

GRAND PRIX 2008

Elise SARRAZIN

Recherche

Recherches sur l'arôme des vins liquoreux

de pourriture noble issus des cépages

Sémillon et Sauvignon blanc

Caractérisation de composés clés

et étude de leur genèse

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

Ce sujet lève le voile sur l'exceptionnelle richesse aromatique des grands vins blancs liquoreux et montre l'intérêt de la pourriture noble pour amplifier leur bouquet aromatique.

Réputés pour la complexité et la diversité de leur arôme, les vins liquoreux de pourriture noble restent toutefois peu connus.

Dans ses travaux de thèse, Elise Sarrazin s'est intéressée à la genèse de certains de leurs composés clés.

Son étude sur les vins bordelais des cépages Sémillon et Sauvignon Blanc a défini leur espace sensoriel par des caractéristiques olfactives.

Cette démarche lui a permis d'identifier l'existence d'un arôme distinctif propre aux vins liquoreux de la région bordelaise.

Elle montre que la botrytisation favorise la genèse des composés clés à l'origine de leurs arômes.

Le travail d'Elise Sarrazin s'ouvre sur une démonstration intéressante qui reste toutefois à valider : la présence du disulfure du 3-sulfanylhéxan-1-ol, pourrait être à l'origine de la composition singulière des vins liquoreux de pourriture noble.

Pour la seizième édition de son concours, l'Académie AMORIM a souhaité récompenser des travaux qui soulèvent des problématiques peu étudiées jusqu'à présent. Merci à tous ses membres pour le travail effectué avec tant de conscience chaque année.

Robert TINLOT

Président de l'Académie Amorim

INTRODUCTION

Les vins liquoreux de pourriture noble sont élaborés selon un procédé de vinification singulier. En effet, ils sont produits à partir de raisins surmûris sous l'action de l'un des principaux champignons cryptogames de la vigne, *Botrytis cinerea*. Dans des conditions climatiques favorables, alternant périodes sèches et humides, *B. cinerea* se développe sur la surface des baies parvenues à maturité et provoque l'apparition d'une moisissure cendrée, appelée pourriture noble, qui accélère la déshydratation de la baie sans altérer ses qualités gustatives. Cette alliance paradoxale confère aux vins des arômes d'une diversité et d'une complexité rare, qui évoquent notamment les agrumes confits, les fruits secs ou le miel.

Or, malgré les nombreux progrès réalisés dans le domaine de l'œnologie, les vins de pourriture noble restent peu connus et leur mode de vinification n'a pratiquement pas évolué durant les cinquante dernières années (Dubourdieu, 1999). En particulier, leur arôme typique a rarement été étudié et seuls quelques composés ont été caractérisés. Masuda et al. (1984) ont identifié le sotolon dans ces vins et l'ont considéré comme l'un des composés clés de l'arôme "rôti" en raison de ses nuances d'épices et de fruits secs. Néanmoins, tous les vins liquoreux ne sont pas caractérisés par la présence de sotolon (Sponholz & Hühn, 1994). Il n'est donc pas le seul contributeur à l'arôme si typique de ces vins. Plus récemment, Tominaga et al. (2000) ont rapporté des teneurs élevées en 3-sulfanylhexan-1-ol qui contribuerait ainsi aux nuances zestées de ces vins. De plus, une équipe hongroise a identifié plusieurs γ - et δ -lactones dans des vins de Tokay (Miklósy et al., 2000-2004). Cependant, ces composés ne peuvent expliquer, à eux seuls, l'exceptionnelle richesse aromatique des vins de pourriture noble qui contribue pour beaucoup à leur magie.

Ce travail se propose d'étudier l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble, ainsi que la genèse de certains composés clés. Il porte plus particulièrement sur les vins de la région bordelaise, élaborés à partir des cépages Sémillon et Sauvignon blanc et se décompose en quatre parties. Dans un premier temps, nous présenterons les travaux menés par analyse sensorielle avec un panel d'experts pour caractériser l'espace sensoriel propre aux vins liquoreux bordelais. La deuxième partie rapportera l'identification et le dosage des molécules intervenant dans l'arôme typique des vins liquoreux. Dans un troisième temps, nous étudierons l'influence du développement de la pourriture noble dans la genèse des composés clés identifiés. Enfin, la quatrième partie portera sur l'étude d'un composé volatil qui semble spécifique des vins liquoreux de pourriture noble et nous étudierons ses voies de formation.

I. Etude sensorielle : Mise en évidence d'un arôme caractéristique des vins liquoreux de pourriture noble de la région bordelaise

Avant d'entreprendre le travail d'identification des molécules associées à l'arôme typique des vins liquoreux de Sémillon et Sauvignon blanc, il nous a semblé important de vérifier qu'il existait bien un arôme caractéristique de ces vins. C'est pourquoi, nous avons réalisé une étude sensorielle centrée sur la typicité des vins liquoreux de la région bordelaise. Dans ce but, nous avons repris la méthodologie développée par Ballester (2004) et nous l'avons adaptée à notre étude.

I. Notion de typicité et d'espace sensoriel

D'après Salette (1997), le mot "type" définit "la forme idéale qui réunit au plus haut degré, les propriétés, les traits, les caractères essentiels (...) d'une catégorie". Lorsque la notion de "type" ou de "typicité" est appliquée à l'œnologie, elle représente "l'ensemble des caractéristiques (d'un vin), résultant du cépage, de la terre, des techniques de vinification, etc.." (Sauvageot, 1994). C'est donc une notion qui englobe des aspects sensoriels, mais aussi géographiques et technologiques. Or, au fil des études sur la typicité, il est apparu important d'isoler les aspects sensoriels du reste des propriétés contribuant à ce concept. En effet, il existe une grande variabilité sensorielle au sein d'un même espace produit, qui est d'autant plus marquée pour les produits alimentaires dits de tradition comme le vin. Il existe en fait un "gradient de représentativité" au sein d'une catégorie de produits considérée (Rosch & Mervis, 1975) et cette notion n'était jusqu'alors pas prise en compte. Afin d'intégrer ce continuum de représentativité ou de typicité, la notion d' "espace sensoriel" a donc été introduite (Dacremont & Vickers, 1994). Elle fait partie de la notion plus générale de "typicité" mais ne s'intéresse qu'aux aspects sensoriels. D'après Ballester (2004), l' "espace sensoriel propre" d'une catégorie de produit représente "le caractère commun aux différentes expressions aromatiques qui subsisterait au-delà de toute diversité".

Afin d'étudier le niveau de typicité de vins d'un même espace produit, il faut donc considérer un échantillonnage assez important pour s'assurer de la présence de bons comme de moins bons exemples.

