

Identification d'un thiol fortement odorant, le 2-méthyl-3-furanthiol, dans les vins

par

PATRICIA BOUCHILLOUX, P. DARRIET et D. DUBOURDIEU

Faculté d'Oenologie, Université Victor Segalen Bordeaux II, Talence, France

Résumé : L'extraction de thiols volatils présents dans les vins a été réalisée avec une technique de distillation sous vide à basse température couplée à un piégeage spécifique et réversible de ces composés avec un sel organomercurique, le *p*-hydroxymercuribenzoate. Après décombinaison des thiols en présence d'un excès de cystéine, l'analyse des extraits organiques par chromatographie en phase gazeuse avec divers modes de détection (olfactométrie, photométrie de flamme et spectrométrie de masse) a conduit à l'identification du 2-méthyl-3-furanthiol, un composé fortement odorant (seuil de perception: 0,4-1,0 ng·l⁻¹ dans l'eau), déjà mis en évidence dans le café, la viande cuite et les extraits de levures.

Identification of a very odoriferous thiol, 2 methyl-3-furanthiol, in wines

S u m m a r y : Volatile thiols present in wines were extracted with a vacuum distillation technique at low temperature coupled with a specific, reversible capture by an organomercuric salt (*p*-hydroxymercuribenzoate). After decombination of the thiols with an excess of cystein, the analysis of the organic extracts by gas chromatography with different detection modes (olfactometry, flame photometry and mass spectrometry), led to the identification of 2-methyl-3-furanthiol, a very odoriferous compound (odor threshold: 0.4-1.0 ng·l⁻¹ water), already described in coffee, cooked meat and yeast extracts.

K e y w o r d s : 2-methyl-3-furanthiol, meaty aroma, wine, thiol.

Introduction

De nombreux travaux ont mis en évidence la participation de composés possédant un groupement fonctionnel thiol à l'arôme d'aliments aussi variés que le café torréfié, la viande cuite ou les fruits (MAGA 1976). Ces thiols sont souvent caractérisés par un fort pouvoir odorant. C'est le cas notamment du *p*-menthène-8-thiol dont le seuil de perception particulièrement bas (1.10⁻⁴ ppb dans l'eau) laisse supposer qu'il joue un rôle prépondérant dans l'arôme du jus de pamplemousse (DEMOLE *et al.* 1982), ou encore du 3-thiophenethiol identifié dans la viande de porc par WERKHOFF *et al.* (1993) et dont l'odeur de viande cuite est perçue à 5-10 ppb dans l'eau. Des études menées en 1991 par ENGEL *et al.* et portant sur les constituants volatils du fruit de la passion ont conduit à l'identification de thiols fortement odorants, en particulier du 3-mercaptohexanol et de son acétate. Ces deux composés ont été également identifiés dans les vins du cépage Sauvignon (TOMINAGA *et al.* 1996 a, b) ainsi que d'autres thiols: la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one (DARRIET *et al.* 1995), le 4-mercapto-4-méthylpentan-2-ol et le 3-mercapto-3-méthylbutan-1-ol (TOMINAGA *et al.* 1998 a) dont l'importance organoleptique a été précisée (BOUCHILLOUX *et al.* 1996; TOMINAGA *et al.* 1998 b). Le 3-mercaptohexanol et son acétate, ainsi que le 3-mercapto-2-méthylpropanol, ont été identifiés dans les vins de Cabernet-Sauvignon et de Merlot de Bordeaux (BOUCHILLOUX *et al.* 1998). L'analyse par couplage chromatographie en phase gazeuse/olfactométrie des mêmes extraits de thiols volatils met en évidence d'autres zones odo-

rantes rappelant des odeurs de viande grillée, de café torréfié. Récemment, la contribution des acétates de mercaptoéthanol et de mercaptopropanol aux nuances de viande rôtie de certains vins a été montrée par LAVIGNE-CRUÈGE *et al.* (1998).

