

GRAND PRIX 2007

Alexandre Pons

Recherche

sur l'arôme de vieillissement

prématuré

des vins blancs secs

ACADEMIE MORIM



PREFACE

Le Groupe Amorim, né du liège en 1870 au Portugal, a fondé les bases de son développement sur cette extraordinaire matière première, à travers la production de cet humble mais inséparable compagnon du Vin : le bouchon de liège.

Notre volonté de servir la cause du vin s'est toujours exprimée dans la recherche technologique sur la filière liège, base de notre activité.

En 1992, nous avons souhaité aller plus loin et nous engager davantage aux côtés des chercheurs en œnologie en créant l'Académie Amorim, un lieu de rencontre et d'échange entre œnologues, ingénieurs, professeurs, sommeliers, auteurs, artistes... tous animés d'une même passion du Vin.

Chaque année, notre Académie encourage et soutient la recherche en œnologie par la remise d'un Prix à un chercheur ou à une équipe de chercheurs ayant fait paraître des travaux significatifs qui concourent à la défense et à la promotion de la qualité du Vin. Que soient ici saluées les personnalités, membres de cette Académie, qui contribuent si généreusement à cette mission. Je formule le vœux que cette collection, dédiée aux Lauréats du Grand Prix de l'Académie, devienne, au fil des ans, une référence et la mémoire vivante des efforts et des travaux engagés dans le monde entier pour servir la noble cause du Vin.

Americo Ferreira de AMORIM

Président du Groupe Amorim

GRANDS PRIX DE L'ACADEMIE AMORIM

Grand Prix 2006 - Paulo LOPEZ

*"Etude des phénomènes oxydatifs pendant le vieillissement des vins en bouteille.
Rôle de l'obturateur"*

~

Grand Prix 2005 - Stéphane LA GUERCHE

"Les défauts moisis terreux des vins : la géosmine identifiée comme principale responsable"

~

Grand Prix 2004 - Michael JOURDES

*"Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'Ellagitannins C-Glycosidique
et Flavano-Ellagitannins"*

~

Grand Prix 2003 - Dominique ROUJOU DE BOUBEE

"Recherches sur la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine dans les raisins et dans les vins"

~

Grand Prix 2002 - Catherine PEYROT DES GACHONS

"Recherches sur le potentiel aromatique des raisins de Vitis vinifera L. cv Sauvignon"

~

Grand Prix 2001 - René SIRET

*"Etude du polymorphisme génétique de la vigne cultivée (Vitis vinifera L.) à l'aide de marqueurs
microsatellites : application à la caractérisation des cépages dans les vins"*

~

Grand Prix 2000 - Takatoshi TOMINAGA

*"Recherches sur l'arôme variétal des vins de Vitis vinifera
L. cv. sauvignon blanc et sa genèse à partir de précurseurs inodores du raisin"*

~

Grand Prix 1999 - Isabelle CUTZACH-BILLARD

*"Etude sur l'arôme des vins doux naturels non muscatés au cours de leur élevage
et de leur vieillissement. Son origine. Sa formation"*

~

Grand Prix 1998 - Virginie MOINE-LEDOUX

*"Recherches sur le rôle des Mannoprotéines de levure
vis à vis de la stabilité protéique et tartrique des vins"*

~

Grand Prix 1997 - Valérie LAVIGNE-CRUEGE

*"Recherche sur les composés soufrés formés par la levure au cours de la vinification
et l'élevage des vins blancs secs"*

~

Grand Prix 1996 - Sylvie BIAU

"Etude de la matière colorante des vins blancs de Bordeaux"

~

Grand Prix 1995 - Samuel LUBBERS

*"Etude des interactions entre les macromolécules d'origine levurienne
du vin et les composés d'arôme"*

~

Grand Prix 1994 - Ziya GÜNATA

*"Etude et exploitation par voie enzymatique
des précurseurs d'arôme du raisin, de nature glycosidique"*

~

Grand Prix 1993 - Pierre-Louis TEISSEDE

"Le plomb, du raisin au vin"

~

Grand Prix 1992 - Pascal CHATONNET

*"Incidence du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités
organoleptiques des vins, applications technologiques"*

Alexandre Pons

Recherche

sur l'arôme de vieillissement

prématuré

des vins blancs secs

LAUREATS DE L'ACADEMIE AMORIM

Coup de Coeur 2006 - Gilles MASSON

"Le nuancier des vins rosés, genèse, mise au point et développement"

~

Coup de Coeur 2005 - Cécile SIMONET-TOUSSAINT

"Etude des représentations véhiculées par le vin chez les jeunes adultes"

~

Prix Chêne Liège 2005 - François AUDOUZE

"Etude sur les bouchons des vins anciens et leurs messages"

~

Coup de Coeur 2004 - Cristina DEL VAL GOMEZ

"Le paradoxe juridique du vin"

~

Coup de Coeur 2003 - Gérard LIGER-BELAIR

"La physique des bulles de Champagne"

Coup de Cœur 2001 - Frédéric BROCHET

"La dégustation. Etude des représentations des objets chimiques dans le champ de la conscience"

~

Coup de Cœur 2000 - Jean-Pierre GOT

*"Le verre de vin dans la peinture hollandaise de l'Age d'Or.
Les vins de Bergerac et les Provinces-Unis"*

~

Prix Chêne-Liège 1999 - Noël HEYES

"La Perméabilité à l'oxygène de la cire de paraffine macrocristalline et sa conséquence sur les traitements de surface des bouchons en liège naturel destinés aux vins tranquilles"

Coup de Cœur 1999 - Julien PILLOT & Jean-Christian LAMBORELLE

"Le décret du 1^{er} décembre 1936 dit "code du vin" : étude critique"

~

Coup de Cœur 1998 - Marie-Laure CHAMUSSY-BOUTEILLE

"Colette : un vin d'écrivain"

~

Prix Chêne-Liège 1996 - Guillem ROIG I JOSA - Héctor RIU SAVALL

Josep SANCHO I VALLS

"Traitement des résidus de l'industrie du liège par la culture des champignons"

~

Mention d'Honneur du Jury 1995 - P.L. TEISSEDRE - A.L. WATERHOUSE

R.L. WALZEM - J.-B. GERMAN - E.N. FRANKEL - A.J. CLIFFORD

"Composés phénoliques du raisin et du vin et santé"

Le sotolon, déjà mis en exergue par une de nos lauréates primée en 1999, est de nouveau à l'ordre du jour pour notre Grand Prix 2007.

Dans ses travaux de thèse, Alexandre Pons s'est intéressé à ce composé volatil responsable de la dépréciation de l'arôme des vins blancs secs.

Il a ainsi étudié les voies de formation du sotolon dans les vins blancs secs et l'évolution de sa teneur au cours de la conservation des vins en bouteille.

Cette démarche lui a permis d'identifier un précurseur du sotolon et de préciser les facteurs influençant son apparition dans les vins.

Il montre également qu'un vin blanc sec supplémenté en acide ascorbique lors de la mise en bouteille et bouché par un obturateur peu perméable à l'oxygène, prévient de façon significative la manifestation du vieillissement prématuré de ces arômes au cours de la conservation.

Cette dernière démonstration apporte une intéressante contribution au débat sur les modes de bouchage des vins et joue en faveur du liège dont la faible perméabilité à l'oxygène a été reconnue par les travaux de Paolo Lopez, Grand Prix de l'Académie Amorim en 2006.

Pour la quinzième édition de son concours, l'Académie Amorim a encore souhaité récompenser des travaux dont le caractère d'actualité est évident. Merci à tous ses membres pour ce travail effectué avec tant de conscience chaque année !

