Les origines du goût de bouchon - Analyse efficace et sensible du TCA et autres « malfaisants »

Auteur : **DLR Mosel - Service Viticulture et œnologie Egbertstrasse 18-19**
D-54295 Trêves - Tél. : 0049651/9776-187 ou -185, -186 - horst.rudy@dlr.rlp.de - www.dlr-mosel.rlp.de
Contact : GERSTEL GMBH &CO KG - *Web :* www.gerstel.com
RIC - Research Institute for Chromatography - *Tel :* (33) (0)620 734558 - *Fax :* (33) (0)478 017152
E-mail : pascal.hoogenbosch@ric.eu (Sud et Centre); pol.verschelde@richrom.com (Nord)

Lorsque le vin est bouchonné, cela n'est pas impérativement dû au bouchon naturel traditionnellement employé pour le bouchage des bouteilles. Même si le goût de bouchon laisse certes manifestement soupçonner la présence de 2,4,6-trichloroanisole (TCA) – la molécule principalement responsable de ce goût désagréable de moisi ou de cave renfermée – d'autres sources et composés chimiques responsables du goût de bouchon sont désormais aussi connus. Afin de garantir une détection organoleptique efficace et fiable de tous les composés traceurs de mauvais goût, le centre DLR Mosel mise avec succès sur l'analyse GC/MS précédée d'une extraction SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction).

Pas besoin d'être sommelier pour faire la différence entre un vin bouchonné et un vin qui a bon goût. Le 2,4,6-TCA est un composé à l'odeur très pénétrante ; quelques picogrammes par litre d'air suffisent à provoquer le fameux goût terreux et de moisi. Le résultat est similaire dans l'eau ou dans le vin, le seuil de détection olfactive étant de 0,3 ng/L pour l'eau et de 1,4 ng/L pour le vin.

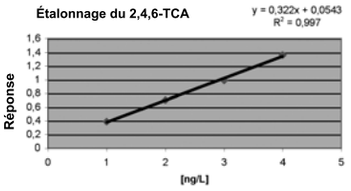
« *Mais il s'agit là d'une valeur seulement théorique* », commente Horst Rudy, chef de laboratoire au centre de prestations de services de l'espace rural (DLR) de la Moselle, puisqu'en fin de compte, la perception sensorielle est fonction des personnes, et donc purement subjective et difficilement généralisable : « *Alors qu'un consommateur n'identifie aucune anomalie, même en cas de concentrations de TCA nettement accrues, les récepteurs gustatifs d'un autre consommateur donnent déjà l'alerte pour des valeurs de 0,5 ng/L* », explique M. Rudy. De plus, la perception peut être influencée par un grand nombre de facteurs tels le goût sucré, la teneur en alcool ou le cépage. « *Celui qui souhaite identifier le goût de bouchon et en trouver l'origine sans ambiguïté, ne peut se passer de la chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC/MS)* », souligne M. Rudy.

Le goût de bouchon et ses origines

Le 2,4,6-TCA provient généralement de l'écorce des chênes-lièges à partir de laquelle sont fabriqués des bouchons naturels et techniques. Le composé résulte de la dégradation microbienne (méthylation) du trichlorophénol (TCP) susceptible par exemple de polluer l'écorce en tant qu'élément constitutif de certains pesticides. Il est donc tout à fait logique et compréhensible que le bouchon soit vite accusé d'être à l'origine du goût de bouchon, précise l'œnologue. Mais depuis le jour où le bouquet de vins dont on avait remplacé le bouchon par des obturateurs à base de plastique, était, contre toute attente, dénaturé par une forte odeur de moisi et de renfermé, on sait que le bouchon naturel ou son pendant technique n'est pas forcément l'unique responsable de cette altération organoleptique.

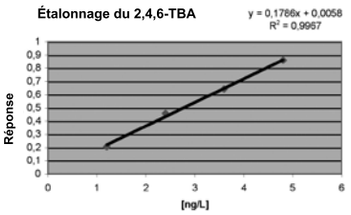
Au fil de la recherche des causes, plusieurs composés, notamment de la famille des anisoles, ont été identifiés comme conférant un goût de moisi.