Dans notre étude, 21 vins liquoreux de la région bordelaise ont été sélectionnés. Ils proviennent des appellations Sauternes, Barsac et Loupiac. Ces vins sont tous élaborés à partir des cépages Sémillon et Sauvignon blanc. Trois millésimes ont été retenus pour cette dégustation : deux millésimes récents, 2001 et 2004, ainsi qu'un millésime plus ancien 1996. Les vins du millésime 2001 sont considérés comme très qualitatifs, alors que ceux du millésime 2004, élaborés sous des conditions météorologiques plus difficiles, sont généralement considérés plus ordinaires. Quant à l'échantillon de 1996, il a été sélectionné pour étudier l'influence d'un style d'évolution aromatique cours du vieillissement, sur la notion de typicité sensorielle.

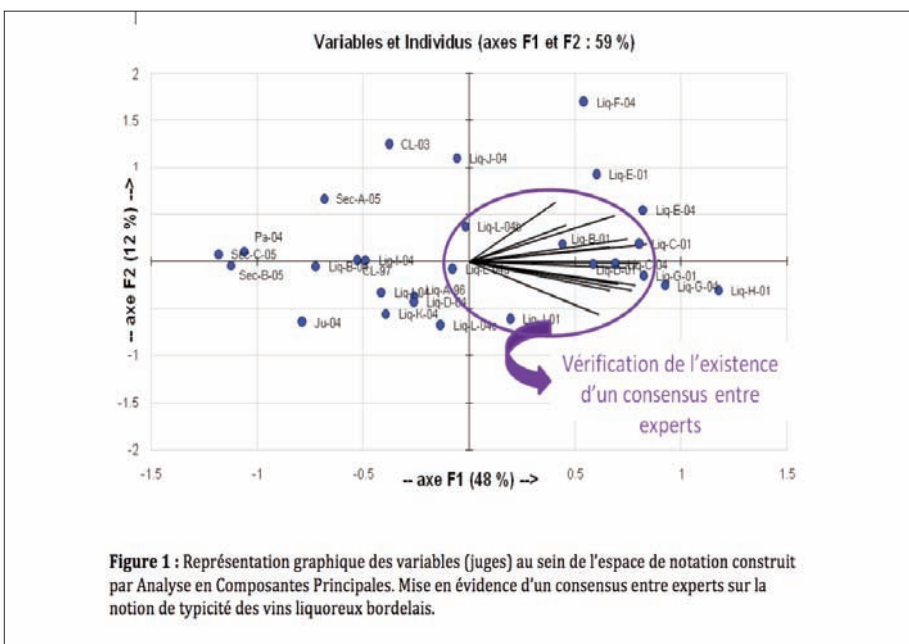
Afin de prouver l'existence de caractéristiques sensorielles qui distinguent les vins liquoreux de la région bordelaise des autres vins, nous avons également placé dans l'échantillonnage des vins appartenant à des espaces produits voisins. Nous avons ajouté à l'échantillonnage trois vins secs de la région bordelaise, élaborés à partir des mêmes cépages (Sémillon et Sauvignon blanc) et présentant les nuances aromatiques variétales, ainsi que quatre vins liquoreux issus du même mode de vinification mais produits à partir de cépages différents. Parmi ces vins liquoreux "extérieurs" à la région bordelaise, deux proviennent de l'AOC Coteaux du Layon. Ils sont élaborés à partir du cépage Chenin et correspondent aux millésimes 1997 et 2003. Par ailleurs, un vin d'AOC Jurançon (cépage Petit Manseng) et un vin d'AOC Pacherenc de Vic Bilh (cépages Petit Manseng et Gros Manseng) de millésime 2004 ont été évalués. Ils ne sont pas élaborés à partir de raisins botrytisés mais uniquement passerillés et sont aussi caractérisés par une forte concentration en sucres résiduels.

L'évaluation de la représentativité sensorielle est très délicate et doit faire l'objet d'un apprentissage (Letablier & Nicolas, 1994). C'est en effet la confrontation régulière avec des produits considérés comme typiques qui permet à un sujet d'être capable d'apprécier sa typicité. Pour juger les échantillons sélectionnés, nous avons donc fait appel à des professionnels du vin (œnologues, producteurs de vins, maîtres de chai) qui travaillent plus spécifiquement dans le domaine des vins de pourriture noble. Le panel était composé de 13 sujets (2 femmes et 11 hommes).

Pour chaque échantillon, les experts doivent noter le niveau de représentativité à l'aide d'une échelle structurée à 11 points. Comme l'évaluation sensorielle est centrée sur la typicité des vins liquoreux de la région bordelaise, la note 0 correspond à un très mauvais exemple de vin liquoreux bordelais et la note 10 à un très bon exemple. En outre, les juges ont été informés de la présence parmi les échantillons de vins blancs secs, mais aussi de vins liquoreux extérieurs. Les échantillons sont présentés à la température de dégustation des vins blancs, soit à 12°C environ. Les vins sélectionnés ayant des couleurs variées, les échantillons sont servis dans des verres noirs codés. L'ordre de présentation des vins varie d'un sujet à l'autre et obéit à la règle des carrés latins (MacFie et al., 1989). Enfin, en raison de la présence dans certains échantillons de sucres résiduels, les vins sont évalués uniquement par voie orthonasale et aucun n'est mis en bouche.

2. Existence d'un consensus au sein du jury d'experts

Comme cela a déjà été observé par Barthelemy et al. (1998), chaque sujet possède sa propre utilisation de l'échelle : certains emploient la totalité de l'échelle alors que d'autres n'en utilisent qu'une partie. Afin d'étudier l'existence d'un consensus entre experts, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée. L'ACP est une projection qui permet de comparer des individus sur la base de leurs différences pour plusieurs variables. D'après la méthodologie proposée par Ballester (2004), les vins représentent les individus et les experts, les variables. Ce traitement statistique permet de construire un plan où l'axe 1 correspond à la stricte représentation du niveau de typicité sensorielle des vins et l'axe 2 au désaccord entre les juges. Dans notre cas, l'ACP conduit à la construction graphique d'un plan formé par les deux premiers axes qui explique 59% de la variance totale, soit la majorité de l'information fournie par la notation des vins. En outre, les experts, indiqués par les segments noirs, sont tous placés du côté positif de l'axe 1, qui à lui seul représente 48% de la variance totale. Ces résultats montrent donc que les experts semblent en accord sur la notion de typicité des vins liquoreux de la région bordelaise : les appréciations des treize juges concordent pour les meilleurs exemples comme pour les moins bons. Comme l'évaluation était réalisée par un panel d'experts, l'existence d'un consensus entre juges compense la dispersion due à l'utilisation variable de l'échelle.

