

## CARACTÉRISATION DES PROFILS VOLATILS DES VINS : LE POTENTIEL DE LA CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE COMBINÉE A LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE HR

### Introduction

Les vins sont caractérisés par la présence de nombreux composés volatils qui ont un impact important, tant positif que négatif, sur les propriétés organoleptiques. La composition de la fraction volatile fait en effet partie des facteurs cruciaux qui déterminent les caractéristiques sensorielles du produit final, influençant directement sa qualité.

Une méthodologie analytique qui donne la possibilité de caractériser, dans le cadre du contrôle de la qualité, tous les composés volatils de manière précise et détaillée est donc souhaitable. En fait, cela permet, en combinaison avec des techniques d'olfactométrie, d'identifier les composés responsables du goût et de l'arôme du vin et de corréliser leur présence avec des facteurs tels que le type de raisin, l'origine géographique, le climat, la transformation, etc.

D'un point de vue analytique, cela présente des difficultés en raison du grand nombre de composés présents - de l'ordre de plusieurs centaines - appartenant à de nombreuses classes chimiques (alcools, aldéhydes, esters d'acides gras, etc.)

La chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle totale (GCxGC) représente un choix stratégique en matière de pouvoir de séparation grâce à l'utilisation de deux colonnes analytiques indépendantes, et donc de deux sélectivités différentes, dans une seule analyse. Cette approche permet de réduire considérablement le nombre de coélutions et de séparer efficacement un plus grand nombre d'analytes, en les distribuant dans un plan bidimensionnel selon une logique chimique précise régie par leurs propriétés physico-chimiques.

Dans cette note d'application, nous souhaitons illustrer l'excellent potentiel de la GCxGC basée sur la modulation thermique combinée à la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) afin d'identifier, de manière non équivoque, les analytes volatils présents dans le vin.

Pour cette étude, un chromatographe en phase gazeuse Agilent 8890 équipé d'un modulateur thermique avec de l'azote liquide comme réfrigérant (modulateur thermique de type boucle ZX1 - Zoex Corporation) a été utilisé en combinaison avec un détecteur QTOF Agilent 7200B en mode balayage complet. Les données GCxGC ont été visualisées et traitées à l'aide du logiciel GC Image HR (Zoex Corporation).



*Système Agilent GCxGC-QTOF de dernière génération avec modulateur thermique Zoex*

# CARACTÉRISATION DES PROFILS VOLATILS DES VINS : LE POTENTIEL DE LA CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE COMBINÉE A LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE HR

## La technique GCxGC avec modulation thermique

Le cœur du système est l'interface positionnée entre les deux colonnes, le modulateur. Celui-ci accumule, concentre et réinjecte rapidement des fractions de l'éluant de la colonne primaire (1D) dans la colonne secondaire (2D), où un processus de séparation supplémentaire a lieu. Ceci est répété tout au long du cycle chromatographique, de façon continue et intermittente, selon un temps défini, de l'ordre de quelques secondes, appelé période de modulation.

Le principe de fonctionnement basé sur une double focalisation cryogénique, avec remobilisation thermique conséquente des molécules, permet de minimiser la bande de réinjection et de générer des pics extrêmement fins, maximisant la résolution chromatographique. Un choix approprié des phases stationnaires et de la géométrie des colonnes permet d'optimiser l'efficacité de la technique et le nombre de pics 2D qui peuvent être séparés dans l'espace chromatographique.

## La plateforme GCxGC-QTOF et les profils volatils

La technique GCxGC-QTOF est une solution éprouvée pour la caractérisation efficace et détaillée des mélanges (semi-)volatils. La résolution et la sélectivité typiques des séparations GCxGC, qui permettent de réduire les coélutions et donc d'obtenir des spectres plus propres, sont une base idéale pour exploiter pleinement la capacité d'identification de la haute résolution.

Dans les figures 1 et 2 page suivante, il est évident que le pouvoir séparatif de la méthode permet d'obtenir une séparation très informative des fractions volatiles complexes des vins examinés, ici échantillonnés au moyen de la technique de l'espace de tête / SPME. La résolution obtenue sur la phase stationnaire polaire de la colonne secondaire constitue une excellente valeur ajoutée par rapport à la séparation obtenue sur la première dimension non polaire.

## Spectrométrie de masse à haute résolution

Le détecteur QTOF Agilent fournit des données spectrales précises de haute résolution qui permettent de distinguer les ions ayant la même masse nominale mais une masse exacte différente. Des valeurs de masse exactes, avec une précision à la quatrième décimale, sont utilisées pour générer des formules avec des compositions élémentaires compatibles avec un haut degré de précision.