La présence incongrue de ces contaminants ou composés traceurs de mauvais goût résulte de l'usage inconsidéré de détergents et désinfectants chlorés pour nettoyer les chais, ainsi que du contact avec les palettes et matériaux d'emballage.



Conc. 2,4,6-TCA [ng/L]	Area TCA / Area ISTD
1	0,38642
2	0,69888
3	0,98844
4	1,36316

Courbe de calibration du 2,4,6-trichloroanisole (TCA) : limite de détection = 0,39 ng/L ; limite de quantification = 0,79 ng/L.



Conc. 2,4,6-TBA[ng/L]	Area TBA / Area ISTD
1,2	0,20709
2,4	0,45745
3,6	0,64190
4,8	0,85998

Courbe de calibration du 2,4,6-tribromoanisole (TBA) : limite de détection = 0,50 ng/L ; limite de quantification = 1,00 ng/L.

	Limite de détection	Seuil olfactif
2,4,6-trichloroanisole (TCA)	0,3-0,5 ng/L	1,4 - 4 ng/L
2,4,6-tribromoanisole (TBA)	0,5 ng/L	3 - 8 ng/L
2,3,4,6-tétrachloroanisole (TeCA)	1,1 ng/L	4 - 24 ng/L
2,4,6-trichlorophénol (TCP)	1,4 ng/L	4000 ng/L
2,4,6-tribromophénol (TBP)	1,6 ng/L	
Pentachlorophénol (PCP)	0,9 ng/L	4000 ng/L

Limites de détection et seuils olfactifs des « goûts de bouchon » analysés avec le système GC/MS associé à la technique d'extraction SBSE.

Le fongicide pentachlorophénol (PCP) était utilisé jusqu'à la fin des années 1980, par exemple pour éviter la désagrégation microbienne des palettes en bois. Or Le PCP contenait des impuretés parmi lesquelles le 2,3,4,6-tétrachlorophénol (TCP), un composé transformé en 2,3,4,6-tetrachloroanisole (2,3,4,6-TeCA, TeCA) par des microorganismes et susceptible, dans le vin, de développer un goût de bouchon. Le PCP s'étant avéré être cancérigène lors d'essais biologiques réalisés sur les animaux, son usage est désormais interdit en Allemagne depuis 1989. Le 2,4,6-tribromophénol (TBP), un composé à action fongicide et ignifuge, est volontiers utilisé en substitution du PCP, en tant qu'additif ajouté aux cartons, plastiques et peintures. Il a toutefois été découvert que les microorganismes métabolisent le TBP en 2,4,6-tribromoanisol (2,4,6-TBA), un composé dont le profil organoleptique est décrit comme ayant une odeur chimique, de moisi, de terre, et de solvant. « *Il s'agit d'un contaminant de plus haute importance* », résume M. Rudy.

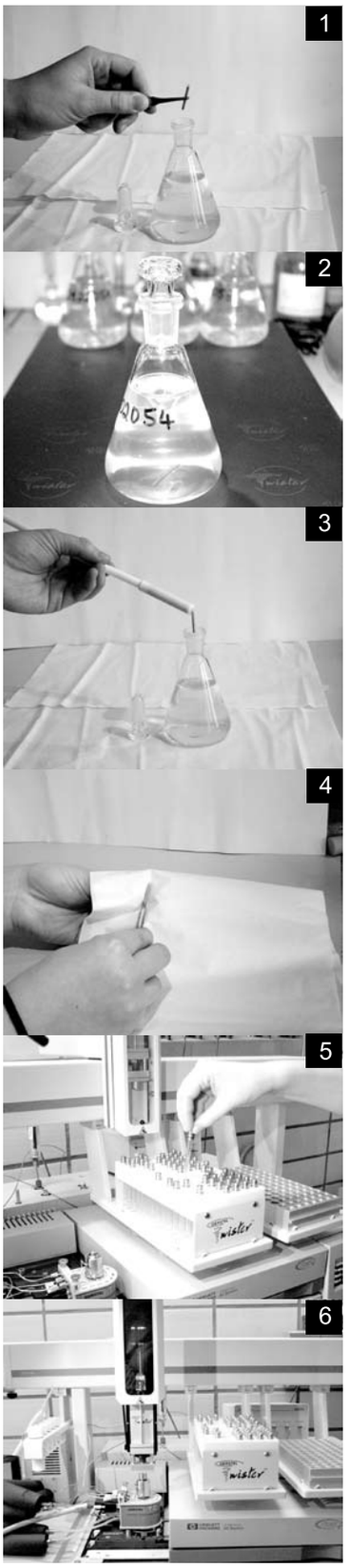
	TCA [ng/L]
1er jour	6,1
	4,9
	4,7
	4,7
2ème jour	8,5
	6,4
	5,4
3ème jour	7,4
	6,1
	5,3

