



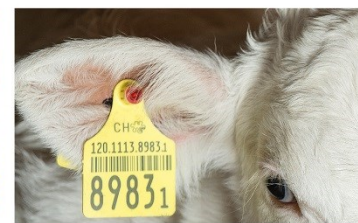
# Quantification du 3-mercaptohexanol dans les vins et leurs précurseurs dans les moûts par LC-MS/MS

Ágnes Dienes-Nagy, Frédéric Vuichard  
Agroscope, MEA, Groupe Qualité des vins



# Agroscope

centre de compétence de la  
Confédération pour la recherche  
et le développement agronomique,  
alimentaire et environnemental





# Sites d'Agroscope



# Notre laboratoire: Qualité des vins

Suivi de maturation du raisin (août - octobre)



Suivi de vinification (octobre – mars)



Qualité des vins finis



# Arômes des vins



## Arômes fermentaires, technologiques

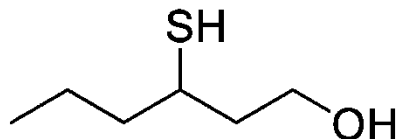
- Alcools
- Esters
- Acides (acides gras)
- Cétones
- Aldéhydes
- Phénols
- Lactones

## Arômes de typicité

- Terpènes – Muscat, Gewürztraminer
- Thiols – Sauvignon blanc, Petite Arvine
- Méthoxyypyrazine (odeur de poivrons) – Cabernet Sauvignon

# 🇨🇭 Thiols volatiles avec «odeur agréable»

Première identification par GC-Olfactométrie dans le Sauvignon blanc (Darriet 1995; Tominaga 1996).

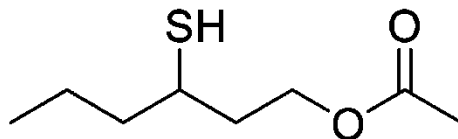


**3MH**

**3-mercaptohexanol**

rhubarbe  
grapefruit

SP: 60 ng/L  
Seuils de perception

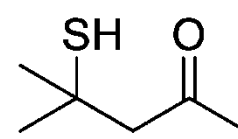


**3MHA**

**Acétate de  
3-mercaptohexanol**

fruit de passion

SP: 4,2 ng/L



**4MMP**

**4-méthyl-  
4-mercaptopentan-2-one**

odeur de buis

SP: 3 ng/L

# Quantification des thiols

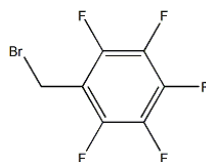
## Difficultés:

- Très faibles concentrations (ng/L)
- Réactivité

## Solutions proposées:

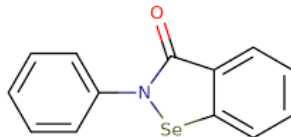
- Extraction sélective : p-hydroxymercuribenzoate (p-HMB)  
détection avec GC-O, GC-MS ou GC-FPD
- Dérivatisations:

PFBBr



– SPME-GC-MS

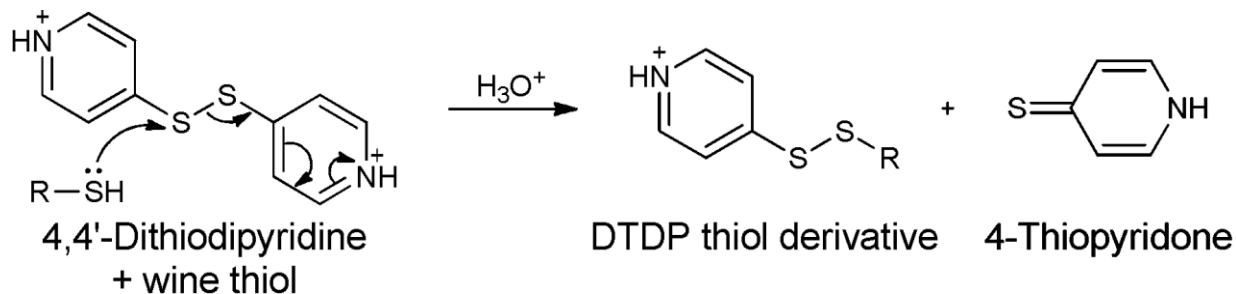
Ebselen réactif



– LC-MS HR

# Quantification par LC-MS/MS

D.L.Capone et al., *Anal. Chem.* 2015, 87, 2, 1226-1231



## Dérivatisation automatisée in-situ sur colonne

Colonne:

