Connaissance Vigne Vin, 1987, **21, n° 4, 247-265.**

MISE AU POINT SUR LES TECHNIQUES D'EXTRACTION ET DE SÉPARATION DES CONSTITUANTS VOLATILS DU VIN

P.-X. ÉTIEVANT

Institut National de la Recherche Agronomique
Laboratoire de Recherches sur les Arômes
17, rue Sully, 21034 Dijon Cedex (France)

Les laboratoires de recherche spécialisés dans l'étude de l'arôme des aliments ont mis au point un grand nombre de techniques destinées à extraire et à concentrer les substances volatiles émises par ces aliments. Certaines de ces techniques, plus ou moins sophistiquées, ont été appliquées au vin et l'on peut se demander pourquoi l'une d'entre elles ne se dégage pas maintenant comme technique de référence. Dans le but de répondre à cette question légitime, nous allons expliquer les raisons qui ont permis le choix de ces techniques tout en dégageant leurs avantages et inconvénients. Nous ferons ensuite le point sur les nouvelles possibilités offertes à l'analyste dans le domaine de la séparation des constituants des extraits aromatiques du vin.

EXTRACTION

Le choix d'une méthode permettant l'étude des constituants volatils du vin nécessite la connaissance de la composition du produit. Le tableau I, établi d'après les données publiées par RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (1961), montre de façon évidente que les substances volatiles (acétate d'éthyle, acétaldéhyde, alcools supérieurs et autres constituants volatils) ont une concentration cumulée inférieure à 1/1 000. Une analyse directe du vin permettra donc de doser les constituants volatils majeurs (dont la concentration est supérieure à 0.001 g par litre comme l'acétate d'éthyle, l'acétaldéhyde, le méthyl-2 propanol-1, le méthyl-2 et méthyl-3 butanol-1, l'acétate de méthyl-3 butyle, l'hexanoate et l'octanoate d'éthyle, l'acide acétique, le benzaldéhyde, les butanediols-2,3, la γ-butyrolactone, le succinate de diéthyle, le lactate d'éthyle, le phényl-2 éthanol-1). Par contre, elle ne permettra certainement pas de doser, en raison de la sensibilité des appareils, les autres constituants de l'arôme qui, du point de vue qualitatif et olfactif, sont les plus importants. De plus la présence des constituants fixes du vin est indésirable lors de l'analyse chromatographique en phase gazeuse. Une étape de séparation des substances volatiles et non volatiles est donc indispensable.

L'étude de ce tableau montre ensuite que la quasi-totalité des constitants fixes ou non volatils du vin sont très hydrophiles. Cette remarque est très intéressante dans la

où l'on sait que la majorité des substances volatiles du vin sont peu solubles dans l'eau. On peut donc utiliser un solvant organique non miscible avec le mélange eau-éthanol pour extraire plus ou moins sélectivement les substances aromatiques contenues dans le vin. Enfin, l'observation de ce tableau montre que, hormis l'éthanol, l'eau et les substances aromatiques du vin, tous les autres constituants du vin possèdent des points d'ébullition élevés. Il est donc possible d'isoler les substances volatiles dans une solution hydroalcoolique débarassée des substances fixes par distillation.

TABLEAU I

Composition élémentaire du vin

> = 100	g/l	eau (860-900) éthanol (80-160) sucres réducteurs (vins moelleux)
> = 10	g/l	polyols (5-15) acides organiques (3,5-13)
> = 1	g/l	sels minéraux (1-3,5) sucres (vins secs) (0,5-2,3) gommes, pectines, polysaccharides (0,1-3) substances azotées (0,5-4) polyphénols (anthocyanes, tannins, flavones...) (0,1-5,5)
> = 0,1	g/l	alcools supérieurs (0,12-0,8) acides phénols (0,1) acétaldéhyde (0,04-0,12) acétate d'éthyle (0,05-0,1)
> = 0,001	g/l	vitamines autres constituants aromatiques

Deux catégories de méthodes se dégagent donc de cette analyse; l'une mettant en jeu une extraction par solvant, et l'autre par distillation. Il faut ajouter à cela une troisième catégorie utilisant la tension de vapeur des molécules aromatiques comme principe de fonctionnement, c'est-à-dire la propriété que possèdent ces substances de se répartir entre le vin et la phase gazeuse. Il s'agit des techniques de concentration de l'espace de tête.

I. — EXTRACTION PAR SOLVANT.

Comme nous l'avons déjà dit, la propriété essentielle du solvant est d'être non miscible avec le vin et en outre d'être inerte chimiquement. En jouant sur la polarité du solvant on peut extraire, plus ou moins sélectivement, des substances de polarités différentes. Ainsi l'hexane extrait très faiblement les acides gras, les phénols et les alcools supérieurs, ce qui est favorable à l'analyse des substances peu polaires (esters, hydrocarbures, cétones...). Le dispositif expérimental le plus simple pour réaliser cette

extraction consiste à mettre dans un tube à essai 10 ml de vin et 1 ml d'hexane et d'agiter le tout une minute au Vortex. En raison du rapport de volume, on obtient ainsi un facteur de concentration d'environ 10 pour les substances les plus solubles dans l'hexane (comme les esters éthyliques) qui peuvent être dosées rapidement et précisément. En raison de la faible concentration de certaines substances volatiles qui, néanmoins, peuvent être détectées au nez à des doses qui n'excèdent pas quelques nanogrammes par litre de vin (par exemple le trichloro 2,4,6 anisole, BUSER et *al.,* 1982), il est nécessaire d'obtenir et d'analyser un extrait organique plus concentré. On a pour cela recours à des solvants à plus bas point d'ébullition permettant une concentration de l'extrait par simple distillation. On ne perd alors, lors de cette phase de concentration que les constituants de l'extrait ayant un point d'ébullition inférieur à celui du solvant ou pouvant former des azéotropes avec celui-ci. Quatre solvants sont plus couramment utilisés : le fréon 11 (TEb = 23,5° C), le pentane (TEb = 36° C), l'éther éthylique (TEb = 34,5° C), le dichlorométhane (TEb = 40° C) ainsi que des mélanges azéotropiques de ces solvants comme pentane CH_2Cl_2 2:1 (TEb = 30° C), 7:3 (TEb = 32° C) et fréon CH_2Cl_2 9:1 (TEb = 20° C) : SCHREIER et *al.,* (1980), SHIMUZU (1982), WILLIAMS et *al.,* (1983), ETIEVANT et BAYONOVE (1983), MORET et *al.,* (1984), NISHIMURA et MASUDA (1984), GÜNTERT et *al.,* (1986). On procède couramment à l'extraction en plaçant le vin et le solvant dans une ampoule à décanter, et en agitant le mélange pendant 1 minute. Le solvant est ensuite mis de côté et une ou plusieurs nouvelles extractions sont alors réalisées avec du solvant distillé. Les phases organiques sont enfin réunies avant d'être concentrées. L'inconvénient majeur de cette méthode est lié à la pureté du solvant car plus le facteur de concentration est important et plus les impuretés de ce solvant seront concentrées et pourront interférer avec les molécules aromatiques extraites. On préfère donc utiliser un extracteur liquide-liquide continu (figure 1) dans lequel une faible quantité de solvant est d'abord évaporée dans un ballon latéral, puis condensée à l'état de fines gouttelettes qui traversent le vin à extraire avant de retourner, par gravité, dans le ballon d'évaporation où les substances aromatiques se concentrent peu à peu. La rapidité de l'extraction dépend surtout de la polarité du solvant et donc de son affinité vis-à-vis des substances à extraire (COBB et BURSEY, 1976). Avec un solvant peu polaire comme le fréon 11, on peut espérer extraire quantitativement les esters éthyliques en 8 heures et les phénols volatils en 48 heures (ÉTIEVANT, 1981).

