



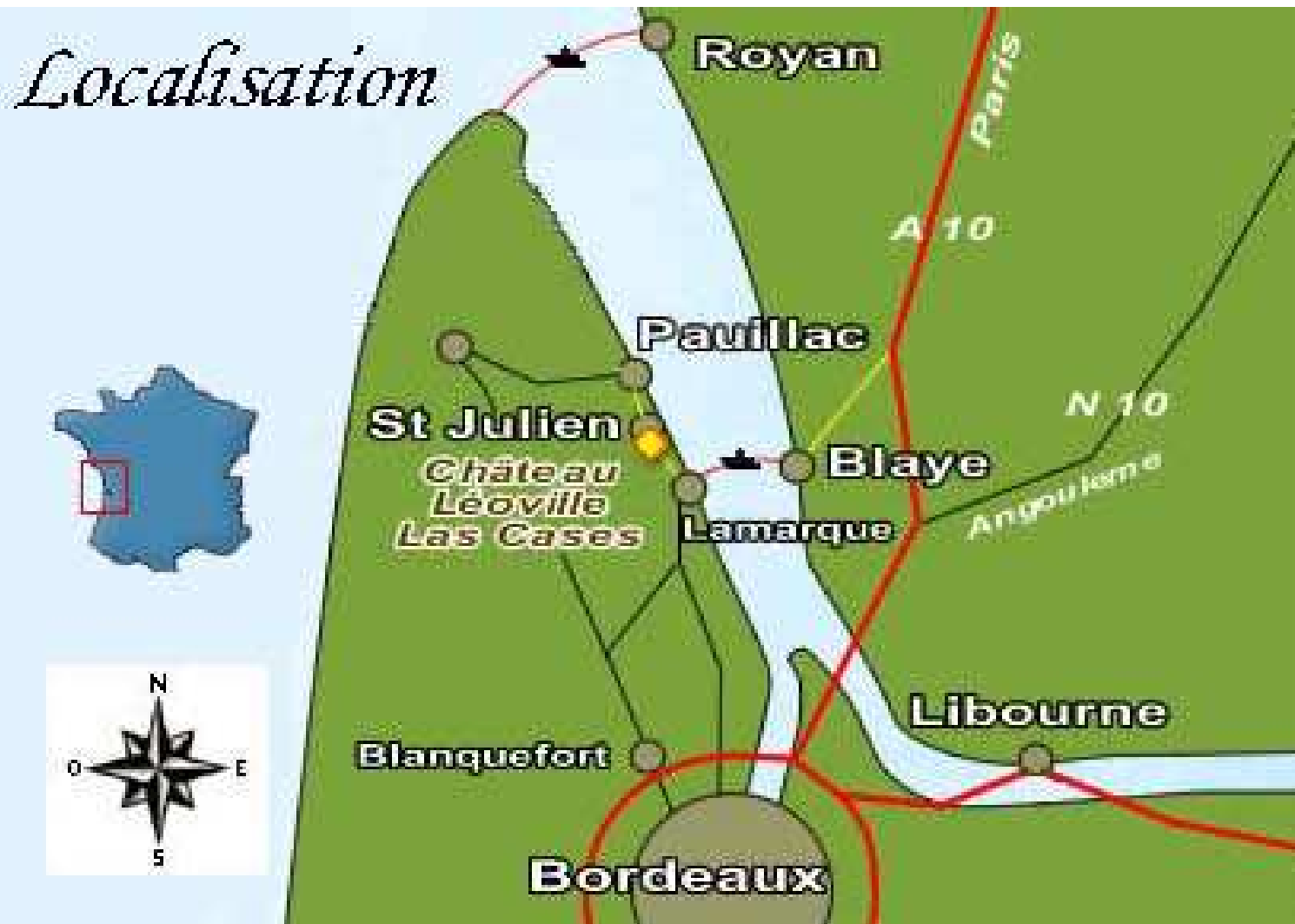
Applications SBSE-GC-MS aux contrôles qualité