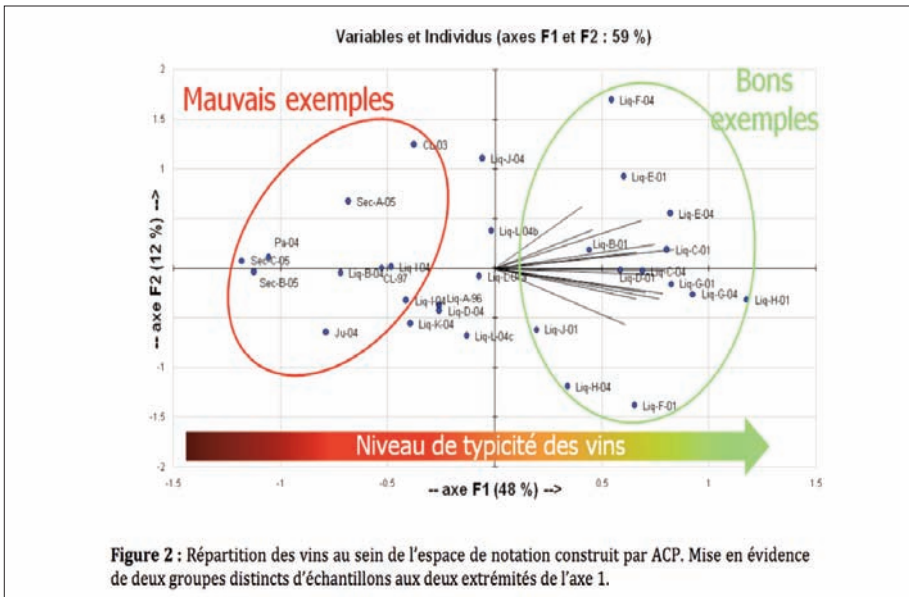


3. Mise en évidence d'un espace sensoriel propre aux vins liquoreux de la région bordelaise

En examinant plus précisément la répartition des vins au sein de l'espace de notation (Figure 2), nous remarquons que les vins liquoreux de la région bordelaise sont majoritairement situés du côté positif de l'axe 1 : treize vins ont une coordonnée positive alors que dix sont caractérisés par une valeur négative. En outre, les trois vins blancs secs, tout comme les quatre vins liquoreux extérieurs sont situés du côté négatif de l'axe 1.

D'ailleurs, une corrélation significative est notée entre la coordonnée des vins sur l'axe 1 et

leur niveau de typicité ($r = 0,9956$; $p < 0,01$). Le positionnement des échantillons concorde donc avec le but de l'exercice centré sur l'évaluation de la typicité des vins liquoreux bordelais. Toutefois, il n'y a pas une réelle séparation entre les vins liquoreux de la région bordelaise et les autres échantillons. Les vins liquoreux sont répartis tout au long de l'axe 1 illustrant la présence de bons exemples du type considéré tout comme de moins bons exemples. En ce sens, ces résultats sont en accord avec la notion de "gradient de représentativité" développée par Rosch et Mervis (1975).



Comme les échantillons ont été présentés en verres noirs et évalués uniquement par voie orthonasale, l'espace sensoriel mis en évidence est uniquement constitué de caractéristiques olfactives. Nous en déduisons donc qu'il existe un arôme distinctif des vins liquoreux de la région bordelaise, ce qui concorde avec les observations empiriques de la dégustation et justifie les travaux de caractérisation moléculaire de l'arôme des vins liquoreux bordelais.

II. Caractérisation de composés clés de l'arôme des vins liquoreux

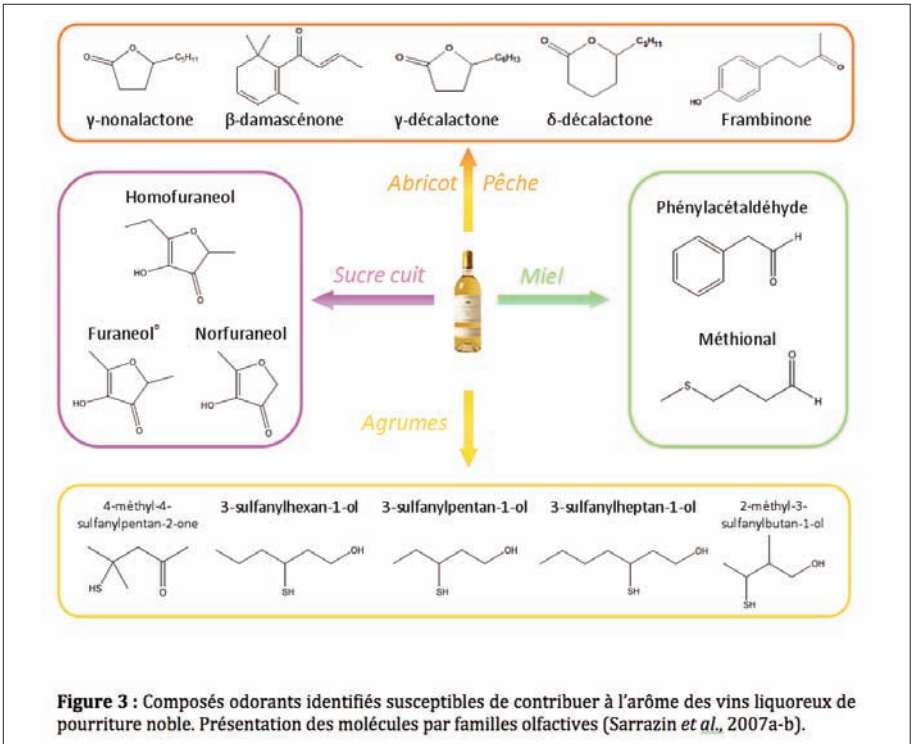
Les vins liquoreux de pourriture noble ont rarement fait l'objet d'une étude CPG-Olfactométrique (CPG-O). Or, cette étape est primordiale pour déterminer les composés majeurs de l'arôme en ciblant les zones odorantes clés à étudier en priorité.

L'analyse par CPG-O et CPG-AEDA, avec un jury de 3 personnes, de vins blancs secs et liquoreux a permis la qualification et la hiérarchisation de zones odorantes associées aux nuances caractéristiques de l'arôme. Ces travaux ont conduit à l'identification par CPG-SM de nouveaux composés contribuant à l'arôme des vins liquoreux. Les molécules identifiées sont présentées sur la Figure 3 où elles sont regroupées par "familles olfactives".

