



## Le goût de souris dans les vins, un état des lieux, une méthode de dosage efficace et des perspectives

Dans le numéro de février 2020 de la Revue des Vins de France, Pascaline Lepeltier, sommelière reconnue évoquait le goût de souris dans ces termes : « Avec la recrudescence des vins affectés par ce goût, la souris devient plus que jamais une question centrale pour l'achat de nombre de bouteilles. Si certains vins infectés ne présentent plus de trace après quelques années de bouteille, le contraire prévaut le plus souvent. C'est là où le bât blesse : la souris apparaît et disparaît de manière imprévisible. La bouteille ouverte peut être délicieuse, et une heure après, avoir une finale métamorphosée et non identifiable ». Cette citation illustre parfaitement le caractère imprédictible, difficile à décrire avec précision mais néanmoins de plus en plus fréquemment constaté que sont les défauts organoleptiques attribués aux goûts de souris dans les vins. Au laboratoire EXCELL nous avons vu le nombre de sollicitations pour le dosage des goûts de souris fortement progresser ces derniers mois. Mais dans un nombre de cas très significatif, nous sommes rendu compte que l'altération organoleptique découlait d'autres composés que ceux connus (ATHP, ETHP et APY) pour être « intrinsèquement » responsables de ce défaut. L'allusion aux goûts de souris ne serait-elle donc pas une allégation tendance pour décrire certaines altérations microbiennes difficiles à identifier ?

La thématique n'est pas simple car elle comprend de nombreuses interactions. Les premières et les plus essentielles sont une bonne identification des molécules incriminées et de leurs voies de biosynthèse mais également les technologies analytiques mises en œuvre pour suivre leur apparition. Ce dernier point étant le préambule indispensable pour réaliser des essais consistants. Or peu de laboratoires disposent aujourd'hui des techniques analytiques suffisamment robustes pour doser les composés connus à ce jour. En effet, les propriétés chimiques (et notamment des phénomènes de tautomérie mais aussi certains aspects de volatilité et dégradabilité) rendent particulièrement ardue l'obtention d'une précision suffisante. Puisque le dosage des composés est délicat, il est rarement réalisé en parallèle de la dégustation. Cela est en partie la cause du capharnaüm autour de cette problématique.

Ainsi le bon usage de la terminologie « goûts de souris » en dégustation serait quasiment aussi délicat que le dosage précis des composés en chromatographie mais il en demeure que des connaissances solides sont nécessaires car dans un contexte de limitation de doses de SO<sub>2</sub> et de recherche de fruité et de fraîcheur, l'existence de tels défauts pose de réels problèmes. L'objectif de cette note technique est de rappeler les grands principes de cette altération, décrire les avancées en termes analytiques et évoquer certaines constatations pratiques afin de tenter de gagner en précision lors de l'évocation de cette problématique contemporaine.

Longtemps reléguée à des événements extrêmement rares, la problématique des goûts de souris est revenue sur le devant de la scène depuis quelques temps. La faute est probablement due aux évolutions de pratiques viti-vinicoles comme très certainement la baisse des teneurs en sulfites mais aussi la gestion des conditions d'oxydo-réduction ou l'évolution des paramètres de la matière première le raisin, le pH en tête. Mais avant d'évoquer tous ces aspects techniques, un rapide retour en arrière est certainement nécessaire pour comprendre comment cette notion de goûts de souris est arrivée en œnologie.

Qui a déjà mangé une souris ? Comment et pourquoi cette référence est-elle apparue dans la sémantique œnologie ? En 2016, un restaurant chinois avait fait le « buzz » sur Internet en annonçant une recette de souriceaux vivants dressés dans une assiette de salade que le client devait tremper avec ses baguettes dans de la sauce soja avant de les déguster. Aux USA, quelques années auparavant, un américain avait aussi mangé un souriceau vivant pour épater ses amis puis il avait posté une vidéo sur Facebook. Tombée entre les mains de la police, l'homme avait été condamné pour cruauté animale ! Nous avons été beaucoup plus respectueux de la cause animale et surtout moins téméraires pour nous familiariser avec cette perception. **Nous nous sommes replongés dans les premiers écrits associant le goût de souris à la dégustation de vins. Ces travaux évoquaient parfois des notes « animales », de « fumé gras » et d'autres faisaient référence aux odeurs perçues lors de la cuisson du riz basmati ou lors de la formation du popcorn.** Ce référentiel est certainement le plus consistant car de nombreuses études évoquent la présence des composés incriminés dans les vins dans ces matrices et les pyridines que nous détaillerons plus bas sont même devenues des marqueurs de contrôle qualité des riz basmati dans certains processus de production.