Agilent, Poroshell 120, SB-C18, 2.7  $\mu\text{m}$ , 150 x 4.6 mm

Eluant A: Tampon  $\text{NH}_4\text{COOH}$  100mM pH4, DTDP 0.1mM

Eluant B: ACN

Volume d'injection : 100  $\mu\text{l}$ .

Stop Time : 40.0 min      Post Time : 8.0 min

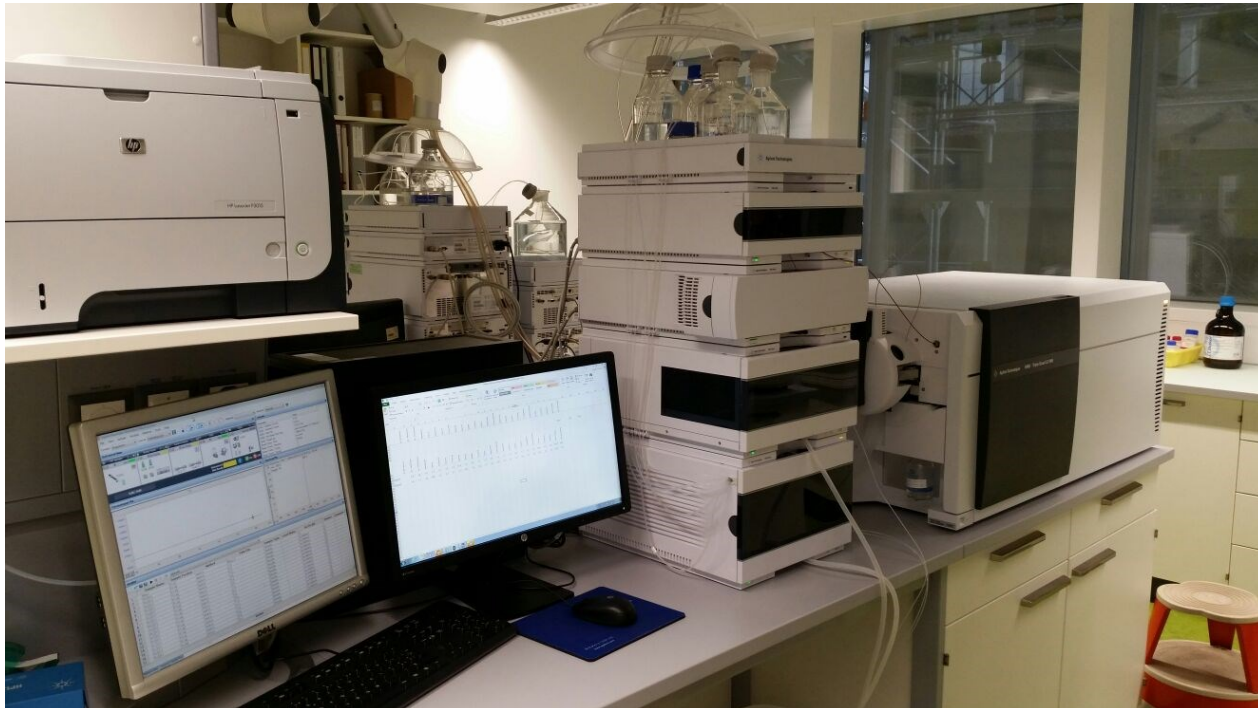
Acquisition MS entre 25 – 32 min.

