

Méthodes d'analyses des composés aromatiques fruités connus et étudiés dans les vins

Rémi Guérin-Schneider - ITV France Rhône-Méditerranée

Introduction

L'arôme des vins est classiquement défini comme la résultante de quatre composantes correspondant à autant d'étapes biotechnologiques au cours de la vinification (Drawert et al., 1974 ; Cordonnier, et al., 1978).

L'arôme variétal (ou primaire) provient du raisin lui-même. Il constitue un potentiel aromatique responsable en grande partie de la typicité des vins. Cette composante de l'arôme comprend elle-même deux familles de composés : les composés d'arôme libres, directement perceptibles par la muqueuse nasale, et les composés d'arômes liés, non odorants. Ces derniers sont liés, dans leur grande majorité, à des sucres : ce sont des précurseurs glycosidiques.

Plus récemment, Tominaga et al. (1998) ont mis en évidence dans le cas de thiols volatils des précurseurs constitués d'une molécule volatile liée à la cystéine, et Ségurel, (2004) a identifié un précurseur en sulfure de diméthyle, composé responsable en partie de la typicité des vins de Syrah.

L'arôme préfermentaire se forme au cours des étapes que subit la vendange entre sa récolte et le début de la fermentation (éraflage, foulage, macération pelliculaire, pressurage,...), essentiellement à la suite de réactions enzymatiques.

L'arôme fermentaire se forme au cours de la vinification. Il est issu du métabolisme secondaire

des levures et/ou des bactéries dans le cas d'une fermentation malolactique.

L'arôme vieillissement enfin, se forme par des réactions purement chimiques au cours de l'élevage et du vieillissement des vins

Hormis la composante préfermentaire, les autres catégories de composés comportent toutes des composés responsables de notes fruitées dans les vins. Ces derniers sont donc très variés et de structures chimiques très diversifiées. On compte en effet dans ces composés à odeurs fruitées des esters éthyliques et acétates d'alcools supérieurs issus de la fermentation qui sont vraisemblablement les plus abondants (de la centaine de $\mu\text{g/L}$ à la dizaine de mg/L), mais également des alcools (2-phényléthanol, alcool isoamylique) des terpénols (linalol, nérol), des norisoprénoïdes (b-damascénone, Riesling acétal, ionones) issus de glycosides ou non, des composés soufrés de type thiols (3-mercaptophexanol et son acétate) ou de type sulfure (sulfure de diméthyle), des composés furaniques (furanéol).

Des structures chimiques aussi différentes impliquent l'utilisation de méthodes analytiques également variées pour mettre en évidence ces composés et les doser. Ces techniques sont générales à l'analyse des composés d'arômes, qu'ils soient fruités ou non.

Les études sur l'arôme du raisin et du vin sont nombreuses dans la littérature et de très

nombreux composés d'arôme ont été identifiés : Etiévant (1991) en rapporte environ 700 ; on en compte maintenant un bon millier. Cependant, seuls une cinquantaine semblent contribuer réellement à l'arôme des vins. Des études sensorielles sont donc nécessaires pour appréhender l'importance des différents constituants de l'arôme.

1 - L'analyse olfactométrique, une première étape de mise en évidence nécessaire

Afin de s'affranchir de la matrice et de la complexité dans la composition de l'arôme des vins, la Chromatographie en Phase Gazeuse avec détection olfactométrique est une technique de choix qui permet de qualifier sensoriellement, à l'aide du nez humain, les différentes molécules séparées en chromatographie à partir d'un extrait de vin et ainsi d'orienter les recherches sur celles qui présentent des odeurs nettes et caractéristiques.

Cette technique d'analyse essentiellement qualitative peut être quantitative.

Plusieurs types de méthodes sont dans ce cas utilisées :

- techniques de dilutions successives : CHARM (Acree et al., 1984) ou AEDA (Ullrich et al., 1987)
- techniques de fréquence de citations (Pollien et al., 1997)
- techniques de mesures temps-intensité : OSME (Miranda-Lopez et al., 1990)

De manière générale, qu'elle soit qualitative ou quantitative, la CPG-olfactométrie ne doit pas être considérée comme suffisante pour déterminer l'impact d'une molécule sur l'arôme des vins. Elle n'est pas une fin en soi, mais simplement un guide dans le choix judicieux des composés importants pour l'arôme des vins. Plusieurs raisons modèrent en effet sa validité.

L'extraction des composés, nécessaire pour l'analyse chromatographique, élimine l'effet matrice qui peut être important (Lubbers et al., 1994a; 1994b; Dufour et al., 1999a, 1999b). Cet aspect est cependant contesté par Priser (1997) dans le cas des vins de champagne et Schneider et al. (1998) dans le cas des Vins Doux Naturels, qui ont constaté que des extraits de composés volatils repris dans une matrice hydro-alcoolique simple étaient très proches du vin initial. L'utilisation de la chromatographie elle-même, méthode résolutive, ne permet pas d'apprécier les effets de synergie ou de masquage entre composés odorants. Enfin les conditions de l'olfaction lors de la CPG-olfactométrie (temps bref, chaleur) sont très différents de ceux de l'olfaction classique d'un produit.