Globalement, ces odeurs n'apparaissent pas au premier nez lors de la dégustation du vin mais plutôt en fin de bouche, en rétro-olfaction. L'hypothèse la plus probable à ce phénomène a vite été émise par les équipes australiennes travaillant sur le sujet : **les composés responsables ne sont pas suffisamment volatils aux pH des vins.** Il faut attendre que la salive remonte le pH du vin pour que ces composés deviennent perceptibles. Si bien que contrairement à d'autres composés où les différences de perceptions entre dégustateurs sont liées à des spécificités plus neuronales, **la différence de perception des goûts de souris pourrait découler en premier lieu à des différences de pH de la salive et de la langue entre les personnes.**

Ces aspects ont entraîné la mise au point de méthodes de détection de la contamination comme celle consistant à mettre quelques gouttes de vin sur l'éminence thénar de la main afin de permettre au pH de la peau de laisser se volatiliser les composés et permettant ainsi de les sentir. L'ajout de quelques gouttes de solution alcaline (bicarbonate de potassium) dans le vin avant sa dégustation est aussi une technique pratiquée par certains.

Ces techniques sont relativement hasardeuses et dans tous les cas ne placent pas réellement le vin dans le contexte original de sa dégustation. Profitons-en aussi ici pour indiquer que si la perception de la contamination n'est pas immédiate lors de la dégustation et qu'elle nécessite quelques artifices de préparation c'est aussi une indication précieuse sur de possibles interactions avec les équilibres RedOX.

A ce sujet, des travaux récents de Sophie Tempère à l'ISVV illustrent parfaitement la difficulté liée à la perception de ces molécules par le dégustateur. En se focalisant sur la 2-APY, dont le seuil de perception indiqué dans les premiers travaux sur le sujet (HENDRICH et al. 1995) mentionnent 0.1 µg/L dans l'eau et 7.1 µg/L dans un vin contaminé, les travaux de l'ISVV ont mis en évidence la difficulté pour un panel de dégustateur de s'accorder sur le seuil de perception. En effet, sans modification du vin avant dégustation (pH = 3.20), le seuil de perception de la 2-APY est de 55µg/L (50% du panel) mais en modifiant de manière contrôlée le pH (tamponné à pH 5.05) le seuil de perception est abaissé à 8.6 µg/L (50% du panel).

Globalement la dégustation et les artifices mis en œuvre pour faciliter la perception de ces défauts sont relativement fragiles. Une méthode de dosage précise et sensible s'impose donc.



Figure 1 : Illustration du goût de souris trouvée sur Internet

## LA MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE ANALYTIQUE ROBUSTE POUR LE DOSAGE DES 3 COMPOSÉS ?

Un long travail a été entrepris au laboratoire EXCELL SAS en 2018 pour mettre au point une technologie de dosage suffisamment rigoureuse pour baser des études de compréhension de ces phénomènes mais aussi pour s'assurer de l'attribution des contaminations à ces composés. En effet, nous avons constaté que les vins arrivant au laboratoire comme étant affectés par des goûts de souris présentaient dans une grande majorité des cas une diversité microbienne atypique. Aussi, nous avons profité de ces travaux pour réaliser dans ces vins suspectés altérés aux goûts de souris, des check-up analytiques globaux des métabolites susceptibles d'être produits mais aussi des paramètres physico-chimiques (et notamment électrochimiques).

Dans la bibliographie, les trois molécules identifiées comme étant responsables du goût de souris sont l'ATHP (acétyltétrahydropyridine), l'APY (acétylpyrroline) et l'ETHP (éthyltétrahydropyridine). Mais, d'un point de vue chimique, il ne s'agit pas en réalité de 3 molécules mais bien de 6, car chacune existe sous deux formes, une forme imine et une forme enamine, l'abondance de chacune évoluant notamment en fonction du pH. Cela signifie en effet que l'équilibre tautomérique est déplacé quand le pH varie favorisant la présence de l'une ou l'autre forme. La forme qui prédomine à pH basique est la forme imine qui est aussi la plus volatile et la plus odorante.