Un autre solvant a également été testé pour extraire le vin : le gaz carbonique à l'état supercritique. Un schéma d'un appareil permettant une telle extraction est donné dans la figure 2. L'avantage de l'emploi de ce solvant à l'état supercritique, plutôt qu'à l'état liquide, réside dans la possibilité de modifier sa polarité en fonction de la pression appliquée. Cette polarité sera voisine de celle de l'hexane pour une utilisation du CO_2 à l'état liquide et l'état supercritique en dessous de 100 bar, et proche de celle du dichlorométhane à des pressions supérieures à 150 bar. Comme on peut le voir à partir du tableau II, une extraction de 4 heures à 38° C et à une pression de 150 bar permet d'obtenir un extrait riche en alcool et contenant majoritairement les composés volatils (acide acétique, acétaldéhyde) et des traces d'acides lactique. De plus, on a pu observer que la qualité aromatique de tels extraits était proche de celle du vin avant extrac-

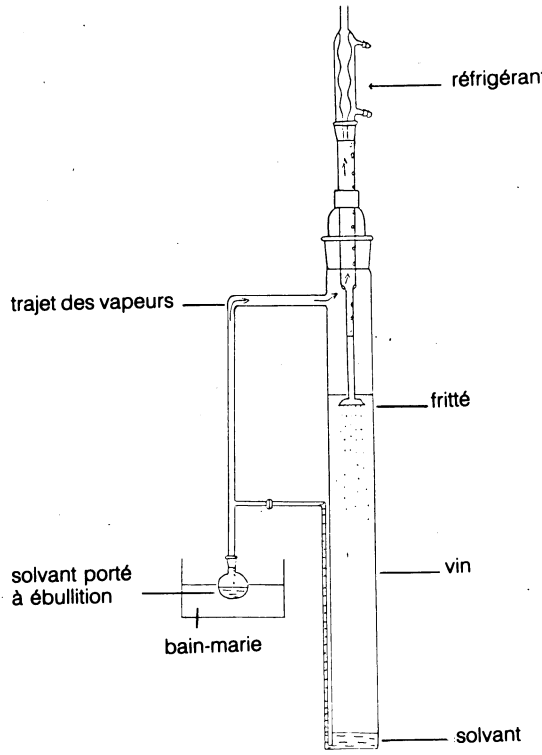
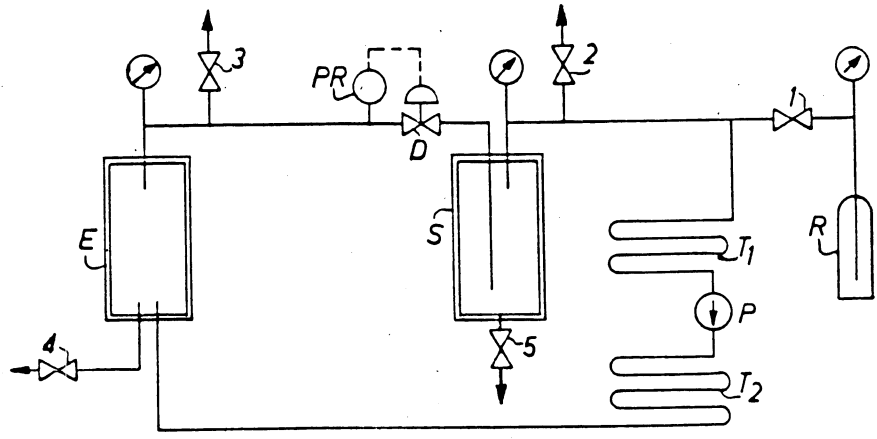


Fig. 1. — Extracteur liquide-liquide continu pour solvant de densité supérieure à celle du vin.



E : extracteur ; S : séparateur ; P : pompe de compression ; R : réservoir de CO_2 ;
T_1, T_2 : échangeurs thermiques ; D : vanne de décharge ; PR : commande de la vanne D ;
1, 2, 3, 4 : vannes

Fig. 2. — Schéma simplifié d'un extracteur NOVA-SWISS utilisant le gaz carbonique à l'état liquide ou supercritique.

tion. Une analyse plus fine de l'extrait montre que la proportion entre composés polaires et apolaires est inversée par rapport à celle trouvée dans le vin. Les alcools à courte chaîne sont, en effet, très peu extraits par le CO_2 à 150 bar, alors que les esters des acides organiques sont extraits en grande quantité. L'inconvénient de la dilution des substances aromatiques dans l'éthanol a été résolu par BERGER et *al.*, (1981) au moyen d'une double détente permettant d'isoler un premier extrait riche en éthanol mais très peu aromatique, et un deuxième extrait très faiblement alcoolisé et très riche en substances aromatiques. Cette technique d'extraction, qui pourrait être appliquée dans le domaine agro-alimentaire à la préparation du vin à faible degré alcoolique, est difficilement applicable à des fins analytiques, car elle est peu répétable. Cet inconvénient a pour origine une détente non contrôlée du séparateur lors de l'ouverture de l'appareil, conduisant à une concentration non rectifiée des molécules aromatiques lors de la sublimation de la carboglace. Il serait donc nécessaire de piéger les molécules aromatiques sur un support placé dans le séparateur avant d'effectuer la détente, compliquant ainsi considérablement la méthode.

TABLEAU II

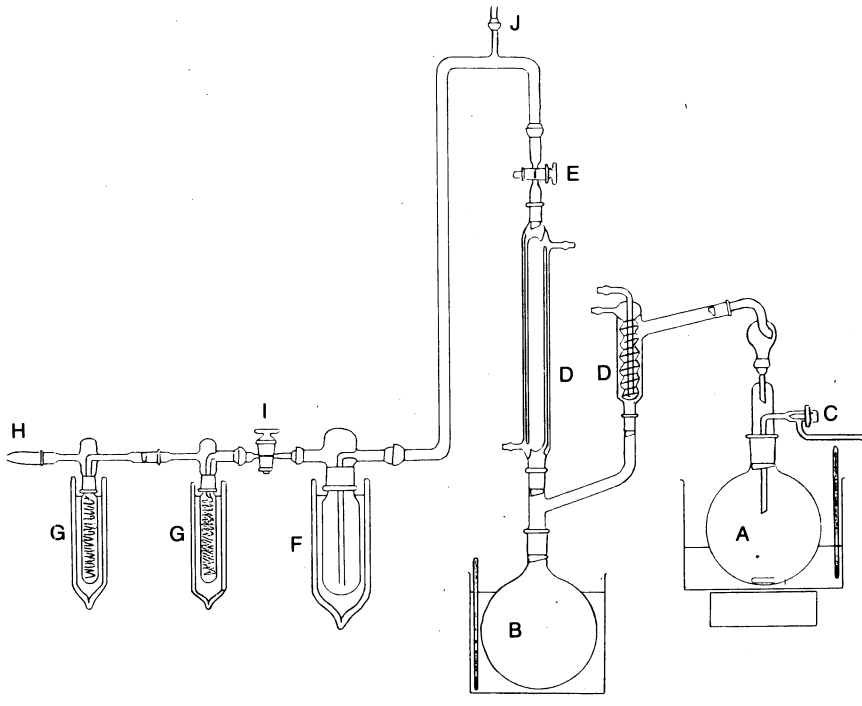
Extraction d'un vin de Carignan par le gaz carbonique en phase supercritique