Les correspondances suggérées par la recherche en bibliothèque peuvent être confirmées, ou réfutées, par la correspondance réelle ou l'absence de correspondance entre les formules des molécules proposées et celles générées par la masse exacte acquise expérimentalement. Cela peut accroître considérablement la confiance dans l'identification.



# CARACTÉRISATION DES PROFILS VOLATILS DES VINS : LE POTENTIEL DE LA CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE COMBINÉE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE HR

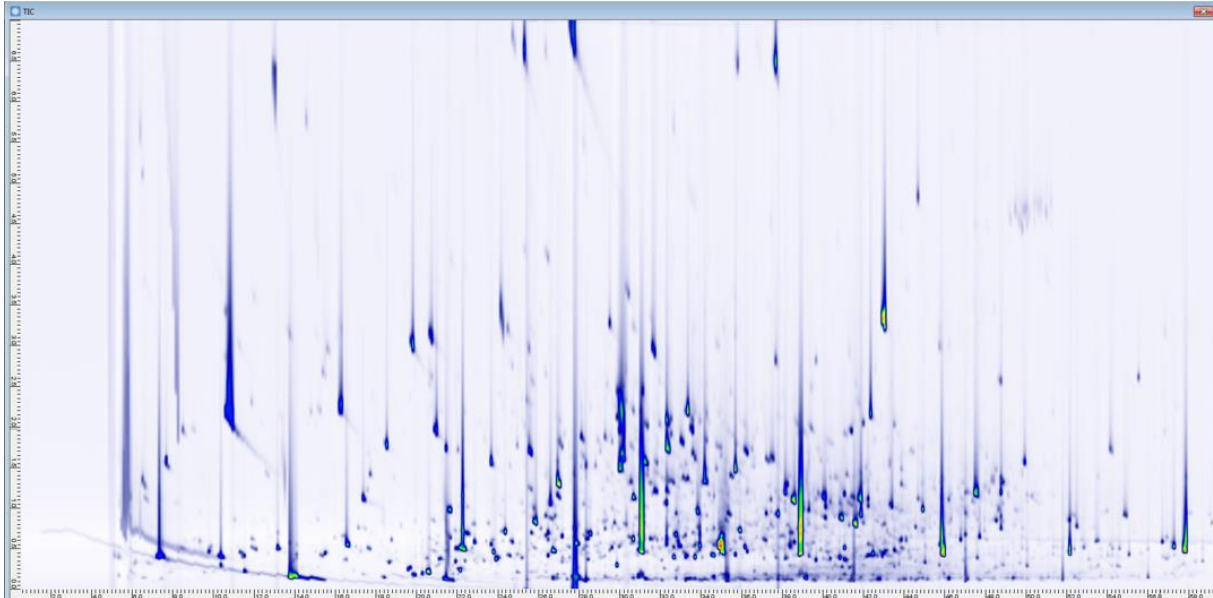


Figure 1 - Chromatogramme 2D obtenu par analyse HS-SPME-GC×GC-QTOF pour un échantillon de vin