Robert TINLOT

Président de l'Académie Amorim

AVANT PROPOS

Les travaux présentés dans le cadre du prix Amorim ont fait l'objet d'une thèse de doctorat, soutenue publiquement en décembre 2006 et intitulée : "Recherches sur l'arôme de vieillissement prématuré des vins".

Au cours de la conservation des vins blancs en bouteille mais aussi, plus occasionnellement, durant leur élevage en fût, l'arôme de certains vins évolue rapidement vers des notes de cire et de miel. Aussi, parle-t-on dans ce cas de vieillissement aromatique prématuré, pour décrire les vins jeunes présentant les arômes retrouvés dans les vins conservés plusieurs années en bouteille. Le handicap commercial que constitue l'apparition de ces arômes a motivé de nombreux travaux de recherches permettant l'identification des composés volatils associés à ces nuances.

Parmi les composés volatils responsable de cette dépréciation de l'arôme des vins, le sotolon, composé chiral à odeur de curry et de noix, contribue majoritairement à l'odeur caractéristique des vins blancs secs prématurément vieillis. Les mécanismes de formation de cette furanone dans les vins demeurent inconnus à ce jour.

Nous présentons dans la première partie de ce travail nos résultats concernant les voies de formation du sotolon dans les vins blancs secs et l'évolution de sa teneur au cours de la conservation des vins en bouteille. La seconde partie est consacrée à la caractérisation et à l'étude des propriétés olfactives des énantiomères du sotolon.

Nous montrons que la condensation de l'acide α -cétobutyrique et de l'éthanal libre des vins blancs secs est à l'origine de la formation du sotolon au cours de la conservation des vins blancs secs. L'acide α -cétobutyrique, précurseur du sotolon, peut provenir de la fermentation alcoolique de la levure ou de la dégradation oxydative de l'acide ascorbique. Ces deux origines de l'acide α -cétobutyrique dans les vins blancs secs sont décrites pour la première fois.

La compréhension des mécanismes de formation du sotolon nous a permis d'étudier les facteurs influençant son apparition dans les vins. Nous mettons clairement en évidence le rôle majeur du choix de l'obturbateur sur la formation du sotolon au cours de la conservation des vins. Plus l'obturbateur est perméable à l'oxygène, plus la teneur en sotolon dans les vins blancs secs est importante. La connaissance des teneurs en oxygène dissous dans les bouteilles bouchées, variable jusqu'ici sous exploitée, s'avère une mesure simple rendant compte de la perméabilité à l'oxygène du système de bouchage.

Le rôle de l'acide ascorbique sur la prévention des phénomènes oxydatifs pouvant survenir dans les vins est également discuté. Il apparaît clairement que l'addition d'acide ascorbique à un vin bouché par un obturbateur en liège de très bonne qualité, peu perméable à l'oxygène, retarde la manifestation du vieillissement aromatique défectueux. A l'inverse, si l'obturbateur est perméable à l'oxygène, la présence d'acide ascorbique conduira à la libération d'acide α -cétobutyrique et favorisera en cela la formation de sotolon dans le vin.

Après avoir mis en évidence un mécanisme de formation du sotolon et les paramètres permettant de limiter son apparition dans les vins, nous avons étudié l'impact aromatique des formes énantiomères de ce composé. Nous mettons en évidence trois types de distribution de ces énantiomères dans les vins blancs secs : racémique, excès de R (ee 50 %), excès de S (ee 56 %). Les valeurs respectives des seuils de perception sont de 0,8 et 89 μ g/L pour les formes S et R du sotolon. Ainsi, selon la proportion de chaque énantiomère dans les vins blancs secs, l'impact aromatique du sotolon sera plus ou moins important. Aux concentrations rencontrées dans les vins blancs secs présentant une évolution oxydative de leurs arômes (< 10 μ g/L), seule la forme S du sotolon participe à l'odeur du vin.

I. INTRODUCTION

Les vins blancs secs dits de “grande garde” sont susceptibles au cours de leur conservation en bouteille de préserver les caractéristiques olfactives du vin jeune tout en développant des nuances aromatiques spécifiques. Ainsi, les arômes de pamplemousse, de fruits exotiques propre aux vins issus du cépage Sauvignon, peuvent évoluer à la faveur du temps vers des notes minérales et parfois truffées. Ce type de vieillissement n'est malheureusement pas général. Le plus souvent, l'évolution des vins blancs est marquée par la perte rapide des arômes fruités et l'apparition de nuances plus lourdes rappelant la cire, la naphthaline, ou encore l'encaustique. On qualifie ce vieillissement de prématuré, défectueux ou atypique. Les composés volatils responsables de ces arômes sont aujourd'hui connus. Le phénylacétaldéhyde, à odeur de rose fanée, participe avec le méthional, identifié par Escudero (2000b) à l'odeur caractéristique du vin blanc évolué (FERREIRA et al. 2003). Selon Rapp (1993), la 2-aminoacétophénone intervient plus spécifiquement dans le vieillissement atypique des vins blancs secs allemands. Un autre composé, le sotolon (4,5-diméthyl-3-hydroxy-2(5H)-furanone), contribue significativement à l'arôme de vieillissement défectueux des vins blancs secs (ESCUDERO et al. 2000a ; FERREIRA et al. 2003; LAVIGNE-CRUÈGE and DUBOURDIEU 2002). Les seuils de perception en solution hydroalcoolique et dans un vin blanc sec sont respectivement de 2 μ g/L et de 7 μ g/L (LAVIGNE-CRUÈGE and DUBOURDIEU 2002). Cette furanone chirale, évoquant à la fois le curry et la noix est très odorante. Les teneurs rencontrées dans les vins blancs secs sont le plus souvent inférieures à 10 μ g/L. Le sotolon participe également à l'arôme des vins jaunes du Jura et des vins de Xérès (DUBOIS et al. 1976; GUICHARD et al. 1993), ainsi qu'aux nuances « figes sèches » et rancio des vins doux naturels (VDN) et des vins de porto (CUTZACH et al. 1998; SILVA FERREIRA et al. 2003). Lorsqu'ils ont plus de 20 ans, les vins de ce type, peuvent contenir jusqu'à 1 mg/L de sotolon. Sa présence a également été détectée dans les vins blancs issus de vendanges botrytisées (MASUDA 1984; SARAZIN et al. 2007). La très forte implication de ce dernier composé à la formation des nuances cire et miel perçues à la dégustation des vins blancs secs prématurément vieillis et le handicap commercial que constitue ce défaut, nous a amené à étudier les mécanismes de formation du sotolon dans les vins. Nous présentons dans la première partie de ce travail nos résultats concernant les voies de formation du sotolon dans les vins blancs secs et l'évolution de sa teneur au cours de la conservation des vins en bouteille. La seconde partie est consacrée à la caractérisation et à l'étude des propriétés olfactives des énantiomères du sotolon.