Time [min]	A [%]	B [%]	Flow [ml/min]	Max Pressure [bar]
0.0	95	5	0.5	650
12.0	95	5	0.5	650
34.0	0	100	0.5	650
36.0	0	100	0.5	650
38.0	95	5	0.5	650



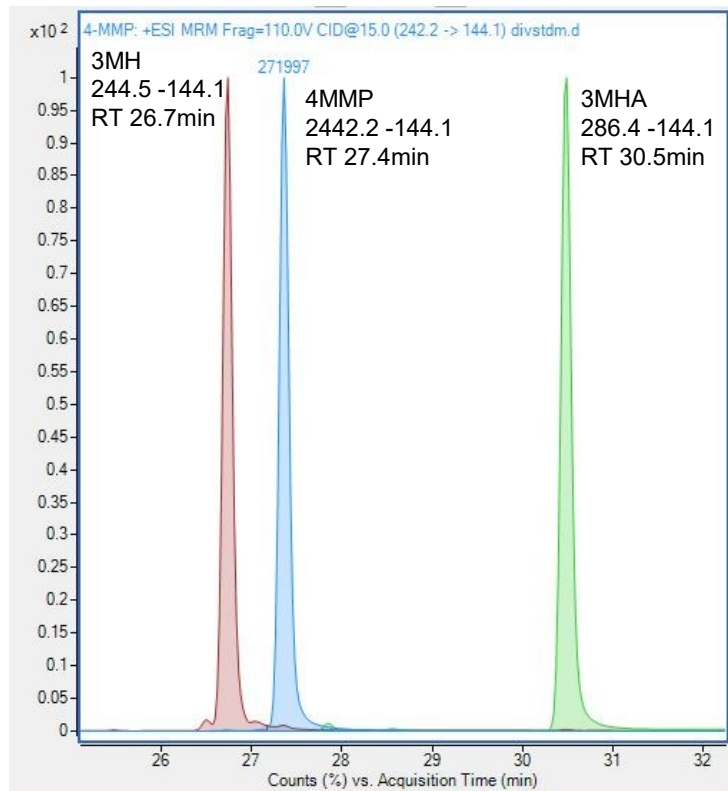
# Notre appareil

UHPLC-Triple-Quadrupol Agilent 6460CA, ESI, Jet Stream, DAD et FLD

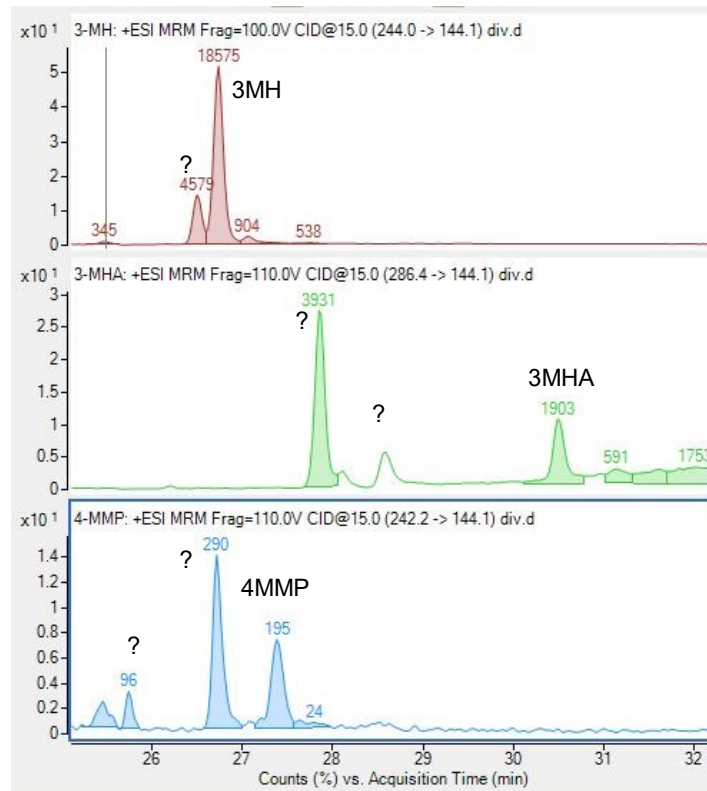


# Quantification en mode MRM

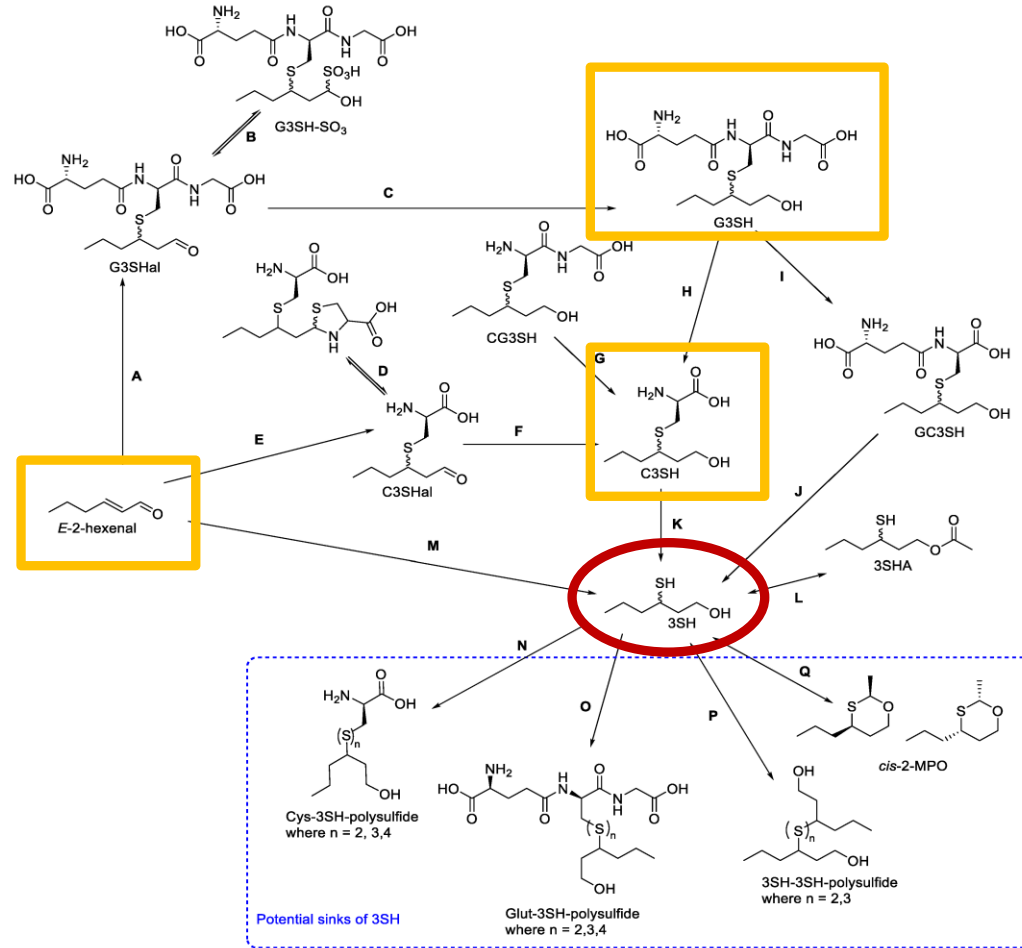
## Standards



## Divona

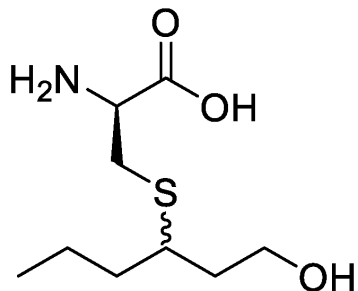