	Vin avant extraction	Vin après extraction	Extrait obtenu
Volume (ml)	1 000	915	85
Degré alcoolique	12°4	4°2	71°6
Extrait sec	25	26	0
Cendres	2,4	2,8	0
Sucres réducteurs (g)	2,1	1,3	0
Acide succinique (g)	0,64	0,65	0
Glycérol (g)	8,7	6,1	0
Aldéhydes (mg)	44	19	7
Acidité totale (1)	3,3	2	0,3
Acidité volatile (1)	0,8	0,4	0,2
Acidité fixe (1)	2,5	1,4	0,1
Acide tartrique (meq)	12,0	12	0
Acide lactique (meq)	17,4	18	1
pH	3,6	3,4	—
SO_2 total (mg)	35	25,6	0
Polyphénols (g acide gallique)	1,3	1,31	0
Anthocyanes (g)	0,3	0,27	0

(1) en g H_2SO_4.

II. — EXTRACTION PAR DISTILLATION.

Cette technique, permettant de séparer les substances volatiles des substances non volatiles du vin, n'est utilisée que lorsque les techniques d'extraction par solvant ne peuvent être utilisées. Elle permet, en effet, d'obtenir une solution hydro-alcoolique aromatisée qui devra, de toute façon, subir une étape d'extraction par solvant avant



A : ballon contenant l'échantillon ; B : ballon contenant le distillat ; C : robinet en téflon ;
D : réfrigérants à 0° C ; E : capillaire ; F : piège placé dans l'azote liquide ;
G : pièges en spirales placés dans l'azote liquide ; H : connection à la pompe ; I : robinet ;
J : jauge à vide.

Fig. 3. — Distillation sous vide selon FORSS et HOLLOWAY.

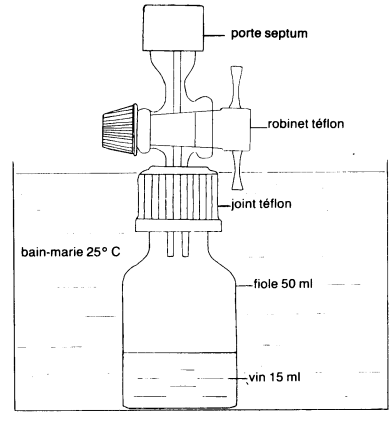


Fig. 4. — Dispositif permettant le prélèvement d'une partie aliquote de l'espace de tête d'un vin.

d'être analysée. Cette étape supplémentaire n'est donc conseillée que lorsque l'extraction directe par solvant met en jeu un solvant extrayant une trop forte quantité de substances fixes (l'éther par exemple), ou provoquant la formation d'émulsions trop stables pour être résorbées par augmentation de la force ionique du milieu (c'est notamment le cas des vins doux naturels).

Comme le vin est généralement élaboré et stocké à des températures basses, il faut prendre garde d'éviter tout chauffage au cours de l'extraction de son arôme. Une distillation à la pression atmosphérique est donc à proscrire et l'on distille généralement le vin sous pression réduite, de façon à ne pas dépasser une température de 35° C. Un dispositif permettant une telle distillation a été décrit par FORSS et HOLLOWAY (1967) et a été utilisé sur des Muscats par ÉTIÉVANT et BAYONOVE (1983). Le vin est introduit goutte à goutte dans le ballon A par une canne reliée au robinet C. Il est alors vaporisé à la pression établie dans le système (1,5 mbar) et les vapeurs, condensées sur les réfrigérants, sont récupérées dans le ballon B et les divers pièges placés entre celui-ci et la pompe à vide (figure 3). Ces solutions hydro-alcooliques seront assemblées avant d'être extraites par un solvant. L'odeur des distillats est en général évaluée comme étant très proche de celle du vin avant extraction.

III. — PIÉGEAGE DE L'ESPACE DE TÊTE.

L'analyse des substances volatiles présentes dans l'atmosphère en équilibre avec le vin (espace de tête) devrait nous apporter plus d'informations sur l'origine des caractéristiques olfactives du produit, car c'est cette atmosphère qui est amenée au contact de nos muqueuses nasales et qui provoque le stimulus. La figure 4 montre un dispositif très simple permettant la préparation d'un échantillon d'espace de tête. Après une équilibration d'une demi-heure entre les deux phases du système, un volume de gaz de quelques millilitres est prélevé à travers un septum au moyen d'une seringue à gaz, et injecté sur la colonne du chromatographe, soit en totalité (colonne remplie ou «purge and trap»), soit en partie (injecteur diviseur). La faible quantité de substances ainsi injectée ne permet de quantifier qu'une dizaine des constituants majeurs du vin, mais de façon simple, rapide et précise. Dans le but de pallier au défaut de sensibilité de la méthode, on peut procéder à un barbotage de gaz inerte dans le vin, suivi par une concentration des substances entraînées sur un polymère poreux possédant une grande surface spécifique (LOYAUX et *al.,* 1981). Cette technique, dont un dispositif expérimental est donné par la figure 5, est appelée technique de dilution exponentielle car la concentration des substances volatiles dans le vin décroit en fonction du temps selon une fonction du même type. Le tableau III donne le nom, la composition et quelques caractéristiques physiques des polymères le plus souvent utilisés pour cette application. Le choix du polymère s'effectue en fonction de plusieurs critères : sa capacité d'adsorbtion (qui est liée à la surface spécifique et à la polarité relative de l'adsorbant et de la molécule à adsorber) et sa température de décomposition.

La désorption des substances ainsi piégées peut être effectuée, soit au moyen d'une quantité minimale de solvant, soit par la chaleur directement dans la colonne chromatographique. La première solution est longue car elle nécessite une étape de concentration finale par distillation du solvant, mais elle permet des injections répétées.

La seconde solution permet une automatisation, mais présente le risque de dégradations thermiques des substances adsorbées ou du polymère lui-même. Dans tous les cas, il est extrêmement important de s'assurer que le piège n'est pas saturé par les composés que l'on désire doser. Ce risque est particulièrement élevé pour les molécules les plus volatiles (acétate d'éthyle, acétaldéhyde, dioxyde de soufre, diméthylsulfure...) et les plus polaires (alcools supérieurs à courte chaîne).