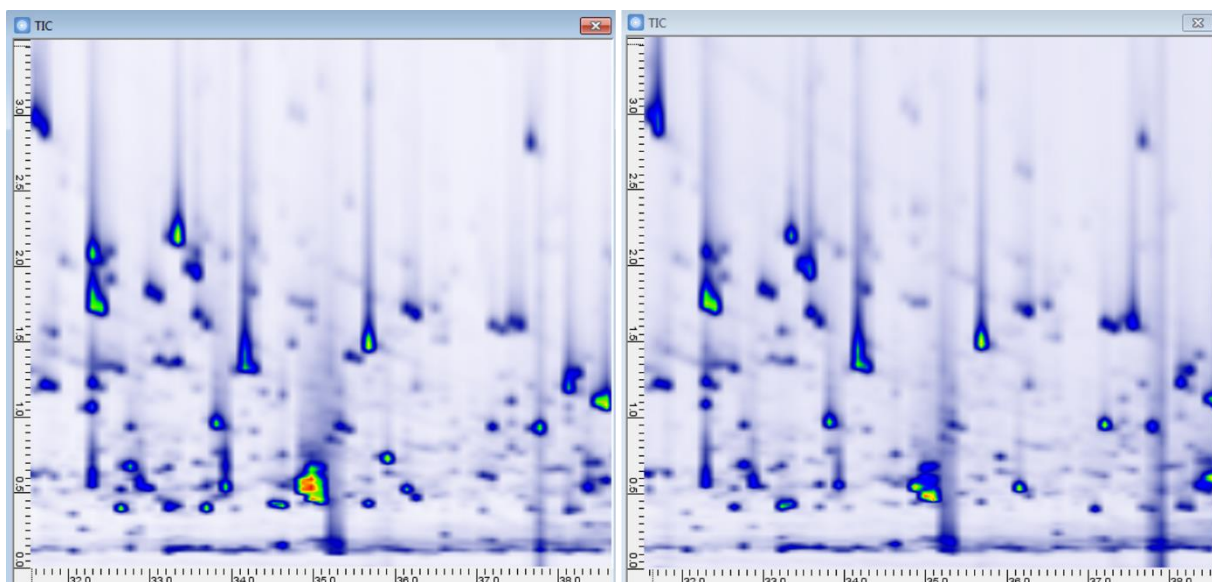


Figure 2 - Détail d'une zone complexe pour deux vins différents.  
Les images 2D peuvent être utilisées pour l'analyse des empreintes digitales.

En raison de leur complexité et de leurs particularités, les modèles de pics 2D sont idéaux pour les analyses d'empreintes digitales. Ils permettent d'identifier des similitudes et des différences, même mineures, de manière rapide et efficace par une comparaison purement visuelle.

# CARACTÉRISATION DES PROFILS VOLATILS DES VINS : LE POTENTIEL DE LA CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE COMBINÉE A LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE HR

Un exemple de la valeur ajoutée apportée par la haute résolution pour la confirmation de l'identité, particulièrement efficace en présence d'hétéroatomes (O, N, S, etc.), est présenté dans les tableaux 1 et 2. Nous donnons ici des preuves, respectivement, du contrôle de la masse de l'ion moléculaire pour les composés du soufre ayant un impact possible sur l'arôme et de la même évaluation pour les multiples fragments présents dans le spectre du pic identifié comme acide dodécanoïque, un composé odoriférant ayant un impact négatif sur l'arôme.

Composé	Formule	Masse théorique	Syrah			Merlot		
			Masse Expérimentale	Différence (mmu)	Erreur (ppm)	Masse Expérimentale	Différence (mmu)	Erreur (ppm)
Dimethyl disulfide	$C_2H_6S_2^+$	93,9905	93,9908	0,27	2,9	93,9903	- 0,2	2,1
Methyl ethyl disulfide	$C_3H_8S_2^+$	108,0062	108,0059	- 0,3	2,8	108,0059	- 0,28	2,6
1,3-Oxathiane	$C_4H_8OS^+$	104,029	104,0293	0,26	2,5	104,0285	- 0,53	5,1
3(2H)-Thiophenone, dihydro-2-methyl-	$C_5H_8S^+$	116,029	116,0292	0,14	1,2	116,0291	0,06	0,5

Tableau 1 - Exemples d'estimation de masse exacte pour l'ion moléculaire des composés du soufre. La masse exacte est extraite au sommet du pic bidimensionnel.

Ion (m/z)	Formule	Masse théorique	Masse Expérimentale	Différence (mmu)	Erreur (ppm)
200 (M <sup>+</sup> )	$C_{12}H_{24}O_2^+$	200,1771	200,1768	- 0,25	1,3
171	$C_{10}H_{19}O_2^+$	171,138	171,1382	0,25	1,5
157	$C_9H_{17}O_2^+$	157,1223	157,1227	0,41	2,6
143	$C_8H_{15}O_2^+$	143,1067	143,107	0,36	2,5
129	$C_7H_{13}O_2^+$	129,091	129,0914	0,4	3,1
115	$C_6H_{11}O_2^+$	115,0754	115,0757	0,3	2,6
101	$C_5H_9O_2^+$	101,0597	101,0597	< 0,01	< 0,1

Tableau 2 - Évaluation multi-fragment de la masse exacte pour le pic identifié comme étant l'acide dodécanoïque, un composé odoriférant ayant un impact négatif sur l'arôme. Les formules associées aux fragments sont déterminées, en tenant compte de la structure moléculaire, en utilisant la fonction MS Interpreter de NIST.