# Le 3MH est formé pendant la fermentation. Mais comment?

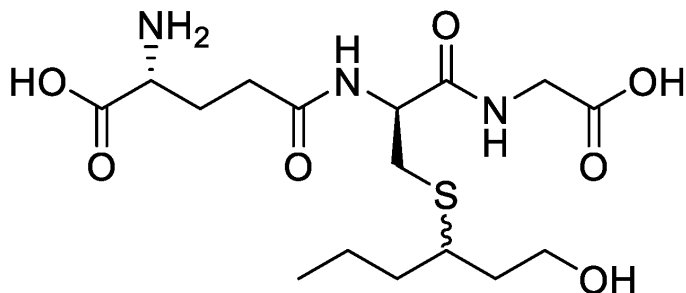


J. R. Muhl and al. Food 2022,11,2050

# Les précurseurs majeurs du 3MH



3-S-cysteinylhexan-1-ol  
**C3SH**



3-S-glutathionylhexan-1-ol  
**G3SH**

## 1) Cys-3MH (C3SH)

GC-MS après préconcentration et dérivatisation

## 2) Cys- et Glu-3MH (C3SH, G3SH)

LC-MS/MS avec préconcentration sur SPE ou QuEChERS

Concentration dans le raisin:

5 – 500 µg/L

# Injection direct avec préconcentration sur colonne et analyse LC-MS/MS

Pompe isocratique :

Eluant A: H<sub>2</sub>O / HCOOH = 1000 : 1

Pompe binaire :

Eluant A: H<sub>2</sub>O / HCOOH = 1000 : 1

Eluant B: ACN / HCOOH = 1000 : 1

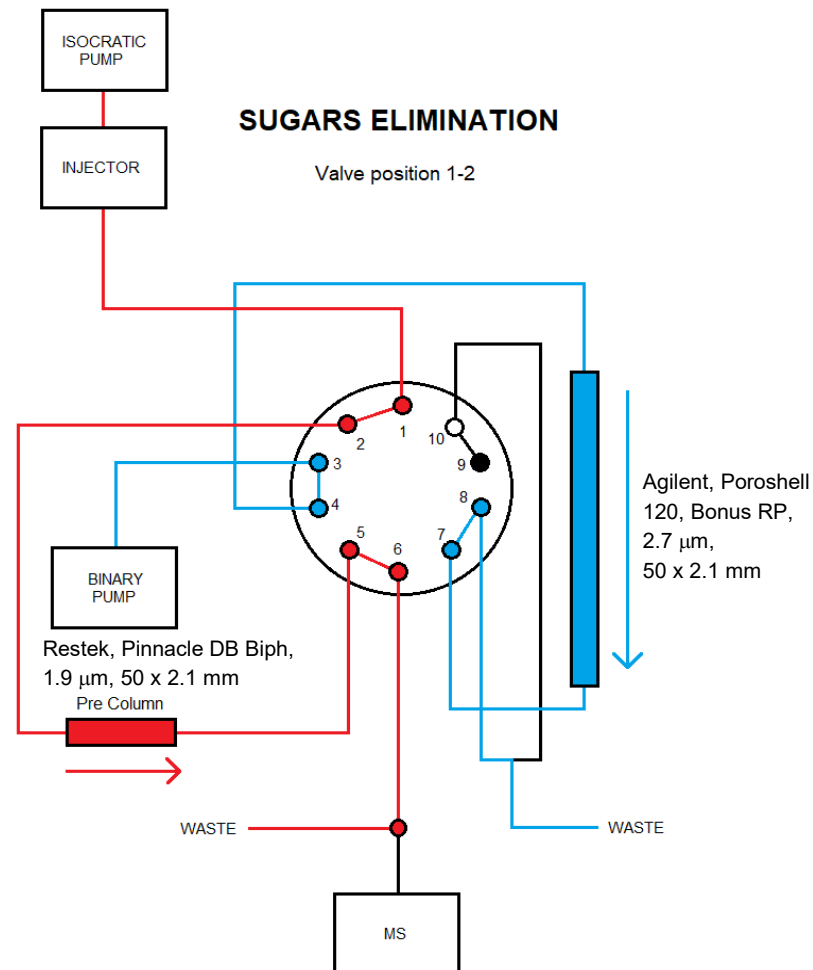
Volume d'injection : 4 μl + 1 μl ISTD

Time [min]	A [%]	B [%]	Flow [ml/min]
0.0	100	0	0.3
3.0	100	0	0.3
8.0	0	100	0.3
9.0	0	100	0.3