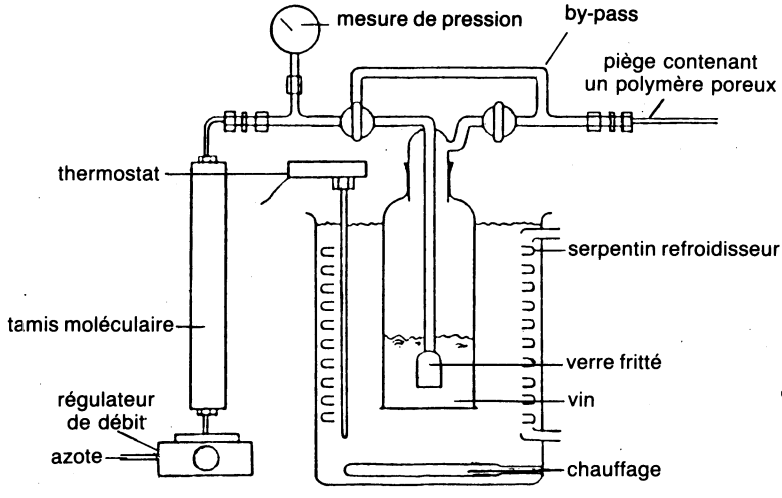


Fig. 5. — Montage permettant le piégeage et la concentration de l'espace de tête d'un vin par la technique de dilution exponentielle dite encore «head-space dynamique»

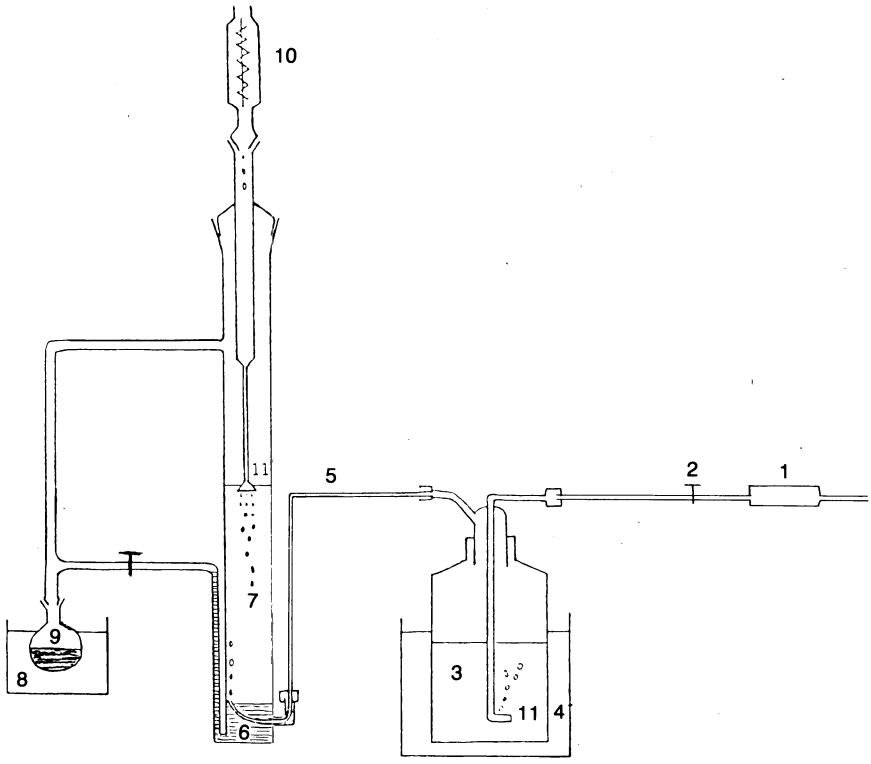
TABLEAU III

Caractéristiques physiques des polymères poreux utilisés couramment pour le piégeage des substances volatiles.

Adsorbant	Aire spécifique (m^2/g)	température de décomposition (°C)	Nature du monomère (1)
Tenax CG	19	375	DPPO
Chromosorb 101	<50	275	STY-DVB
Chromosorb 102	300-400	250	STY-DVB
Porapak P	50-100	250	STY-EVB-DVB
Porapak Q	550-650	250	EVB-DVB
Porapak R	550-750	250	NVP
Porapak T	300-450	190	EGDMA

(1) DPPO = 2,6-diphényl-p-phénylène oxide.
STY = styrène.
EVB = éthylvinylbenzène.
DVB = divinylbenzène.
NVP = N-vinylpyrrolidone.
EGDMA = éthylèneglycol diméthylacrylate.

Un dispositif astucieux (figure 6) couplant un entraînement par un gaz inerte à une extraction liquide-liquide continue a été proposé par RAPP et KNIPSER (1980) et repris par DUCRUET sur des vins de macération carbonique (1984). Ce système offre tout d'abord l'avantage d'éviter tous les problèmes cités ci-dessus liés à l'utilisation du polymère poreux. Il permet en outre de disposer d'un extrait organique, plus facile à manipuler.

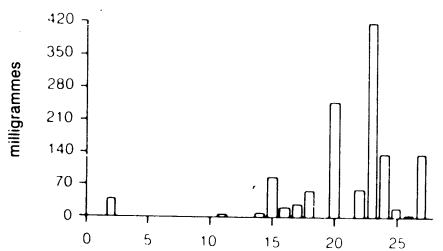


1 : filtre à charbon actif
2 : régulateur de débit
3 : vin
4 : bain-marie 25° C
5 : tube de téflon
6 : Fréon 11
7 : solution hydroalcoolique
8 : bain-marie 29° C
9 : ballon d'évaporation Fréon 11
10 : réfrigérant à —30° C
11 : verre fritté

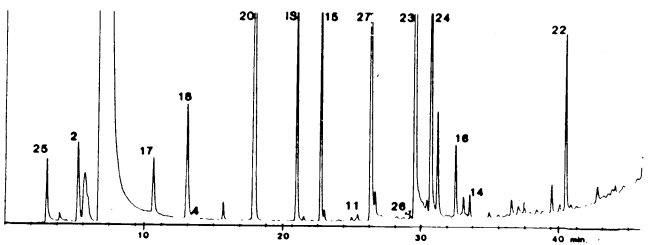
Fig. 6. — Appareil utilisé pour l'analyse des vapeurs selon la méthode de RAPP et KNIPSER

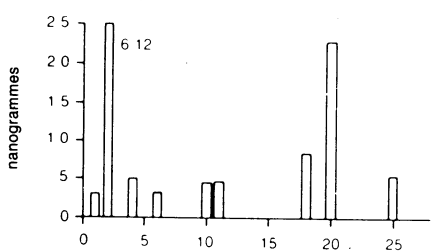
On peut ainsi effectuer de longs balayages gazeux à travers le vin (24 heures par exemple avec un débit de 50 ml par minute) sans risque de saturation. La quantité des substances piégées est alors beaucoup plus importante que lors de l'utilisation d'un polymère, et la sensibilité de la technique, quoique inférieure à celle d'une extraction directe par solvant, en est sensiblement plus élevée.