dans une propriété Viticole

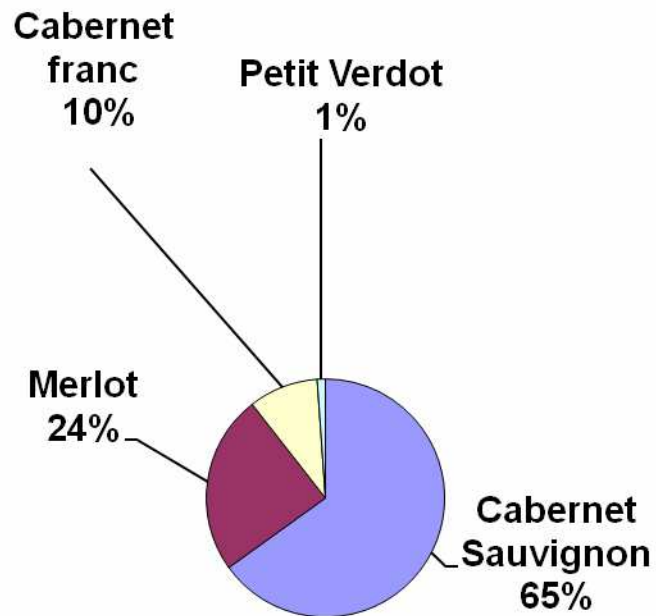
Château Léoville Las Cases

2^d Cru Classé - Saint Julien



Château Léoville Las Cases

- Vignoble de 98 ha
- 4 cépages :



Les pratiques au vignoble...

- Taille en Guyot double
- Maîtrise de la vigueur de la vigne
- Travail du sol ou enherbement : pas d'herbicide
- Pas d'insecticide et d'acaricide (lutte biologique par confusion sexuelle)
- Lutte raisonnée sur les maladies fongiques



Au cuvier...

- Au cours de la Fermentation alcoolique : extraction de la couleur et des tannins par remontage
- Fermentation malolactique uniquement en cuve



Au chai...

- Production de 3 vins
- Élevage traditionnel en barrique entre 14 et 17 mois
- Mise en bouteille par nos soins



Le laboratoire analytique et qualité

- * Initié à partir de 2001
- * Créé pour répondre au déploiement de la démarche HACCP de la propriété.

Analyses œnologiques classiques :

- Degré alcoolique, sucres, acidité totale, acidité volatile, pH (IRTF)
- Anthocyanes, IPT (spectrophotométrie)
- SO₂ Libre et Total (colorimétrie)
- microbiologie (cultures sur milieu, épifluorescence)



Le laboratoire analytique et qualité

Depuis 2004, analyses chromatographiques :



- **Chromatographie ionique**
(acides organiques, sucres réducteurs, ...)



- récemment, **HPLC-MSMS**
(pesticides, tanins, amines biogènes, mycotoxines, ...)



- **2 applications SBSE-GCMS**, pour répondre à des problématiques :

- 1- de contrôles organoleptiques sur les raisins et le vin,
- 2- de contrôles qualité des matières sèches (bouchons, charpentes, barriques...)

Contrôles organoleptiques des raisins, du vin

Dosage de l'IBMP : 3-isobutyl-2-methoxypyrazine (seuil de perception : 15 ng/l)
(marqueur de la note végétale ou de poivron vert, signe de sous maturité)

=> Lors des contrôles de maturité, sur chaque cuve avant et en fin de fermentation.