La figure 3 présente un exemple de spectre à identification potentiellement ambiguë à l'aide d'une bibliothèque. Les deux premières correspondances possibles, toutes deux de poids moléculaire nominal 234 m/z, ont un profil spectral et des indices de rétention similaires. La haute résolution permet de distinguer facilement et sans ambiguïté les formules proposées, grâce à la possibilité de différencier la masse des groupes fonctionnels aldéhydiques (CHO<sup>+</sup>, 29,0022 m/z) et éthyliques (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub><sup>+</sup>, 29,0386 m/z).

# CARACTÉRISATION DES PROFILS VOLATILS DES VINS : LE POTENTIEL DE LA CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE COMBINÉE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE HR

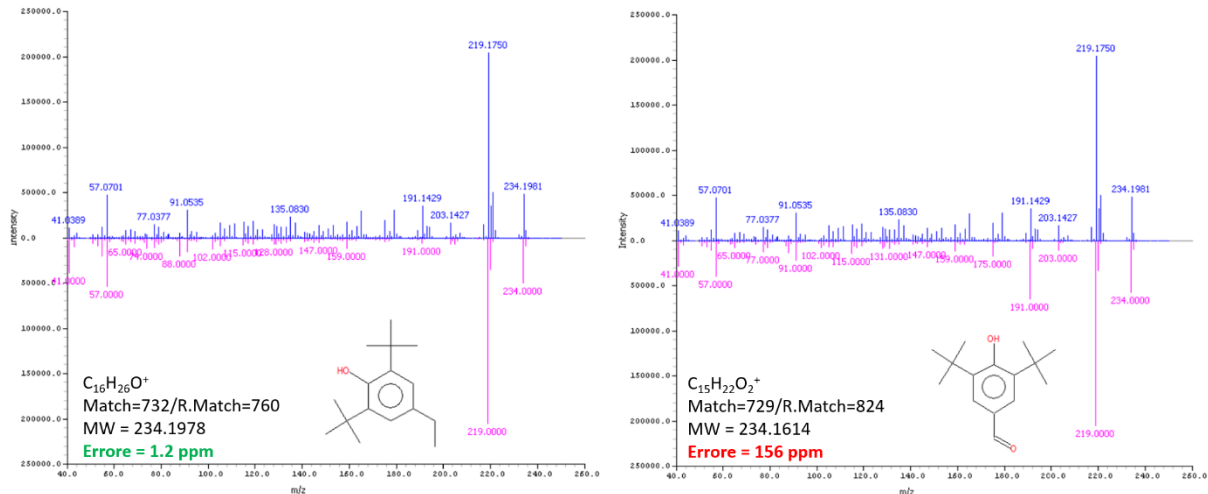


Figure 3 - Exemple d'identification ambiguë à l'aide d'une bibliothèque (NIST) résolue par une masse exacte à haute résolution

Environ 300 pics non soumis à des coélutions ont été identifiés dans les vins analysés sur la base de la correspondance avec la bibliothèque en usage et de la validation de l'identité à l'aide d'indices de rétention ainsi que de la masse exacte de l'ion moléculaire. Une confirmation supplémentaire de l'identification chimique correcte peut être fournie par la position dans l'espace 2D où les différentes classes chimiques et leurs sous-groupes d'homologues sont distribués selon une structure très ordonnée.