1 : acétate de méthyle ; 2 : acétate d'éthyle ; 3 : acétate de méthyl-2 propyle ; 4 : acétate de méthyl-3 butyle ;
5 : propanoate d'éthyle ; 6 butanoate d'éthyle ; 7 : méthyl-2 propanoate d'éthyle ; 8 : méthyl-2 butanoate d'éthyle
9 : méthyl-3 butanoate d'éthyle ; 10 : hexanoate d'éthyle ; 11 : octanoate d'éthyle ; 12 : décanoate d'éthyle
13 : dodécanoate d'éthyle ; 14 : succinate de diéthyle ; 15 : lactate d'éthyle ; 16 : γ-butyrolactone ; 17 : propanol-1 ;
18 : méthyl-2 propanol-1 ; 19 : butanol-1 ; 20 : méthyl-2 + méthyl-3 butanol-1 ; 21 : hexanol-1 ; 22 : phényl-2 éthanol-1 ;
23 : butanediol-2,3 ; 24 : butanediol-2,3 ; 25 : acétaldéhyde ; 26 : benzaldéhyde ; 27 : acide acétique ; SI : standard interne

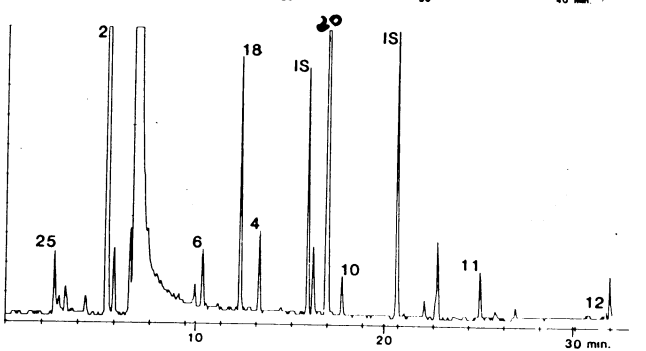


Injection directe de vin (0,09 µl)





Injection de 0,05 ml de vapeurs (static-head-space)



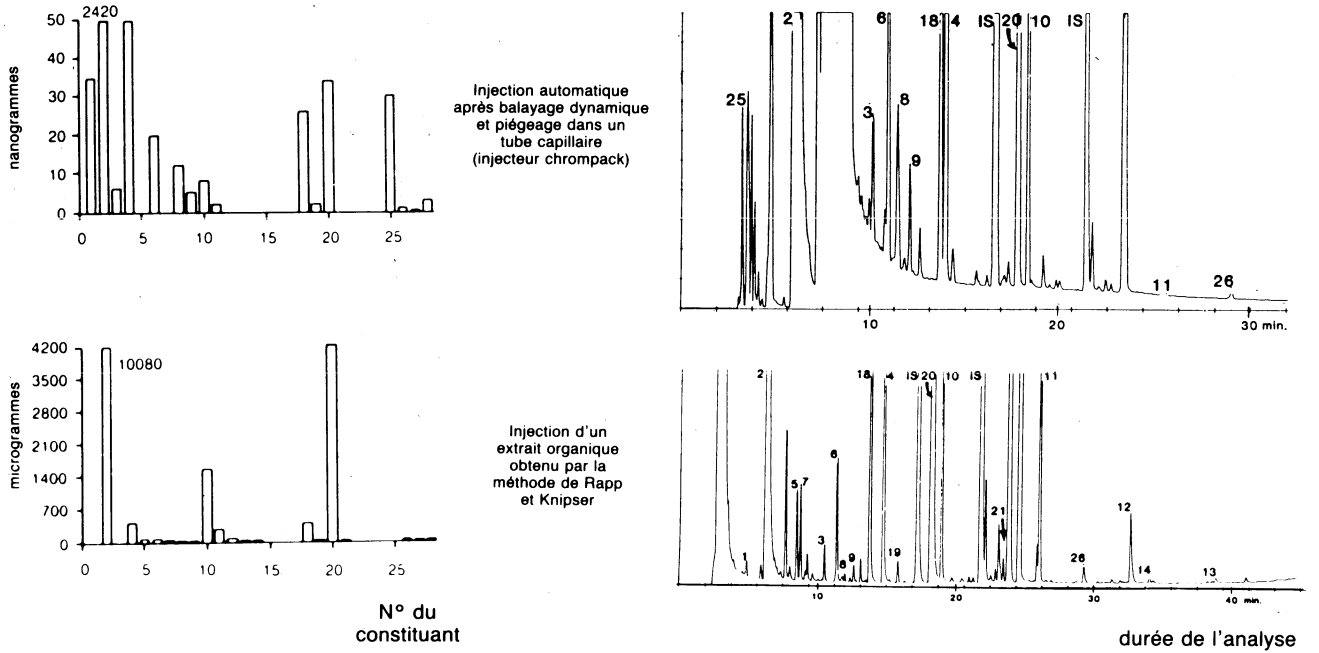


Fig. 7. — Comparaison de profils chromatographiques d'un vin de chiroubles obtenus par diverses techniques d'extraction.

La figure 7 donne des exemples d'utilisation de piégeage d'espace de tête par la méthode statique, dynamique et par le système proposé par RAPP et KNIPSER. On peut noter les différences importantes de l'allure des chromatogrammes obtenus, surtout par rapport au résultat d'une injection directe de vin donnée comme référence. Ces différences entre chromatogrammes d'espace de tête sont liées à des équilibres entre phase liquide et phase gazeuse plus ou moins modifiés. On comprend alors mieux qu'aucune des techniques que nous avons décrites ne permet d'analyser de façon complète et définitive «l'arôme» du vin dans son ensemble, et ceci en raison de la grande disparité des concentrations, des volatilités, et de la nature chimique de ses constituants.

SÉPARATION

Comme nous l'avons vu, les extraits aromatiques se présentent, sauf pour le cas d'une désorption thermique de polymères poreux, sous la forme d'une solution dans un solvant à bas point d'ébullition. La séparation et la quantification de ces constituants sont effectuées, dans la quasi-totalité des cas, au moyen d'un chromatographe en phase gazeuse. L'équipement de cet instrument doit présenter plusieurs particularités: il doit être chimiquement aussi inerte que possible et être résolutif et sensible en raison du grand nombre de constituants à séparer et de leur faible concentration.

L'injection de l'extrait sur la colonne se fait généralement dans un tube chauffé à une température voisine de 220° C. Lorsqu'un injecteur de type «split-splitless» est utilisé, il est recommandé d'utiliser un tube de quartz ou, à défaut, un tube désactivé au moyen d'un réactif silylant ou par pyrolyse de carbowax 20M. Ce type d'injecteur permet un transfert rapide de l'échantillon sur la colonne mais favorise, en raison de la température et de la présence d'oxygène dissous dans l'extrait injecté, des réactions d'isomérisation ou de dégradation de molécules labiles. D'autre part, des catalyses métalliques peuvent se produire lors du contact entre les molécules vaporisées et la surface chauffée de l'aiguille de la seringue. L'injecteur «on column» pallie à cet inconvénient car il permet un dépôt de l'échantillon sous forme liquide à l'intérieur d'une précolonne froide. D'autre part, il permet d'obtenir des résultats quantitatifs plus précis qu'avec l'injecteur classique «split-splitless». L'utilisation d'une précolonne (30 cm par μl injecté) est fortement conseillée dans le double but d'améliorer la résolution chromatographique (GROB et SCHILLING, 1987) et d'éviter la pollution de la colonne par des substances non volatiles toujours présentes à l'état de traces dans l'extrait.