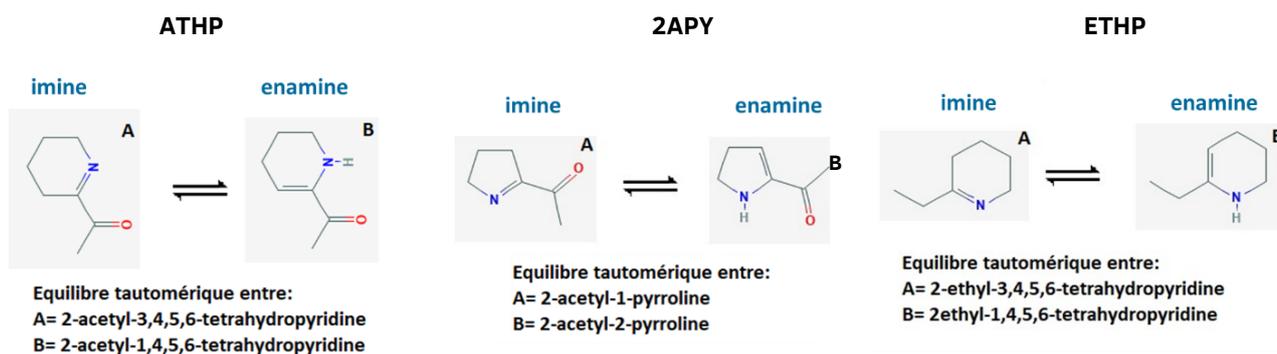


Figure 2 : Illustration des équilibres tautomériques entre les formes imine et enamine des 3 composés.

Les équipes australiennes qui avaient décrit ces phénomènes avaient également proposé une méthode de dosage de ces composés en GCMS sans toutefois détailler les spécificités et la sensibilité de la technique. Plus récemment d'autres techniques ont été proposées en ciblant prioritairement l'APY (composé aussi très fréquemment rencontré dans le riz où il est un marqueur qualitatif des riz basmati, comme évoqué précédemment). Ces techniques sont basées sur l'utilisation de la SPME couplée à la GCMS. Mais le chauffage et la mise à pH de cette méthode influencent très certainement les concentrations à mesurer.

Les travaux les plus récents sont principalement orientés vers l'usage de la chromatographie liquide couplé à deux masses en tandem (LCMSMS). Hayasaka et al. (2019) et Jost et al. (2019) proposent différentes techniques d'ionisation ou de dérivation mais en ne ciblant qu'une seule molécule à chaque fois (respectivement l'ATHP et l'APY). Après des travaux d'optimisation sur la séparation, l'ionisation et sur la détection nous sommes parvenus à doser les 3 molécules en une seule analyse. **Aussi, nous obtenons des performances analytiques satisfaisantes (seuil de détection, domaine de linéarité...) par rapport aux données de la bibliographie en termes de seuils de perception et ceci sans modification du pH de l'échantillon.**



Figure 3 : LC-ESI-MSMS utilisée pour le développement de la méthode EXCELL de dosage du 2APY, de l'ETHP et de l'ATHP.

Depuis début 2019 nous disposons donc d'une méthode en LC-ESI-MSMS robuste rapide, sans modification du pH de l'échantillon et permettant de quantifier en un seul run les trois molécules ATHP, ETHP, APY avec une très bonne sensibilité et une très bonne linéarité sur les gammes de concentrations pertinentes pour l'analyse des vins. Le tableau ci-dessous reprend les performances analytiques de notre méthode d'analyse.

	2APY	ATHP	ETHP
<b>LD</b>	0,4	0,4	1
<b>LQ</b>	1	1	3
<b>I (%) à ~5µg/L</b>	12	12	19
<b>I (%) à ~50µg/L</b>	5	3	5
<b>Recouvrement à ~40µg/L %</b>	115	117	117

Tableau 1 : Performances analytiques de la technique LC-ESI-MSMS développée au laboratoire EXCELL pour doser les composés connus pour être impliqués dans les goûts de souris (2APY, ATHP, ETHP).

	Concentrations molécules d'altérations (µg/L)					Nass (mg/L)	Acide D-lactique (g/L)	<i>B. bruxellensis</i> (Eq. UFC/mL)	<i>O. oeni</i> (Eq. UFC/mL)
	2API	ATHP	ETHP	E4P	E4G				
Vin I	nd	4.0	22.6	273	181	47	0,22	1,8.10 <sup>4</sup>	4,2.10 <sup>5</sup>
Vin II	nd	7.5	136.7	350	141	64	0,26	8,6.10 <sup>6</sup>	2,3.10 <sup>5</sup>
Vin III	nd	1.1	46.5	27	5	41	0,27	6.8.10 <sup>2</sup>	1,8.10 <sup>5</sup>
Vin IV	nd	6.1	137.1	236	145	103	0,38	6,3.10 <sup>4</sup>	1,2.10 <sup>6</sup>

Tableau 2 : Exemples de résultats obtenus sur une série de vin de Cabernet franc du Val de Loire issus de 3 producteurs différents lors du millésime 2018.

Une fois la technique d'analyse des 3 composés disponible, nous avons pu appréhender plus précisément des cas décrits comme des contaminations par les goûts de souris.