I. Zones odorantes "agrumes"

Les principales notes "agrumes" sont associées à des thiols volatils. Outre le rôle prépondérant du 3-sulfanylhexan-1-ol et de la 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one déjà décrits (Tominaga et al., 2000), trois nouveaux thiols très odoriférants ont été identifiés pour la première fois dans le vin : le 3-sulfanylpentan-1-ol, le 3-sulfanylheptan-1-ol et le 2-méthyl-3-sulfanylbutan-1-ol (Figure 3). Une quatrième molécule, le 2-méthyl-3-sulfanylpentan-1-ol, a également été identifiée sur la base de ses temps de rétention sur deux colonnes chromatographiques et de ses caractéristiques olfactives. Ces composés n'avaient jusqu'à présent jamais été décrits dans le vin. Le 3-sulfanylpentan-1-ol et le 3-sulfanylheptan-1-ol ont été détectés dans les vins liquoreux dans des concentrations proches de leur seuil de perception (Tableau 1) et des tests sensoriels ont établi leur contribution à l'arôme des vins liquoreux par des phénomènes d'additivité. Ces interactions moléculaires sont encore très mal connues et sont mises en évidence pour la première fois au sein de la famille des thiols volatils. La contribution sensorielle des deux autres thiols n'a pas encore été étudiée. Bien qu'ils ne soient pas

caractérisés par des odeurs d'agrumes, ils semblent qu'ils participent tout de même aux nuances zestées perçues dans les vins liquoreux car nous les avons aussi retrouvés dans les écorces de pamplemousse. En raison, de leur fort pouvoir olfactif, les thiols contribuent donc activement à l'arôme des liquoreux bordelais. D'ailleurs, leurs teneurs sont nettement corrélées avec le niveau de typicité des vins de pourriture noble ($p < 0,01$). Nous en déduisons donc que ces composés contribuent à la notion de typicité des vins liquoreux de la région bordelaise.



2. Zones odorantes évoquant le miel

En analysant les composés susceptibles de contribuer aux nuances miellées, nous avons identifié deux aldéhydes de Strecker : le phénylacétaldéhyde et le méthional (Figure 3). Le phénylacétaldéhyde est un composé clé de l'arôme de certains miels (Bicchi *et al.*, 1983 ; Blank *et al.*, 1989 ; D'Arcy *et al.*, 1997). Quant au méthional, même s'il ne possède pas réellement de notes miellées, il a déjà été identifié dans le miel (Zhou *et al.*, 2002) et Lallemand *et al.* (2007) ont récemment démontré une grande influence de sa présence sur le profil aromatique global de mélanges. Le dosage de ces aldéhydes et la détermination de leurs seuils de perception olfactive ont établi leur participation à l'arôme typique des vins liquoreux (Tableau 1). Une corrélation significative est d'ailleurs notée entre le niveau de typicité des vins et les teneurs en phénylacétaldéhyde ($p < 0,05$) et en méthional ($p < 0,1$). En raison des fortes teneurs en SO_2 libre retrouvées dans les vins de pourriture noble, la présence d'aldéhydes est surprenante. Or, ces molécules ne semblent pas présenter une grande réactivité vis-à-vis des ions HSO_3^- et sont principalement retrouvées dans le vin sous leur forme libre. Toutefois, ces molécules sont caractérisées par des comportements distincts dans le vin. Le phénylacétaldéhyde est connu pour être synthétisé par *B. cinerea* lors de son développement sur milieu de culture (Kikuchi *et al.*, 1983). La formation du phénylacétaldéhyde semble donc résulter directement de l'attaque de *B. cinerea* sur les baies et nous avons constaté des concentrations élevées en phénylacétaldéhyde dans les vins de millésimes récents. Néanmoins, la nature chimique instable de cet aldéhyde suggère son oxydation en acide phénylacétique lors du vieillissement du vin. Au contraire, le méthional est absent en fin de fermentation alcoolique et formé dans des conditions d'oxydation ménagée, lors de l'élevage puis de la conservation en bouteille. La concentration du méthional augmente avec l'âge du vin et il contribue surtout à l'arôme des millésimes plus anciens.

3. Zones odorantes "sucre cuit"

L'étude des notes de sucre cuit a permis l'identification de trois composés de la famille des 4-hydroxy-3(2H)-furanones : le furaneol®, l'homofuraneol et le norfuraneol (Figure 3). Ces

molécules sont présentes à des concentrations toujours supérieures à leurs seuils de perception dans les vins liquoreux de millésimes récents, à l'inverse des vins blancs secs (Tableau 1).

Cependant, la comparaison des données de l'analyse sensorielle et de l'analyse chimique révèle qu'il n'existe pas de corrélation significative entre les teneurs en furanones et le niveau de typicité des vins. Cette conclusion peut paraître surprenante car ces composés sont caractérisés par des odeurs de sucre cuit et de confiture, qui rappellent les nuances confites des vins liquoreux. Cependant, ces composés sont retrouvés à des teneurs élevées dans l'ensemble des vins liquoreux. Même les vins liquoreux extérieurs à la région bordelaise présentent des concentrations importantes pour ces molécules. Par conséquent, les 4-hydroxy-3(2H)-furanones doivent contribuer à la typicité sensorielle de l'ensemble des vins liquoreux et non uniquement des vins liquoreux de la région bordelaise.

4. Zones odorantes fruitées

Enfin, l'analyse des nuances fruitées a conduit à l'identification de lactones (Figure 3). En suivant la méthode d'extraction spécifique développée par Ferreira et al. (2004), nous avons dosé plusieurs lactones aliphatiques déjà connues, comme la γ -nonalactone, la γ -déalactone et la δ -déalactone. Nous avons également quantifié la massoia lactone pour la première fois dans le vin. Le dosage des lactones révèle des concentrations plus élevées dans les vins liquoreux de pourriture noble que dans les vins blancs secs (Tableau 1).

Néanmoins, il semble que la contribution de ces composés soit assez limitée en raison de leur seuil de perception relativement élevé. Nous notons toutefois une corrélation significative des concentrations en γ -nonalactone ($p < 0,01$) et massoia lactone ($p < 0,1$) avec le niveau de typicité des échantillons. En conséquence, il semble que ces composés contribuent à la typicité sensorielle des vins liquoreux bordelais, même s'ils sont présents à des concentrations inférieures à leurs seuils de perception. Plusieurs auteurs ont déjà avancé l'hypothèse d'effets de synergie entre lactones (Ferreira, 2005). Ces interactions pourraient donc expliquer la participation des lactones à l'arôme du vin.

Tableau 1 : Dosage des composés identifiés dans les vins évalués

Composés odorants	Seuil de perception olfactive ¹	Concentrations (min-max)	
		Vins blancs secs	Vins liquoreux Bx
		µg/L	
Furancol [®]	60	40 – 51	121 - 185
Homofuraneol	40	42 – 46	112 - 514
Norfuraneol	2000	869 – 1720	347 - 4082
Phénylacétaldéhyde	20	8 – 35	147 - 305
Méthional	2,2	1,4 – 3,6	4,6 – 23,2
γ -nonalactone	25	0 - 4	7 - 28,5
massoia lactone	4	1,3 - 2,7	1,5 - 6,5
		ng/L	
4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one	0,8	10 – 23	6 – 99
3-sulfanylhexan-1-ol	60	602 – 1410	1346 – 6755
3-sulfanylpentan-1-ol	650	6 – 46	76 – 332
3-sulfanylheptan-1-ol	35	tr ²	9 – 75
2-méthyl-3-sulfanylbutan-1-ol	-	tr	8 – 37

¹ en solution modèle (5 g/L d'acide tartrique ; 12% v/v éthanol ; pH 3,5) avec 45 sujets ; ² traces

5. Comparaison des données de l'analyse sensorielle et de l'analyse chimique

Les travaux de caractérisation nous ont finalement conduits à un paradoxe. En effet, la grande majorité des composés identifiés dans les vins liquoreux sont déjà présents dans les vins blancs secs, mais dans des concentrations bien moindres. Malgré des différences sensorielles évidentes, ces deux types de vins semblent donc présenter des compositions proches. En conséquence, l'arôme caractéristique des vins de pourriture noble résulterait davantage d'une modification de l'équilibre entre molécules clés que de la présence de composés spécifiques.

l'intérieur des baies et empêche le champignon de poursuivre son développement.