Les colonnes capillaires de quartz à phase greffée actuellement disponibles sur le marché ne posent que très peu, ou pas de problèmes d'inertie chimique. Par contre, l'utilisateur peut être déconcerté devant la multitude de phases différentes disponibles. En réalité, le pouvoir séparateur de ces colonnes est tel que l'utilisation d'une ou deux phases différentes permet facilement de quantifier la majorité des constituants volatils du vin. Les phases les plus utilisées sont les diméthylsiloxanes (OV1, SE30...) ou méthylphénylsiloxanes (DB30...). Néanmoins, l'abondance de composés de polarité moyenne comme les alcools supérieurs ne permet pas d'obtenir des séparations optimales avec ce type de phases. On choisit donc plus volontiers des phases constituées

de cyanopropylphenylpolysiloxanes (DB 1701...) ou encore plus polaires avec les polyethylèneglycols (carbowax 20M, DBWAX, CPWAX...). Lorsque l'analyse d'une fraction contenant les composés acides du vin est effectuée à part, la majorité des auteurs optent pour une séparation sur phase apolaire des dérivés triméthylsilylés ou méthylés. Cette méthode présente l'inconvénient d'ajouter encore une étape à l'analyse (celle de la dérivatisation) en diminuant la précision des mesures. D'autre part, elle interdit une détection olfactive des composés au fur et à mesure de leur élution du chromatographe puisque la structure chimique des constituants de l'extrait est modifiée. Nous préconisons donc l'emploi d'une phase type FFAP (OV 351 par exemple) qui permet d'analyser, sous forme libre, tous les constituants de ces extraits (acides et phénols principalement) et d'en apprécier l'odeur.

En ce qui concerne les détecteurs, des améliorations sont constamment apportées en ce qui concerne leur sensibilité, mais le détecteur le plus utilisé reste le détecteur à ionisation de flamme, non spécifique, et les détecteurs à photométrie de flamme, à thermoionisation et à capture d'électrons pour les dérivés soufrés, azotés et halogénés.

La complexité des extraits aromatiques du vin nécessite souvent un fractionnement préalable. En raison de la nature polaire des alcools qui constituent souvent un facteur de limitation à la concentration de l'extrait solvant, une séparation sur acide silicique est préconisée, permettant d'obtenir un nombre plus ou moins grand de fractions contenant des molécules de polarité croissante (PALMER, 1973). Un autre fractionnement dont nous avons déjà parlé consiste à saponifier, puis à régénérer, les phénols et les acides afin de les analyser séparément des constituants neutres (BROCK et *al.,* 1984; ÉTIÉVANT, 1981).

Deux autres techniques doivent être citées bien que n'ayant fait, à notre connaissance, l'objet d'aucune application dans le domaine des constituants volatils du vin.

La première de ces techniques est la chromatographie liquide haute performance classique ou semi-préparative qui a été surtout utilisée pour le fractionnement des constituants terpéniques des huiles essentielles (CHAMBLEE et *al.,* 1985; KUBECZKA, 1981 : MORIN et *al.,* 1986; STEWARD et ROSS, 1978). Ces applications restreintes s'expliquent par la sélectivité des détecteurs ultraviolet couramment utilisés en raison de leur sensibilité. Dans le vin, seules quelques molécules comme les dérivés terpéniques, benzéniques et polyènes et dérivés cétoniques insaturés conjugués possèdent des chromophores pouvant être détectés dans l'ultraviolet. Par contre, on peut parfaitement envisager d'effectuer un fractionnement systématique de l'éluat, puis de regrouper les fractions consécutives ayant une odeur analogue avant de les analyser.

La deuxième technique appelée chromatographie à deux dimensions ou «heart cutting» permet le dosage direct de substances présentes à l'état de trace dans un extrait, et qui ne peuvent être normalement dosées par chromatographie en phase gazeuse en raison de masquages par des pics plus importants. Plusieurs systèmes permettant de réaliser une telle opération ont été décrits dans la littérature et leurs performances testées par GORDON et *al.,* (1985). La figure 8 reproduit le système le plus simple décrit. Il consiste en une vanne Valco, sans volume mort, connectée à deux

colonnes chromatographiques de polarités différentes et placées dans des fours séparés. L'extrait est injecté dans la première colonne où il subit une première séparation. A l'instant où le composé à doser et les autres substances interférant avec lui sont élués de la colonne, ils sont envoyés dans la deuxième colonne par rotation de la vanne, et y subissent une deuxième séparation. Ce système a notamment permis à VAN INGEN et *al.*, (1987) de doser le carbamate d'éthyle directement à partir d'un extrait au dichlorométhane de la boisson alcoolisée.

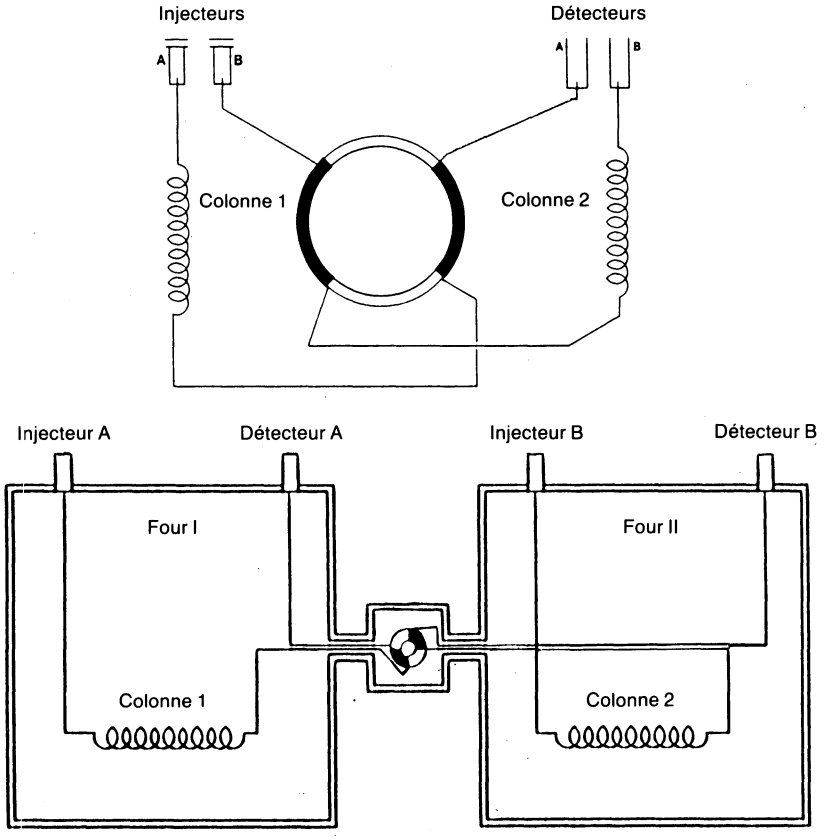


Fig. 8. — Schéma de couplage de deux colonnes chromatographiques de polarités différentes.