Écart-type dans des conditions de laboratoire réelles après des doublements des analyses. Une quantité de 1,5 L d'un mélange hydro-alcoolique pour le lavage des bouchons a été homogénéisée, et de cette solution, 10 échantillons ont été pris et extraits moyennant la technique SBSE (avec le Twister GERSTEL).
Les analyses ont été réalisées sur trois jours consécutifs. Moyenne concentration quantifiée = 5,9 ng/L ; écart-type s = 1,26 ng/L ; min. 4,5 à max. 8,8 ng/L.

L'analyse – une démarche incontournable en sus du test de dégustation

Lorsque le centre DLR Mosel est chargé de rechercher la cause du goût désagréable de moisi et de renfermé d'un vin, l'examen ne se limite pas seulement à l'évaluation organoleptique. « *L'un des problèmes du test de dégustation est que les vins à fort goût de bouchon sont bien sûr identifiés* », déclare M. Rudy. D'après lui, les teneurs en TCA proches ou inférieures au seuil olfactif personnel sont par contre problématiques compte tenu du fait que le composé n'est souvent pas perçu comme un goût de bouchon mais comme une altération difficilement définissable de l'arôme. Dans de tels cas, la détection analytique du TCA est souvent le seul moyen de prouver que le vin a été altéré par le bouchon ou tout autre influence. « *À propos* », fait remarquer M. Rudy, « *afin d'identifier la source de l'impureté, nous examinons dans le doute tout l'environnement dans lequel le vin a été fabriqué et mis en bouteille.* » « Ceci est effectué à l'aide de capteurs passifs à base d'alumine (bentonite). La procédure est simple, elle fournit un profil de distribution des impuretés et donc de précieux renseignements pour trouver la source et combattre la cause.
En règle générale, le DLR ne se contente pas avec son analyse GC/MS de déceler un contaminant potentiel. Parmi les composés intéressants à impact olfactif, on compte le 2,4,6-trichloroanisole (TCA), le 2,4,6-tribromoanisole (TBA), le 2,3,4,6-tétrachloroanisole (TeCA) et le 2,3,4,5,6-pentachloroanisole (PCA) ; Par ailleurs, les précurseurs que sont le 2,4,6-trichlorophénol (TCP) et le 2,4,6-tribromophénol (TBP) à impact olfactif certes moins important mais néanmoins décisif pour l'identification de l'origine du caractère « bouchonné » sont également analysés. Afin d'identifier et de quantifier le ou les contaminants, les bouchons sont immergés pendant deux heures dans un bain à ultrasons avec une solution d'éthanol à 10 % ; le bentonite est soumis au même traitement.