2. MISE EN EVIDENCE D'UN MÉCANISME DE FORMATION DU SOTOLON DANS LES VINS BLANCS SECS

2.1 Incidence de la teneur en oxygène dissous sur la formation du sotolon des vins blancs secs

Les mécanismes chimiques à l'origine de la formation du sotolon dans les vins mettent en jeu l'oxygène. On explique ainsi les fortes teneurs en sotolon retrouvées dans les vins élevés en conditions oxydatives tels que les vins jaunes du Jura (PHAM et al. 1995), les porto ou les vins doux naturels (CUTZACH et al. 1998). La présence de sotolon dans les VDN est d'ailleurs largement accentuée dans les bouteilles présentant un bouchage défectueux (bouteilles couleuses). La vinification traditionnelle des vins blancs secs est conduite à l'abri de l'oxygène. Au cours de l'élevage en barrique, la présence de lies de levures associée au dioxyde de soufre limite l'érosion de l'arôme variétal ainsi que la formation du sotolon (LAVIGNE-CRUÈGE and DUBOURDIEU 2002). Lors de la conservation des vins en bouteille, il n'est pas rare de constater une évolution rapide et défectueuse de l'arôme des vins. Le caractère aléatoire de cette dépréciation de l'arôme est lié, selon divers auteurs, à la grande variabilité de la perméabilité à l'oxygène de l'obturbateur en liège (LOPEZ 2005; SANCHEZ and ARACIL 1998). Pour toutes ces raisons il nous a semblé utile de vérifier l'implication des phénomènes oxydatifs dans la formation du sotolon lors de la conservation des vins blancs secs en bouteille. Nous avons analysé après sept années de conservation quarante bouteilles d'un même vin blanc sec de Pessac Léognan, millésime 1997, issu d'un même lot d'embouteillage. Le bouchage est effectué par un obturbateur en liège naturel 1er catégorie. L'oxygène dissous des vins est mesuré grâce à une électrode de type polarographique (Orbisphère), connectée à un système de perçage échantillonnage. Ce système permet de mesurer la concentration en oxygène dissous directement dans la bouteille bouchée par application d'une contre pression d'azote (Figure 1).



Figure 1 : Matériel de dosage de l'oxygène dissous dans les vins en bouteille.
(a) électrode à oxygène, (b) système de perçage échantillonnage.

Nous montrons qu'il existe dans les échantillons de vins blancs secs analysés des teneurs variables en oxygène dissous. Ces dernières sont très fortement corrélées à la concentration en sotolon ($R^2 = 0,938$) (Figure 2). Les teneurs en oxygène dissous mesurées se situent le plus souvent entre 5 et 100 $\mu\text{g/L}$. Dans cette gamme de concentration en oxygène, la teneur en sotolon du vin reste inférieure à son seuil de perception dans les vins (7 $\mu\text{g/L}$). Seules des teneurs supérieures à 500 $\mu\text{g/L}$ permettent d'atteindre ce seuil.

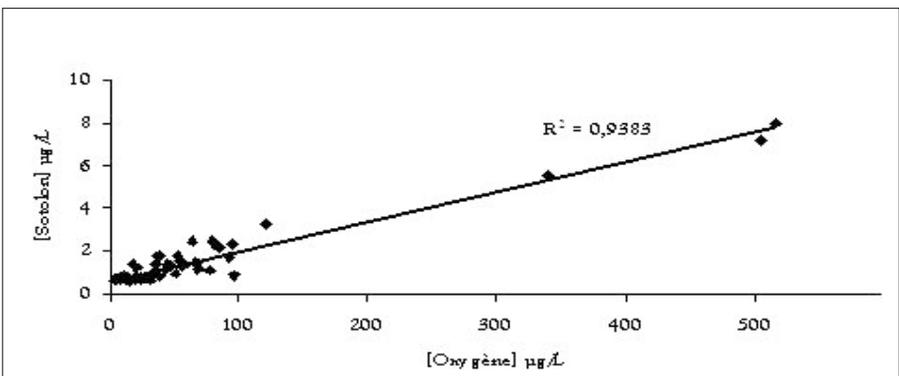


Figure 2 : Relation entre la teneur en oxygène dissous et la concentration en sotolon des vins en bouteille.

La présence d'oxygène dissous dans les échantillons de vins analysés, provoque par ailleurs une diminution de leur teneur en dioxyde de soufre libre (Figure 3). Ces résultats montrent clairement le rôle de l'oxygène dans la formation du sotolon lors de la conservation des vins en bouteille. Mais quels sont les mécanismes de formation de ce composé dans les vins blancs secs ?

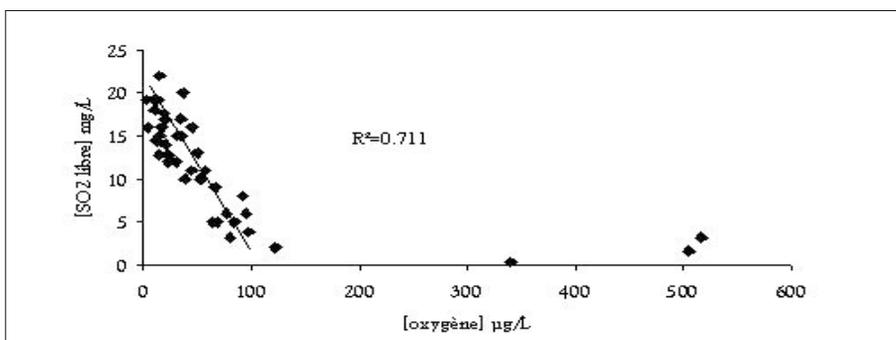


Figure 3 : Relation entre la teneur en oxygène dissous et la teneur en SO₂ libre des vins en bouteille.

2.2 Identification d'une voie de formation du sotolon dans les vins blancs secs

En 1995, Pham identifie pour la première fois une voie de formation du sotolon dans les vins jaunes du Jura élevés sous voile de levures en conditions oxydatives. Il met en évidence à partir de teneurs élevées en acétaldéhyde (250 mg/L) et en acide α -cétobutyrique (100 mg/L), placées en solution synthétique, la formation de grandes quantités de sotolon. Après avoir montré la présence de réactions d'oxydation dans les vins conservés en bouteille, nous avons cherché à savoir si la voie de formation du sotolon décrite dans les vins jaunes du Jura pouvait également se produire dans les vins blancs secs. Les teneurs en acide α -cétobutyrique des vins sont comprises entre 0,2 et 15 mg/L (Pons, 2006). Dans les vins blancs secs, les teneurs en éthanal varient de quelques dizaines à 150 mg/L. Cependant, l'éthanal a une très grande affinité pour le dioxyde de soufre. Selon les travaux de Blouin (1965), 99,7% de l'éthanal est sous forme combinée dans le vin. Cela signifie qu'à 100 mg/L d'éthanal correspondent seulement 30 μ g/L d'éthanal sous forme libre dans un vin blanc sec contenant du SO₂ libre. Bien qu'il n'existe pas de méthode de dosage de la fraction libre de l'éthanal dans les vins, on peut imaginer qu'en présence de dioxyde de soufre libre la fraction libre de l'acétaldéhyde soit en moyenne 100 fois plus faible que la teneur en acide α -cétobutyrique des vins. L'ensemble de ces observations nous amène à penser que si la réaction entre l'éthanal et l'acide α -cétobutyrique est susceptible de se produire dans les vins, il est fort probable que la teneur en éthanal conditionne la formation du sotolon. Nous avons déterminé la concentration en acétaldéhyde à partir de laquelle la présence d'acide α -cétobutyrique pouvait initier la formation du sotolon dans une solution synthétique de composition proche du vin. Les différentes modalités de notre expérimentation conditionnées en flacons hermétiques sont placées à l'étuve à 40°C puis analysées après 30 jours de conservation. Le sotolon est détecté à partir de 500 μ g/L d'éthanal libre. Pour une teneur en éthanal de 1 mg/L, la réaction produit 0,8 μ g/L de sotolon (Figure 4). C'est une teneur faible mais produite sur une courte période comparée à un vieillissement en bouteille en cave. Ces résultats montrent que cette réaction d'aldolisation à l'origine du sotolon dans les vins jaunes du Jura permet aussi d'expliquer la présence du sotolon en faible concentration en solution synthétique de composition proche du vin.