CONCLUSION

Ce rappel des différentes techniques permettant de doser l'arôme des vins met bien en évidence que l'on ne peut espérer, en une seule analyse, doser tous les constituants volatils du vin. Ceci serait en effet aussi utopique que d'espérer doser en une seule fois tous les constituants fixes du vin. On doit donc mettre au point des techniques de référence permettant de doser séparément les esters, les lactones, les acides et les phénols, les constituants volatils majeurs..., de la même façon que l'on dose les

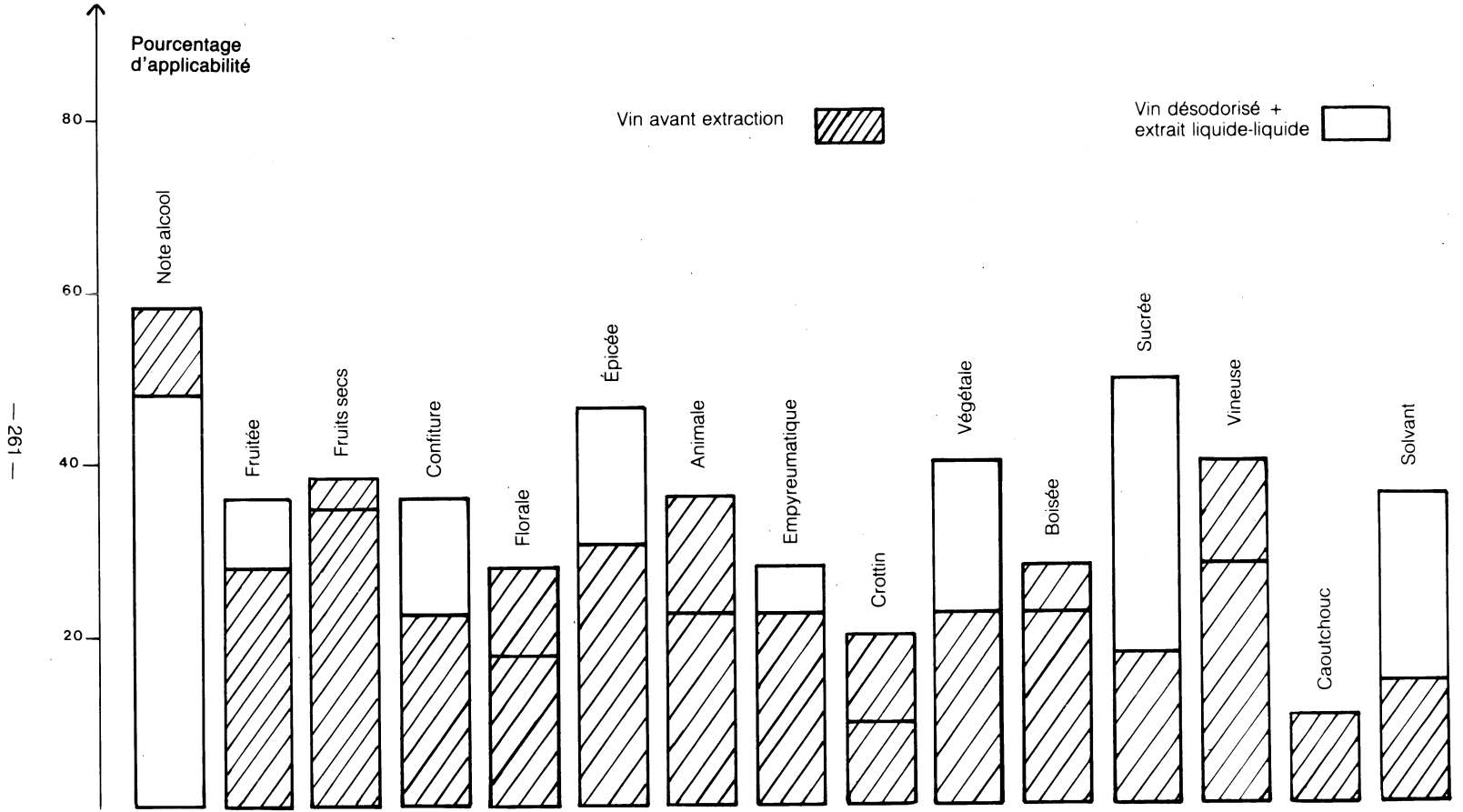


Fig. 9 — Histogramme de l'analyse sensorielle par profils d'un vin de Bourgogne et de son extrait liquide-liquide redilué.

anthocyanes, les substances minérales, les acides organiques et les acides aminés séparément. Il faut toutefois faire attention à un problème fondamental qui est très rarement considéré par les analystes. La validité du travail d'analyse effectué sur l'arôme d'un vin n'existe que si l'extrait obtenu a une odeur représentative du produit étudié. Les interprétations tirées d'une analyse instrumentale, même réalisée parfaitement, ne pourront être crédibles que si les caractéristiques olfactives du vin se retrouvent inchangées dans l'extrait. La figure 9 montre que cette condition est loin d'être satisfaite lorsque l'on utilise l'une des techniques les plus courantes, l'extraction liquide-liquide continue, pour étudier l'arôme d'un vin de Bourgogne. Cette expérience a été réalisée au moyen d'un jury de 12 personnes entraînées a qui l'on avait demandé de noter 15 descripteurs olfactifs. Les deux échantillons testés sont le vin d'une part et un extrait aromatique de ce vin que l'on a redilué dans un vin complètement désaromatisé (au moyen d'une extraction par le CO_2 en phase supercritique). Une augmentation notable des caractères confiture, épicé, végétal et surtout sucré, ainsi qu'une perte des caractères vineux, floral, crottin et animal peuvent être notées dans l'extrait redilué. Il est possible que le fait d'isoler les substances volatiles permette une oxydation de certaines molécules qui se trouvaient protégées dans le vin par des anti-oxydants naturels comme les polyphénols. De plus, on sait que le phénomène de concentration dans le solvant organique peut entraîner entre autres des réactions d'estérification, de trans-estérification ainsi que la formation d'acétals. Une étude plus poussée de ces phénomènes méconnus et incontrôlés semble donc indispensable dans la progression de la connaissance des substances responsables de certaines caractéristiques olfactives des vins.

Manuscrit reçu le 14 Septembre 1987; accepté pour publication le 12 Octobre 1987.

RÉSUMÉ

Les différentes techniques d'extraction et de séparation des constituants de l'arôme des vins sont décrites et leurs avantages, inconvénients et domaines d'application mis en évidence.

Les techniques d'extraction mettant en jeu un solvant en phase liquide ou supercritique, une distillation ou une concentration de l'espace de tête sont successivement étudiées. En ce qui concerne les séparations des constituants des extraits, l'accent est mis sur le type de phases à utiliser en CPV et sur les techniques de préfractionnement des extraits aromatiques par HPLC et chromatographie en deux dimensions.