Cet article rapporte l'identification dans les vins d'un autre thiol volatil très odorant possédant aussi le caractère de viande rôtie.

Matériel et méthodes

V i n s : Plusieurs vins de Cabernet-Sauvignon, de Merlot, et d'assemblage entre ces deux cépages, de millésimes variés (1985, 1986, 1988, 1989, 1996, 1997) et issus de différentes appellations du Bordelais (Graves Pessac-Léognan, Pauillac, Pomerol, St-Julien), ont été analysés.

Réactifs et composé de référence : Le chlorure de sodium et le *p*-hydroxymercuribenzoate de sodium sont fournis par Sigma Chemicals (St.Louis, MO, USA), la L-cystéine-HCl par Aldrich-Chimie (Steinheim, Allemagne) et le dichlorométhane par SDS (Peypin, France). Le composé de référence du 2-méthyl-3-furanthiol (CAS Number: 28588-74-1) provient d'Aldrich-Chimie.

Analyse par chromatographie en phase gazeuse/olfactométrie (CPG/O), CPG/photométrie de flamme (CPG/FPD) et CPG/spectrométrie de masse (CPG/SM) : L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un mode de détection par olfactométrie ou par photométrie de flamme

est réalisée sur un chromatographe HP 5890 (Hewlett-Packard, Avondale, PA, USA). L'injection est effectuée en mode splitless (température de l'injecteur 230 °C, temps de fermeture des vannes 1 min) sur deux types de colonnes capillaires BPX35 (phase légèrement polaire) et BPX5 (phase apolaire) (50 m x 0,22 mm de diamètre intérieur, 0,25 µm d'épaisseur de film, SGE, Ringwood, Victoria, Australia). L'hydrogène U (Air Liquide, France) est utilisé comme gaz vecteur avec une pression en tête de colonne de 20 psi (= ca. 1,4 bar) et un débit de 1,5 ml.min⁻¹ à 35 °C. Le programme de température est le suivant: isotherme à 35 °C pendant 1 min, augmentation de température de 35 °C à 230 °C à raison de 3 °C/min, isotherme à 230 °C pendant 15 min. Le système de détection sensorielle est constitué d'une installation olfactométrique ODO1 (Scientific Glass Engineering, SGE, Australia). Le photomètre de flamme est un appareil HP 19256A (Hewlett-Packard) calé sur la longueur d'onde d'émission spécifique du soufre $\lambda=393$ nm (température du détecteur 200 °C). Les débits de gaz sont de 90 ml.min⁻¹ pour l'hydrogène, 76 ml.min⁻¹ pour l'air et 38 ml.min⁻¹ pour l'azote. Une station d'intégration de données HP 3365 (Hewlett-Packard) permet d'enregistrer les signaux de détection. Les échantillons analysés par CPG/spectrométrie de masse sont injectés sur un chromatographe STAR 3400 CX (Varian, USA) couplé à un spectromètre de masse SATURN 2000 (Varian). Les caractéristiques du détecteur sont les suivantes: température de la ligne de transfert 250 °C, procédé d'ionisation par impact électronique (70 eV), analyseur par piégeage d'ions (Ion Trap Detector), température du détecteur 150 °C. Les extraits sont injectés sur deux colonnes capillaires BPX35 et BPX5 (50 m x 0,22 mm de diamètre intérieur, 0,25 µm d'épaisseur de film, SGE). Le gaz vecteur est l'hélium N60 (Air Liquide) avec une pression en tête de colonne de 20 psi (= ca. 1,4 bar).

Extraction directe des vins par le dichlorométhane: 200 ml de vin sont extraits successivement par 10/5/5 ml de dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées et séchées au sulfate de sodium anhydre avant d'être concentrées sous flux d'azote à 500 µl.