1-Broyage des
raisins
+ centrifugation,



Ou prélèvement
de moût, vin



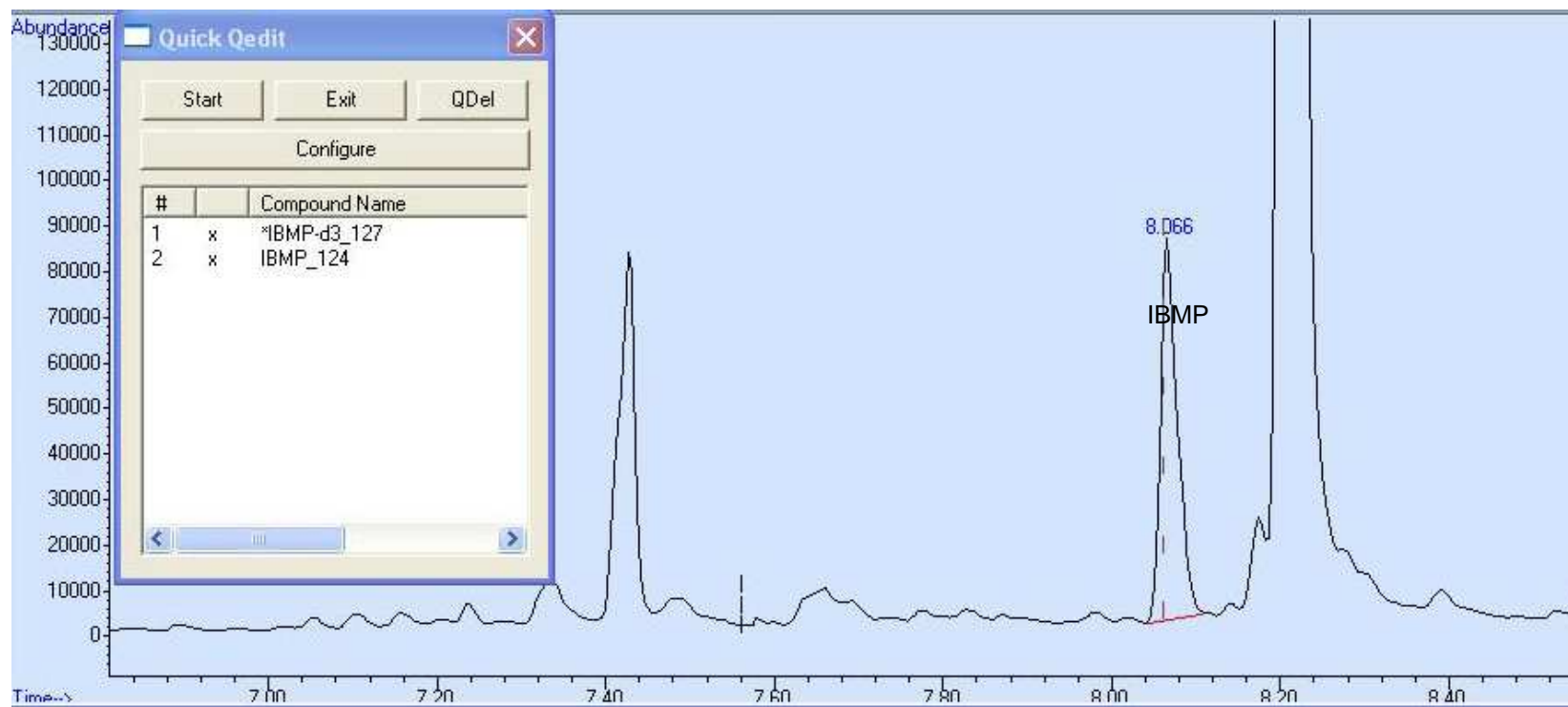
2-Extraction SBSE :
- 20ml d'échantillon + 20ml d'eau,
- Etalon interne : IBMP-d3 (50ng/l)
- agitation 1heure avec un twister
de 20mmx0.5mm.