Le tableau 2 est une bonne illustration des phénomènes généralement observés, à savoir :

- i) Une prédominance de l'ATHP et l'ETHP parmi les 3 composés,
- ii) Des populations significativement élevées en *Brettanomyces bruxellensis* mais aussi en *Oenococcus oeni*. Les autres levures et bactéries étaient peu ou pas présentes. Seul le vin 3 présentait aussi quelques lactobacilles de l'espèce *Lactobacillus plantarum* exclusivement,
- iii) Des teneurs en phénols volatils relativement importantes mais avec un ratio 4-éthylphénol/4-gaïacol différent de celui généralement observé lors d'une contamination classique de *Brettanomyces*. Même si celui-ci dépend également du cépage, il est ici peu élevé (proportion importante de 4-éthylgaïacol),
- iv) Des teneurs remarquables en azote,
- v) La présence d'acide D-lactique, preuve d'un développement de bactéries lactiques hétéro-fermentaires (comme *Oenococcus oeni*) sur des sucres.

Les points i), iii) et v) sont confirmés dans l'immense majorité des vins analysés au laboratoire pour ne pas dire la totalité. Outre les phénols volatils, dans de nombreux vins « sourissés » des acides gras à courte chaîne, notamment l'acide isovalérique et l'acide isobutyrique ont été détectés à des teneurs significatives ( $\geq 8$  mg/L). Parfois des amines biogènes ont aussi été analysées et dans ce cas, il ne s'agissait pas de l'histamine, la principale amine biogène habituellement dosée dans les vins mais de traces de putrescine et de cadavérine.

Concernant les microorganismes, leur détection n'a pas toujours été concomitante avec l'analyse mais cela est souvent le cas lors de l'analyse d'un défaut d'origine microbienne. L'analyse est faite lorsque le défaut a alerté le dégustateur mais la production a pu avoir lieu bien avant, sous l'effet de microorganismes qui au moment de la dégustation et à fortiori de l'analyse ont disparu. Lorsque des microorganismes ont été détectés, il s'agissait d'*Oenococcus oeni* dans 70% des cas et de *Brettanomyces* dans 60% (dans 30% des cas les deux populations cohabitaient comme dans le cas des 4 vins du tableau). Concernant les *Brettanomyces*, dans plusieurs cas nous avons poussé l'analyse jusqu'à réaliser le test TYP\Brett 2.0, test permettant de quantifier spécifiquement les *Brettanomyces* résistantes au SO<sub>2</sub> (c.a.d. capables de se développer même lorsque le SO<sub>2</sub> actif est supérieur à 0,4 mg/L). Si en moyenne le pourcentage représenté par les souches de *Brettanomyces* triploïdes résistantes au SO<sub>2</sub> est d'environ 55% des échantillons analysés au laboratoire, les vins touchés par le ATHP et le ETHP et présentant des populations significatives de *Brettanomyces* présentent plus de 80% de souches sensibles au SO<sub>2</sub>.

La plupart de ces analyses sont réalisées sur des vins en cours d'élevage voire sur des vins embouteillés. Cependant le fait de retrouver de l'acide D-lactique et/ou des acides gras à courtes chaînes bien que parfois aucune population microbienne n'ait été détectée au moment de l'analyse laisse présager que la contamination puisse avoir eu lieu plus en amont, notamment lorsqu'il restait des traces de sucres.

Il est possible d'envisager que c'est lors des fermentations, peut-être même lorsque celles-ci sont un peu chaotiques ou languissantes, que des bactéries lactiques et/ou des *Brettanomyces* produiraient à ces instants l'ATHP et l'ETHP. En effet, ces microorganismes producteurs d'acide D-lactique et d'acides gras profiteraient d'un relatif excès d'azote. Parmi les composés azotés, la lysine, l'ornithine et la proline, 3 acides aminés intervenant en amont des voies de biosynthèse sont aussi (pour la lysine et l'ornithine) des précurseurs connus de la cadavérine, amine biogène parfois détectée dans les vins « sourissés » comme indiqué précédemment. Tout se passerait dans un environnement relativement réducteur qui pourrait masquer la perception des composés à la dégustation et ce ne serait que plus tard avec une augmentation du potentiel RedOX des vins que la perception deviendrait significative (et que les dosages seraient réalisés). Cette hypothèse basée sur une relative instabilité oxydative des vins touchés est confirmée par le fait que lors des mesures électrochimiques de voltamétrie linéaire pratiquées sur ces échantillons, les potentialités de résistance à l'oxydation des vins « sourissés » se sont révélés très faibles par rapport aux valeurs habituelles. Dans ce raisonnement le fait que les vins sans SO<sub>2</sub> seraient fréquemment incriminés ne découlerait pas uniquement de l'absence de l'effet anti-microbien et donc protecteur du SO<sub>2</sub> sur les microorganismes producteurs, mais aussi de l'effet tampon du SO<sub>2</sub> sur le potentiel RedOX des vins (maintien d'un pouvoir réducteur). Il est également possible qu'en vinification la présence de composés soufrés produits par les levures fermentaires puissent former des adduits (et le SO<sub>2</sub> aussi) avec les composés qui seraient alors produits, limitant ainsi leur perception organoleptique.