Procédé d'extraction des thiols volatils par distillation sous vide: Un litre de vin additionné de 100 g de chlorure de sodium est soumis à une distillation sous vide (pression = 0,5 à 1,5 Pa) à une température de 35-45 °C, pendant 90 min. Les thiols contenus dans l'espace de tête sont piégés spécifiquement dans 100 ml d'une solution de *p*-hydroxymercurobenzoate de sodium 1 mM (36 mg de *p*-HMB dans 15 ml de soude N/10, eau ultrapure q.s.p. 100 ml) maintenue à 0 °C (BOUCHILLOUX *et al.* 1998). Après distillation, la solution contenant les thiols combinés au composé organomercurique est ramenée à pH 2 par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique 1 N, puis évaporée à sec. Les résidus secs correspondant à l'extraction de 1 à 5 litres du même vin sont assemblés avant d'être lavés au dichlorométhane puis repris dans 100 ml d'eau ultrapure. La solution obtenue est à nouveau évaporée à sec. L'extrait sec est repris dans 50 ml d'eau ultrapure. La solution est ensuite ramenée à pH 8 avec de la soude 10 N. Une solution aqueuse de L-cystéine dont la molarité correspond à 20 fois celle du *p*-HMB utilisé pour le piégeage des

thiols, est ajustée à pH 8 avant d'être additionnée à la solution contenant les thiols combinés. Le milieu réactionnel est agité pendant 20 min à température ambiante. A l'issue de la décombinaison, la solution est extraite au dichlorométhane (5/2,5/2,5 ml). L'extrait organique obtenu est séché au sulfate de sodium anhydre puis concentré sous flux d'azote (100 ml.min⁻¹) à 20 µl avant d'être analysé par CPG/O, CPG/FPD et CPG/SM.

Détermination des seuils de perception olfactive: Le seuil de perception olfactive d'une substance donnée correspond à la concentration minimale de composé à partir de laquelle 50 % des dégustateurs reconnaissent une différence par rapport au témoin. La détermination de ce seuil est effectuée par des tests triangulaires portant sur 5 concentrations croissantes du composé étudié dans de l'eau distillée ou dans une solution modèle de composition proche du vin (solution hydroalcoolique 12 %, 5 g.l⁻¹ d'acide tartrique, pH 3,5). L'olfaction des solutions placées dans des verres AFNOR (Association Française des Normes) est réalisée par un jury de 34 dégustateurs, dans une pièce climatisée (BOIDRON *et al.* 1988).

Résultats et Discussion

Des vins d'appellations et de millésimes différents (Tableau), sont extraits par le dichlorométhane ou par le procédé de distillation sous vide décrit précédemment, puis sont analysés par CPG/O. Les aromagrammes des échantillons obtenus par extraction directe du vin ou par distillation sous vide, après injection des extraits organiques sur deux colonnes capillaires de polarités différentes (BPX35 légèrement polaire, et BPX5 apolaire), présentent invariablement une zone odorante intense aux notes de type viande rôtie voire de noisette grillée dont les temps de rétention avaient déjà été déterminés dans une publication précédente (temps de rétention $t_{RBPX35} = 12,75$ min, $t_{RBPX5} = 11,99$ min) (BOUCHILLOUX *et al.* 1998). Dans des extraits issus de 5 l de vin, nous avons pu mettre en évidence avec un mode de détection par pho-

Tableau

Détection du 2-méthyl-3-furanthiol dans différents vins rouges par chromatographie en phase gazeuse/olfactométrie (*), photométrie de flamme (**) et/ou spectrométrie de masse (***)

Detection of 2-methyl-3-furanthiol in different wines by gas chromatography/olfactometry (*), flame photometry (**) and/or mass spectrometry (***)

Vins analysés	Détection du 2-méthyl-3-furanthiol		
Pauillac 1997	(*)	(**)	
Pauillac 1996	(*)	(**)	(***)
Pomerol 1997	(*)		
Pessac-Léognan 1996	(*)	(**)	(***)
Pomerol 1996	(*)	(**)	(***)
St-Julien 1989	(*)		
St-Julien 1988	(*)		
St-Julien 1986	(*)		
St-Julien 1985	(*)		