Contrôles organoleptiques des raisins, du vin

Dosage de l'IBMP (3-isobutyl-2-methoxypyrazine)

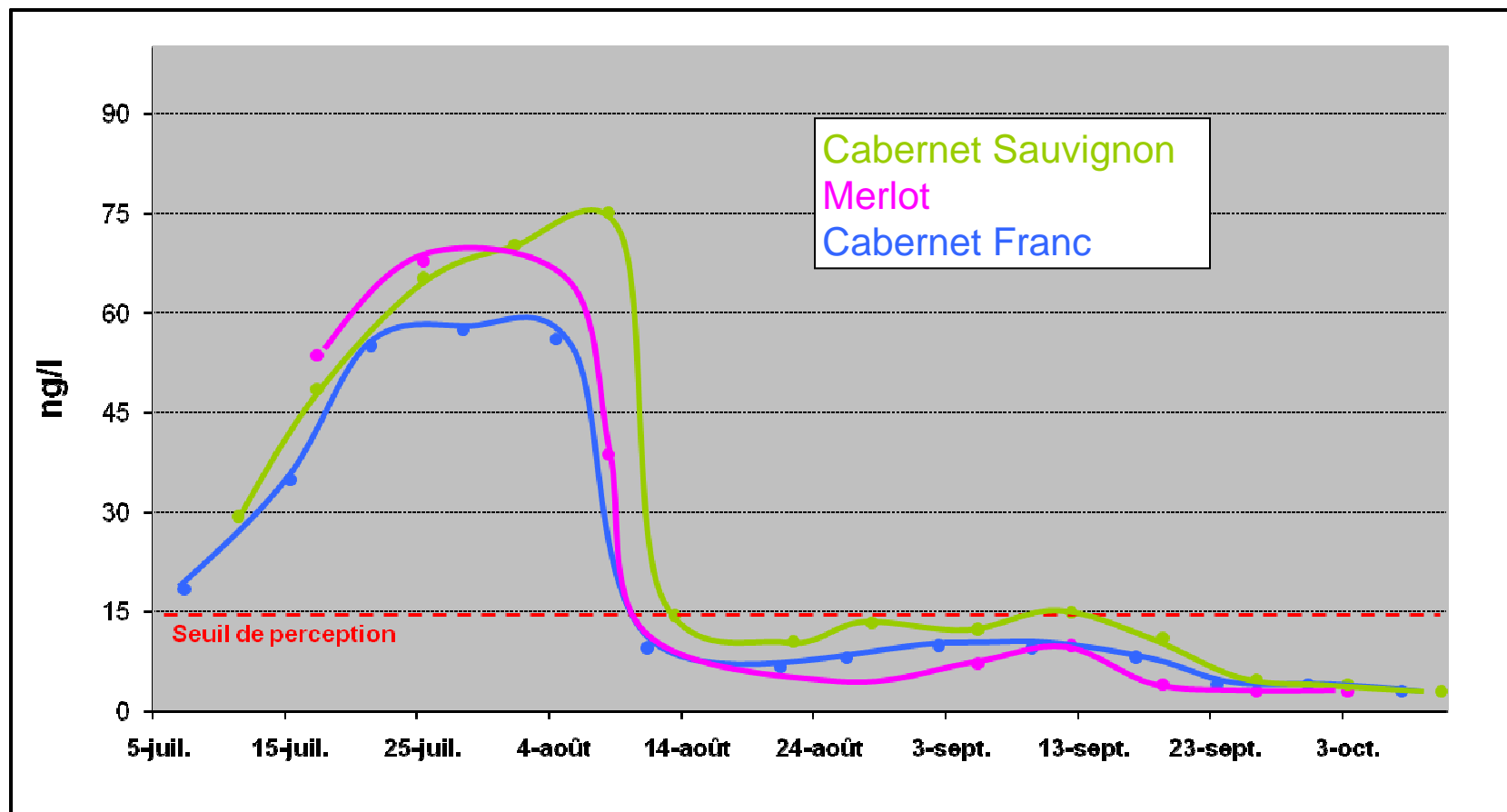
3- Analyse GCMS sur Colonne HP5MS

Run : 21,8 min



Mode SIM :	LD	LQ (ng/l)
IBMP-d3 : ion 127		
IBMP 124		0.6
1.2		

Exemple de suivi IBMP sur LLC 2008



- Augmentation de l'IBMP entre la fermeture de grappe (début juillet) et la véraison (début août).
- Ensuite, dégradation plus ou moins rapide lors de la maturation du raisin en fonction des conditions climatiques du millésime.