- Stade pourri rôti tardif : baies marquées au stade pourri rôti et ramassées 10 jours après.

Cette étude a été réalisée lors des vendanges 2005 et porte plus particulièrement sur le phénylacétaldéhyde, le furaneol®, l'homofuraneol, le norfuraneol et les thiols volatils. Du fait de son absence dans les moûts et les vins en fin de fermentation, le méthional n'a pas été analysé.



2. Augmentation significative de l'ensemble des composés étudiés dans les vins élaborés à partir de raisins touchés par la pourriture noble

a. Influence de la botrytisation sur les teneurs en phénylacétaldéhyde

Nous avons constaté que seul le phénylacétaldéhyde était retrouvé avant la fermentation alcoolique. Il est déjà présent dans les moûts et voit ses teneurs augmenter avec le développement de la pourriture noble (Tableau 2). Il semble donc que ce composé soit produit par *B. cinerea* lors de son développement sur la baie, ce qui concorde avec les travaux de Kikuchi et al. (1983). En outre, ces résultats montrent de réelles modifications de la composition des moûts botrytisés qui se répercutent ensuite sur celle des vins. En effet, le phénylacétaldéhyde est produit dans des proportions plus élevées lors de la fermentation alcoolique de moûts issus de raisins rôtis (Tableau 2).

Tableau 2 : Concentrations ($\mu\text{g/L}$) en phénylacétaldéhyde retrouvées dans les vins en fonction du stade de botrytisation des baies utilisées

Cépage	Stade de botrytisation	Volume moyen des baies ^a		
		Moût	Vin	
Semillon	<i>sain</i>	0,85	1 ± 0,1	3 ± 0,2
	<i>pourri plein</i>	0,68	22 ± 2	281 ± 82
	<i>pourri rôti</i>	0,37	40 ± 4	187 ± 21
	<i>pourri rôti tardif</i>	0,38	27 ± 3	214 ± 21
Sauvignon	<i>sain</i>	0,78	0 ± 0,1	3 ± 0,1
	<i>pourri plein</i>	0,52	22 ± 2	205 ± 8
	<i>pourri rôti</i>	0,21	26 ± 2	172 ± 24
	<i>pourri rôti tardif</i>	0,29	51 ± 5	97 ± 39

^a Volume moyen déterminé à partir de 1000 baies ; ^b moyenne (n = 3) ; ^c écart-type (n = 3)

La formation accrue du phénylacétaldéhyde pourrait résulter d'une accumulation plus importante de son précurseur hypothétique, l'acide phénylpyruvique, dans le moût sous l'action de *B. cinerea*. Plusieurs auteurs ont déjà rapporté l'existence de mécanismes enzymatiques de désamination oxydative d'acides aminés (Matheis, 1991 ; Rech & Crouzet, 1974). Comme *B. cinerea* est connu pour sécréter une grande diversité d'enzymes (Donèche, 1987 ; Grassin, 1987), il est possible qu'il produise l'acide phénylpyruvique par désamination de la phénylalanine lors de son développement sur la baie. Par la suite, l'acide phénylpyruvique serait décarboxylé sous l'action du métabolisme levurien lors de la fermentation alcoolique (Baumes, 1998).

b. Influence de la botrytisation sur les teneurs en furanones

Au contraire du phénylacétaldéhyde, les furanones et les thiols volatils sont absents du moût, quel que soit le stade de botrytisation, et sont formés au cours de la fermentation alcoolique selon des mécanismes encore peu connus.

Concernant le furaneol®, l'homofuraneol et le norfuraneol, une augmentation significative de leurs teneurs est observée dans les vins élaborés à partir de raisins botrytisés et cet

accroissement est parfaitement corrélé avec la variation de volume des baies (Tableau 3). Ces résultats révèlent donc le rôle indirect que joue *B. cinerea*, grâce au phénomène de dessiccation, dans l'augmentation des teneurs en furanones retrouvées dans le vin. Le développement du champignon *B. cinerea* accélère la dessiccation des raisins mais ne semble pas agir directement sur la formation de ces composés. En conséquence, ces travaux confirment la contribution des furanones à l'arôme des vins liquoreux, qu'ils soient produits à partir de raisins passerillés ou botrytisés.

Tableau 3 : Concentrations ($\mu\text{g/L}$) en furaneol®, homofuraneol, et norfuraneol retrouvées dans les vins en fonction du stade de botrytisation des baies utilisées

Cépage	Stade de botrytisation	Volume moyen des baies ^a			
		Homofuraneol	Furaneol®	Norfuraneol	
Semillon	<i>sain</i>	0,85	87 ^b ± 5 ^c	27 ± 1	1918 ± 2
	<i>pourri plein</i>	0,68	145 ± 6	53 ± 6	3524 ± 423
	<i>pourri rôti</i>	0,37	390 ± 43	73 ± 21	5609 ± 1570
	<i>pourri rôti tardif</i>	0,38	300 ± 30	76 ± 8	3593 ± 359
Sauvignon	<i>sain</i>	0,78	170 ± 7	34 ± 2	1721 ± 52
	<i>pourri plein</i>	0,52	164 ± 12	66 ± 9	3297 ± 4593
	<i>pourri rôti</i>	0,21	712 ± 28	177 ± 2	7268 ± 145
	<i>pourri rôti tardif</i>	0,29	545 ± 93	78 ± 33	2920 ± 935

^a Volume moyen déterminé à partir de 1000 baies ; ^b moyenne (n = 3) ; ^c écart-type (n = 3)

c. Influence de la botrytisation sur les teneurs en thiols volatils

Tout comme le 3-sulfanylhexan-1-ol et la 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one, les trois nouveaux thiols volatils sont absents des moûts. Ces résultats suggèrent donc leur libération lors de la fermentation alcoolique à partir de précurseurs S-cystéinylés, selon un mécanisme similaire à celui des thiols déjà connus du vin (Tominaga et al., 1998).