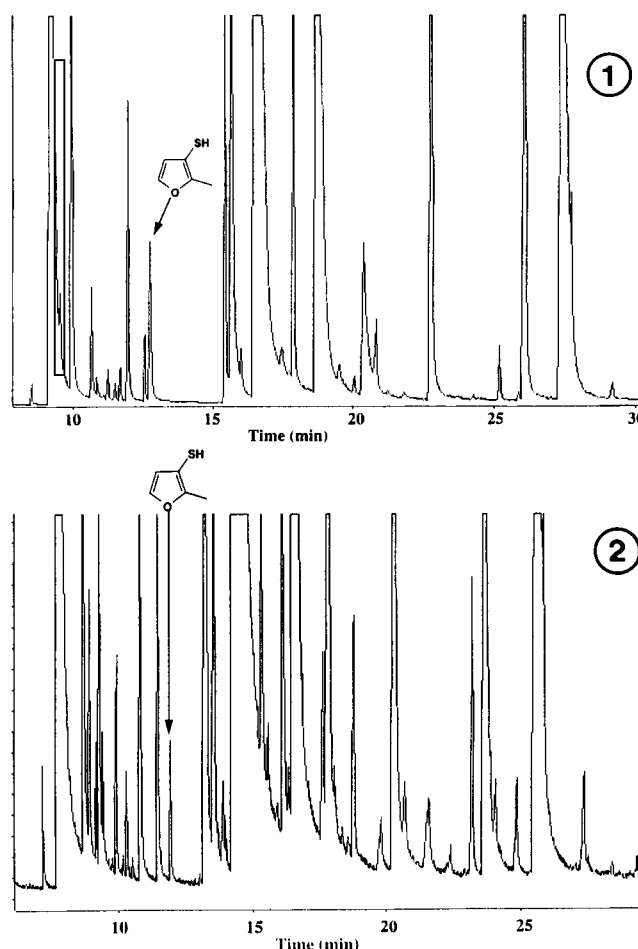
tométrie de flamme, spécifique des composés soufrés, un pic chromatographique au temps de rétention de cette zone odorante pour chacune des deux colonnes capillaires, BPX5 et BPX35 (Figs. 1 et 2). L'analyse des mêmes extraits par CPG/SM a permis d'obtenir, pour le composé considéré, un spectre de masse correspondant au 2-méthyl-3-furanthiol (Fig. 3). L'identification est confirmée par comparaison, aux mêmes temps de rétention chromatographiques sur colonnes BPX5 et BPX35, avec le spectre de masse de la substance pure (MS/EI data (m/z %): 116(3), 115(4), 114(100), 86(34), 85(45), 71(32), 53(24)).

Des travaux antérieurs avaient permis de montrer le rôle important de ce composé dans les arômes de viande cuite (GASSER *et al.* 1988; WERKHOFF *et al.* 1990), de café torréfié (HOLSCHER *et al.* 1990) et d'extrait de levure (AMES *et al.* 1985). Différentes voies de formation du 2-méthyl-3-furanthiol ont été démontrées, notamment à des températures élevées par dégradation de la thiamine (HARTMAN *et al.* 1984; GÜNTERT *et al.* 1990) et par des réactions de Maillard entre des pentoses voire certains hexoses et la cystéine (FARMER *et al.* 1989).

Dans nos conditions analytiques, on aurait pu craindre que ce composé fût formé par réaction thermique entre les divers constituants du vin. La présence de la zone odorante correspondant à ce composé dans les aromagrammes des extraits organiques obtenus sans chauffage (extraction directe au dichlorométhane) atteste la présence du 2-méthyl-3-furanthiol dans le vin.

Les seuils de perception olfactive du 2-méthyl-3-furanthiol, déterminés dans les conditions précédemment décrites, sont de 0,4-1,0 ng·l⁻¹ dans l'eau et de 2-8 ng·l⁻¹ en solution modèle.