Time	Parameter
0.00 min	Valve position: Position 1 (Port 1-> 2)
3.00 min	Valve position: Position 2 (Port1 -> 10)
9.00 min	Valve position: Position 1 (Port 1-> 2)

Stop Time : 9.0 min

Post Time : 3.0 min





# Injection direct avec préconcentration sur colonne et analyse LC-MS/MS

Pompe isocratique :

Eluant A: H<sub>2</sub>O / HCOOH = 1000 : 1

Pompe binaire :

Eluant A: H<sub>2</sub>O / HCOOH = 1000 : 1

Eluant B: ACN / HCOOH = 1000 : 1

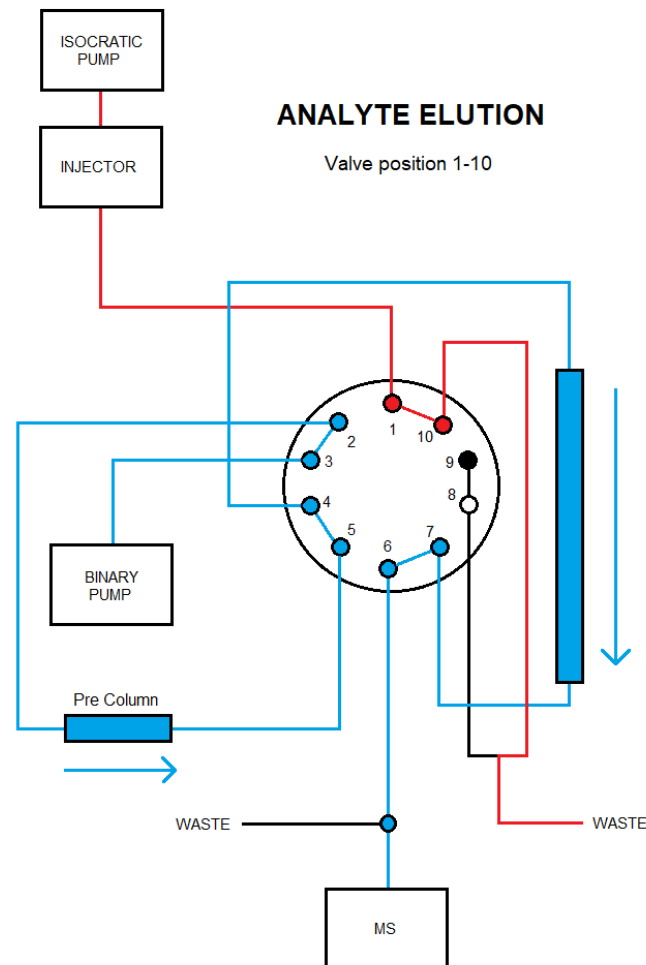
Volume d'injection : 4 μl + 1 μl ISTD

Time [min]	A [%]	B [%]	Flow [ml/min]
0.0	100	0	0.3
3.0	100	0	0.3
8.0	0	100	0.3
9.0	0	100	0.3

Time	Parameter
0.00 min	Valve position: Position 1 (Port 1-> 2)
3.00 min	Valve position: Position 2 (Port1 -> 10)
9.00 min	Valve position: Position 1 (Port 1-> 2)