Maniement du Twister GERSTEL pour l'analyse du goût de bouchon



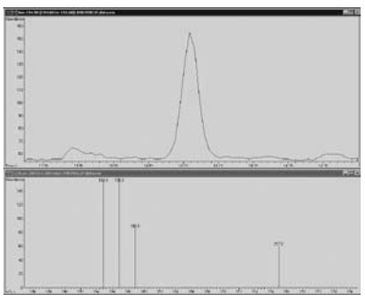
Placer le Twister GERSTEL dans l'échantillon (1). Pendant que le Twister en tant qu'agent d'extraction breveté est agité dans l'échantillon, les analytes s'enrichissent dans sa phase PDMS (2). Retirer le Twister (3), le tamponner pour le sécher (4) et le placer dans le passeur automatique MPS GERSTEL (5) en vue de l'analyse automatisée dans le système de désorption thermique TDU (6).

Au lieu de six heures, l'analyse d'un goût de bouchon ne dure désormais plus qu'une heure et demie

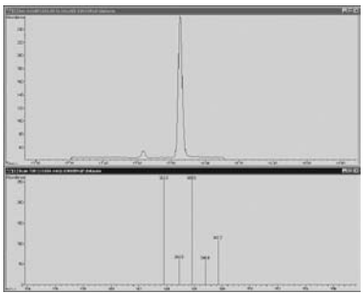
Pour finir, on prélève 100 ml de la solution d'éthanol (après avoir préalablement laissé le bentonite se déposer) puis on procède à l'extraction par sorption dans la phase PDMS d'un barreau magnétique (Stir Bar Sorptive Extraction – SBSE), le Twister GERSTEL pour une durée d'une heure. Le Twister est un barreau magnétique spécial, recouvert de polydiméthysiloxane (PDMS) dans lequel se dissolvent les composés organiques de l'échantillon tandis qu'il est agité dans l'échantillon ; suivant l'application considérée, la SBSE s'avère être nettement plus sensible (du fait de la quantité bien plus grande de PDMS) que la micro-extraction en phase solide (SPME). La quantification est réalisée avec du 2,4,6-trichloroanisole-D5 utilisé en guise de standard interne.

Une analyse rapide et sensible grâce au Twister GERSTEL

Il s'est avéré que l'extraction liquide-liquide sur plusieurs étages à laquelle le centre DLR Mosel avait autrefois recours était trop onéreuse et exigeait trop de temps et de travail. « *Certains jours, je restais du matin au soir au laboratoire et c'est tout juste si je réussissais à analyser quatre échantillons* », déclare M. Rudy.



Spectre SIM de 1,0 ng/L de TCA



Spectre SIM de 2,4 ng/L de TBA

Composés à impact olfactif en rapport avec la présence de contaminants dans le vin : 2,4,6-trichloroanisole (TCA [1]), 2,4,6-tribromoanisole (TBA [2]), 2,3,4,5,6-pentachloroanisole (PCA) et 2,3,4,6-tétrachloroanisole (TeCA).

Des techniques d'analyse nouvelles telles que la SPME ont certes considérablement réduit la durée de la procédure, mais du fait de la limite de détection de 2,9 ng/L (TCA) encore trop élevée, elles n'étaient toutefois pas vraiment adaptées aux objectifs du DRL.

« *Notre intention étant de déceler de manière fiable des concentrations de l'ordre du seuil olfactif* », explique l'expert en analyse du vin, « *nous avons modifié notre méthode d'analyse du goût de bouchon en 2000 et avons opté pour l'extraction par sorption dans la phase PDMS d'un barreau magnétique (SBSE), le Twister GERSTEL.* »

Selon lui, la SBSE est rapide, précise, automatisable et fournit par exemple dans le cas du TCA des limites de détection de 0,3 à 0,5 ng/L conformément à DIN 32645. Qui plus est, le Twister se distingue par sa grande simplicité d'emploi : l'extraction étant terminée, il suffit de le retirer de la solution et de le sécher. La désorption (de jusqu'à 196 Twisters) dans le système de désorption thermique TDU et le chargement de l'échantillon dans le système GC 6890/MS 5973 (Agilent Technologies) sont des processus entièrement automatisés grâce au passeur automatique MPS GERSTEL.

« *La durée de l'analyse est passée de six heures par échantillon à une heure et demie* », se réjouit M. Rudy.