Contrôles organoleptiques du vin

Dosage des phénols volatils : 4EP + 4EG (seuil de perception : 400 µg/l)

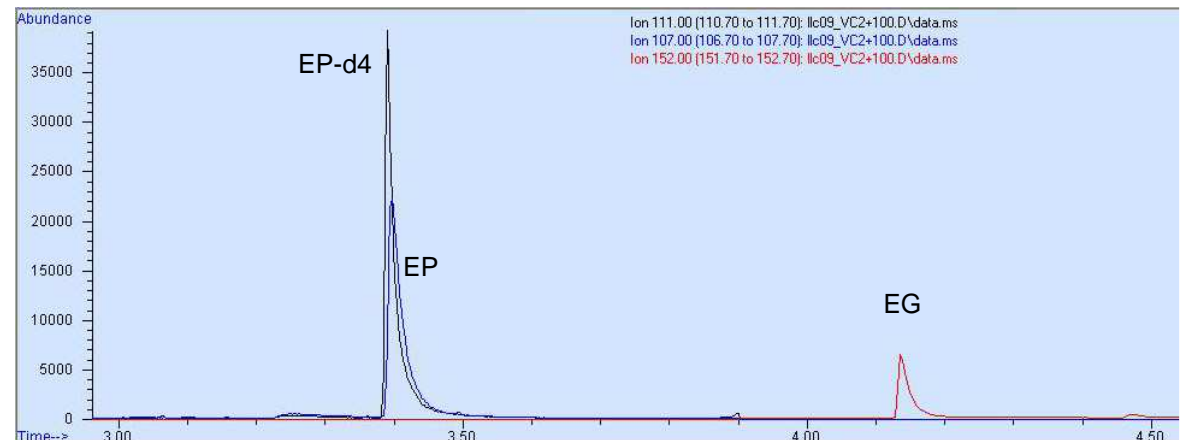
(déviation organoleptique responsable de la note animale liée au développement de levures du genre *Brettanomyces*)

=> Sur les cuves en fin de fermentation, sur chaque vin d'oillage, tous les 15 jours sur 10% du parc de barriques durant l'élevage



1-Extraction SBSE :

- **1ml de vin** dilué dans 100ml d'eau,
- Etalon interne : 4EP-d4 (200µg/l)
- dérivation à l'anhydride acétique,
- agitation 15min avec un twister de 20mmx0.5mm.



2-Dosage par fast GCMS, colonne Rtx 5SilMS

Run : 7,5 min

Mode SIM :