Par ailleurs, nous notons un accroissement significatif des teneurs de l'ensemble des thiols dans les vins élaborés à partir de raisins botrytisés. Cette augmentation dépasse nettement le seul facteur de concentration des baies. Par conséquent, cette étude révèle l'influence indirecte de *B. cinerea* sur l'augmentation des teneurs en thiols volatils des vins de pourriture noble. C'est en se développant sur les baies que *B. cinerea* engendre un accroissement significatif de la teneur en thiols du vin correspondant. Il serait donc intéressant de poursuivre l'étude des mécanismes impliqués dans l'augmentation des teneurs en thiols volatils pour comprendre le mode d'action de *B. cinerea* dans la révélation du potentiel aromatique fruité des vins. En conclusion, cette étude nous a permis d'approfondir notre connaissance des mécanismes impliqués dans la genèse de certains composés de l'arôme des vins liquoreux. De plus, l'ensemble des résultats prouve que *B. cinerea* engendre de nombreuses modifications de la composition des baies qui influencent directement la formation des thiols volatils, des furanones et du phénylacétaldéhyde, et donc le profil aromatique des vins.

Tableau 4 : Concentrations (ng/L) des différents thiols volatils en fonction du niveau de botrytisation des baies utilisées

Cépage	Stade de botrytisation	Volume moyen des baies ^a					
		3SH	4M4SP	3SP	3SHpt	2M3SB	
Semillon	<i>sain</i>	0,85	195 ^b ± 58 ^c	tr ^d	tr	tr	tr
	<i>pourri plein</i>	0,68	2326 ± 419	33 ± 14	93 ± 14	34 ± 5	67 ± 9
	<i>pourri rôti</i>	0,37	3678 ± 1765	58 ± 24	124 ± 54	50 ± 26	118 ± 61
	<i>pourri rôti tardif</i>	0,38	6334 ± 1267	77 ± 28	291 ± 128	118 ± 13	134 ± 55
Sauvignon	<i>sain</i>	0,78	161 ± 27	21 ± 2	tr	tr	tr
	<i>pourri plein</i>	0,52	3003 ± 300	28 ± 1	141 ± 8	95 ± 39	50 ± 5
	<i>pourri rôti</i>	0,21	9648 ± 1544	73 ± 14	348 ± 42	263 ± 92	185 ± 20
	<i>pourri rôti tardif</i>	0,29	9319 ± 2050	43 ± 5	375 ± 71	258 ± 44	185 ± 18

4M4SP : 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one ; **3SH :** 3-sulfanylhexan-1-ol ; **3SP :** 3-sulfanylpentan-1-ol ; **3SHp :** 3-sulfanylpentan-1-ol ; **2M3SB :** 2-méthyl-3-sulfanylbutan-1-ol.

^a Volume moyen déterminé à partir de 1000 baies ; ^b moyenne (n = 3) ; ^c écart-type (n = 3) ; ^d traces.

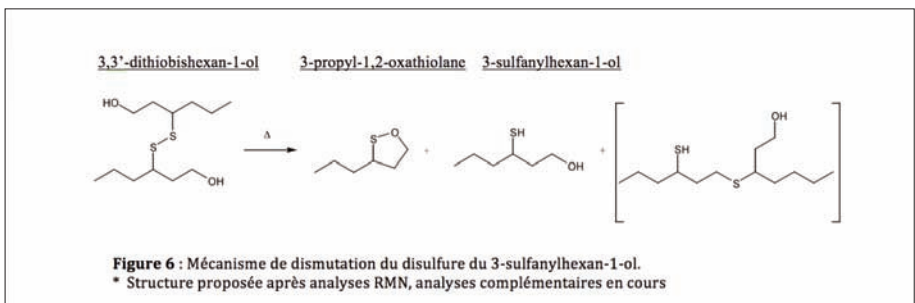
Ces travaux vérifient par conséquent les pratiques empiriques et confirment l'intérêt de la botrytisation pour amplifier la palette aromatique des vins liquoreux.

IV. Mise en évidence originale d'un composé nouveau dans les vins de pourriture noble

1. Identification du 3-propyl-1,2-oxathiolane

L'analyse CPG-O d'extraits de vins liquoreux a révélé la présence d'une zone odorante aux nuances d'agrumes qui ne correspond pas à un thiol volatil. De plus, elle n'est jamais retrouvée dans les extraits de vins blancs secs. Elle paraît donc spécifique des vins liquoreux, ce qui nous a incités à l'étudier. Or, nous avons constaté qu'elle était détectée par CPG-O lorsque l'extrait de vin était injecté en mode splitless (230°C), mais non à 45°C en mode on column. Il semble en conséquence que cette zone soit formée dans l'injecteur à chaud. Du fait de son caractère spécifique des vins liquoreux, nous avons tout de même poursuivi son étude pour l'identifier, et surtout comprendre ses voies de formation à partir d'un composé qui serait spécifique des vins liquoreux lors de l'injection à chaud.

L'étude de cet "artefact" retrouvé uniquement dans les vins liquoreux nous a conduits à la caractérisation pour la première fois du 3-propyl-1,2-oxathiolane. Ce composé est très instable et possède une odeur d'agrumes. Il résulte de la dégradation thermique du disulfure du 3-sulfanylhéxan-1-ol (3,3'-dithiobishéxan-1-ol) (Figure 6). A notre connaissance, la dégradation thermique de ce disulfure est décrite pour la première fois. Ce mécanisme correspond à une dismutation puisque l'atome de soufre du disulfure gagne et perd simultanément un degré d'oxydation pour former le 3-propyl-1,2-oxathiolane et le 3-sulfanylhéxan-1-ol.



2. Mise en évidence indirecte du produit d'oxydation du 3-sulfanylhéxan-1-ol dans les vins de pourriture noble

Les thiols sont connus pour leur capacité à se dimériser par oxydation pour former des disulfures (Jocelyn, 1972). Cependant, dans le vin, leurs produits d'oxydation n'ont pas encore été caractérisés. L'identification du 3-propyl-1,2-oxathiolane lors de l'analyse d'extraits de vins liquoreux révèle donc indirectement, pour la première fois, la présence du disulfure du 3-sulfanylhéxan-1-ol dans les vins.

Comme le 3-propyl-1,2-oxathiolane n'est jamais perçu lors de l'analyse d'extraits de vins blancs secs, la composition particulière des vins liquoreux pourrait expliquer la présence du disulfure uniquement dans ces derniers (Figure 7). On sait que les vins blancs secs comportent des teneurs élevées en polyphénols, connus pour leurs propriétés anti-oxydantes. Plusieurs études ont montré que leur oxydation entraîne la formation de quinones, qui peuvent ensuite facilement piéger les thiols par addition de Michael (Cheyner et al., 1986 ; Montero Rodil, 2003 ; Quideau et al., 1995 ; Singleton et al., 1984). Or, dans les moûts rôtis, les polyphénols du raisin sont oxydés par la laccase produite par *B. cinerea*, puis polymérisés et précipités. Les vins liquoreux contiennent donc une plus faible concentration de composés phénoliques, en particulier de procyanidines (Biau, 1996). D'ailleurs, travaux récents ont démontré une cinétique de consommation du dioxygène beaucoup plus lente dans les vins liquoreux que les vins blancs secs (Poupot, communication personnelle).