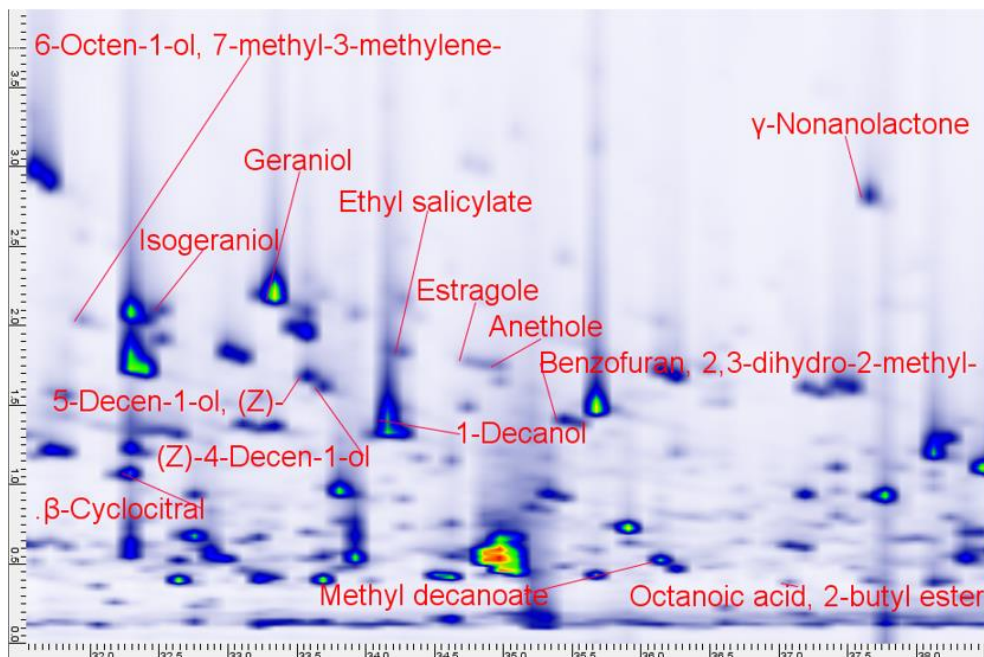


Figure 4 - Exemple de détection non ciblée avec identification correspondante

# CARACTÉRISATION DES PROFILS VOLATILS DES VINS : LE POTENTIEL DE LA CHROMATOGRAPHIE BIDIMENSIONNELLE COMBINÉE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE HR

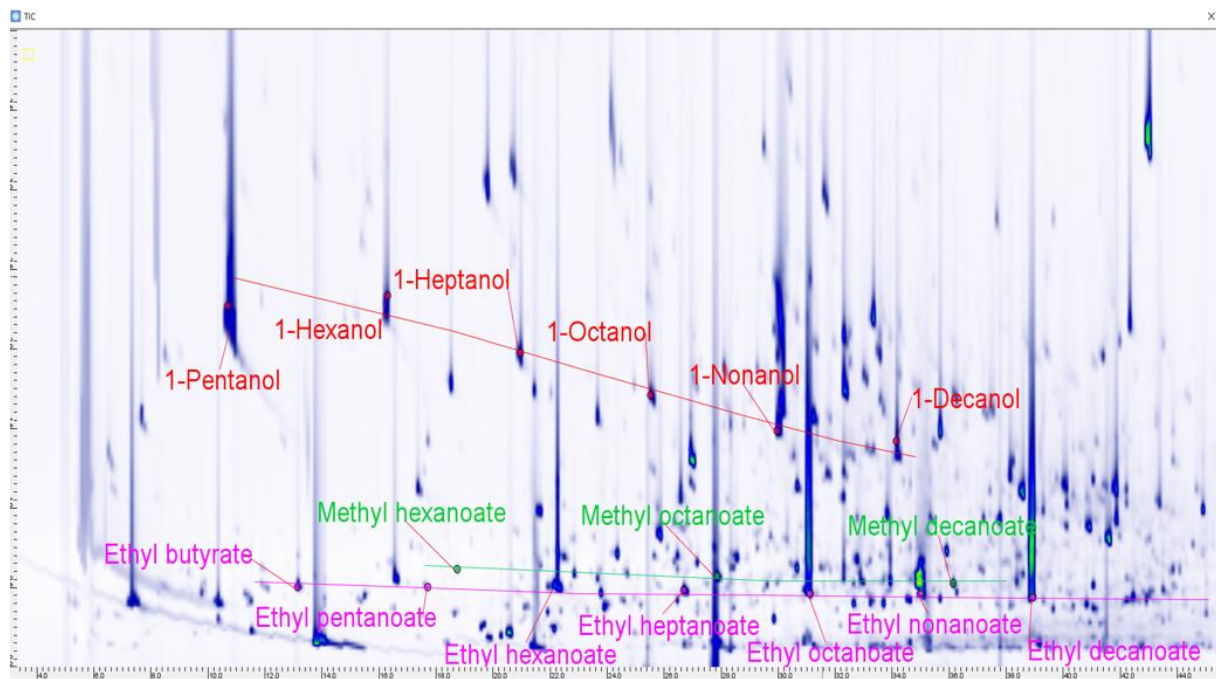


Figure 5 - Exemple de logique chimique dans l'espace 2D. Les classes chimiques et leurs homologues sont soigneusement réparties en fonction de leurs propriétés physico-chimiques (volatilité/polarité).

Groupes : alcools linéaires (rouges) et esters méthyliques (verts) / éthyliques (roses) d'acides gras saturés linéaires.

## Remerciements

Nous tenons à remercier Illva Saronno S.p.A., en la personne du Dr. Dimitri Cagni, pour avoir fourni les données utilisées dans cette note d'application et pour avoir contribué à sa préparation.