Stop Time : 9.0 min

Post Time : 3.0 min

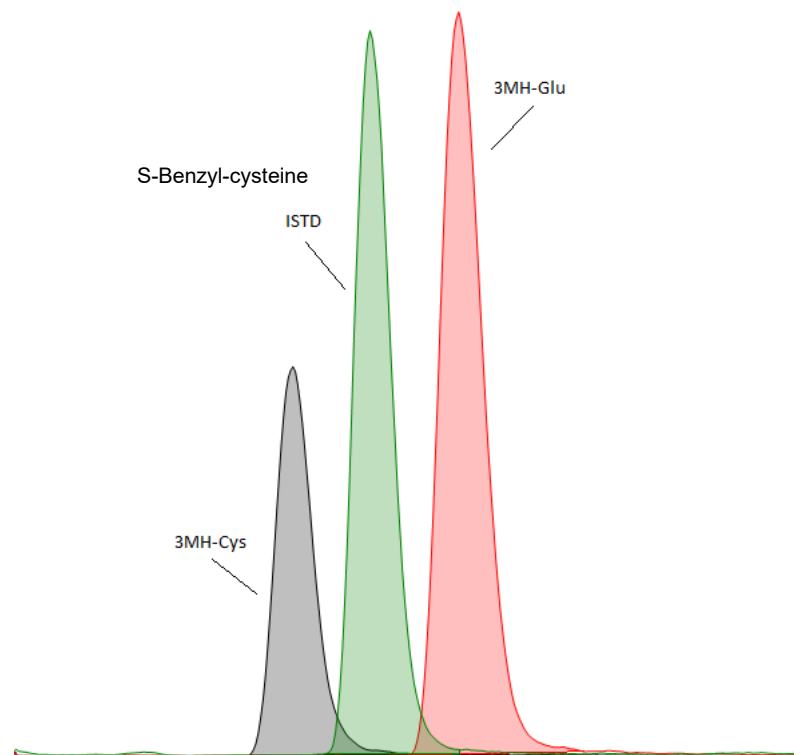


# Quantification en mode MRM

Source (positive) :

Gas Temp. [°C] : 300  
 Gas Flow [l/min] : 5  
 Nebulizer [psi]: 45  
 SheatGas Heater: 250  
 SheatGas Flow: 11  
 Capillary [V]: 3500  
 VCharging : 500