La difficulté d'obtenir un extrait olfactivement représentatif de l'arôme du vin est mis en évidence par l'analyse sensorielle.

SUMMARY

The different extraction and separation techniques used for studying volatile wine constituents are described with their advantages, disadvantages and specificity of application. Different extraction techniques involving a solvent in the liquid or supercritical phase, a distillation step or a concentration of the head-space are successively reviewed. Concerning separation of volatile constituents, some emphasis was given to the type of GC phase which an the most suitable and to different HPLC or two dimensional GC techniques which can be used to get more simple fractions from the crude extract. The author outlines from result of sensory analysis the importance and difficulty to obtain an extract the odour of which is similar to that of the wine.

ZUSAMMENFASSUNG

Die verschiedenen Extrahier- und Separationstechniken der Bestandteile des Weinaromas werden beschrieben und deren Vorteile, Nachteile und Anwendungsgebiete hervorgehoben.

Die Extrahiertechniken die einen Solvent in flüssiger oder superkritischer Phase, eine Distilation oder eine Konzentrierung des Kopfraumes einsetzen werden nacheinander untersucht.

Was die Separation der Bestandteile des Extraktes anbelangt, wurde besondern Wert auf den bei Gaschromatographie zu verwendenden Fliessmitteltyps und auf die Techniken der Vorfraktionierung des Aromatischen Extraktes durch HPLC und durch zweidimensionale Chromatographie gelegt.

Die Schwierigkeit ein geruchsmässig repräsentatives Extrakt der Weinaromen zu bekommen wurde durch sensorische Analyse hervorgehoben.

RIASSUNTO

Le differenti tecniche d'estrazione e di separazione dei costituenti degli aromi dei vini sono descrite ed i loro vantaggi, inconvenienti ed applicazioni sono messi in evidenza.

Le tecniche d'estrazione che comportano un solvente in fasi liquida o supercritica, una distillazone o una concentrazione dello spazio di testa sono successivamente studiate. Per quanto riguarda le separazioni dei costituenti degli estratti, l'accento é posto sul tipo di fasi da utilizzare in CPV e sulle tecniche di prefrazionamento degli estratti aromatici con HPLC e cromatografia in due dimensioni.

La difficoltá che esiste per ottenere un'estratto olfattivamente rappresentativo dell'aroma del vino é messo in evidenza da l'analisi sensoriale.

BIBLIOGRAPHIQUES

BERGER M., SAGI F. et CERLES B. (RHONE-POULENC S.A.). Brevet d'invention n° 8109894 du 14 mai 1981.

BROCK M.L., KEPNER R.E. et WEBB D.A., 1984. Comparison of volatiles in a Palomino wine and a submerged culture flor sherry. *Am. J. Enol. Vitic.,* 35, 151-155.

BUZER H.R., ZANIER C. et TANNER H., 1982. Identification of 2,4,6, trichloroanisole as a potent compound causing cork taint in wine. *J. Agric. Food Chem.,* 30, 359-362.

CHAMBLEE T.S., CLARK B.C., RADFORD T. et IACOBUCCI G.A., 1985. General method for the high-performance liquid chromatographic prefraction of essential-oils and flavour mixtures for gas-chromatographic-mass-spectrometric analysis. *J. Chromatogr.,* 330, 141-151.

COBB C.S. et BURSEY M.M., 1976. Comparison of extracting solvents for typical volatile components of eastern wines in model aqueous alcoholic systems. *J. Agric. Food Chem.,* 26, 197-199.

DUCRUET V., 1984. Comparison of the head-space volatiles of carbonic maceration and traditionnal wine. *Lebensm. Wiss.-u. Technol.,* 17, 217-221.

ÉTIÉVANT P.X., 1981. Volatile phenol determination in wine. *J. Agric. Food Chem.,* 29, 65-67.

ÉTIÉVANT P.X. et BAYONOVE C.L., 1983. Aroma components of pomaces and wines from the variety Muscat de Frontignan. *J. Agric. Food. Chem.,* 34, 393-403.

FORSS D.A. et HOLLOWAY G.L., 1967. Recovery of volatile compounds from butter oils. *J. am. oil Chem.,* 44, 572-575.

GORDON B.M., RIX C.E. et BORGERDING M.F., 1985. Comparison of state-of-the-art column switching techniques in high resolution gas chromatography. *J. Chromatogr. Sci.,* 23, 1-10.

GROB K. et SCHILLING B., 1987. Uncoated capillary column inlets (retention graps) in gas chromatography. *J. Chromatogr.,* 39, 3-18.

GUNTERT M., RAPP A., TAHEOKA G.H. et JENNINGS W., 1986. HRGC and HRGC-MS applied to wine constituents of lower volatility. *Z. Lebensm. Unters. Forsch., 182, 200-204.*

KUBECZKA K.H., 1981. Application of HPLC for the separation of flavour compounds in "Flavour 81", Schreier P. Ed, Walter de Gruyter, Berlin.

LOYAUX D., ROGER S. et ADDA J., 1981. The evolution of champagne volatiles during ageing. *J. Sci. Food Agric.,* 32, 1254-1258.

MORET I., SCARPONI G. et CESCON P., 1984. Aroma components as discriminating parameters in the chemometric classification of venetian white wines. *J. Sci. Food Agric.,* 35, 1004-1011.

MORIN Ph., CAUDE M., RICHARD H. et ROSSET R., 1986. Semipreparative separation of terpenoids from essential oils by high-performance liquid chromatography and their subsequent identification by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.,* 363, 57-69.

NISHIMURA K. et MASUDA M., 1984. Identification of some flavor characteristic compounds in alcoholic beverages in *"Flavour research of alcoholic beverages"*. Nykänen L. et Lethonen P. Eds, Helsinki.

PALMER J.K., 1973. Separation of components of aroma concentrates on the basis of fonctional group: Aroma quality. *J. Agric. Food Agric.,* 21, 923-925.

RAPP A. et KNIPSER W., 1980. Eine neue methode zur anreicherung von dampfkomponenten. Dargestellt am beispiel des weines. *Chromatographia,* 13, 698-702.

RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., 1961. *Traité d'œnologie* Tome II. Beranger C.H. Éd. Librairie polytechnique, Paris.

SCHREIER P., DRAWERT F. et ABRAHAM K.O., 1980. Identification and determination of volatile constituents in burgundy *Pinot noir* wines. *Lebens. Wiss.-u. Technol.,* 13, 318-321.

SHIMIZU J.I., 1982. Identification of volatiles in grape musts and characteristic terpenoid constituents. *Agric. Biol. Chem.,* 46, 2265-2274.

STEWARD M. et ROSS F., 1978. Application of high-performance liquid chromatography to the analysis of volatile oils. *J. Chromatogr.,* 160, 199-204.

VAN INGEN R.H., NIJSSEN L.N., VAN DER BERG F. et MAARSE H., 1987. Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages by two-dimensional gas-chromatography. *J.H.R.G.C. & C.C.,* 10, 151-152.

WILLIAMS A.A., LEWIS M.J. et MAY H.V., 1983. The volatile flavour components of commercial port wines. *J. Sci. Food Agric.,* 34, 311-319.