Ces résultats placent ce composé parmi les substances les plus odorantes identifiées jusqu'ici dans les vins et laissent présumer de sa participation au caractère empyreumatique de leur arôme.



Figs. 1 et 2: Chromatogramme d'un extrait de vin obtenu avec un mode de détection par photométrie de flamme sur colonne capillaire BPX35 (Fig. 1) et BPX5 (Fig. 2).

Gas chromatogram of a wine extract obtained by flame photometry detection on a BPX35 (Fig. 1, above) and BPX5 (Fig. 2, below) capillary.

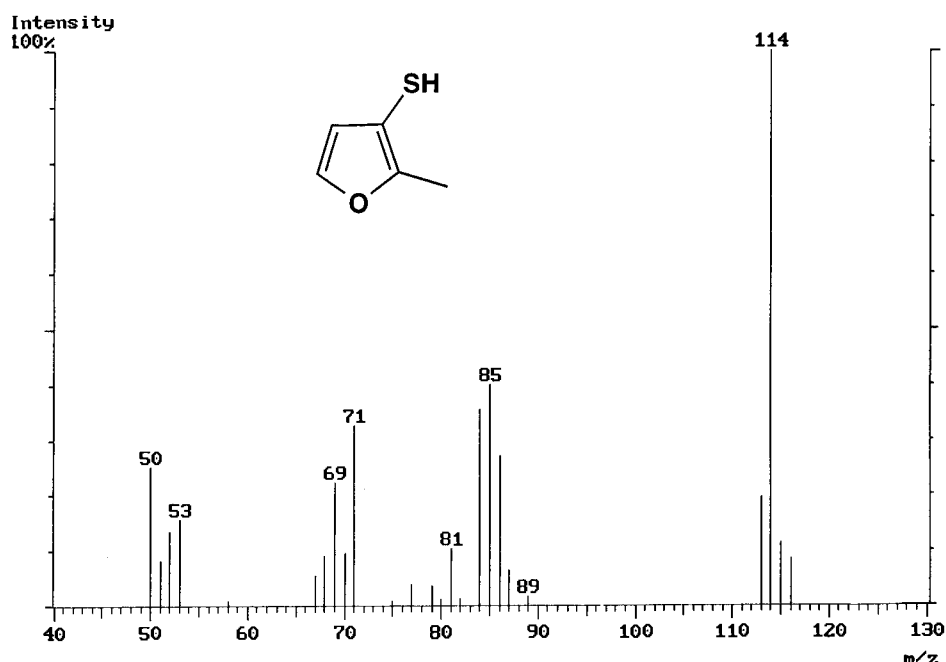


Fig. 3: Spectre de masse du 2-méthyl-3-furanthiol obtenu à partir d'un extrait de vin par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse.

Mass spectrum of 2-methyl-3-furanthiol obtained from a wine extract by gas chromatography-mass spectrometry.

Remerciements

Nous remercions le Dr. I. FLAMENT, Société Firmenich, Genève (Suisse), qui nous a fourni l'échantillon de 2-méthyl-3-furanthiol nous permettant de confirmer l'identification de ce composé, ainsi que le CIVB (Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux) et le Conseil Régional d'Aquitaine pour leur soutien financier.