Index	Start Time [min.]	Div Valve
1	0	To Waste
2	5.5	To MS
3	7.5	To Waste



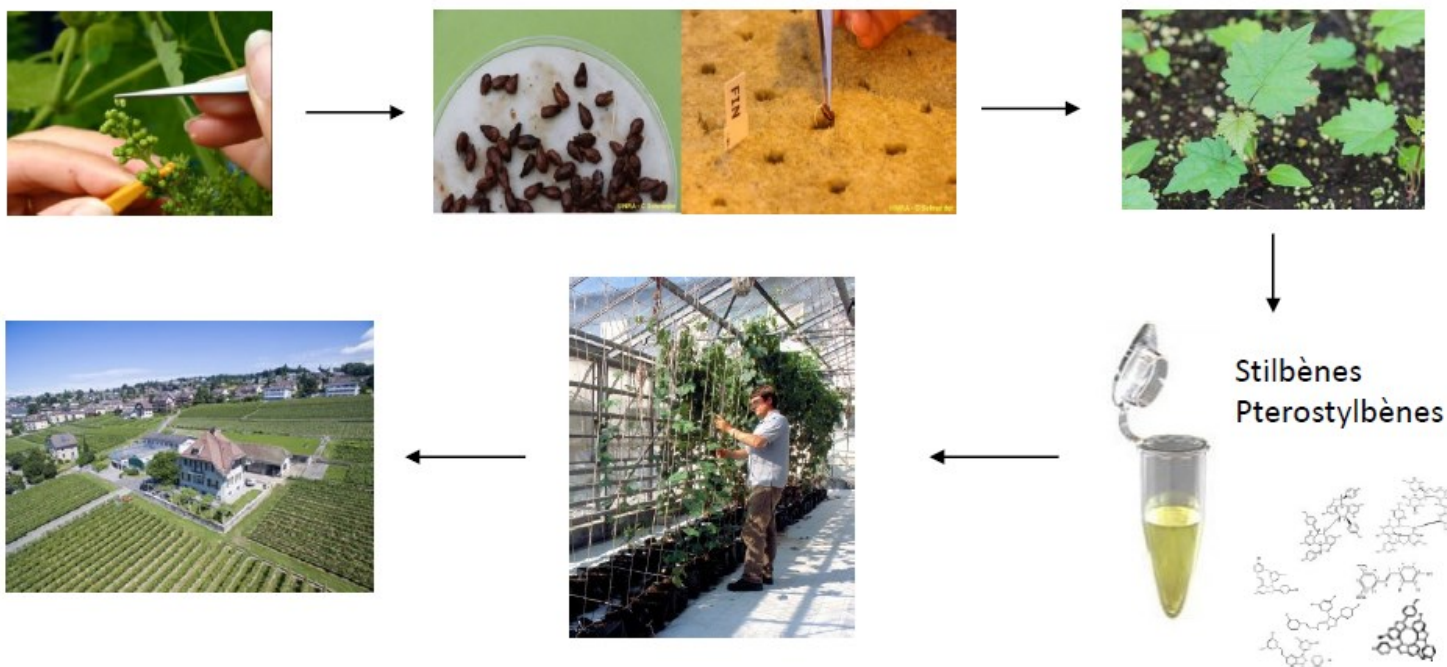
Compound Name	Prec Ion	Prod Ion	Dwell	Frag [V]	CE [V]	Cell Acc [V]	RT [min]
3MH-Cys	222	83	100	73	4	7	6.1
3MH-Glu	408	162	100	81	20	7	6.3
S-Benzyl cysteine (ISTD)	212	91	200	63	20	7	6.5

# Quantité des P-3MH et 3MH mesurés dans différents cépages

Cépage	Année	Cys-3MH [µg/L]	Glu-3MH [µg/L]	3MH [µg/L]
INRAC 1049 P	2020	11	101	0.219
INRAC 1049 P	2021	7	65	0.119
INRAC 257 P	2020	64	212	1.079
INRAC 257 P	2021	33	131	0.438
INRAC 286 P	2020	9	31	0.236
INRAC 286 P	2021	8	50	0.073
INRAC 424 P	2020	23	289	0.330
INRAC 424 P	2021	13	146	0.089
INRAC 756 P	2020	43	419	1.034
INRAC 756 P	2021	41	455	0.371
Divona Pressurage direct – 15 °C	2020	7	66	0.290
Divona Levure Lalvin MSB	2020	8	56	0.335

# 🇨🇭 Programme de sélection Agroscope

- **1996-2018:** création de variétés résistantes au mildiou (*Plasmopara viticola*) à l'oïdium (*Erysiphe necator*) et à la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) et dotés d'une faible Sensibilité au black-rot (*Guignardia bidwellii*).



Environ **15 ans** sont actuellement nécessaires pour sélectionner une variété.

# Divona premier cépage blanc résistant d'Agroscope (2018)

- ✓ Parents: Bronner et Gamaret
- ✓ Résistance élevée contre le mildiou, moyenne à élevée contre l'oïdium et bonne contre la pourriture grise. Faible sensibilité contre le black-rot
- ✓ (1-3 traitements phytos/an en fonction de la pression des maladies)
- ✓ Porte les facteurs de résistance RPV10 (mildiou) et REN3.2 (oïdium)
- ✓ Précoce (comme Müller Thurgau). Potentiel de production élevé
- ✓ Potentiel qualitatif élevé
- ✓ Vins aromatiques (agrumes, notes exotiques) dotés d'une bonne structure





# Remerciements



**Frédéric Vuichard**  
**Equipe de laboratoire Qualité des vins**  
**Groupe Viticulture**  
**Groupe Œnologie**

# 🇨🇭 **Merci votre attention et bonne dégustation !**