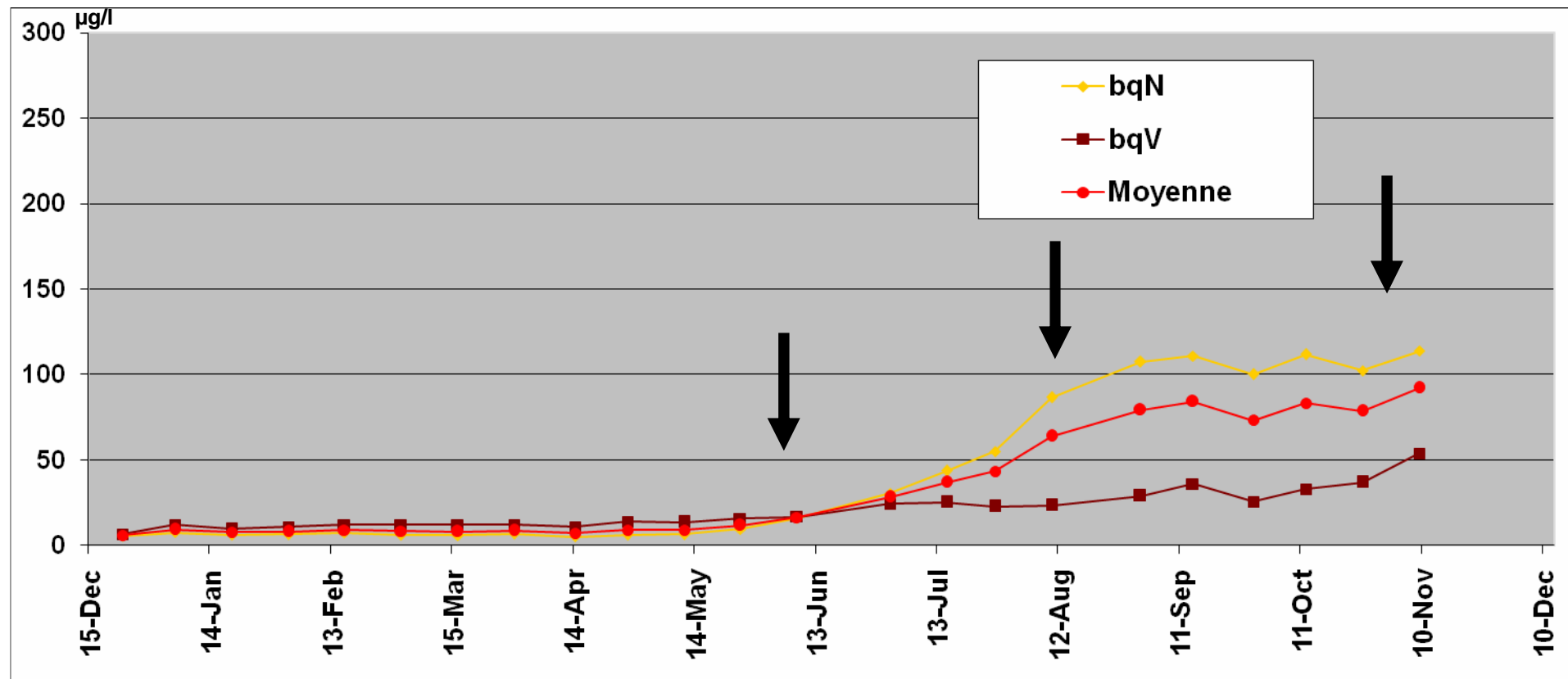
4-ethylphenol-d4 : ion 111

4-ethylphenol : ions 107, 122 1 2.8

4-ethylguaiacol : ions 137, 152 1.3 2

LD LQ (µg/l)

Exemple de suivi Phénols volatils sur LLC 2006



- Généralement, augmentation des phénols au cours de l'été => encadrement par le 1er et le 2ème soutirage
- Par expérience, après le collage des vins (décembre), progression très limitée des phénols jusqu'à la mise en bouteille => Exemple en 2006, phénols à 100 µg/l au 3ème soutirage et lors de la mise en juin proche de 120 µg/l

Contrôle qualité des matières sèches



Les bouchons



Les charpentes



Les barriques

BUT : Prévenir tout risque de contamination extérieure

- gouts de bouchons (haloanisoles)
- aéro-contaminations provenant de traitements des bois ou charpentes (haloanisoles, halophénols, pesticides...)



Travail sur une matrice solide

Contrôle qualité des matières sèches

Développement de 2 protocoles d'extraction

1- « **Extraction passive** » par macération :
utilisée sur les bouchons

10 bouchons macérés 24h
dans 500ml de simili vin



Dosage des haloanisoles relargables



2- « **Extraction active** » par le système ASE (Dionex) :
utilisée sur les bouchons et copeaux de bois

Extraction par un solvant sous
pression (100 bars) et à haute
température (maxi 180°C)



Dosage des haloanisoles, halophénols totaux



Contrôle qualité des matières sèches

Extraction SBSE pour le dosage des haloanisoles relargables :

- 100ml de macérat,
- Etalon interne TCA-d5 (10ng/l),
- Agitation 2 heures avec un twister 20mmx0.5mm



Extraction SBSE pour le dosage des haloanisoles, halophénols totaux :