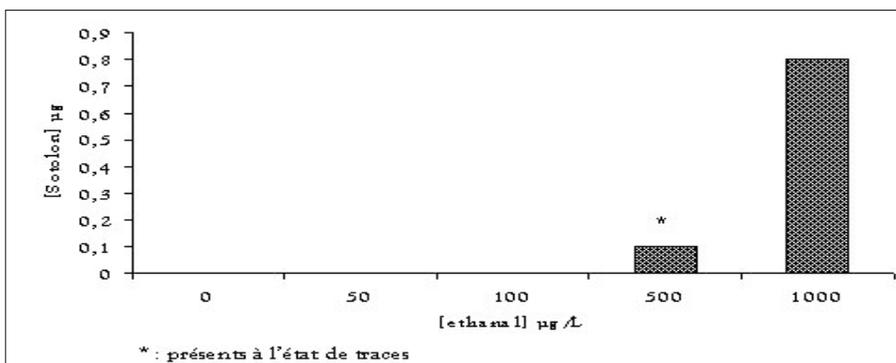


Figure 4 : Incidence de la concentration en éthanal d'un milieu modèle supplémenté en acide α -cétobutyrique sur la formation du sotolon.

Afin de vérifier ce résultat dans le cas d'un vieillissement en cave, nous avons analysé des échantillons de vins blancs secs issus d'un même lot et conservés 8 années en bouteille. Les vins ont été conservés dans un chai de stockage maintenu à une température constante de 16 °C.

Pour chaque échantillon, le sotolon et l'acide α -cétobutyrique sont dosés après extraction et injection en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Nous montrons que les teneurs en acide α -cétobutyrique et en sotolon des vins sont très fortement corrélées (Figure 5). Il semble que l'acide α -cétobutyrique soit bien un précurseur du sotolon lors de la conservation des vins blancs secs.

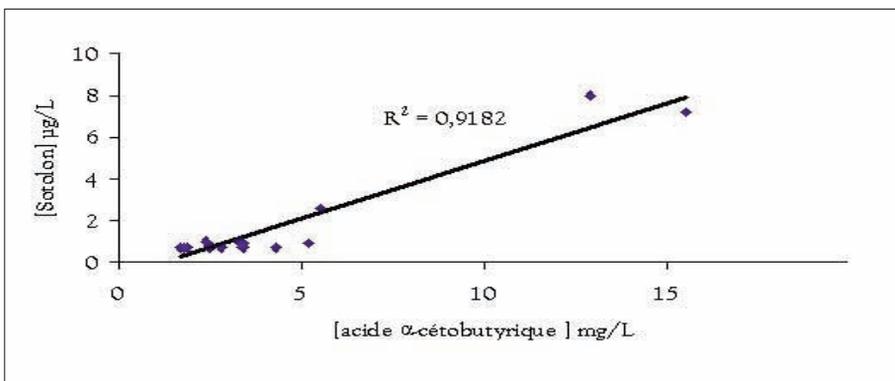


Figure 5 : Teneurs en sotolon selon la concentration en acide α -cétobutyrique des vins analysés.

L'origine de l'éthanal du vin est connue : il est produit en quantité importante par la levure au cours de la fermentation alcoolique. L'éthanal formé au cours de l'élevage en barrique et de la conservation du vin en bouteille provient majoritairement de l'oxydation de l'éthanol. En revanche, l'origine de l'acide α -cétobutyrique des vins blancs secs demeure encore incertaine.

2.3 Origine de l'acide α -cétobutyrique des vins blancs secs

Nous avons analysé de nombreux échantillons de vins conservés en bouteille, présentant ou non une évolution prématurée de leurs arômes (Tableau I). L'acide α -cétobutyrique est présent dans tous les vins analysés. Sa teneur semble être accentuée par des mécanismes oxydatifs. Ces observations nous ont conduit à imaginer deux origines distinctes de ce composé dans les vins.

	Teneur minimale	Teneur maximale	Moyenne
acide α -cétobutyrique (mg/L)	0,2	15	2,9

Tableau I : Valeur moyenne et teneurs extrêmes en acide α -cétobutyrique rencontrées lors de l'analyse de 30 vins blancs secs prématurément vieillis ou non.

2.3.a Origine biochimique

Selon Charpentier (CHARPENTIER et al. 1995), la réaction biochimique de désamination de la thréonine par *Saccharomyces cerevisiae* permet d'expliquer la présence de l'acide α -cétobutyrique dans les vins jaunes du Jura conservés en fûts sous voile de levure.

S'inspirant de ce résultat, nous avons évalué l'aptitude de onze souches de levures à la fois commerciales et issues de la collection de la Faculté d'œnologie, à produire ce composé en milieu modèle.

Les analyses sont effectuées à la fin de la fermentation alcoolique, lorsque la teneur en sucres réducteurs devient inférieure à 2 g/L. Comme pour d'autres composés volatils du vin (DARRIET 1993; MURAT 2001), nous mettons en évidence l'existence d'un effet souche sur la formation de l'acide α -cétobutyrique. Les teneurs en acide α -cétobutyrique varient de 0,9 mg/L pour la souche K à 7,1 mg/L pour la souche BO2 (Figure 6). Les teneurs en acide α -cétobutyrique dosées dans nos conditions expérimentales sont surestimées par rapport à celles des vins. En effet, tous nos dosages sont effectués avant addition de SO₂ au milieu.

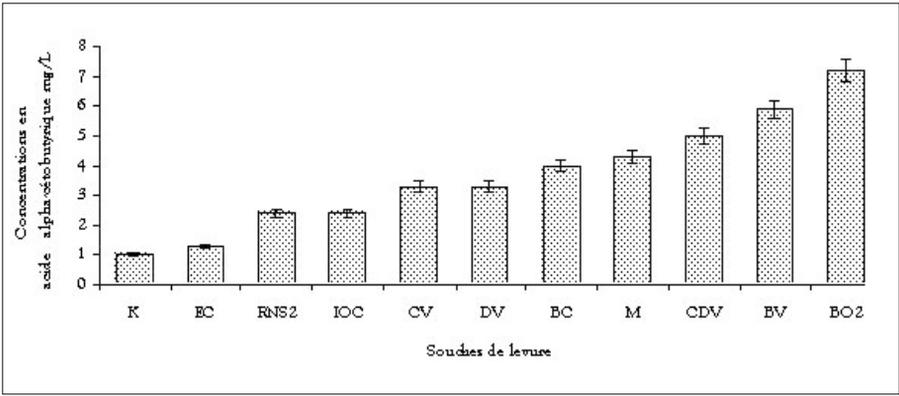


Figure 6 : Incidence de la souche de levure sur la teneur en acide α -cétobutyrique d'une solution synthétique après fermentation alcoolique.

Nous montrons qu'en milieu synthétique, la présence de 30 mg/L de SO_2 libre conduit à une diminution de la teneur en acide α -cétobutyrique de l'ordre de 50%. L'origine fermentaire de ce composé permet d'expliquer sa présence systématique dans tous les vins analysés.