D'autre part certains composés sont connus pour n'être pas analysables facilement par CPG, soit qu'il soient thermolabiles, soit qu'ils soient très réactifs : leur non-détection en olfactométrie, ne signifie pas alors pour autant qu'il ne contribuent pas l'arôme des vins.

Par ailleurs, avant toute analyse olfactométrique, la représentativité olfactive des extraits par rapport au vin initial doit être vérifiée (Etiévant, 1991 ; Schneider et al., 1998).

Tous ces arguments montrent la nécessité d'une validation des

résultats de l'olfactométrie par des analyses autres, notamment le dosage précis des composés identifiés pour pouvoir les rapporter à leur seuil de détection dans un milieu le plus proche possible de la matrice initiale.

2 – L'analyse quantitative des composés d'arôme

2.1 - L'extraction

Les composés d'arôme du vin, et des produits agro-alimentaires en général, restent des constituants mineurs. Leur analyse nécessite donc une étape extraction qui permet de s'affranchir de la matrice hydro-alcoolique et permet une concentration, simultanée ou ultérieure suivant la technique utilisée. Les techniques les plus utilisées dans le domaine des arômes du vin sont :

- la distillation (notamment pour les alcools supérieurs, l'acétaldéhyde et certains acétals)
- l'extraction directe par solvant
- l'extraction sur support solide (SPE), qui permet des éluions différentielles
- les méthodes d'espace de tête (statique ou dynamique)
- les techniques de micro-extraction sur phase solide (SPME)

Etiévant (1987) a dressé une revue des avantages et des inconvénients de la plupart de ces méthodes. La tendance actuelle est de privilégier des techniques comme la SPE ou la SPME qui sont rapides, automatisable et n'utilisent que peu ou pas de solvants. Elles sont cependant relativement spécifiques et nécessitent donc de nombreuses adaptations selon les analytiques considérés. Par ailleurs, il est souvent nécessaire (notamment dans le cas de la SPME) de réfléchir à l'utilisation un standard interne adapté, le plus performant étant l'emploi de la dilution isotopique.

2-2 – L'Analyse des extraits d'arômes

Après éventuelle concentration, la méthode d'analyse de choix est la chromatographie en phase gazeuse. Cette technique permet la séparation d'un très grand nombre de composés sur une colonne capillaire en silice fondue, séparation basée sur des interactions faibles entre les composés d'arôme et la phase stationnaire liquide. Les composés séparés sont élués de la colonne par une phase mobile gazeuse (hydrogène ou hélium).

Ses limites majeures sont qu'elle s'adresse à des composés volatils, non thermolabiles, et qui ne se dégradent pas sur la colonne chromatographique utilisée.

Ainsi l'analyse des précurseurs d'arômes non volatiles (glycosidiques ou cystéinés) n'est possible qu'après dérivatisation (trifluoroacétalisation), triméthylsilylation, dérivatisation à l'éthyl chloroformate) (Voirin et al., 1992 ; Chassagne et al., 1995 ; Dagan, 2005) ou hydrolyse acide ou enzymatique (Baumes et al., 1993; Tominaga et al., 1998).

Outre la détection olfactométrique (cf. § 1), un certain nombre de détecteurs sont disponibles qui sont plus ou moins spécifiques et permettent ou non l'identification structurale des composés détectés : ionisation de flamme, photométrie de flamme, émission atomique, spectrométrie de masse.

3 - L'émergence de méthodes rapides

Si l'apparition de méthodes d'extraction des composés volatils rapides et automatisables, ainsi que la « démocratisation » des techniques spectrométriques a permis dans le courant des années 90 de réaliser de très net progrès dans la connaissance des arômes et leur dosage quantitatif

fiable, l'analyse des précurseurs d'arôme reste elle longue et très coûteuse. Elle nécessite en effet une préparation d'extraits, suivi d'une préparation le rendant analysable en CPG.

Au milieu des années 90, l'équipe australienne de l'AWRI a donc proposé, pour les glycosides de composés d'arôme une méthode d'analyse rapide, basée sur le dosage du glucose contenu dans ces précurseurs. Cependant son imprécision et sa trop grande globalisation n'en rend pas l'usage très utiles aux technologues.

C'est pourquoi, ITV France et INRA ont mis au point une démarche originale basé sur l'analyse IRTF d'extraits glycosidiques. La

précision de cette méthode, au niveau de la classe de glycosides, et sa robustesse, sont suffisantes pour espérer la voir s'implanter sur le terrain.

Une méthodologie analogue devrait bientôt voir le jour pour les précurseurs du DMS.

Conclusion

L'arôme des vins, provenant à la fois du raisin mais aussi des processus physiques, biochimiques et chimiques nécessaires à la vinification, est très complexe. Il est composé, de molécules de natures chimiques très différentes et à des concentrations variant de quelques nanogrammes à quelques milligrammes. De ce

fait, il n'existe pas de technique idéale permettant d'analyser de façon satisfaisante l'ensemble des composés de l'arôme. Il est donc souvent préférable d'adapter les techniques analytiques à la classe de composés considérée et de multiplier les analyses plutôt que de chercher à réaliser une analyse unique qui ne pourra être que le résultat de compromis entre les techniques d'extraction, de concentration et d'analyse possibles.