Dans cette optique une des recommandations des vins sujets aux problèmes ne serait donc pas de veiller aux conditions de fin d'itinéraire mais avant tout de bien gérer les fermentations pour éviter que ces microorganismes ne puissent s'immiscer dans la fermentation alcoolique. Bien sûr il s'agit uniquement d'hypothèses mais le fait de pouvoir disposer d'une technique de dosage précise et d'y associer plusieurs autres indicateurs analytiques (d'autres composés et des analyses microbiologiques) et de confronter ces dernières aux données habituellement relevées dans des vins exempts de problèmes apportent des premiers éclairages (Tableau 3).

	Vins « classiques »	Vin « sourissés »	Interprétations des différences et hypothèses
Teneur moyenne en acide D-lactique	<0,1 g/L	≥ 0,2 g/L	La « dérive » microbiologique arriverait au moment où les microorganismes (bactéries lactiques ou <i>Brettanomyces</i> ) peuvent disposer de sucres résiduels
Teneur moyenne en acide isovalérique et en acide isobutyrique	< 1 mg/L	Parfois > 8mg/L	
Amines biogènes	Très rare. Si présente détection d'histamine	Cadavérine et putrescine	La présence d'azote et notamment de certains acides aminés (lysine, ornithine...) serait favorable au phénomène
Azote résiduel sur vin fini	≤ 30 mg/L	≥ 40 et dans de nombreux cas ≥ 100	
Rapport 4-Ethylphénol/4-éthylgâïacol	Entre 4 à 10	≤ 3	Les souches de <i>Brettanomyces</i> impliquées pourraient différer de celles présentes habituellement (développement précoce, faible résistance aux sulfites)
% de <i>Brettanomyces</i> résistantes au SO <sub>2</sub> (analyse TYP\Brett 2.0)	53%	<20%	
Indice global d'oxydabilité (Un indice global d'oxydabilité élevé représente une forte capacité à résister à l'oxydation)	110 µA	≤25 µA	Les vins « sourissés » sont des vins fragiles d'un point de vue oxydatif. L'implication du SO <sub>2</sub> ne serait donc pas uniquement liée à son effet anti-microbien
Teneur moyenne en SO <sub>2</sub> libre	≥ 20 mg/L	≤ 20 mg/L	

Tableau 3 : Comparaison entre les vins sans défaut de type souris et les vins « sourissés » pour différents indicateurs analytiques et hypothèses qui peuvent en découler. Il s'agit de données non exclusives.

---

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'objectif de cet article était de reprendre quelques données de la bibliographie, préciser les éléments nécessaires à un dosage des trois composés connus et d'identifier certaines interactions possibles entre ces composés, d'autres métabolites d'altérations connus, des groupes de microorganismes et les paramètres des vins. Bien sûr les hypothèses émises en fin de document doivent être confrontées par des suivis et des essais débutant plutôt en amont de la détection des éventuels défauts. **La méthode de dosage mise au point au laboratoire EXCELL permet à présent de réaliser précisément de tels suivis.** En perspective aussi, il n'est pas improbable que d'autres composés soient impliqués. Par exemple, l'ATHP et l'APY sont deux cétones. Les cétones sont des molécules avec une forte réactivité notamment vis-à-vis du SO<sub>2</sub> avec des phénomènes d'addition (formation d'un adduit bisulfite) ou d'oxydation. Pour l'ATHP par exemple, une oxydation avancée (par exemple lorsqu'un vin très sensible à l'oxydation et extrêmement protégé de l'oxygène est brusquement mis en contact de ce dernier) entraîne la formation de la 2-acétylpyridine (AP). **Cette molécule AP semblerait être aussi un composé impliqué dans le phénomène et pour lequel un dosage est lui aussi à présent disponible au laboratoire EXCELL.**

---

Plus d'informations

Cécile BERGIA : cbergia@labexcell.com - 06 07 38 21 26  
Vincent RENOUF : vrenouf@labexcell.com - 07 89 63 65 54