2.3.b Origine chimique

Deux voies chimiques de formation de l'acide α -cétobutyrique sont décrites dans la littérature : la réaction de peroxydation de l'éthanal (PISARNITSKY et al. 1987) ainsi que la réaction de la thréonine avec le glucose (CUTZACH et al. 1998). Nous montrons que ces mécanismes ne permettent pas la production d'acide α -cétobutyrique lors d'un vieillissement accéléré en solution synthétique. La recherche de précurseurs de l'acide α -cétobutyrique dans les vins nous a conduit à étudier sa distribution dans différents aliments. Ainsi, le recoupement des données bibliographiques et des nouvelles connaissances acquises sur le vieillissement défectueux des vins blancs secs nous a permis d'identifier un nouveau précurseur de l'acide α -cétobutyrique (Pons, 2006). Nous montrons que la dégradation oxydative de l'acide ascorbique peut produire des quantités importantes d'acide α -cétobutyrique dans un milieu modèle renfermant 12 % vol d'éthanol, 100 mg/L d'acide ascorbique placé à 40°C, durant 6 mois. Afin d'évaluer la contribution de l'acide ascorbique à la formation de l'acide α -cétobutyrique dans les vins, nous avons réalisé l'expérimentation suivante. Additionnés ou non d'acide ascorbique (50 mg/L) des échantillons de vin blanc sec sont conservés en présence d'oxygène dans une étuve à 40°C (Figure 7).

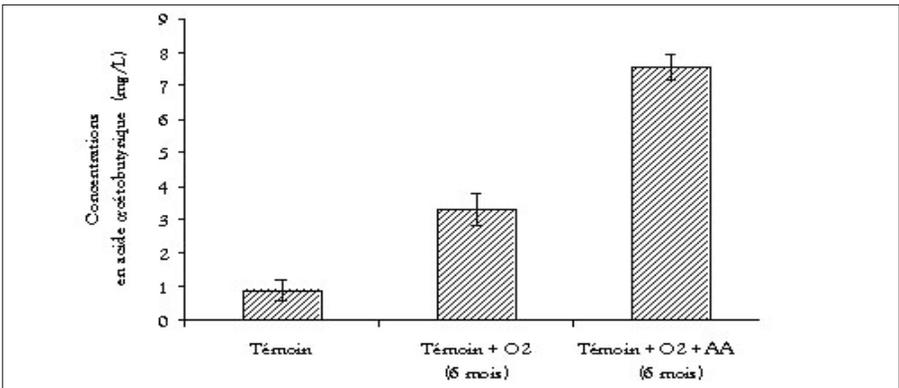


Figure 7 : Teneurs en acide α -cétobutyrique des échantillons de vin supplémentés ou non en acide ascorbique (50 mg/L).

Les teneurs en acide α -cétobutyrique sont significativement plus importantes après 6 mois de conservation à 40 °C que celles du vin témoin. Ces concentrations sont d'autant plus importantes que le vin est supplémenté en acide ascorbique.

Dans nos conditions expérimentales, l'addition d'acide ascorbique à la dose moyenne utilisée dans la pratique, en favorisant l'apparition du précurseur du sotolon doit vraisemblablement contribuer à l'apparition du défaut de vieillissement prématuré des vins blancs secs. Nous proposons de vérifier cette hypothèse lors d'un vieillissement en bouteille en cave.

3. INCIDENCE DE L'ADDITION D'ACIDE ASCORBIQUE SUR L'ÉVOLUTION DE LA TENEUR EN SOTOLON DES VINS BLANCS SECS.

L'acide ascorbique est utilisé en œnologie pour ses propriétés antioxydantes. Nous montrons que la dégradation oxydative de ce composé peut conduire à la formation de l'acide α -céto-butérique, susceptible par réaction avec l'éthanal, de former du sotolon. Aussi, avons-nous imaginé que l'efficacité de l'acide ascorbique dans la prévention des phénomènes oxydatifs susceptibles d'affecter la couleur et l'arôme des vins blancs secs, puisse dépendre des conditions d'oxydation subies par le vin lors de la conservation en bouteille, et par conséquent de la perméabilité aux gaz des obturateurs choisis. Afin d'apprécier le rôle de l'acide ascorbique, nous avons comparé l'évolution d'un même vin de sauvignon embouteillé avec de l'acide ascorbique (8 g/hL) ou sans acide ascorbique. Les deux lots de vin sont bouchés par deux familles d'obturateurs possédant des perméabilités aux gaz différentes (mesures effectuées par le Laboratoire National d'Essais). La perméabilité à l'oxygène de l'obturateur synthétique utilisée dans notre expérimentation (300 μ L d'O₂/mois) est dix fois plus élevée que celle de l'obturateur en liège naturel 1^{er} catégorie (<30 μ L d'O₂/mois).

3.1 Evolution de la teneur en acide ascorbique

Comme nous l'avons précédemment rappelé, l'acide ascorbique est instable dans le vin. Cette instabilité est catalysée par la présence d'oxygène moléculaire. L'évolution de la teneur en acide ascorbique des vins blancs au cours de la conservation en bouteille (24 mois) est présentée à la figure 8.

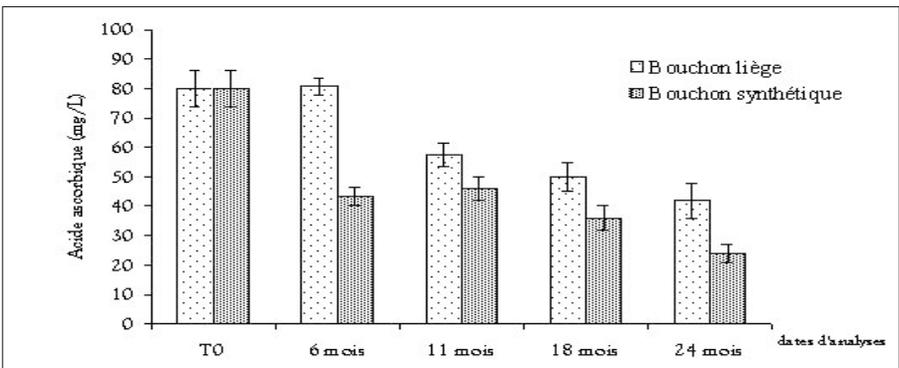


Figure 8 : Incidence de l'obturateur sur la teneur en acide ascorbique du vin.

Six mois après la mise en bouteille, la teneur en acide ascorbique est stable pour l'échantillon bouché liège. En revanche, elle a déjà diminué de 50 % dans la modalité obturée par un bouchon synthétique. Ces résultats montrent que la dégradation de l'acide ascorbique dans le vin est d'autant plus rapide que le système de bouchage est perméable à l'oxygène. La diminution des concentrations en acide ascorbique laisse présager l'existence de réactions d'oxydation initiées par la présence d'oxygène moléculaire dans le vin.

3.2 Evolution de la teneur en oxygène dissous

La détermination des teneurs en oxygène dissous des bouteilles bouchées est réalisée grâce au système précédemment décrit (Orbisphère). Après un mois de stockage (T0), on n'observe pas de différence entre les teneurs en oxygène dissous des modalités étudiées (Figure 9). Ces teneurs sont comprises entre 5 et 46 μ g/L pour les modalités bouchées par un obturateur en liège naturel. Pour une modalité donnée, on observe des variations sensibles de la teneur en oxygène dissous mesurée en bouteille. Les teneurs en oxygène dissous des échantillons bouchés par un obturateur synthétique varient quant à elles de 12 et 162 μ g/L. A T0, on n'observe pas de différences entre les modalités supplémentées ou non en acide ascorbique. En revanche, dans les échantillons prélevés à 6 et 18 mois, les teneurs en oxygène dissous sont très élevées. Dans ce cas, la présence d'acide ascorbique semble accélérer la consommation de l'oxygène. En effet, dans les échantillons bouchés avec un obturateur synthétique, l'oxygène dissous mesuré à 6 et 18 mois est significativement plus faible en présence d'acide ascorbique. Curieusement et contrairement à ce que l'on observe dans les échantillons obturés par un bouchon en liège naturel, l'oxygène dissous mesuré dans les modalités obturées par un bouchon synthétique varie considérablement au cours du temps.