Références bibliographiques

- AMES, J. M.; MAC LEOD, G.; 1985: Volatile components of a yeast extract composition. *J. Food Sci.* **50**, 125-135.
- BOIDRON, J. N.; CHATONNET, P.; PONS, M.; 1988: Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Conn. Vigne Vin* **22**, 275-294.
- BOUCHILLOUX, P.; DARRIET, P.; DUBOURDIEU, D.; 1996: Mise au point d'une méthode de dosage de la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one dans les vins de Sauvignon. *J. Intern. Sci. Vigne Vin* **30**, 23-29.
- -; HENRY, R.; LAVIGNE-CRUÈGE, V.; DUBOURDIEU, D.; 1998: Identification of volatile and powerful odorous thiols in Bordeaux red wine varieties. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 3095-3099.
- DARRIET, P.; TOMINAGA, T.; LAVIGNE, V.; BOIDRON, J. N.; DUBOURDIEU, D.; 1995: Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon wines: 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one. *Flav. Frag. J.* **10**, 385-392.
- DEMOLE, E.; ENGGIST, P.; OHLOFF, G.; 1982: 1-p-menthène-8-thiol: A powerful impact constituent of grapefruit juice (*Citrus paradisi* MacFayden). *Helv. Chim. Acta* **65**, 1785-1794.
- ENGEL, K. E.; TRESSL, R.; 1991: Identification of new sulfur-containing volatiles in yellow passion fruits (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *J. Agric. Food Chem.* **39**, 2249-2252.
- FARMER, L. J.; MOTTRAM, D. S.; WHITFIELD, F. B.; 1989: Volatile compounds produced in Maillard reactions involving cysteine, ribose and phospholipid. *J. Sci. Food Agric.* **49**, 347-368.
- GASSER, U.; GROSCH, W.; 1988: Identification of volatile flavour compounds with high aroma values from cooked beef. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **186**, 489-494.
- GÜNTERT, M.; BRÜNING, J.; EMBERGER, R.; KÖPSEL, M.; KUHN, W.; THIELMANN, T.; WERKHOFF, P.; 1990: Identification and formation of some selected sulfur-containing flavor compounds in various meat model systems. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 2027-2041.
- HARTMAN, G. J.; CARLIN, J. T.; SCHEIDE, J. D.; HO, C. T.; 1984: Volatile products formed from the thermal degradation of thiamine at high and low moisture levels. *J. Agric. Food Chem.* **32**, 1015-1018.
- HOLSCHER, W.; VITZTHUM, O. G.; STEINHART, H.; 1990: Identification and sensorial evaluation of aroma-impact-compounds in roasted colombian coffee. *Café Cacao Thé* **34**, 205-212.
- LAVIGNE-CRUÈGE, V.; HENRY, R.; DUBOURDIEU, D.; 1998: Identification et dosage de composés intervenant dans l'arôme « grillé » des vins. *Sci. Alim.* **18**, 175-191.
- MAGA, J. A.; 1976: The role of sulfur compounds in food flavor. Part III: thiols. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 147-192.
- TOMINAGA, T.; DARRIET, P.; DUBOURDIEU, D.; 1996 a: Identification de l'acétate de 3-mercaptohexanol, composé à forte odeur de buis, intervenant dans l'arôme des vins de Sauvignon. *Vitis* **35**, 207-210.
- -; FURRER, A.; HENRY, R.; DUBOURDIEU, D.; 1998 a: Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon. *Flav. Frag. J.* **13**, 159-162.
- -; MASNEUF, I.; DUBOURDIEU, D.; 1996 b: Des conjugués de la cystéine, précurseurs de certains arômes variétaux du Sauvignon. V^{ème} Symp. Intern. Oenol., "Actualités Oenologiques 95", 44-49, Juin 1995. Bordeaux, France.
- -; MURAT, M.-L.; DUBOURDIEU, D.; 1998 b: Development of a method for analysing the volatile thiols involved in the characteristic aroma of wines made from *Vitis vinifera* L. Cv. Sauvignon blanc. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 1044-1048.
- WERHOFF, P.; BRÜNING, J.; EMBERGER, R.; GÜNTERT, M.; KÖPSEL, M.; HOPP, R.; 1993: Flavor chemistry of meat volatiles; New results on flavor components from beef, pork and chicken. In: R. HOPP, K. MORI (Eds.): *Developments in Flavour and Fragrance Chemistry*, 183-213. VCH, Weinheim.
- -; - -; - -; - -; KUHN, W.; SURBURG, H.; 1990: Isolation and characterization of volatile sulfur-containing meat flavor components in model systems. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 777-791.

Reçu le 20 Juillet 1998