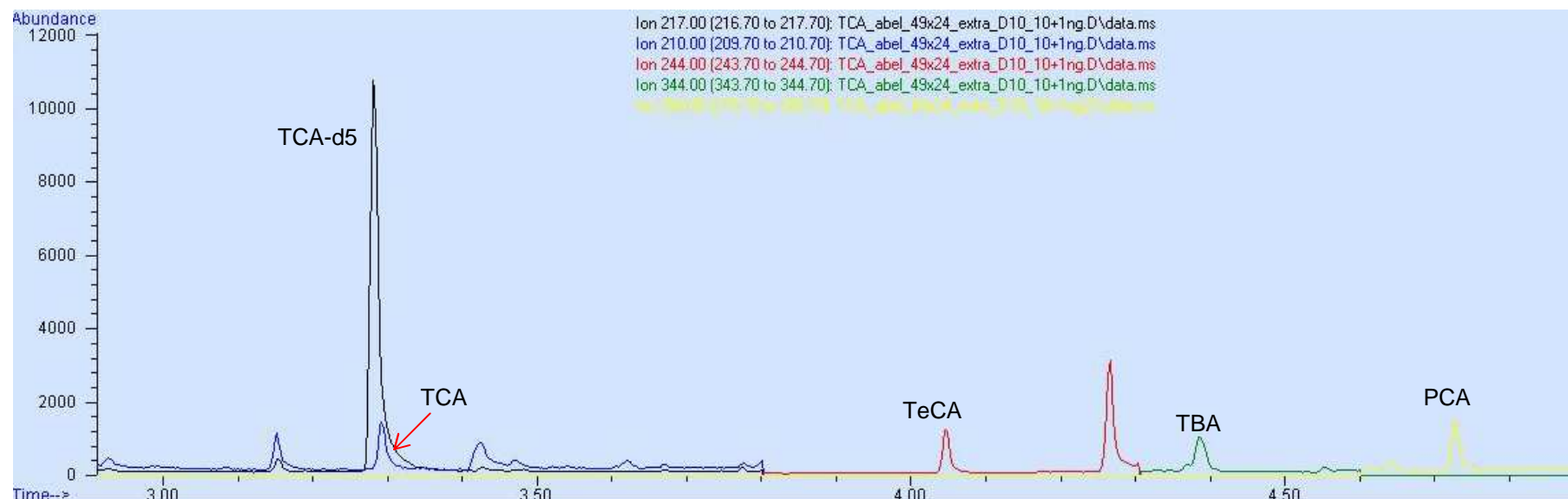
- Volume variable de l'extrait ASE,
- EI : TCA-d5 (10ng/l) pour les haloanisoles,
TCP-d2 (200 ng/l) pour les halophénols.
- Dérivation à l'anhydride acétique pour les halophénols
- Agitation 2 heures avec un twister 20mmx0.5mm