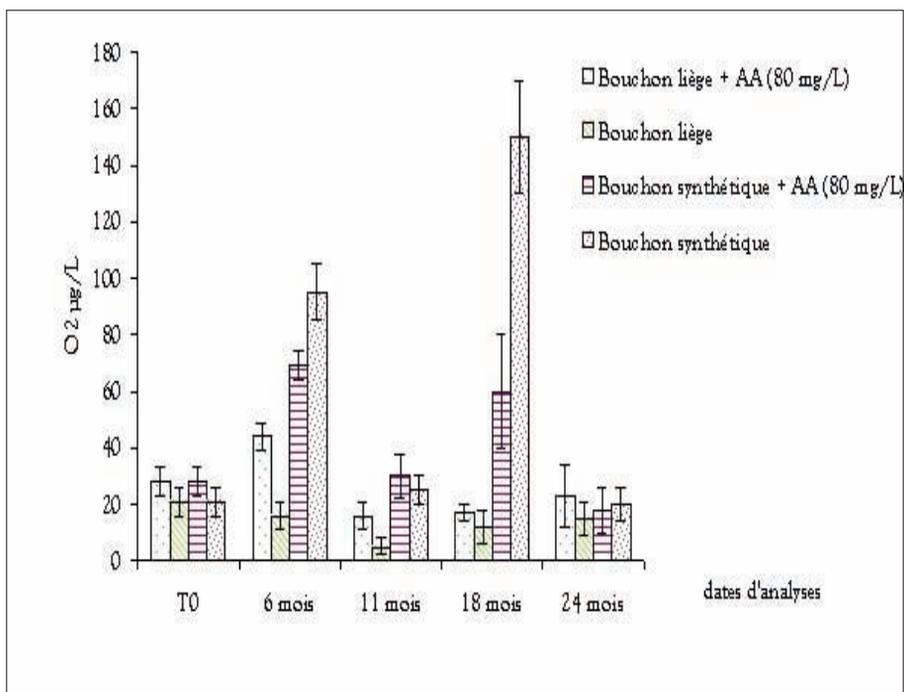


Figure 9 : Incidence du type d'obturateur et de la présence d'acide ascorbique sur la teneur en oxygène dissous des vins.

Nous avons formulé l'hypothèse suivante pour expliquer ce phénomène. Les dosages à 6 et 18 mois sont effectués au mois de janvier, en hiver. Les dosages à 12 et 24 mois sont réalisés en été. La température du chai de stockage n'étant pas régulée, on peut penser que le volume du vin dans la bouteille varie, provoquant des changements de pression. Si l'obturateur est perméable à l'oxygène comme c'est le cas du bouchon synthétique testé, la contraction du liquide provoquée par un refroidissement de l'atmosphère ambiante va initier un transfert d'air dans la bouteille.

La consommation de l'oxygène par les constituants du vin est un phénomène continu et supposé régulier à l'échelle de notre expérimentation. Les teneurs élevées en oxygène dissous reflètent par conséquent une pénétration d'oxygène supérieure à sa consommation par le vin. Les températures basses ralentissent par ailleurs les réactions d'oxydation des constituants du vin. Le phénomène inverse se produit très vraisemblablement en été. Le transfert d'oxygène à travers un obturateur en liège n'a pas été mis en évidence lors de notre expérimentation. Cependant, la présence d'une concentration même faible en oxygène dissous dans ces échantillons suggère l'existence d'un transfert d'oxygène à travers le système d'obturation. La mesure de l'oxygène dissous dans les bouteilles nous renseigne sur l'état d'oxydation du vin. Nous montrons que des quantités variables d'oxygène dissous peuvent être mesurées dans le vin même en présence d'acide ascorbique. La présence simultanée d'oxygène et d'acide ascorbique peut elle conduire à la formation du sotolon ?

3.3 Evolution de la teneur en sotolon des vins

Nous avons suivi l'évolution de la teneur en sotolon des différents échantillons. Les résultats sont présentés figure 10. A T0, le vin témoin ne contient pas de sotolon. Après 18 mois, seule la modalité obturée par un bouchon synthétique et additionnée d'acide ascorbique renferme du sotolon. Six mois plus tard ($t = 24$ mois), les teneurs en sotolon sont plus importantes mais restent inférieures à son seuil de perception ($7 \mu\text{g/L}$). A ce stade de l'expérimentation, le sotolon est également détecté dans les autres modalités étudiées, mais en quantité plus faible. Nous avons montré que l'acide ascorbique en présence d'éthanol et d'oxygène pouvait conduire à la formation de l'acide α -cétobutyrique, précurseur du sotolon dans les vins. Les teneurs en sotolon retrouvées dans les vins additionnés d'acide ascorbique et obturés par des bouchons synthétiques indiquent clairement que cette réaction peut également se produire dans le vin. En revanche, à ce stade de l'expérimentation, les teneurs en sotolon retrouvées dans les échantillons bouchés avec le liège naturel sont trop faibles pour conclure sur le rôle de l'acide ascorbique dans la formation du sotolon en conditions d'oxydation ménagée.

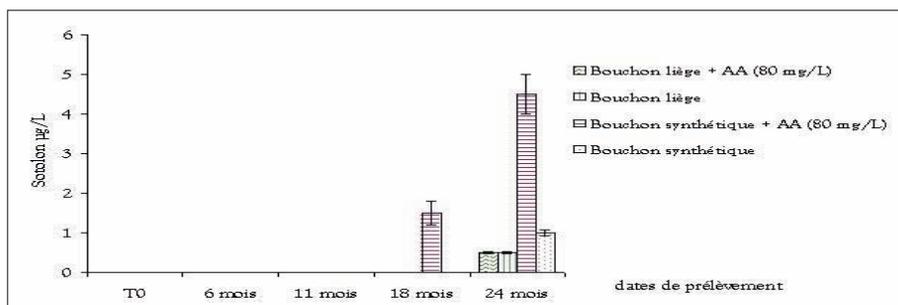


Figure 10 : Incidence du type d'obturateur et de la présence d'acide ascorbique sur l'évolution de la teneur en sotolon au cours de la conservation d'un vin.

3.4 Analyse sensorielle

Afin d'évaluer l'impact organoleptique de l'ajout d'acide ascorbique à la mise en bouteille, on réalise une dégustation triangulaire. Il est demandé au jury de dégustateurs de retrouver parmi trois verres, les deux échantillons identiques et de préciser leur préférence. Le Tableau II rassemble les résultats des dégustations effectuées à intervalle régulier (6 mois) par un même jury de dégustateurs.

	6 mois	12 mois	18 mois	24 mois
Bouchage synthétique	Ns	**	**	**
Bouchage liège	Ns	Ns	Ns	*

Ns : non significatif ; * significatif à $p < 0,05$; ** significatif à $p < 0,01$

Tableau II : Résultats des tests triangulaires réalisés sur des vins supplémentés ou non en acide ascorbique (80 mg/L) pour chaque type d'obturateur, au cours de la conservation.

