenzylhydroxylamine (PFBHA), qui les transforme en dérivés oximes selon la réaction chimique décrite dans la **figure 2**. Les composés ainsi obtenus sont plus lourds et

plus aisément analysés par spectrométrie de masse. Dans la méthode mise en place au laboratoire Exact, la dérivation des cétones est conduite en même temps que l'adsorption SPME. Dans les conditions optimisées, le 1-octène-3-one et le 1-nonène-3-one sont extraits des échantillons de vins ou de moûts en mode « espace de tête » en présence de PFBHA sur un fibre polymérique de type PDMS-Divinylbenzène à 50 °C pendant 1 heure sous agitation régulière. De même, la dilution de l'échantillon avec de l'eau et l'ajout de chlorure de sodium au milieu d'extraction facilitent le transfert des molécules d'intérêt vers l'espace de tête et leur adsorption sur le polymère de la fibre. L'analyse chromatographique est réalisée sur une colonne de faible polarité de type DB-5 MS et la détection se fait par spectrométrie de masse. Cette méthode d'analyse se caractérise par une limite de détection de 10 ng. L⁻¹ pour le 1-octène-3-one et 20 ng. L⁻¹ pour le 1-nonène-3-one. Sa répétabilité est de l'ordre

de 10 à 25 % sur la gamme de linéarité, qui s'étend de 20 à 1000 ng.L⁻¹. L'analyse est également assez rapide, puisqu'elle permet de traiter entre 15 et 20 échantillons par jour.

Quelques données analytiques issues d'observatoires

A titre d'exemple, voici quelques données analytiques qui ont été recueillies au cours d'observatoires réalisés sur 2007 et 2008 sur des matrices raisin, vins tranquilles et vins effervescents (**tableau 1**).

Il est intéressant de noter, que la teneur en 1-octène-3-one diminue très significativement lorsque l'on passe des raisins, aux moûts, puis au vin. L'ensemble des échantillons de moûts considérés présente une teneur en 1-octène-3-one supérieure à son seuil de perception. Enfin, à ce stade des observations, il n'a pas encore été possible de corrélérer les teneurs en 1-nonène-3-one avec les défauts de type ACF.

Conclusions

Les techniques analytiques présentées ici dans le cadre de la détermination de marqueurs spécifiques associés à la problématique des arômes de champignon frais, démontrent une nouvelle fois les potentialités de la micro extraction en phase solide dans l'analyse des composés volatils du vin.

De mise en œuvre aisée et permettant d'atteindre des niveaux de sensibilités très élevés, la technique SPME permet d'offrir aux professionnels de la filière vitivinicole un outil analytique performant permettant de prévoir la formation et de suivre les marqueurs chimiques d'intérêt du raisin jusqu'au vin. ♦

Bibliographie

NDLR: Les références bibliographiques concernant cet article sont disponibles sur simple demande auprès de la Revue des **Œnologues**.

- Par courrier: joindre une enveloppe affranchie, avec les références de l'article

- Sur internet: www.oeno.tm.fr

L'expertise analytique...

Des prestations adaptées aux besoins de la filière vitivinicole
Contrôles qualités bouchons, diagnostic de contamination aérienne, profils aromatiques.




Caractérisation d'arômes et de déviations sensorielles
Oxydation, moisi-terreux, phénolé, champignon frais.

Recherche de contaminants chimiques
Résidus phytosanitaires, mycotoxines, solvants, hydrocarbures,...

... au service de la qualité



69 Rue Lacretelle - 71000 Mâcon
Tél. 33 (0)3 85 20 93 25 Fax 33 (0)3 85 20 93 26
www.labo-exact.com