Contrôle qualité des matières sèches

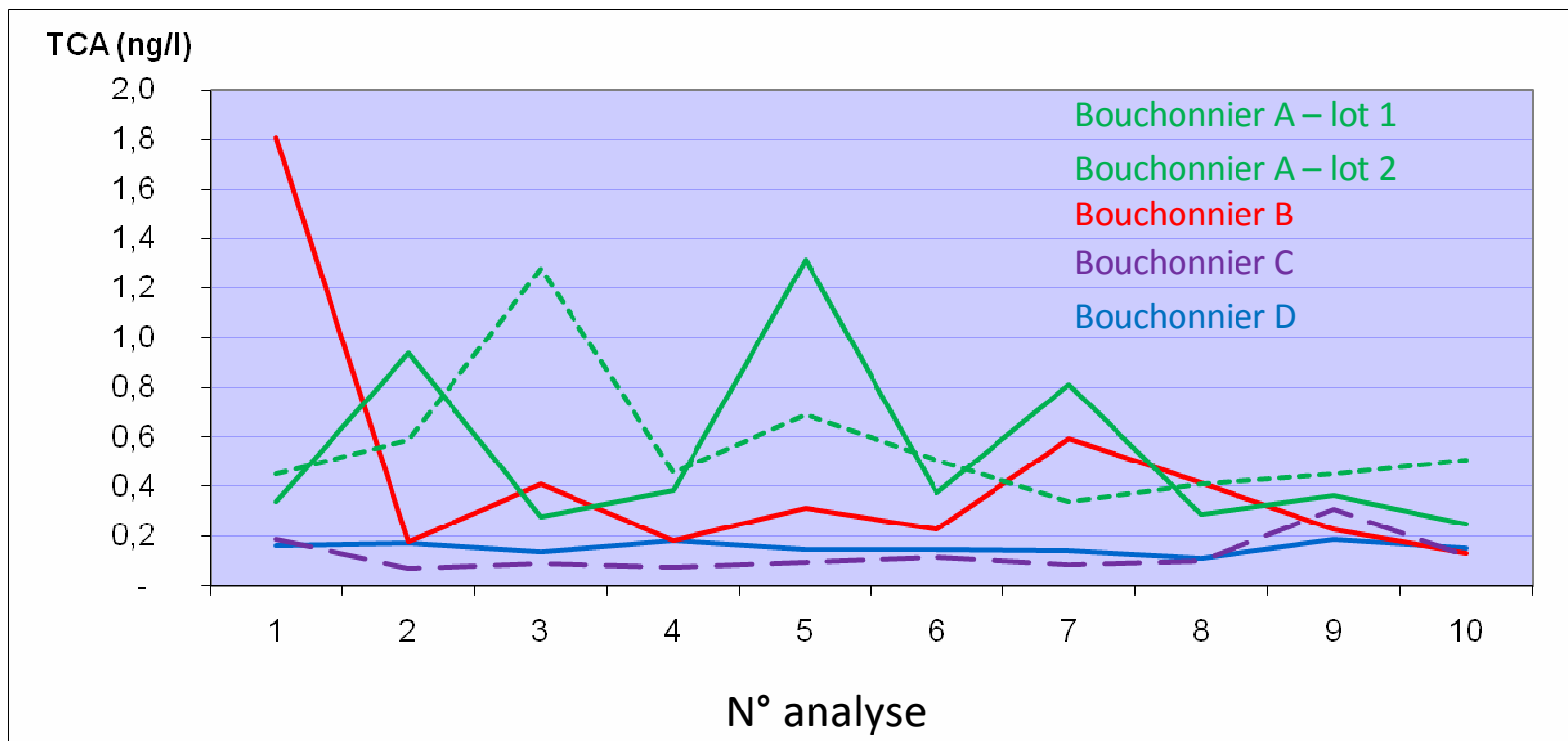
Dosage des haloanisoles par fast GCMS sur colonne Rtx 5Sil MS :

Run : 7,4 min



			LD	LQ (ng/l)
Mode SIM	2,4,6 Trichloroanisole-d5 :	ion 217		
	2,4,6 Trichloroanisole	ions 210,212	0,1	0,2
	2,3,4,6 Tetrachloroanisole	ions 244, 246	0,2	0,4
	2,4,6 Tribromoanisole	ions 344, 346	0,1	0,2
	Pentachloroanisole	ions 278, 280	0,2	0,4

Exemple d'analyses de TCA relargable sur des agrégats de bouchons liège 54x24



- Paramètre important dans le choix de nos achats de bouchons
- Visualisation de l'homogénéité d'un lot de bouchons en TCA relargable : achat ou refus
- Diminution de la valeur limite d'acceptation d'un lot à 1 ng/l afin de diminuer le risque de contamination

Conclusion

Application SBSE apporte une solution efficace dans le suivi de nos vins et de nos approvisionnements en Matières sèches :

- Anticipation de problèmes
- Renforcement des CDC pour les achats de bouchons et de barriques

Avantages de la SBSE :

- Facilité d'utilisation
- Polyvalence
- Sensibilité

Inconvénient de la SBSE :

- dérivation pour l'extraction de composés polaires

Merci pour votre attention