Durant les 6 premiers mois de conservation, la présence d'acide ascorbique dans les échantillons ne provoque aucune modification de l'arôme du vin perceptible par les dégustateurs, et ce quel que soit l'obturateur utilisé. A partir de 12 mois de conservation, les différences deviennent significatives pour les modalités bouchées par l'obturateur synthétique. L'emploi d'un obturateur en liège moins perméable à l'oxygène retarde les modifications de l'arôme du vin liées aux phénomènes oxydatifs. Dans ces conditions, les différences perçues par l'analyse sensorielle deviennent statistiquement significatives après 24 mois de stockage seulement. Les résultats des tests de préférence sont présentés dans le tableau III.

	6 mois	12 mois	18 mois	24 mois
Bouchage synthétique	Ns	AA80*	AA80*	AA80*
Bouchage liège	Ns	Ns	Ns	AA80*

* $p < 0,05$; AA80 : vin + acide ascorbique 80 mg/L

Tableau III : Résultats des tests de préférence menés sur les vins supplémentés ou non en acide ascorbique (80 mg/L) pour chaque type d'obturateur au cours de la conservation.

Les échantillons supplémentés en acide ascorbique (AA80) à l'embouteillage sont toujours jugés plus aromatiques et plus « jeunes » par les dégustateurs. Ce constat est d'autant plus marqué que le vin est soumis à un stress oxydatif important (obturateur synthétique). Dès 12 mois de stockage, la dégustation comparative (test triangulaire) des échantillons obturés par un bouchon synthétique montre que les vins contenant de l'acide ascorbique sont systématiquement préférés par le jury de dégustateurs. Ainsi, la présence ou l'absence d'acide ascorbique dans un vin bouché par un obturateur en liège n'affecte pas son évolution dans les premières années de sa conservation. A l'inverse, le bouchage d'un vin sans acide ascorbique par un obturateur très perméable à l'oxygène provoque une évolution oxydative de son arôme.

4. DISTRIBUTION ET IMPACT AROMATIQUE DES ÉNANTIOMÈRES DU SOTOLON DANS LES VINS BLANCS SECS

Le seuil de perception d'un composé odorant et le descripteur qui lui est associé peuvent différer selon le stéréoisomère considéré, c'est pourquoi il est important de connaître les seuils de perception ainsi que la répartition des formes R et S du sotolon dans les vins pour

évaluer précisément leur impact organoleptique. La distribution des stéréoisomères du sotolon a été étudiée dans les vins de Xéres et les vins jaunes par chromatographie gazeuse bi-dimensionnelle couplée à un détecteur FID (GUICHARD et al. 1992). En revanche, il n'existe pas, à notre connaissance, d'informations relatives à leur distribution dans les vins blancs secs élevés en conditions réductrices. Nous avons déterminé la distribution des énantiomères du sotolon dans onze vins blancs secs provenant de diverses appellations de la région de Bordeaux et de différents millésimes (Tableau IV).

	R (%)	S (%)	Excès énantiomérique (%) (R-S)/(R+S)
Sotolon commercial	52	48	4 (R)
Grave 1980	52	48	4 (R)
Grave 81	51	49	2 (R)
Pessac Léognan 81	53	47	6 (R)
EDM 2000	54	46	8 (R)
EDM 2000	45	55	10 (S)
Pessac Léognan 1973	23	77	54 (S)
Bordeaux 1999	22	78	56 (S)
Bordeaux 1999	22	78	56 (S)
Pessac Léognan 1987	71	29	42 (R)
Pessac Léognan 1975	60	40	20 (R)
Entre-Deux-Mers 2001	75	25	50 (R)

Tableau IV : Distribution des énantiomères et détermination de l'excès énantiomérique des deux formes du sotolon dans différents vins blancs secs.

La région de production et l'âge du vin n'influencent pas le rapport entre les formes R et S du sotolon dans les vins étudiés. Trois types de distribution sont rencontrés dans les vins analysés : la forme racémique, l'excès de R et l'excès de S. L'excès énantiomérique atteint au maximum 50 % en faveur de R alors qu'il atteint 56 % pour la forme S. Ces résultats sont en accord avec les observations de Guichard (1992) concernant la distribution des énantiomères du sotolon dans les vins jaunes du Jura. Le sotolon commercial, utilisé comme produit de référence est un mélange racémique, ce qui ne correspond pas à la distribution moyenne des formes R et S retrouvée dans les vins. Ainsi, dans l'hypothèse où les seuils de perceptions olfactifs des énantiomères du sotolon sont différents, le seuil de perception déterminé traditionnellement à partir du sotolon racémique commercial (2 µg/L en solution hydroalcoolique) ne permet pas d'apprécier l'impact olfactif réel de ce composé dans les vins. Les énantiomères (R) et (S) du sotolon sont obtenus à partir du produit racémique commercial. La séparation de chaque énantiomère du sotolon est réalisée en CLHP sur colonne chirale semi-préparative. Nous avons évalué les propriétés olfactives de chaque énantiomère du sotolon. Le seuil de perception de la forme S en solution hydroalcoolique est de 0,8 µg/L. Cette valeur est dix fois plus faible que celle déterminée par Guichard (1991). Pour la forme R, le seuil de perception est de 89 µg/L (Tableau V). Les nuances aromatiques des énantiomères sont assez proches. L'arôme du (S)-sotolon rappelle nettement des odeurs puissantes de curry et de noix, celui du (R)-sotolon évoque plutôt la noix rance. C'est la forme S du sotolon qui lui confère son odeur et ses propriétés organoleptiques.

	Seuils de perception (µg/L) (solution hydroalcoolique)	Descripteurs
R	89	Noix, rance
S	0,8	Curry, noix
Racémique	2	Curry, noix

Tableau V : Seuils de perception et descripteurs olfactifs de chaque forme du sotolon

Ainsi, selon la proportion de chaque énantiomère dans les vins blancs secs présentant une évolution de type oxydative de leurs arômes, l'impact aromatique du sotolon sera plus ou moins important. Pour les teneurs en sotolon rencontrées dans les vins blancs secs, le plus souvent inférieure à 10 µg/L, seule la forme S du sotolon participe à l'odeur du vin. L'indice aromatique (I) d'un composé volatil est calculé à partir du rapport entre la concentration mesurée (C) sur son seuil de perception en solution synthétique (ETIÉVANT et al. 1989).

Habituellement, cette mesure rend compte de la perception d'un composé odorant dans une matrice complexe. Nous montrons, dans le cas particulier du sotolon, que la valeur de cet indice peut conduire à des résultats erronés si l'on ne tient pas compte de la nature chirale du composé. Le rôle du sotolon dans la perception globale de l'odeur du vin peut alors être sous estimée ou au contraire sur estimée, selon la proportion de chaque énantiomère dans les vins. Seule la détermination de la concentration et de la proportion de chaque énantiomère du sotolon dans le vin permettra d'apprécier l'impact aromatique réel du sotolon dans les vins.

5. CONCLUSION

Ce travail, consacré à l'étude du vieillissement aromatique prématuré des vins se proposait d'identifier les voies de formation du sotolon au cours de la conservation des vins en bouteille puis de préciser l'impact aromatique des énantiomères du sotolon dans les vins.

Nous montrons que la condensation de l'acide α -cétobutyrique et de l'éthanal libre des vins blancs secs est à l'origine de la formation du sotolon au cours de la conservation des vins blancs secs. L'acide α -cétobutyrique, précurseur du sotolon, peut provenir de la fermentation alcoolique de la levure ou de la dégradation oxydative de l'acide ascorbique. Ces deux origines de l'acide α -cétobutyrique dans les vins sont décrites pour la première fois. Le dioxyde de soufre libre permet de combiner une fraction de cet acide dans les vins.