En conséquence, le mécanisme de dimérisation des thiols, et en particulier du 3-sulfanylhéxan-1-ol, qui est généralement observé en milieu biologique, pourrait être favorisé (Jocelyn, 1972).

De plus, comme les vins liquoreux présentent des teneurs en 3-sulfanylhéxan-1-ol plus

élevées que les vins blancs secs, la loi d'action de masse pourrait favoriser cette réaction chimique. L'absence de cette zone odorante lors de l'analyse CPG-O de moûts rôtis ou de vins liquoreux en cours d'élevage vient d'ailleurs renforcer l'hypothèse de la présence du disulfure dans les vins liquoreux. Comme le 3-sulfanylhexan-1-ol est absent du moût, il semble logique que le disulfure ne soit pas non plus retrouvé dans le moût. De même, il est probable que les vins en début d'élevage n'aient pas été soumis à des conditions d'oxydation suffisantes pour permettre au 3-sulfanylhexan-1-ol de se dimériser.

La confirmation de la présence du disulfure devrait nous permettre d'accroître notre connaissance du comportement des thiols volatils dans les vins liquoreux, lors de conditions d'oxydation ménagée, en particulier lors de l'élevage et de la conservation en bouteille. Du fait de l'impact olfactif majeur du 3-sulfanylhexan-1-ol, cette identification nous conduirait à une meilleure compréhension de l'évolution du profil aromatique des vins liquoreux de pourriture noble. Ceci est capital en vue de l'amélioration de la qualité de ces vins.

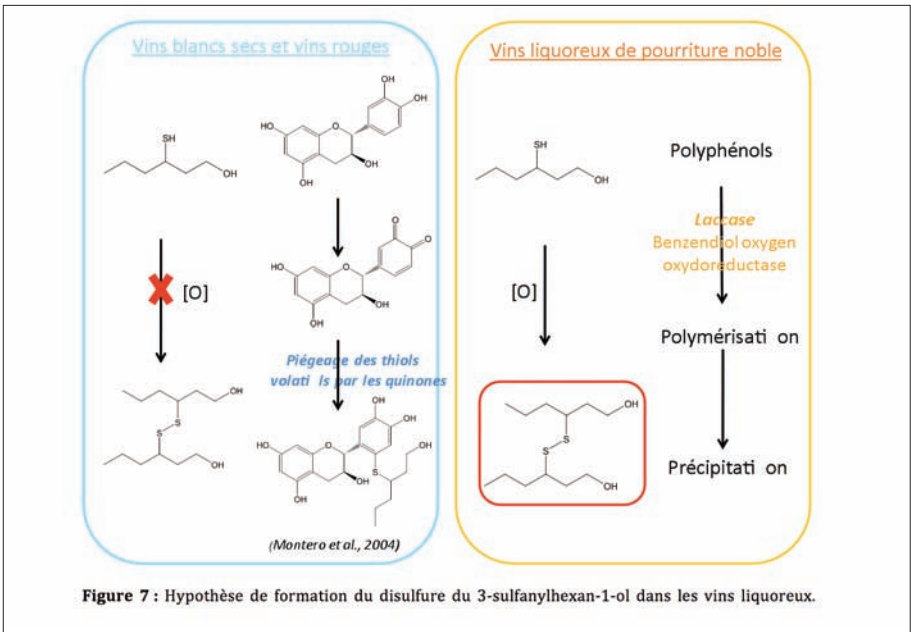


Figure 7 : Hypothèse de formation du disulfure du 3-sulfanylhexan-1-ol dans les vins liquoreux.

Conclusion

Les vins liquoreux de pourriture noble sont réputés pour la complexité et la diversité de leurs arômes. Toutefois, les composés associés à leurs nuances caractéristiques sont encore peu connus.

Après avoir vérifié l'existence d'un arôme typique des vins liquoreux de cépages Sémillon et Sauvignon blanc, notre travail s'est ciblé sur la caractérisation de molécules clés. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie et la spectrométrie de masse de vins blancs secs et liquoreux a permis la qualification et la hiérarchisation de zones odorantes associées aux nuances typiques des vins liquoreux, dont certaines 3(2H)-furanones (furanol®, homofuranol et norfuranol) aux odeurs de sucre cuit, le phénylacétaldéhyde aux nuances miellées et le méthional.

Les notes zestées sont pour la plupart associées à des thiols volatils. Outre, le 3-sulfanylhexan-1-ol déjà décrit, trois nouveaux sulfanylalcools ont été identifiés pour la première fois dans le vin : le 3-sulfanylpentan-1-ol, le 3-sulfanylheptan-1-ol et le 2-méthyl-3-sulfanylbutan-1-ol.

La participation de ces différents composés à l'arôme caractéristique des vins liquoreux a été étudiée en déterminant leurs seuils de perception olfactive et en les dosant. Paradoxalement, ces composés sont déjà retrouvés dans les vins blancs secs.

Néanmoins, nous montrons qu'ils présentent des teneurs accrues dans les vins élaborés à partir de raisins botrytisés et prouvons l'intérêt de la pourriture noble pour amplifier le bouquet aromatique des vins liquoreux. Par ailleurs, notre travail a permis de démontrer indirectement la présence du disulfure du 3-sulfanylhexan-1-ol (3,3'-disulfanediyldihexan-1-ol) dans les vins de pourriture noble, et ainsi, de confirmer la composition singulière de ces vins.

Plusieurs points de ce travail restent aujourd'hui à élucider. Les recherches doivent tout d'abord se poursuivre pour identifier d'autres marqueurs de l'arôme caractéristique des vins de pourriture noble et réaliser des expériences de reconstitution. La reconstitution d'arôme représente, en effet, l'une des principales voies de recherche pour progresser dans la compréhension des phénomènes impliqués dans la construction d'odeurs complexes. En analysant les interactions de synergie et d'antagonisme coexistant entre les différentes familles d'odeurs, ces expériences permettraient de confirmer l'hypothèse d'un équilibre variable entre molécules clés pour expliquer l'arôme caractéristique des vins liquoreux. De plus, il serait intéressant d'approfondir notre connaissance des modifications engendrées par l'action du champignon *B. cinerea* sur le raisin et notamment sur la révélation du potentiel fruité des vins liquoreux. Enfin, l'identification du disulfure du 3-sulfanylhéxan-1-ol doit être validée pour confirmer la composition singulière des vins liquoreux de pourriture noble. Ce résultat, conforté par le dosage de cette molécule, permettrait de recueillir de nouvelles informations sur les mécanismes d'évolution des thiols volatils, composés clés de l'arôme, dans les conditions d'oxydation ménagée de l'élevage, puis lors de la conservation en bouteille.