La compréhension des mécanismes de formation du sotolon nous a permis d'étudier les facteurs influençant son apparition dans les vins. Nous mettons clairement en évidence le rôle majeur du choix de l'obturateur sur la formation du sotolon au cours de la conservation des vins. Plus l'obturateur est perméable à l'oxygène, plus la teneur en sotolon dans les vins blancs secs est importante. La connaissance des teneurs en oxygène dissous dans les bouteilles bouchées, variable jusqu'ici sous exploitée, s'avère une mesure simple rendant compte de la perméabilité à l'oxygène du système de bouchage.

Le rôle de l'acide ascorbique sur la prévention des phénomènes oxydatifs pouvant survenir dans les vins est également discuté. Il apparaît clairement que l'addition d'acide ascorbique à un vin bouché par un obturateur en liège de très bonne qualité, peu perméable à l'oxygène, retarde la manifestation du vieillissement aromatique défectueux. A l'inverse, si l'obturateur est perméable à l'oxygène, la présence d'acide ascorbique conduira à la libération d'acide α -cétobutyrique et favorisera en cela la formation de sotolon dans le vin.

Après avoir mis en évidence un mécanisme de formation du sotolon et les paramètres permettant de limiter son apparition dans les vins, nous avons étudié l'impact aromatique des formes énantiomères de ce composé. Nous mettons en évidence trois types de distribution de ces énantiomères dans les vins blancs secs : racémique, excès de R (ee 50 %), excès de S (ee 56 %). Les valeurs respectives des seuils de perception sont de 0,8 et 89 μ g/L pour les formes S et R du sotolon. Ainsi, selon la proportion de chaque énantiomère dans les vins blancs secs, l'impact aromatique du sotolon sera plus ou moins important. Aux concentrations rencontrées dans les vins blancs secs présentant une évolution oxydative de leurs arômes (< 10 μ g/L), seule la forme S du sotolon participe à l'odeur du vin.

BIBLIOGRAPHIE

- BLOUIN, J., 1965 Contribution à l'étude des combinaisons de l'anhydride sulfureux dans les moûts et les vins, pp. 117. Faculté des sciences de l'Université de Bordeaux.
- CHARPENTIER, C., T. T. PHAM, E. GUICHARD and B. ARBAULT, 1995 Production de sotolon par les levures isolées des "Vins Jaunes" du Jura, pp. 179-182 in 5e symposium d'oenologie, edited by LAVOISIER, Bordeaux.
- CUTZACH, I., P. CHATONNET and D. DUBOURDIEU, 1998 Rôle du sotolon dans l'arôme des vins doux naturels, influence des conditions d'élevage et de vieillissement. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 32: 223-233.
- DARRIET, P., 1993 Recherches sur l'arôme et les précurseurs d'arôme du Sauvignon, pp. in Faculté d'oenologie. Université de Bordeaux II, Bordeaux.
- DUBOIS, P., J. RIGAUD and J. DEKIMPE, 1976 Identification de la Diméthyl-4,5-tertrahydrofurandione-2,3 dans le Vin Jaune du Jura. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 9: 366-368.
- ESCUADERO, A., J. CACHO and V. FERREIRA, 2000a Isolation and identification of odorants generated in wine during its isolation: a gas chromatography-olfactometric study. *Eur. Food Res. Technol.* 211: 105-110.
- ESCUADERO, A., P. HERNADEZ-ORTE, J. CACHO and V. FERREIRA, 2000b Clues about the role of methional as character impact odorant of some oxidized wines. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4268-4272.
- ETIEVANT, P., S. N. ISSANCHOUX, S. MARIE, V. DUCRUET and C. FLANZY, 1989 Sensory impact of volatile phenols on red wine aroma: influence of carbonic maceration and time storage. *Sci. Aliments* 9: 19-33.
- FERREIRA, A. C. S., T. HOGG and P. GHEDES DE PINHO, 2003 Identification of key odorants related to the typical aroma of oxidation-spoiled white wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1377-1381.
- GUICHARD, E., P. ETIEVANT, R. HENRY and A. MOSLAND, 1992 Enantiomeric ratios of pantolactone, solerone, 4-carboethoxy-4-hydroxy-butyrolactone and of sotolon, a flavour impact compound of flor-sherry and botrytized wines. *Z. Lebensm. Unters Forsh* 195: 540-544.
- GUICHARD, E., and N. FOURNIER, 1991 Enantiomeric ratios of sotolon in different media and sensory differentiation of the pure enantiomers, pp. in *Euro. Food Chem.* VI, Hambourg.
- GUICHARD, E., T. T. PHAM and P. ETIEVANT, 1993 Quantitative determination of sotolon in wines by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia* 37: 539-541.
- LAVIGNE-CRUÈGE, V., and D. DUBOURDIEU, 2002 Role of glutathione on development of aroma defects in dry white wines, pp. 331-347 in 13th International Enology Symposium, Montpellier.
- LOPEZ, P., 2005 L'étude des phénomènes oxydatifs pendant le vieillissement des vins en bouteille. Role de l'obturateur, pp. 211 in Faculté d'Oenologie. Victor Ségalen, Bordeaux 2, Bordeaux.
- MASUDA, M., 1984 Identification of sotolon and ethyl 9-hydroxyxonate in botrysed wine and evaluation of the roles of compounds characteristic of it. *Agric. Biol. Chem.* 48: 2707-2710.
- MURAT M.L., M. I., DARRIET PH., LAVIGNE V., TOMINAGA T., DUBOURDIEU D., 2001 Effect of Saccharomyces cerevisiae yeast strains on the liberation of volatile thiols in Sauvignon blanc. *Am. J. Enol. Vitic.* 52: 136-139.
- PHAM, T. T., E. GUICHARD, P. SCHLICH and C. CHARPENTIER, 1995 Optimal conditions for the formation of sotolon from alpha-ketobutyric acid in the french "Vin Jaune". *J. Agric. Food Chem.* 43: 2616-2619.
- PISARNITSKY, A. K., A. A. BEZZUBOV and I. A. EGOROV, 1987 Nonenzymatic formation of 4,5-dimethyl-3-Hydroxy-2(5H)-furanone in foodstuffs. 642-646.
- PONS, A., 2006 Recherches sur l'arôme de vieillissement prématuré des vins, pp. 230 in Faculté d'Oenologie. Victor Ségalen, Bordeaux 2, Bordeaux.
- RAPP, A., G. VERSINI and H. ULLEMEYER, 1993 2-Aminoacetophenon: Verursachende Komponente der "Un typischen Alterungsnote" ("Naphthalinto n", "Hybridton") beim Wein. *Vitis* 32: 61-62.
- SANCHEZ, J., and J. M. ARACIL, 1998 Gaseous permeability of different obturators. *Bulletin de l'O.I.V.* 71: 279-283.
- SARAZIN, E., D. DUBOURDIEU and P. DARRIET, 2007 Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chem.* 103: 536-545.
- SILVA FERREIRA, A. C., J. C. BARBE and B. ALAIN, 2003 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone: A key odorant of the typical aroma of oxidative aged port wine. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4356-4363.

ACADEMIE  MORIM

11, Villa Wagram Saint-Honoré - 75008 Paris - France
Tel : +33 (0)1 58 05 10 70 - Fax : +33 (0)11 58 05 10 71
Email : contact@academie-amorim.com
www.academie-amorim.com

 GREENWICH