BIBLIOGRAPHIE

- Ballester, J. (2004). Mise en évidence d'un espace sensoriel et caractérisation des marqueurs relatifs à l'arôme des vins issus du cépage Chardonnay: Université de Bourgogne.
- Barthélémy, J., Clément, J. F., Danzart, M., Issanchou, S., Köster, E. P., Mac Leod, P., Nicod, H., Sauvageot, F., Strigler, F. & Touraille, C. (1998). Evaluation sensorielle, Manuel méthodologique, SSHA 2e édition. Paris: Edition Tec&Doc Lavoisier.
- Baumes, R. (1998). Les constituants volatils du stade fermentaire. In *Oenologie : Fondements scientifiques et technologiques*, pp. 183-202. Edited by C. Flanzy. Paris: Tec & Doc.
- Biau, S. (1996). Etude de la matière colorante des vins blancs de Bordeaux: Université Victor Segalen Bordeaux II.
- Bicchi, C., Belliardo, F. & C., F. (1983). Identification of the volatile components of some Piedmontese honeys. *Journal of Apicultural Research* 22, 130-136.
- Blank, I., Fischer, K. H. & Grosch, W. (1989). Intensive neutral odorants of linden honey. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 189, 426-433.
- Cheyrier, V., Trousdale, E. K., Singleton, V. L., Salgues, M. & Wylde, R. (1986). Characterization of 2-S-glutathionylcystic acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34, 217-221.
- Dacremont, C. & Vickers, Z. (1994). Classification of cheeses according to their closeness to the cheddar cheese concept. *Journal of Sensory Studies* 9, 237-246.
- D'Arcy, B., Rintoul, G. B., Rowland, C. Y. & Blackman, A. J. (1997). Composition of Australian honey extractives. I. Norisoprenoids, monoterpenes, and other natural volatiles from blue gum (*Eucalyptus leucocylon*) and yellow box (*Eucalyptus melliodora*) honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 1834-1843.
- Donèche, B. (1987). Etude biochimique de la relation hôte-parasite dans le cas du raisin et de *Botrytis cinerea*. Bordeaux, France: Université Bordeaux II.
- Dubourdieu, D. (1999). La vinification des vins liquoreux de pourriture noble. *Revue Française d'Oenologie* 176, 32-35.
- Ferreira, V., Jarauta, I., Ortega, L. & Cacho, J. (2004). Simple strategy for the optimization of solid-phase extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients. Application to the determination of aliphatic lactones in wine. *Journal of Chromatography A* 1025, 147-156.
- Ferreira, V. (2005). The chemical basis of wine aroma: a mature branch of science ready to next challenges. In *Vino Analytica Scientia Symposium*, pp48, Montpellier, France.
- Grassin, C. (1987). Recherches sur les enzymes extracellulaires sécrétées par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin. Applications oenologiques et phytopathologiques: Université Bordeaux II.
- Jocelyn, P. C. (1972). Biochemistry of SH groups. In *The occurrence, chemical properties, metabolism and biological function of thiols and disulfides*, pp. 404. Londres: Academic Press.
- Kikuchi, T., Kadota, S., Suehara, H., Nishi, A., Tsubaki, K., Yano, H. & Harimaya, K. (1983). Odorous metabolites of fungi, *Chaetomium globosum* KINZE ex. FR. and *Botrytis cinerea* PERS. ex FR., and a blue-green alga, *Phormidium tenue* (MENEHINI) GOMONT. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 31, 659-663.
- Lallemant, L., Spadone, J. C. & Blank, I. (2007). Perceptual interactions of odorants studied by dynamic olfactometry. In 8th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry & Biology. Eisenach, Allemagne.
- Letablier, M. T. & Nicolas, F. (1994). Genèse de la "Typicité". *Sciences des Aliments* 14, 541-556.
- MacFie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K. & Vallis, L. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies* 4, 129-148.
- Masuda, M., Okawa, E., Nishimura, K. & Yurume, H. (1984). Identification of 4,5-dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanone (sotolon) and ethyl 9-hydroxy-nonanoate in botrytized wine and evaluation of the roles of compounds characteristics on it. *Agricultural and Biological Chemistry* 48, 2707-2711.
- Matheis, G. (1991). *Dragoco Report* 36, 43-61.
- Miklós, É., Kalmar, Z., Pölös, V. & Z., K. (2000). Study of the volatile aroma components in young Tokaji Aszu wines by GC-MS. *Chromatographia Supplement* 51, 305-308.
- Miklós, É. & Kerényi, Z. (2004). Comparison of the volatile aroma components in noble rotted grape berries from two different locations of the Tokaj wine district in Hungary. *Analytica Chimica Acta* 513, 177-181.
- Miklós, É., Kalmar, Z. & Kerényi, Z. (2004). Identification of some characteristic aroma compounds in noble rotted grape berries and Aszu wines from Tokaj by GC-MS. *Acta Alimentaria* 33, 215-226.
- Montero Rodil, L. (2003). Etude des réactions entre le 3-mercaptohexan-1-ol et les fractions polyphénoliques du raisin : catéchine et anthocyanes: Université Victor Segalen Bordeaux II.
- Quideau, S., Feldman, K. S. & Appel, H. M. (1995). Chemistry of galloyl o-quinones: reactivity toward nucleophile. *Journal of Organic Chemistry* 60, 4982-4983.
- Rech, J. & Crouzet, J. (1974). Partial purification and initial studies of the tomato L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase. *Biochimica et Biophysica Acta* 350, 362-399.
- Salette, J. (1997). La typicité : une notion nouvelle au service du produit, de ceux qui l'élaborent, et de ceux qui le consomment en l'apprécient. *Revue des Oenologies* 85, 12-13.
- Sarrazin, E., Dubourdieu, D. & Darriet, P. (2007a). Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chemistry*, 2007, 103, 536-545.
- Sarrazin, E., Shinkaruk, S., Tominaga, T., Bennetau, B., Frérot, E. & Dubourdieu, D. (2007b). Odorous impact of volatile thiols on the aroma of young botrytized sweet wines: identification and quantification of new sulfanyl alcohols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, 1437-1444.
- Sauvageot, F. (1994). Les sciences de l'aliment et le concept de typicité ou le chercheur en sciences de la nature a-t-il quelque chose à déclarer sur la typicité d'un produit alimentaire. *Sciences des Aliments* 14, 557-571.
- Sponholz, W. R. & Hühn, T. (1994). 4,5-Dimethyl-3-hydroxy-2,5-furanon, sotolon, an indicator of Botrytis infection ? *Wein-Wissenschaft, Wiesbaden* 49, 37-39.
- Tominaga, T., Peyrot des Gachons, C. & Dubourdieu, D. (1998). A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 5215-5219.
- Tominaga, T., Baltenweck-Guyot, R., Peyrot des Gachons, C. & Dubourdieu, D. (2000). Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture* 51, 178-181.
- Zhou, Q., Wintersteen, C. L. & Cadwallader, K. R. (2002). Identification and quantification of aroma-active components that contribute to the distinct malty flavor of buckwheat honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 2016-2021.

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